

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

T 546 D 192

P 5518

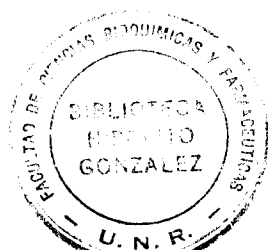
P 19.10.99 D.

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA -FÍSICA

ÁREA INORGÁNICA

OXIDACIÓN DE DESOXIAZÚCARES DE INTERÉS
BIOLÓGICO POR ACCIÓN DEL Cr(VI) EN MEDIO ÁCIDO



TESIS DOCTORAL

AUTOR: VERÓNICA ANDREA DAIER

DIRECTORA: Dra. MARCELA ADRIANA RIZZOTTO

1998

A Gabriel.
A mis padres y mis hermanas.

Agradezco especialmente al Dr. Luis Federico Sala, mi Director de beca ante CONICET, el haberme permitido integrar el grupo de Investigación del Área Inorgánica, así como su apoyo, paciencia y permanente dedicación y preocupación por mi formación científica.

Agradezco a la Dra. Marcela A. Rizzotto,
Directora de Tesis, por su apoyo en esta
etapa de mi formación.

**Agradezco a la Dra. Sandra R. Signorella
su guía y contribución científica.**

* Agradezco a la Dra. Silvia García por su permanente apoyo y amistad.

* Agradezco a la Srta. María Inés Frascaroli por su compañerismo y colaboración técnica.

* Agradezco a la Dra. Claudia Palopoli por su compañerismo y asesoramiento computacional.

* Agradezco a los demás integrantes del Grupo de Investigación: Laura Ciullo, Juan C. González, Mabel Santoro, Leandro Tabares, Alejandro Frutos y Rubén Lafarga por su compañerismo.

Agradezco por su colaboración a:

* Prof. Dr. M. González Sierra, por la realización de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (Instituto IQUIOS. FCByF. UNR).

* Prof. Dr. M. Cabada por permitir el uso del espectrofotómetro Guilford Response II (Area Biología. FCByF. UNR).

* Dr. Carlos Brondino (FFyB. UNL e INTEC, Santa Fe) por la realización de los espectros de Resonancia Paramagnética Electrónica.

Agradezco a los siguientes organismos:

* **Universidad Nacional de Rosario**, UNR, por soporte económico a través de sueldos.

* **Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)** por el otorgamiento de una Beca de Iniciación y Perfeccionamiento.

* **FOMEC** por el otorgamiento de Beca de pasantía para mediciones de RPE en el Instituto Lanais de Radicales Libres en Biología y Medicina. FCByF. UBA

Instituciones que subsidiaron el Proyecto General:

* **CONICET:** Estudio de las Propiedades Cinéticas y

Termodinámicas de sistemas formados por ligandos de interés biológico con iones metálicos de transición. PIA 2066/95 y PIT 0276

* **International Science Foundation (ISF)** (Dra. Sandra Signorella: F/2024-2; Dra. Marcela Rizzotto: F/2189-1)

* **Universidad Nacional de Rosario, UNR, PID 202.** Años 1995, 1996.

* **Fundación Antorchas.**

* **The Third Academy World of Science (TWAS)**

T 546 D 132

D 5518

19-10-89 D.

El siguiente trabajo de Tesis dio lugar a las siguientes publicaciones:

PUBLICACIONES PERIÓDICAS CON REFERATO

1) *"Chromic oxidation of 2-deoxy-D-glucose. Comparative study with aldoses. Part I"*.

Rizzotto, M.; Signorella, S.; Frascaroli, M.I.; Daier, V. and Sala, L.F.
Journal of Carbohydrate Chemistry, **14** (1), 1995, 45-51, (USA).

2) *"Oxidation of 2-Deoxy-D-Glucose by Chromium(V) and (VI). Part 2."*

S. Signorella, M. Rizzotto, V. Daier, M. I. Frascaroli, C. Palopoli, A. Bousseksou, L. Sala.
Journal of Chemical Society Dalton Transactions, **8**, 1996, 1607-1611 (UK).

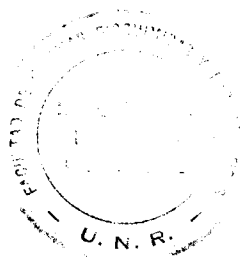
3) *"Kinetics and mechanism of the reduction of Cr^{VI} to Cr^{III} by D-Ribose and 2-deoxy-D-Ribose."*

Daier, V.; Signorella, S.; Rizzotto, M.; Frascaroli, M.I.; Palopoli, C.; Brondino, C.; Salas-Peregrin, J.M.; Sala, L.F.
Canadian Journal of Chemistry. 1998. En prensa (Canadá).

4) *"The relative ability of aldoses and deoxyaldoses to reduce Cr^{VI} and Cr^V . A comparative kinetic and mechanistic study."*

S. Signorella, V. Daier, S. García, R. Cargnello, J.C. González, M. Rizzotto, L. Sala.

Aceptado con revisión. Carbohydrate Research. 1998. (USA)



PUBLICACIÓN DE COMUNICACIONES LIBRES

1) "*Comparative study of sugar oxidation by transition metal ions: Cu(II) and Cr(VI).*"

Sala, L.F.; Signorella, S.; Rizzotto, M.; Palopoli, L.; Ciullo, L.; García, S.; Santoro, M.; Mulero, M.; Frascaroli, M.I.; Acebal, S.; Daier, V.; Lafarga, R.
Comunicaciones Biológicas, **11**, número 2, 1993, 169.

2) "*Oxidation of 2-deoxy-D-ribose, D-ribose and D-ribose-5-phosphate with chromium(VI) in acidic medium.*"

Daier, V.; Rizzotto, M.; Signorella, S.; Frascaroli, M.I.; Sala, L.F.
Comunicaciones Biológicas, **13**, número 4, 1995, 452.

3) "*Oxidation of 2-deoxy-D-ribose and D-ribose by Chromium(VI) in acidic medium*"

Daier, V.; Frascaroli, M.I.; Rizzotto, M.; Signorella, S.; Brondino, C.; Sala, L.F.
Comunicaciones Biológicas, **14**, nº 3, 302 (1996)

COMUNICACIONES A CONGRESOS

* CONGRESOS INTERNACIONALES

1) *"Interacción de los hidratos de carbono con iones metálicos de transición, en condiciones oxidantes y no oxidantes."*

Sala; Signorella; Rizzotto; Frascaroli; Daier; Santoro; Mulero; García; Acebal; Palopoli; Alba; Ciullo; Lafarga; Escandar.

24º Reunión Bienal. Real Sociedad Española de Química. Torremolinos, España, 20-25/sept./92.

2) *"Chromium interactions with substrates of biological importance."*

Rizzotto,M.; Signorella,S.; Palopoli,C.; García,S.; Santoro,M.; Frascaroli,M.I.; Daier,V.; Sala,L.F.

II Simposio Internacional. Química de productos Naturales y sus aplicaciones, Univ. de Concepción. Concepción- Chile (30 Nov- 2 Dic 1994)

3) *" Estudio mecanístico de la interacción de hidratos de carbono con iones metálicos de transición"*

L. F. Sala,S.Signorella, M. Rizzotto; C. Palopoli; S. García; L. Ciullo;M. Santoro; V. Daier, M. I. Frascaroli.R. Lafarga

XXII Congreso Latinoamericano de Química. FLAQ. XXI. Jornadas Chilenas de Química

7 al 12 de Enero de 1996. Concepción. Chile.

4) " $\text{Cr}^{\text{VI}}/\text{Cr}^{\text{V}}/\text{Cr}^{\text{III}}$ reduction by D-Ribose"

Sandra Signorella, Marcela Rizzotto, Verónica Daier, Luis F. Sala

3rd European Conference on Bio-Inorganic Chemistry. EUROBIC 3.

4 al 10 de agosto de 1996. Noordwijkerhout. Holanda

5) "Contaminación ambiental por el metal cromo"

Sala, L.F., Signorella, Rizzotto, García, Santoro, Daier, Frascaroli, Lafarga, González.

Congreso Internacional sobre Aguas. Workshop sobre Química Ambiental y Salud. 4 al 8 de agosto de 1997. Buenos Aires. Argentina.

6) "Oxidation of 2-deoxy-D-ribose and D-ribose by chromium(VI).

Simple model for understanding the action of Cr(VI) on DNA"

Sala, L.F., Signorella, S.; Rizzotto, M.; Daier, V.; Brondino, C.; Frascaroli, M.I.

32nd Conference International on Coordination Chemistry.

24 al 29 de agosto de 1997. Santiago de Chile. Chile.

*** CONGRESOS NACIONALES**

1) "Degradación oxidativa de 2-desoxi-D-glucosa por acción de Cr(VI) en medio ácido."

Rizzotto, M.; Signorella, S.; Frascaroli, M.I.; Daier, V.; Sala, L.F.

XII Reunión de la Sociedad de Biología de Rosario. Rosario (26-27 de noviembre de 1992)

2) "Especies de Cr(V) intermediarias en la oxidación crómica de aldosas. Estudio por resonancia paramagnética electrónica."

Rizzotto, M.; Signorella, S.; Frascaroli, I.; Daier, V.; Sala, L.F.

VIII Congreso Argentino de Fisicoquímica.

Mar del Plata. Argentina. (19 al 22 de abril de 1993).

3) "Oxidaciones de hidratos de carbono con iones metálicos de la primera serie de transición: Cr(VI) y Cu(II)".

Sala, L.F.; Rizzotto, M.; Signorella, S.; Ciullo, L.; Palopoli, C.;
García, S.; Santoro, M.; Mulero, M.; Lafarga, R.; Acebal, S.; Daier, V.;
Piaggio, E.

IX Simposio Nacional de Química Orgánica.

Huerta Grande. Argentina. (17 al 19 de noviembre de 1993).

* XIII Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario.

Rosario (25 de noviembre de 1993)

4) "La acción del Cr(VI) sobre los hidratos de carbono"

Signorella, S.; Sala, L.F.; Rizzotto, M.; Palopoli, C.; García, S.;

Santoro, M.; Frascaroli, M.I.; Daier, V.

XX Congreso Argentino de Química.

Córdoba. Argentina. (14 al 18 de noviembre de 1994).

5) “Oxidación de 2-desoxi-D-ribosa, D-ribosa y D-ribosa-5-fosfato con cromo (VI) en medio ácido”

Daier, V.; Rizzotto, M.; Signorella, S.; Frascaroli, M.I.; Sala, L.F.

* X Simposio Nacional de Química Organica. 12-15 de noviembre de 1995.

Los Cocos. Córdoba . Argentina.

* XV Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario.

Rosario (22-23 de noviembre de 1995)

6) “Estudio mecanístico de la interacción de hidratos de carbono con Cr(VI)”

L.F.Sala; S. Signorella; M. Rizzotto; C. Palopoli; S. García; M. Santoro; V. Daier; M.I. Frascaroli.

X Simposio Nacional de Química Organica.

Los Cocos. Córdoba (12-15 de noviembre de 1995)

7) “Estudio de la degradación oxidativa de 2-desoxi-D-ribosa y D-ribosa por acción de Cr(VI) en medio ácido”.

Daier, V.; Frascaroli, M.I.; Rizzotto, M.; Signorella, S.; Brondino, C.; Sala, L.F.

XXI Congreso Argentino de Química.

18 al 21 de Septiembre de 1996. Bahía Blanca. Argentina.

* XV Reunión anual de la Sociedad de Biología de Rosario.

Rosario (25-28 de noviembre de 1996)

8) “Oxidación de D-Ribosa y 2-Desoxi-D-Ribosa por acción del Cr(VI). Implicancias biológicas”.

Sala, L.F.; Signorella, S., Rizzotto, M., Daier, V., Frascaroli, M., Brondino, C.

X Congreso Argentino de Físico-Química

21-25 de Abril de 1997. San Miguel de Tucumán. Argentina

9) *“Estudio comparativo de la reactividad de aldosas y desoxialdosas con Cr(VI) en medio ácido”.*

Verónica Daier, Sandra Signorella, Marcela Rizzotto, Silvia García,
Roxana Cargnello, Juan González, Luis F. Sala

XII Congreso Argentino de Química

23-25 de Septiembre de 1998. La Plata. Argentina.

INDICE

	página
<u>Indice</u>	I
<u>Abreviaturas</u>	III
<u>Indice de Tablas</u>	V
<u>Indice de Figuras</u>	VII
<u>Capítulo 1: Introducción</u>	1
1.1- Aspectos biológicos del Cromo	2
1.1.1- Absorción, distribución, metabolismo y excreción	2
1.1.2- Rol del Cr(III) como nutriente esencial	5
1.1.3- Importancia actual de la problemática de contaminación con Cr(VI).	7
1.1.3: A) A nivel de suelos	7
1.1.3: B) A nivel celular	11
1.2- Estudios previos de las reacciones de reducción de Cr(VI) con aldosas en medio ácido.	16
1.3- Resonancia Paramagnética Electrónica aplicada a Cr ^V y Cr ^{III} .	27
1.4- Importancia de los ligandos estudiados.	34
<u>Objetivos</u>	39
<u>Capítulo 2: Parte experimental</u>	41
2.1- Instrumental	42
2.2- Materiales	44
2.3- Métodos	45
2.3.1- Preparación de soluciones	45
2.3.2- Detección de productos de reacción	45

2.3.3- Detección de Radicales libres orgánicos	52
2.3.4- Mediciones cinéticas	54
2.3.5- Control de estabilidad del sustrato	58
2.3.6- Detección de Cr(V)	60
<u>Capítulo 3: Resultados y discusión</u>	62
3.1- Oxidación de 2-desoxi-D-ribosa y D-ribosa por acción del Cr^{VI} en medio ácido	63
3.1.1- Análisis de los productos de reacción	63
3.1.2- Mediciones cinéticas	79
3.2- Oxidación de 2-desoxi-D-glucosa por acción del Cr^{VI} en medio ácido	105
3.2.1- Análisis de los productos de reacción	105
3.2.2- Mediciones cinéticas. Oxidación de 2-desoxi-D-glucosa por Cr ^{VI}	107
3.2.3- Oxidación de 2-desoxi-D-glucosa por Cr ^V	115
3.3- Estudio comparativo de la oxidación de aldosas por acción del Cr^{VI} en medio ácido	125
Efecto oxidante del Cr ^{VI}	133
Efecto oxidante del Cr ^V	139
<u>Capítulo 4: Resumen</u>	161
<u>Capítulo 5: Bibliografía</u>	164

ABREVIATURAS

Magnitudes físicas

θ	constante de Weiss
μ	momento magnético
λ	longitud de onda
ε	coeficiente de extinción molar
μg	micro gramo
χ	susceptibilidad magnética molar
emu	unidades electromagnéticas
G	gauss
g	constante giromagnética
GHz	giga hertz
J	Joules
Js	Joules. segundo
MB	magnetón de Borh
S	momento angular de espín
T	temperatura
t	tiempo
t_{∞}	tiempo infinito

Reactivos orgánicos:

2,6dRib	digitoxosa, (2,6-didesoxi-D-ribo-hexosa)
2dGlc	2-desoxi-D-glucosa
2dRib	2-desoxi-D-ribosa
2dRiba	ácido 2-desoxi-D-ribónico
2dRiba	ácido 2-desoxi-D-ribónico
6dGal	D-fucosa, (6-desoxi-D-galactosa)
ADN	ácido desoxirribonucleico
Alo	D-alosa
ARN	ácido ribonucleico
ATP	adenina nucleótido trifosfato
Fru	D-fructosa
FTG	Factor de Tolerancia a la Glucosa
Gal	D-galactosa
Gala	ácido -D-galactónico

Glc	D-glucosa
GSH	glutación
Lac	D-lactosa
Man	D-manosa
NAcglc	N-acetil-D-glucosamina
Rib	D-ribosa
Riba	ácido D-ribónico
Ram	L-ramnosa
Sorb	L-sorbosa
Xil	D-xilosa
24DNFH	2,4-dinitrofenil hidracina
A ₀	absorbancia inicial
A _∞	absorbancia a tiempo infinito
a _N - a _H	constante de acoplamiento hiperfino debido al espín nuclear del N y el átomo de H y el electrón desapareado del radical nitroxilo
A	constante de acoplamiento
azúcar •	radical azúcar
csp	cantidad suficiente para
DMPO	N-óxido de 5,5- dimetil-1-pirrolina
I	fuerza iónica
IR	infra rojo
k	constante de velocidad
K	constante de equilibrio
M	molaridad
p[H]	-log [H ⁺]
ppm	partes por millón
RMN	resonancia magnética nuclear
RPE	Resonancia Paramagnética Electrónica
S	sustrato orgánico
shf	estructura super hiperfina
UV-vis	ultra violeta- visible

uso del punto como indicador de cifra decimal

INDICE DE TABLAS

página

Materiales y Métodos:

Tabla 1: Detección de radicales libres mediante la polimerización de acrilonitrilo. Esquema de la técnica seguida.	52
Tabla 2: Comprobación del cumplimiento de la Ley de Beer en soluciones de $K_2Cr_2O_7$.	55
Tabla 3: Efecto de la $[Cr^{VI}]$ en la oxidación de Rib(6).	57

Sistema Rib- Cr^{VI} y 2dRib- Cr^{VI} :

Tabla 4: Desplazamientos químicos de RMN de ^{13}C para la mezcla de reacción: $[2dRib]-[Cr^{VI}]$.	66
Tabla 5: Valores observados de la constante de velocidad de pseudo-primer orden (k_{obs}) y de k a diferentes concentraciones de $HClO_4$ y Rib.	86
Tabla 6: Valores observados de la constante de velocidad de pseudo-primer orden (k_{obs}) y de k' a diferentes concentraciones de $HClO_4$ y 2dRib.	89

Sistema 2dGlc- Cr^{VI} :

Tabla 7: Constantes de velocidad de pseudo primer orden (k_{obs}), calculadas y observadas ($10^4 k / s^{-1}$)	111
---	-----

Estudio comparativo aldosas- Cr^{VI} :

Tabla 8. Constantes de velocidad de pseudo-primer-orden (k_5 y	
--	--

k_6) para diferentes concentraciones de monosacáridos , 130

Tabla 9. Constantes de velocidad de pseudo-primer-orden (k_{obs}) para 26drib a diferentes concentraciones de $HClO_4$. 131

Tabla 10. Constantes de velocidad de segundo orden (k_h) 134

Tabla 11. Constantes de velocidad de segundo orden (k_b) y de formación de Cr^V (K_b) 139

Tabla 12. Parámetros del espectro de RPE de Cr^V 145

Tabla 13. Intensidades relativas de las señales de RPE de Cr^V tomadas cinco minutos despues de preparada la mezcla de reacción, a distintas $[H^+]$. 155

INDICE DE FIGURAS

página

Introducción:

Figura 1(a): Circulación de cromo en un medio ambiente contaminado	10
1(b): Toxicidad del Cr^{VI} : captación, reducción y daño al ADN.	12
Figura 2: Mecanismo general en la oxidación crómica de distintos sustratos.	22
Figura 3: Espectros de RPE de solución acuosa de la mezcla de reacción de Glc(1), Cr^{VI} y GSH.	23
Figura 4: Espectros de RPE de banda X en la reacción de intercambio de ligandos de $[\text{CrO}-(\text{ehba})_2]^-$ con Glc(1).	25
Figura 5: Espectros de RPE de banda S y banda Q en la reacción de intercambio de ligandos entre $[\text{CrO}-(\text{ehba})_2]^-$ con Glc.	26

Materiales y Métodos:

Figura 6: Curva de Calibración de Cr^{VI}	55
Figura 7: Espectros uv-visible de soluciones de Rib(6) en agua .	59

Sistema Rib- Cr^{VI} y 2dRib- Cr^{VI} :

Figura 8(a): Curva termogravimétrica del complejo Riba- Cr^{III} .	68
(b) : Gráficas de Gram-Schmidt del complejo Riba- Cr^{III} .	69
Figura 9: Espectro IR de D-Ribono-1,4-lactona.	71
Figura 10: Espectros IR del complejo Riba- Cr^{III} .	71

Figura 11: Espectros uv-visible del complejo Riba-Cr ^{VI}	
(a) rango de pH 2-8.4	76
(b) Acidez 0.1-1M de HClO ₄	78
Figura 12: Espectros uv-visible a [HClO ₄] = 0.5 M.	78
Figura 13: Espectros uv-visible de la mezcla de reacción Rib- Cr ^{VI} a distintos tiempos.	80
Figura 14: Dependencia del ln(At-Ainf) con el tiempo en la oxidación crómica de Rib(6).	82
Figura 15: Dependencia del ln(At-Ainf) con el tiempo en la oxidación crómica de 2dRib(13).	83
Figura 16: Altura pico- pico de la señal de RPE de Cr ^V vs. tiempo.	85
Figura 17 : Influencia de la concentración de Rib(6) sobre la k _{obs} a distintas concentraciones de HClO ₄ .	87
Figura 18: Influencia de la concentración de HClO ₄ sobre la k en la oxidación crómica de Rib.	88
Figura 19 : Influencia de la concentración de 2dRib sobre la k _{obs} a distintas concentraciones de HClO ₄ .	91
Figura 20: Influencia del cuadrado de la concentración de HClO ₄ sobre la k' en la oxidación crómica de 2dRib.	92
Figura 21: Espectro de RPE de la mezcla de reacción Rib-Cr ^{VI} , con DMPO.	97
Figura 22: Espectro de RPE de banda X de la mezcla de reacción Rib- Cr ^{VI} a distintas [H ⁺].	101
Figura 23: Espectro de RPE de banda X de la mezcla de reacción 2dRib-Cr ^{VI} a distintas [H ⁺].	104

Sistema 2dGlc-Cr^{VI}:

Figura 24 : Dependencia del $\ln(\text{At-Ainf})$ con el tiempo en la oxidación crómica de 2dGlc(14).	107
Figura 25: Efecto de la $[\text{2dGlc}]$ sobre k_{obs} .	108
Figura 26: Efecto de la $[\text{HClO}_4]$ sobre la pendiente b.	109
Figura 27: Espectro de RPE de la mezcla de reacción 2dGlc- Cr ^{VI} , con DMPO.	114
Figura 28: Señal de RPE de banda X para la mezcla de reacción 2dGlc - Cr ^{VI} . a) $\text{p[H]}=4$, b) $\text{p[H]} = 7$, Temperatura ambiente	116
Figura 29: Señal de RPE de banda X para la mezcla de reacción 2dGlc - Cr ^{VI} . a) $\text{p[H]}=7$ solución congelada ($T= 100 \text{ K}$). b) $\text{p[H]} = 7$. $T= 25^\circ\text{C}$.	118

Estudio comparativo aldosas-Cr^{VI}:

Figura 30: Dependencia de (At-Ainf) con el tiempo en la oxidación crómica de aldosas.	128
Figura 31 : Dependencia de (At-Ainf) y $\ln(\text{At-Ainf})$ con el tiempo en la oxidación crómica de 26drib(12).	132
Figura 32: Dependencia de k_6 con la $[\text{Ald}]$.	134
Figura 33: Dependencia de k_h con $[\text{H}^+]^2$ en la oxidación crómica de 26drib(12).	136
Figura 34: Espectro de RPE de la mezcla de reacción de Ald-Cr ^{VI} con DMPO.	138
Figura 35: Dependencia de k_5 con la $[\text{Ald}]$.	140
Figura 36: Espectro de RPE de banda X para distintas mezclas de reacción.	143

Figura 37: Espectro de RPE de banda X. Mezcla de reacción Glc- Cr ^{VI}	144
Figura 38: Espectro de RPE de banda X. Mezcla de reacción Gal- Cr ^{VI} y mezcla de reacción 6dGal- Cr ^{VI} .	149
Figura 39: Espectro de RPE de banda X de la mezcla de reacción Gal- Cr ^{VI} .	152
Figura 40: Intermediario quelato con dos conformaciones diferentes del anillo azúcar.	158

CAPÍTULO 1: **INTRODUCCIÓN**

1.1- ASPECTOS BIOLÓGICOS DEL CROMO

El cromo elemental no se encuentra en la naturaleza. La fuente natural mineral mas importante es la cromita (FeOCr_2O_3), una espinela con Cr^{III} en huecos octaédricos y Fe^{II} en huecos tetrahédricos¹.

El Cr es ubicuo en el universo, ocupa el sexto lugar en la corteza terrestre, decimoquinto en el agua de mar y en el cuerpo humano. En la corteza terrestre y el agua el rango de concentraciones es de 200 ppm y 1 a 2.5 ppb, respectivamente. La ingesta diaria en humanos se estima en 60 μg (30 a 100 μg), siendo 10 μg aportados por el agua².

1-1- Absorción, distribución, metabolismo y excreción

Una de las vías de ingreso del cromo al organismo, es por el tracto gastrointestinal. Dado que el tiempo de contacto del cromo con el epitelio es relativamente corto, su absorción es influenciada por el tiempo de contacto. A nivel de la membrana plasmática la absorción de los complejos Cr^{III} -ligandos hidrofílicos es muy bajo a diferencia de los complejos Cr^{III} -ligandos liposolubles.

A nivel de intestino se absorbe por difusión, por medio de canales de transporte selectivo y específico y en algunos casos, por pinocitosis. El cromo absorbido se transporta en sangre unido a proteínas, principalmente a transferrina y algo a albúmina. Se incorpora a los glóbulos rojos, uniéndose a hemoglobina³.

Una vez que ingresa al organismo, se acumula en distintos órganos. Los mayores niveles se ubican en hígado, riñones, pulmón y bazo.

La excreción es, principalmente, urinaria; pero en casos en donde la absorción es inhalatoria se halló excreción en heces, por secreción biliar⁴. La excreción urinaria de Cr^{VI} (como $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) es mas rápida que la de Cr^{III} (como $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$).

La absorción, transporte, distribución y eliminación de compuestos de cromo en humanos y animales depende de diversos factores³:

a) solubilidad y número de oxidación del Cromo

b) exposición a materiales constituidos por Cromo.

c) tamaño de las partículas en el polvo atmosférico con presencia de compuestos de Cromo.

a) Solubilidad y número de oxidación del Cromo.

Si bien el cromo presenta estados de oxidación que van desde -2 a +6, solo los estados +3 y +6 prevalecen en suelos. La forma más tóxica es el estado hexavalente, generalmente mas móvil que el trivalente. Los oxoaniones de Cr^{VI} : cromato, cromato ácido y dicromato son pobremente absorbidos en suelo bajo condiciones alcalinas o levemente ácidas. En contraste, en esas mismas condiciones de acidez el Cr^{III} precipita como $\text{Cr}(\text{OH})_3$ o $\text{Fe}_x\text{Cr}_{1-x}(\text{OH})_3$, viéndose su movilidad notablemente reducida. El ion Cr^{III} puede también inmovilizarse por complejación con moléculas orgánicas que se adsorben sobre la superficie mineral⁵.

b) Exposición a materiales que contienen Cromo.

Generalmente la eliminación de compuestos químicos de carácter industrial contienen niveles potencialmente altos de Cr^{VI} . Las personas que trabajan o viven en la vecindad de estos sitios “elegidos para la deposición de este material de descarte” se encuentran expuestos al contaminante Cr^{VI}

que ingresa por múltiples rutas: oral, contacto dérmico e inhalación, ingestión⁶.

Por vía oral ingresa al estómago, cuya acidez hace que el Cr^{VI} se reduzca a Cr^{III} previo a su absorción. Solo si el contenido de Cr excede la capacidad reductora del estómago, se absorbe por la mucosa gastrointestinal, resultando tóxico para la sangre, hígado y riñón⁷.

Por vía dermatológica, el Cr^{III} no presenta riesgo debido a su baja liposolubilidad a través de la piel. El Cr^{VI} en muy bajas concentraciones provoca dermatitis alérgica por contacto en individuos sensibles. A concentraciones mayores el Cr^{VI} puede producir efectos dérmicos en la población general por su naturaleza irritante.

Por vía inhalatoria, puede causar toxicidad produciendo cáncer de pulmón o distintas lesiones de tipo broncopulmonares o nasal como resultado de las propiedades corrosivas del Cr^{VI} en los sitios de contacto del tracto respiratorio.

c) Tamaño de las partículas en el polvo atmosférico con presencia de compuestos de cromo.

La entrada y ubicación en el tracto respiratorio es dependiente del tamaño de la partícula³:

<u>dimensiones(nm)</u>	<u>penetración</u>
> 4.7	faríngea
3.3 - 4.7	traquea - bronquiolos primario
2.1 - 3.3	bronquiolos secundarios
1.1 - 2.1	bronquiolos terminal
< 0.65	alvéolo

1.2- Rol del Cr^{III} como nutriente esencial

El cromo en su estado trivalente es considerado un nutriente esencial³ a nivel de elemento traza. Los complejos de Cr^{III} participan en el metabolismo de la Glc⁸(1). El Cr^{III} ingresa al organismo mediante alimentos de origen vegetal y animal: azúcar negra, frutas, cereales, grasa animal y manteca; huevos de gallina, carne, pescados y en el agua potable de ingesta³.

Manifestaciones del déficit de Cr^{III} 8-11

- * disminución de tolerancia a la Glc (1)
- * glucosuria
- * aumento de la insulina circulante
- * disminución de receptores de insulina
- * aumento de colesterol y triglicéridos
- * síntomas de hipoglicemia: somnolencia, temblor, visión borrosa

Alteración de la tolerancia a la D-glucosa (Glc)(1) 8-11:

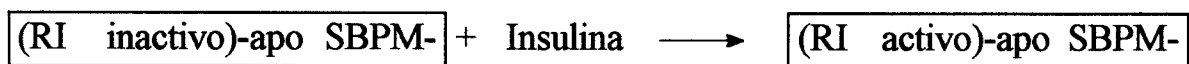
En la década del '50 ratas alimentadas con una dieta deficiente en cromo, desarrollaron intolerancia a Glc(1), que se revertía sólo con la adición de Cr^{III} a la dieta, descubriéndose un material procedente de un extracto de levadura rico en Cr^{III} , llamado factor de tolerancia a la Glc (FTG) involucrado en el metabolismo de los hidratos de carbono⁸⁻¹¹.

La presencia del FTG fue descripta por primera vez por Glaser y Halpern en 1929¹⁷. Metz¹⁸ postuló que el cromo en el FTG actúa como cofactor para la unión de la insulina al receptor de membrana.

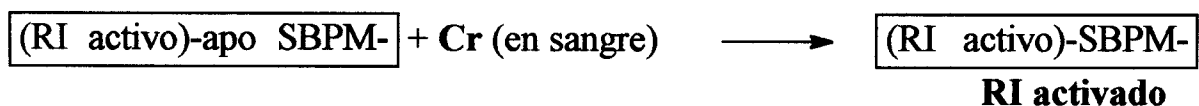
Estudios recientes sugieren que una sustancia de baja masa molecular, unida al cromo (SBPM-Cr), sería la responsable de la actividad biológica del cromo, actuando como un mecanismo de amplificación de la señal de insulina (estimulando la conversión de Glc en CO₂ y lípidos)⁸⁻¹¹. Dicha sustancia es un oligopéptido de 1500 Daltons que une cuatro iones Cr por molécula, presentándose en la estructura de este ligando natural un 50% de aminoácidos que presentan residuos: aspartato y glutamato. Un proceso de hidrólisis ácida natural permite obtener el FTG¹¹.

El mecanismo propuesto para la activación del receptor de insulina sería el siguiente⁹:

la forma inactiva del receptor de insulina (RI) se convierte en su forma activa por la unión de la insulina



con activación de un mecanismo disparador del Cr^{III} desde la sangre hacia las células dependientes de insulina, donde se formaría el SBPM-Cr activo.



Finalmente, al unirse al receptor de insulina, promueve la actividad quinasa de dicho receptor.

1.3- Importancia actual de la problemática de contaminación con

Cr(VI)

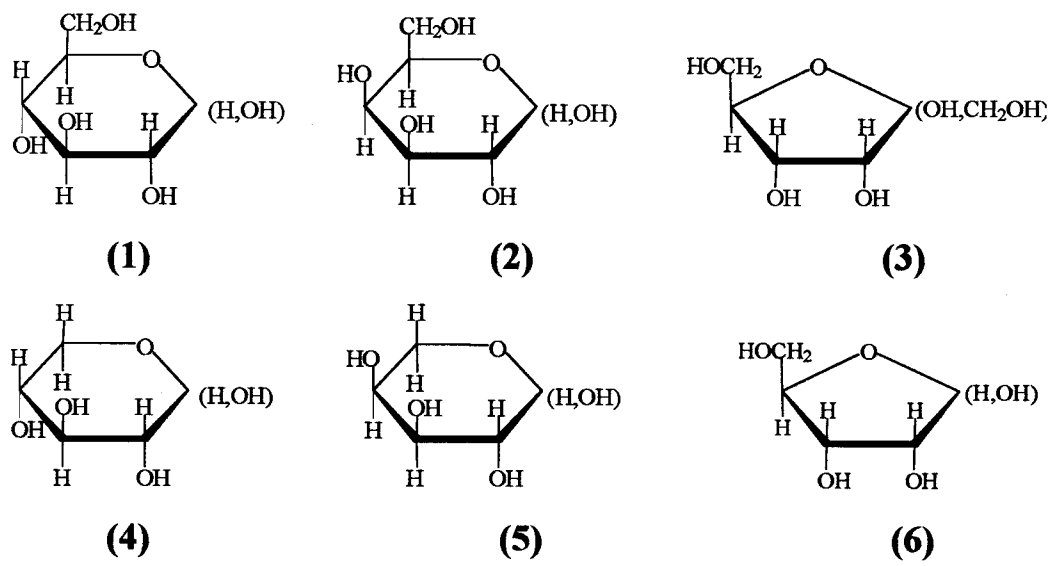
1.3.1-A nivel de suelos

Composición del suelo. Presencia de hidratos de carbono.

El suelo es una mezcla compleja de numerosos constituyentes inorgánicos y orgánicos, los cuales varían en tamaño, forma, constitución química y reactividad. Los constituyentes orgánicos se nombran genéricamente con el término *humus* y provienen de la descomposición rápida de plantas y animales. Aproximadamente el 50 % de estos constituyentes orgánicos son denominados sustancias húmicas: ácidos orgánicos de masa molecular variable, que puede alcanzar valores de 81000 Daltons (*ácidos fúlvicos y húmicos*). A su vez en el suelo se produce una continua captación, degradación y síntesis de carbohidratos¹⁴.

Las fuentes primarias de azúcares son las plantas, que están constituidas en mas del 50 % de su peso seco por dichos compuestos. Los carbohidratos se incorporan al suelo, posterior a la muerte del tejido o por el exudado de raíces vivas. Los hidratos de carbono se presentan en las plantas bajo la forma de mono, oligo, polisacáridos y glicósidos y en los animales como glucógeno, mucoides, quitina, ácidos nucleicos . Los microorganismos contribuyen a la degradación de plantas y animales, sintetizando la mayor parte de los carbohidratos en suelos aeróbicos¹⁴. La composición total de carbohidratos en suelos fue estimada entre el 5- 20 % del total de materia orgánica¹⁴.

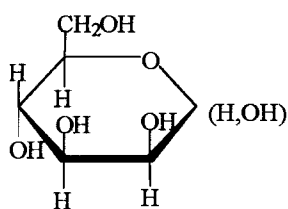
Monosacáridos presentes en el suelo a nivel de traza: Glc(1), Gal(2), Fru(3), Xil(4), Ara(5) y Rib(6)¹⁴.



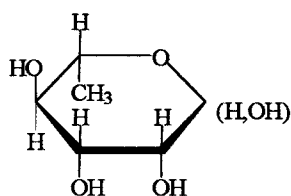
Un análisis realizado sobre un extracto en agua caliente de un suelo noruego dio por resultado¹⁴:

Hidrato de carbono	% del contenido orgánico del suelo
Glc (1)	0.22 %
Gal (2)	0.02%
Fru (3)	0.035%
Xil (4)	0.03%
Ara (5)	0,04%
Rib (6)	< 0.001%

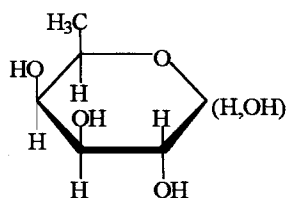
Polisacáridos: el contenido en suelo es del orden de 5 - 20 % del contenido de materia orgánica. En un hidrolizado de extractos de polisacáridos de distintos suelos se aislaron : Glc(1), Gal(2), Xil(4), Ara(5), Rib(6), Man(7), Ram(8), 6dGal(9)¹⁴.



(7)



(8)



(9)

Cr^{VI} en suelos

El cromo se encuentra en suelos como resultado de su uso en una gran variedad de industrias como ser¹⁵: soldaduras de acero inoxidable, cromados, manufactura y uso de pigmentos de cromo, producción de ferrocromo, tratamientos de maderas, etc (figura 1(a)). En regiones industriales de Estados Unidos es el segundo contaminante inorgánico, después del plomo⁵.

Las evidencias experimentales de la toxicidad del Cr^{VI} en suelos quedaron probadas en estudios que demostraron que:

- * Los ácidos fúlvico y húmico reaccionan en agua con el Cr^{VI} en un rango de p[H] de 3 a 12 originando especies de Cr^V que pueden detectarse por RPE durante 1 o 2 días¹⁶.

- * El Cr^{VI} es absorbido por las raíces de las plantas, en donde se reduce a Cr^{III}. En estudios realizados en plantas de ajo cultivadas en soluciones de distinta concentración de dicromato de potasio, se observó por estudios de RPE sobre hoja, tallo y raíz que el intermediario de Cr^V se acumula y persiste durante varios días¹⁷.

- * Los “basurales químicos” en campos de pastoreo que contienen del orden de 127-138 ppm de Cr^{VI} ocasionaron muerte de ganado vacuno con presencia de Cr^{VI} del orden de 1300 ppb en leche de vaca (valor normal:

inferior a 20 ppb). Cuando la concentración de cromo es anormalmente alta, el intermediario Cr^{V} no es totalmente reducido por la leche sino que queda estabilizado formando un complejo con la D- lactosa (Lac) (18), a través de las funciones oxigenadas de la Glc.^{34,35}

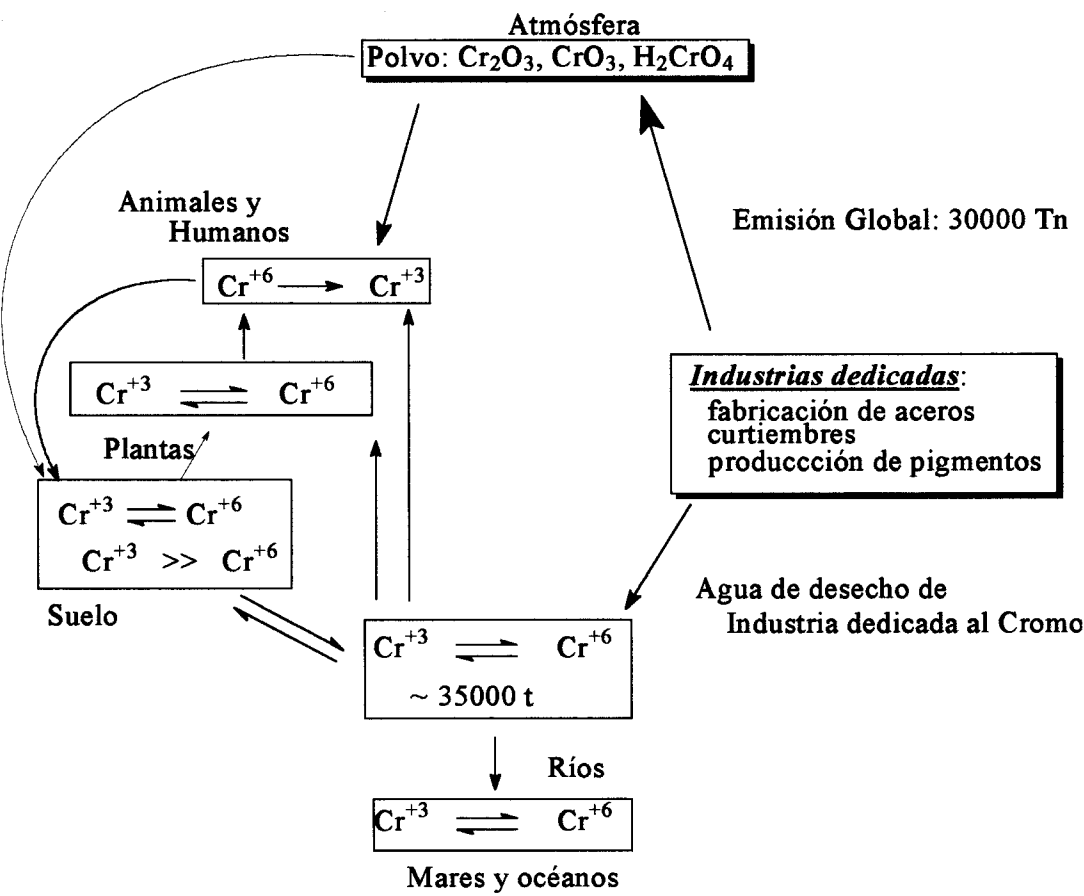
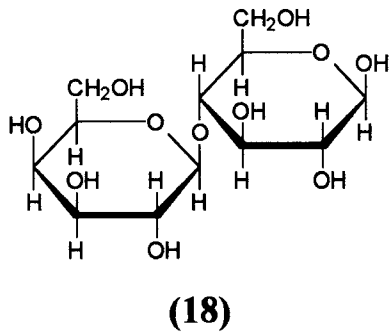


Figura 1(a) : Circulación de cromo en un medio ambiente contaminado³⁰.

1.3.2- A nivel celular

Los compuestos de Cr^{VI} son mutagénicos, cancerígenos y genotóxicos, tanto en sistemas *in vivo*, como *in vitro*. Dado que el Cr^{VI} no reacciona directamente con el ADN a p[H] fisiológico²⁰ su reducción debe ocurrir en un paso previo en el mecanismo²¹, por lo que el agente activo cancerígeno debe ser algún intermediario o el Cr^{III} formado como producto final de la reacción²²⁻²⁵.

El cromato, forma predominante del Cromo^{VI} en solución acuosa a p[H] = 6.0-7.0, ingresa a la célula con extrema facilidad empleando canales aniónicos no selectivos a través de procesos de difusión (dada su conformación tetraédrica, isoestructural con el anión fosfato y el sulfato), mientras que la pared celular permanece impermeable a la introducción de Cr^{III} ²³.

Una vez que atraviesa la barrera inicial de la membrana celular el Cr^{VI} es reducido por aminoácidos, ácido ascórbico, ácidos carboxílicos, glutatión y otras moléculas de baja masa molar^{21,26-30} y genera intermediarios reactivos tales como: Cr^{V} , Cr^{IV} , Cr^{III} , radical superóxido, agua oxigenada, oxígeno singlete y radicales libres orgánicos, que pueden enlazarse a macromoléculas biológicas tales como ADN, proteínas, etc. o a moléculas de baja masa molar, tales como glutatión, cisteína, nucleótidos, etc. e interrumpir y/ o alterar su función celular (figura 1(b)).

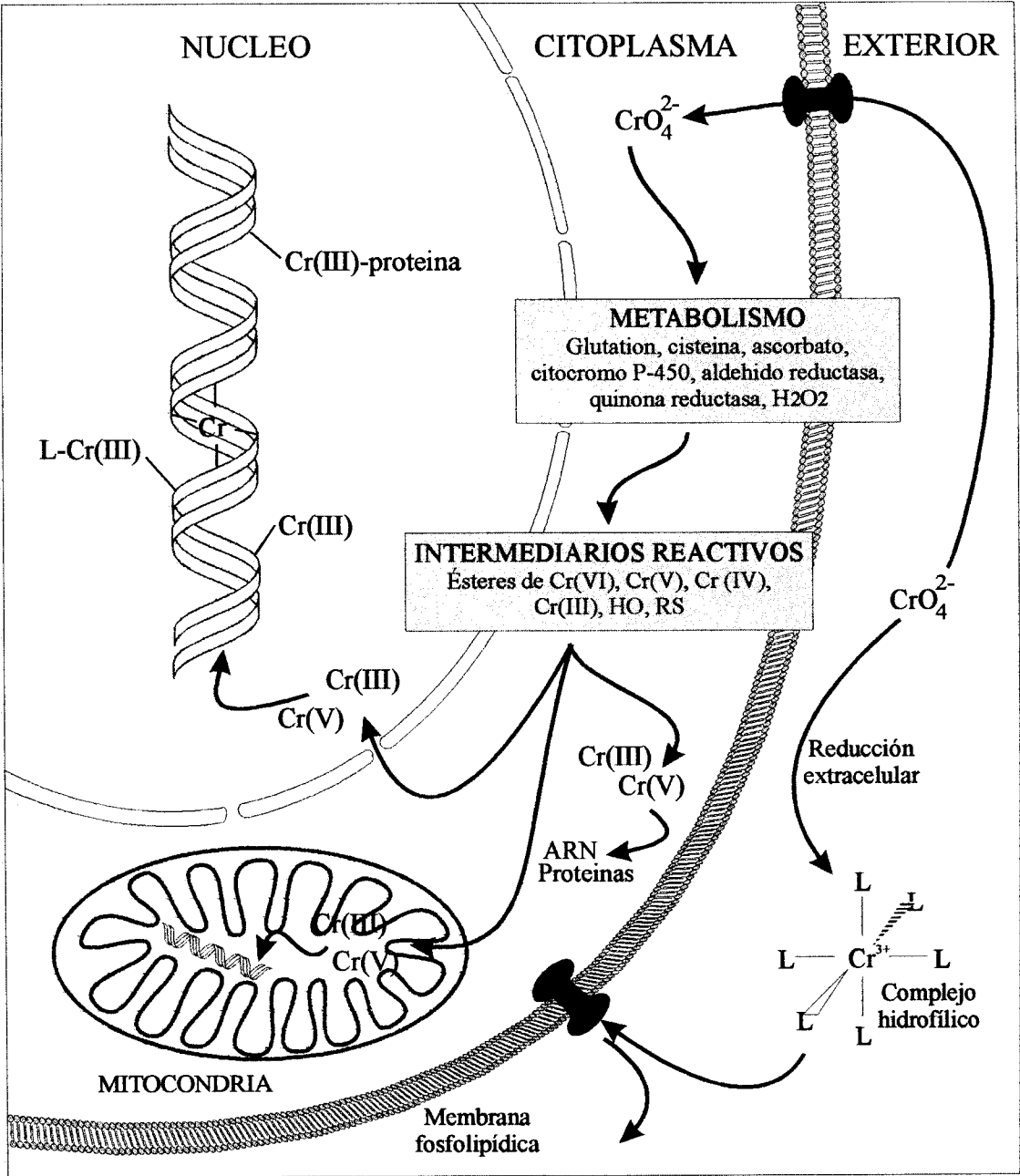
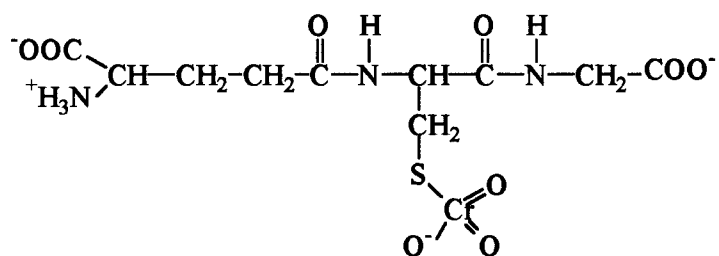


Figura 1 (b): Toxicidad del Cr^{VI} : Captación, reducción y daño al ADN

Estos estados de oxidación intermedios en dicha reducción son frecuentemente estabilizados por formación de complejos con ligandos que poseen dos átomos de oxígeno cuya configuración es apta para formar un anillo quelato de cinco miembros alrededor del metal, ejemplos: 1,2-dioles y α -hidroxiácidos⁻. A su vez, el ácido nucleico: ARN presenta en su constitución la aldosa Rib(6), con dos grupos hidroxilos con configuración cis en un anillo furanósico, geometría apropiada para coordinar con el Cr^{V} ³¹.



Posterior a esta unión se produciría la reducción del Cr^{VI} a Cr^{III} , lográndose una baja concentración de Cr^{VI} en casos de mínima contaminación. Si el grado de contaminación es masivo, se presentan dos situaciones: (a) agotamiento del Glutathión celular con acumulación de radicales libres y estabilización de especies de ester crómico y (b) complejos de Cr^{V} que pueden alcanzar el núcleo y organelas de la célula³².

La destrucción del ADN daría lugar a los cambios funcionales observados en su replicación y transcripción, aspecto crucial en el efecto carcinogénico de los compuestos de Cr^{VI} y sus metabolitos^{21,26,29}.

Se pueden resumir los efectos nocivos más importantes a nivel celular de la siguiente forma:

- * entrecruzamientos o corte de hebras de las cadenas de ADN
- * formación de aductos Cr-ADN
- * entrecruzamientos ADN-proteínas
- * formación de 8-oxo-2-desoxiguanosina
- * inducción de sitios apurínicos/ apirimidínicos (pérdida de bases purínicas o pirimidínicas en ADN)
- * formación de sitios alcalino-lábiles (lesión que aparece al trabajar en condiciones alcalinas, donde se induce un corte de hebras sencillas del ADN)

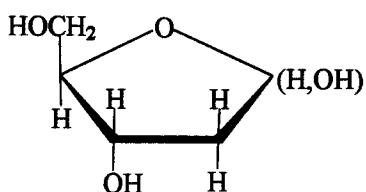
Los compuestos de Cr^{III} interaccionan directamente con el ADN y proteínas. Su mutagenicidad se debe a los daños inducidos por la dupla redox $\text{Cr}^{\text{III}}/\text{Cr}^{\text{II}}$ ²⁴.

Los hidratos de carbono componentes del ARN y ADN constituyen centros de reacción por excelencia para coordinar Cr^{VI} y Cr^{V} , y a su vez reducir a esta última especie altamente oxidante.

En 1996 y 1997 Wetterhan y Sudgen^{23,25}, estudiaron la reacción redox entre el complejo bis(2-etil-2-hidroxibutirato) oxocromato(V) ($[\text{CrO}(\text{ehba})_2]$) con nucleótidos o ADN encontrando que los productos de

oxidación correspondían a un proceso de sustracción de un átomo de hidrógeno a partir de la unidad 2dRib (13). El mecanismo de reacción demostraba que la reacción redox tenía mediante la pérdida del átomo de H del C₄' de la unidad de 2dRib (13), con una contribución menor de una reacción colateral a nivel del C₁'.

Los resultados de este trabajo estuvieron de acuerdo con los hallados en nuestro estudio de interacción de 2dRib(13) y Rib (6) con Cr^{VI}.



(13)

1.2- ESTUDIOS PREVIOS DE LAS REACCIONES DE REDUCCIÓN DE Cr^{VI} CON ALDOSAS EN MEDIO ÁCIDO

En 1971 Chandra y Mittal³³ publicaron el primer trabajo con características fisicoquímicas referido a la oxidación de un sistema constituido por un hidrato de carbono y Cr^{VI}: Glc(1)-ácido crómico en medio perclórico a fuerza iónica constante y un rango de temperatura entre 20-50°C; en el cual se destaca que para poder proponer un mecanismo de reacción se requiere el estudio de un conjunto de hexosas bajo las mismas condiciones de trabajo. Si bien estos autores no lo manifiestan abiertamente, queda implícita la importancia de la conformación molecular y configuración de cada grupo hidroxilo del sustrato orgánico como especie reactiva en el proceso de oxidación.

En un período de casi 10 años, siete trabajos³⁴⁻⁴⁰ fueron informados en la literatura científica sobre oxidaciones de hidratos de carbono (en su mayoría aldosas) por acción del Cr^{VI} en medio perclórico empleándose concentraciones de ácido de 0,8 a 3,2 M y temperaturas de trabajo entre 30 y 50°C.

Estos trabajos coinciden en proponer:

- orden de reacción uno con respecto al sustrato orgánico.
- participación de estados de oxidación intermedios del cromo.
- mecanismos de reacción común para un conjunto de aldosas estudiadas.

Estos estudios adolecen de las siguientes fallas:

- emplean un rango muy limitado de concentraciones de sustrato orgánico, lo cual implica que no pueden apreciar si existen zonas donde cambia el orden de reacción y por ende cambia el mecanismo.

- postulan la participación de estados de oxidación intermedios (Cr^{V} , Cr^{IV}) pero no aplican ninguna técnica para detectarlos como puede ser técnicas de Resonancia Paramagnética Electrónica a diferentes temperaturas (de 298 a 75 K).

- Emplean rangos de acidez en los cuales los sustratos orgánicos son inestables. Aunque los ácidos diluidos a temperatura ambiente no tienen otro efecto sobre las aldosas que catalizar la interconversión anomérica α - β , los ácidos minerales concentrados y/o en caliente producen cambios complejos que involucran deshidrataciones (furfural y 5-hidroximetil furfural) y formación de productos de condensación poliméricos insolubles en agua (huminas)⁴¹. Por otra parte los estudios que involucran disacáridos reductores se han desarrollado en un rango de acidez muy alto en los cuales el proceso de hidrólisis es muy pronunciado y por ende la especie reductora es una mezcla de disacárido reductor y producto de hidrólisis además de los de deshidratación⁴².

- Las velocidades de reacción en medios fuertemente ácidos aún a temperatura ambiente son tan rápidas que solamente se pueden seguir aplicando las técnicas “stop-flow”, que ninguno de los autores empleó en sus determinaciones cinéticas.

En 1992 Sala y colaboradores informaron los resultados cinéticos y mecanísticos del estudio del sistema constituido por las hexosas naturales Ram (8) y Man (7)⁴⁵ con Cr^{VI} en medio perclórico, determinándose:

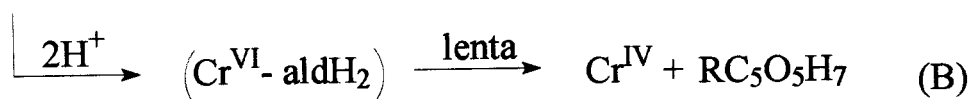
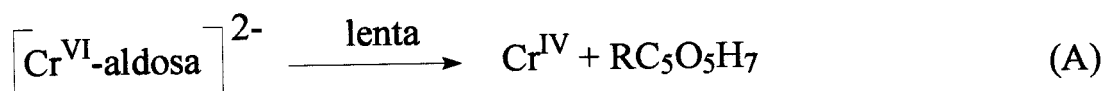
- 1) el grado de la formación del éster crómico intermediario,
- 2) la formación de Cr^V en la oxidación de aldosas, detectado por RPE (hasta entonces no informada en la literatura)
- 3) la capacidad de los grupos hidroxilo del azúcar para coordinar con el Cr^{VI}.
- 4) la influencia del C₆-OH en la reacción.

En base a datos cinéticos y a la detección de distintos intermediarios y productos, se propuso el siguiente mecanismo de reacción:

Formación del éster intermediario, en la primera etapa:

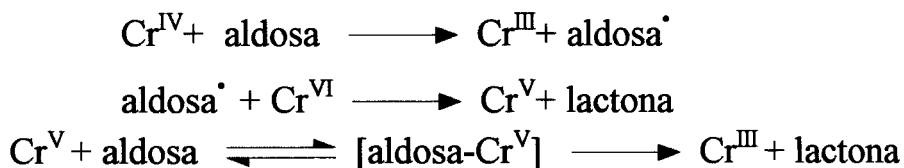


Este complejo puede descomponerse al producto directamente a través de etapas lentas (reacción (A)), o luego de protonarse a través del complejo neutro, descomponerse lentamente con transferencia de dos electrones, dando lugar a la formación del producto (reacción (B)):



donde R= CH₃ para Ram (8) y CH₂OH para Man (7).

Después de las etapas lentas, se proponen las siguientes etapas de reacción rápidas:



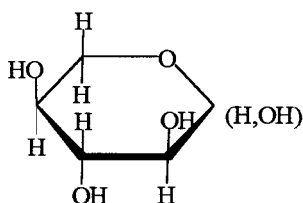
Como observaron estos autores, ambas aldosas reaccionan en forma similar en este medio de reacción. Sin embargo, se puntualiza que existe una diferencia importante en el valor de la constante cinética de formación del éster crómico, K. Dicha constante es 2 veces menor para el complejo Ram-Cr^{VI}, que para el Man-Cr^{VI}, siendo la velocidad de oxidación mayor para el primer complejo. Esta diferencia de reactividad se atribuye a las características estructurales de los complejos de Cr^{VI} de Ram y Man. Este hecho se basa en asumir que las diferencias estructurales de los complejos de Cr^V (determinadas por evidencias espectroscópicas), se corresponden con las mismas diferencias estructurales en los complejos de Cr^{VI}.

Simultáneamente a la publicación de trabajos por el Grupo del Área Inorgánica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario sobre la oxidación de hidratos de carbono de importancia biológica por acción del agente contaminante Cr^{VI}, se publicaron los estudios realizados en el mismo tema por Rao y colaboradores⁴⁶⁻⁴⁹. Estos trabajos se realizaron en medio ácido (en un rango de 0.35 - 1.65 M de ácido perclórico) y en exceso del agente reductor. **En ninguno de éstos estudios se analizaron los productos finales de reacción, ni se propusieron los mecanismos de la reacción en estudio.**

A modo de ejemplo, de todos estos trabajos comentaremos uno reciente⁴⁷ (año 1993), en el que se realiza un estudio comparativo de la



reactividad de aldosas con Cr^{VI} . Las aldosas estudiadas fueron las siguientes: Glc (1), Gala (2), Man (7), Fru (3) y Sorb(10).



(10)

Los autores hallaron que la reactividad era característica del sustrato utilizado y que ésta variaba según el p[H] en estudio.

Por estudios cinéticos, electroquímicos y de RPE encontraron que la reactividad variaba según la siguiente secuencia :

A $\text{p[H]} = 1.65$:

Fru (3) > Sorb (10) > Gal (2) > Man (7) > Glc (1)

A $\text{p[H]} = 0.35$:

Fru (3) > Gal (2) > Man (7) > Sorb (10) > Glc (1)

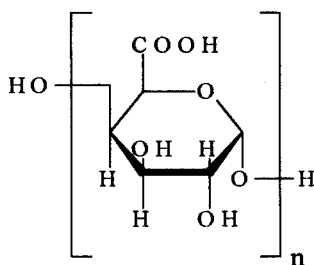
* si bien Rao y col. ⁴⁷ justifican la diferente reactividad considerando la influencia de los grupos oxhidrilo de la molécula del azúcar, al comparar la reactividad de Man(7), Gal(2) y Glc(1) proponen, alternativamente, la forma aldehídica para justificar la mayor reactividad de Man(7) y Gal(2) respecto a Glu(1), mientras que comparan las formas cíclicas para explicar la mayor reactividad de la Gal(2) respecto a la Man(7).

* en ningún caso se proponen mecanismos de reacción.

Por otra parte estos autores trabajaron en medio clorhídrico el cual no es recomendable por la posible reactividad del dicromato sobre el ion cloruro y, si bien bajo esas condiciones la reacción redox $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cl}^-$ se

encuentra minimizada⁵⁰, la interferencia del ion cloruro por su capacidad complejante sobre el Cr^{III} es muy notoria⁵¹.

Durante el período 1992-1997 Sala y colaboradores informaron en forma detallada estudios de interacción entre: aldosas- Cr^{VI} ^{45,52-54}, ácidos aldónicos- Cr^{VI} ⁵⁶⁻⁵⁷ y aminoazúcares- Cr^{VI} ⁵⁸⁻⁶⁰, con plena identificación de los intermediarios y productos de reacción y aplicando la técnica de aislamiento ($[\text{S}] \gg [\text{Cr}^{\text{VI}}]$). Estos sistemas constituyen modelos sencillos para entender la interacción de sistemas más complejos como puede serlo el formado por el ácido D-poligalacturónico (19) y Cr^{VI} , el cual se supone que se encuentra involucrado en la incorporación de Cr^{VI} a nivel de la pared celular de las plantas⁶¹.



(19)

Si bien los mecanismos propuestos por Sala y col. son específicos de cada sustrato, un esquema de los mismos puede generalizarse y dividirse en tres etapas:

- a) una primera etapa de formación del éster crómico
- b) etapas lentas de transferencia electrónica intramolecular (etapas determinantes de la velocidad)
- c) reacciones rápidas, en las que participan especies altamente reactivas formadas en las etapas previas (Cr^{V} , Cr^{IV} , $\text{S}^{\cdot+}$, $\text{S}^{\cdot-}$, $\text{CO}_2^{\cdot-}$), que dan los productos finales de oxidación y el Cr^{III} . Los resultados mecanísticos

obtenidos se pueden integrar según se detalla en la fig. 2:

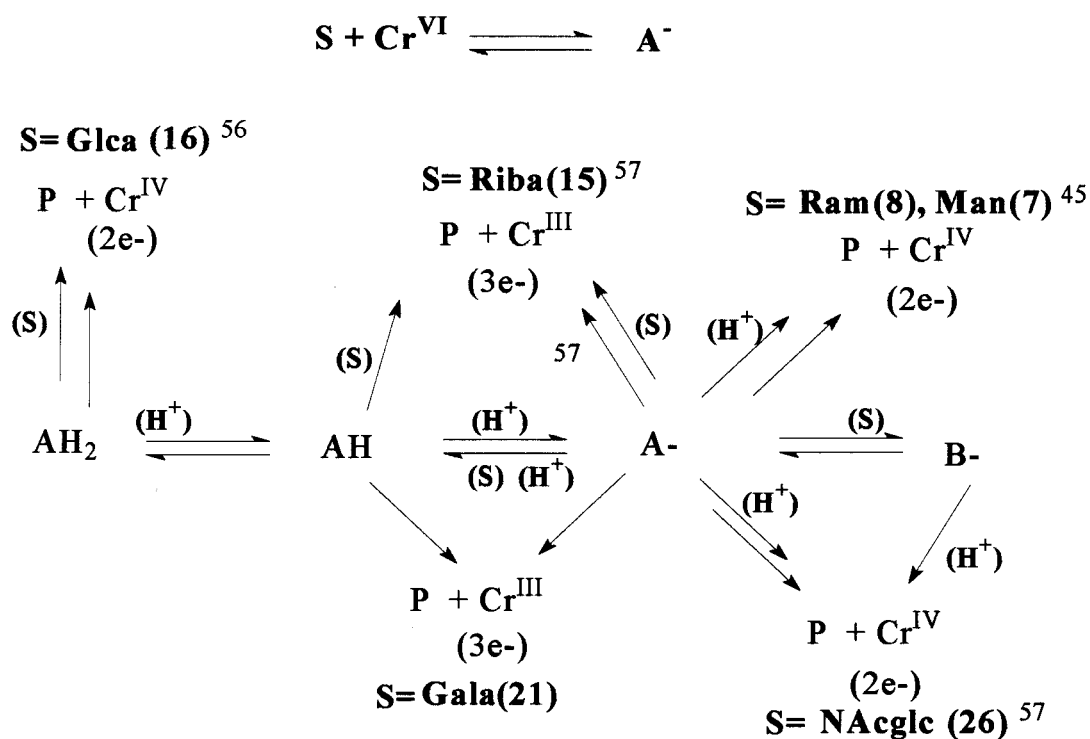


Figura 2 : Mecanismo general en la oxidación crómica de distintos sustratos.

En la década del '90 Branca y colaboradores⁶² informaron un estudio polarográfico y de RPE en procesos de reducción del ion cromato por acción del tripéptido glutathion (GSH) en presencia de hidratos de carbono (aldosas, desoxialdosas, aminoazúcares y ácido D-poligalaturónico). En ausencia de hidrato de carbono, el sistema binario GSH/Cr^{VI} da lugar a la formación de un tioéster, el cual puede ser reducido en forma muy eficiente por moléculas libres de glutathion (GSH). En el sistema ternario, GSH/Hidrato de Carbono/Cr^{VI}, con relación de concentraciones: Glc(1)/Cr^{VI}/GSH: (40/20/1), el Cr^{VI} interactúa con el ligando polihidroxilado (hidrato de carbono) (ó con ambos: hidrato de carbono y GSH) dando lugar

a ésteres que pueden ser fácilmente reducidos por el GSH. El intermediario Cr^{V} se estabiliza posteriormente por coordinación con los ligandos polihidroxilados: hidratos de carbono. Estos autores propusieron que los hidratos de carbono que presentan pares de grupos hidroxilos *cis* accesibles para la quelación del metal son los más efectivos en la formación, primero, del éster crómico y luego de los complejos de Cr^{V} .

Los estudios RPE del sistema ternario llevados a cabo con Glc (1) presentan un triplete bien resuelto a $g = 1,978$, $A(^{53}\text{Cr}) = 16,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ con valores de desdoblamiento superhiperfino de $1,0 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ con una relación de intensidad 1:2:1 (fig. 3).

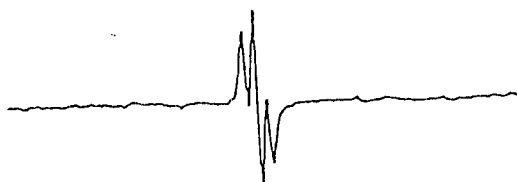


Figura 3 : Espectro de RPE de solución acuosa de la mezcla de reacción de Glc(1), Cr^{VI} y GSH.

Relación: Glc(1) / Cr^{VI} / GSH: (40/20/1)

$T = 25^\circ\text{C}$.

Los autores interpretaron este desdoblamiento superhiperfino como la coordinación del ion Cr^{V} a una molécula de hidrato de carbono mediante dos oxígenos hidroxílicos en los carbonos C1 y C2 y el desdoblamiento superhiperfino sería el resultado del acoplamiento con dos protones equivalentes unidos a estos carbonos.

Lay y colaboradores en 1995⁶³ en un nuevo estudio de interacción entre Cr^{V} y Glc (1), observaron que cuando se emplea Glc sin marcar, es muy difícil asignar el número de especies presentes en solución debido a la superposición de las señales. Empleando Glc heptadeuterada, los autores observaron que el espectro RPE no es simple, sino que la señal observada corresponde a la superposición de varias especies, aunque se simplifica notablemente (desaparece el acomplamiento shf) y resulta más fácil asignar el número de especies así como el valor de g_{iso} de cada una de ellas. No obstante, la información obtenida es aún mayor cuando se trabaja a distintas frecuencias y con el sustrato deuterado, debido a la gran cantidad de especies presentes en cada sistema (fig. 4 y 5).

El estudio de Branca y col.⁶² destaca que los modos de coordinación más importantes del ion cromato en los sistemas naturales han de ser: los grupos hidroxilos (Ej.: ácidos nucleicos) y grupos tioles (péptidos y proteínas) produciéndose ésteres ó tioésteres estables con posible participación activa en el transporte de Cr^{VI} a través de las membranas celulares y estabilización de intermediarios de Cr^{V} con posterior interacción con reductores biológicos como el Glutati6n (GSH). El estudio de Lay⁶³ demuestra que es necesario realizar una ampliación del estudio de RPE del sistema Hidrato de Carbono / Cr^{VI} comenzado por Branca y col.⁶². Ambos estudios hasta el momento no fueron profundizados ni por los mencionados autores ni por otros autores con comunicaci6n a la literatura cientí6fica.

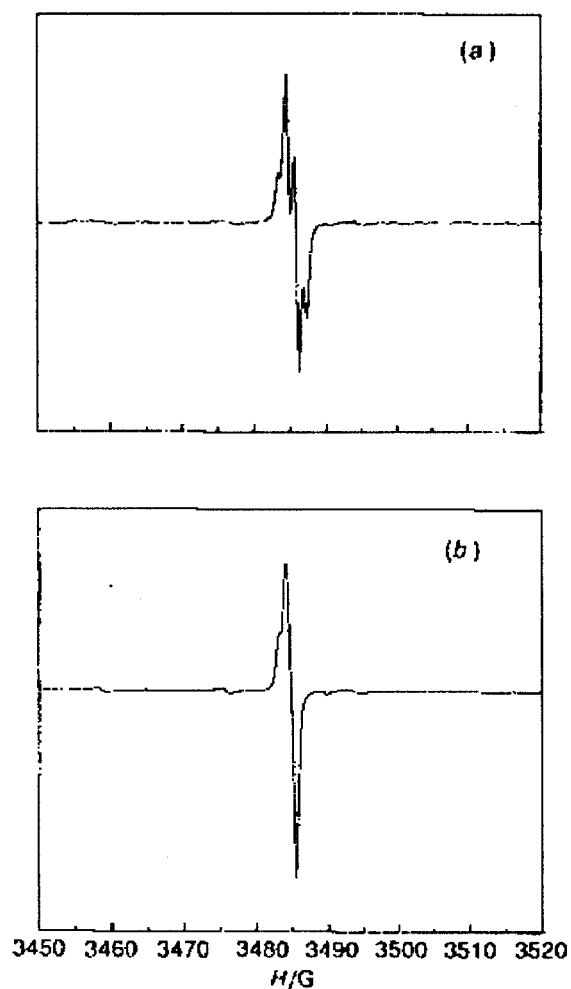


Figura 4 : Espectros de RPE (banda X) en la reacción de intercambio de ligandos $[\text{CrO}-(\text{ehba})_2]^-$ con Glc (1).

a) ligando con abundancia isotópica natural

b) ligando totalmente deuterado

Condiciones experimentales: $[\text{CrO}-(\text{ehba})_2]^-$: 1 mM [Gluc]: 111 mM

p[H]: 9-10 T: 293 K

Frecuencia: a) 9.6561 GHz y b) 9.6556 GHz

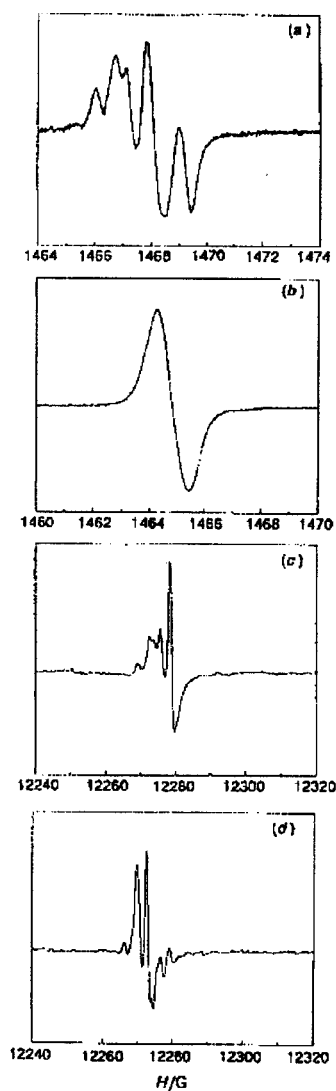


Figura 5 : Espectros de RPE en la reacción de intercambio de ligandos entre $[\text{CrO}-(\text{ehba})_2]^-$ con Glc (1).

(a) y (c) ligando con abundancia isotópica natural

(b) y (d) ligando totalmente deuterado

Condiciones experimentales: $[\text{CrO}-(\text{ehba})_2]^-$: 1 mM $[\text{D-glucosa}]$: 111 mM $p[\text{H}]$: 9-10 T: 293 K.

Frecuencias: Banda S : a) 4.04618 Ghz y b) 4.06448 Ghz

Banda Q: c) 33.9957 GHz y d) 33.9971 GHz

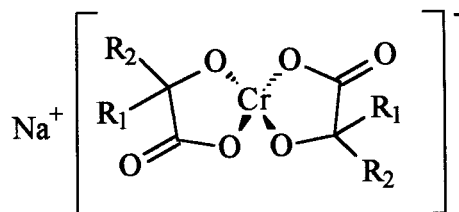
1-3- Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE) aplicada a Cr^V y Cr^{III}

Cromo (V): d^1

Desde que se comenzaron a estudiar los procesos de reducción del Cr^{VI}, se propuso que en la transferencia electrónica del agente reductor al oxidante, el Cr^V debía ser un intermediario en dicha reducción⁶⁵. Dada su naturaleza altamente reactiva e inestable se hacía muy difícil la posibilidad de encontrar evidencias experimentales de la presencia del mismo bajo formas complejas. En los últimos 20 años, el desarrollo de la RPE ha permitido a los investigadores lograr evidencia directa de la presencia del mismo en los procesos redox de reducción de Cr^{VI}^{43(a)}.

Hasta el presente se han logrado identificar más de 25 compuestos en los que se encuentra presente el Cr^V^{43(a),(b)}, siendo muy pocos los que logran presentar estabilidad al aire o en solución acuosa, dado la tendencia de este último a desproporcionarse a Cr^{III} y Cr^{VI}^{43(b)}.

Dentro del conjunto de complejos de Cr^V estables en solución acuosa, se destacan los compuestos quelatos producidos entre el Cr^V y los α -hidroxiácidos terciarios^{43(b),44(a)}. Dichos complejos se sintetizan sin dificultad y por esa razón son ideales para estudios mecanísticos, en los casos que se requiere analizar etapas de oxidación redox que involucren al agente oxidante Cr^V^{43(b)}. El quelato más comunmente empleado y el más estable es el formado por el ligando 2-etil-2-hidroxobutirato (EHBA) y el Cr^V: [Cr^V(EHBA)₂O]^{43(b),44(a)}.



Estructura del quelato de Cr^{V} derivado de hidroxiácidos terciarios^{44(a)}.

Bis(2-etil-2-hidroxibutirato)oxocromato(V) sal sódica. $\text{R}_1=\text{R}_2=\text{C}_2\text{H}_5$

Bis(2-etil-2-metilbutirato)oxocromato(V) sal sódica. $\text{R}_1=\text{CH}_3$, $\text{R}_2=\text{C}_2\text{H}_5$

La Resonancia Paramagnética Nuclear es una técnica espectroscópica en donde la radiación con frecuencia del orden de microondas es absorbida por moléculas, iones o átomos con electrones desapareados. El Cr^{V} presenta un electrón desapareado en uno de los niveles d y por ende la espectroscopia RPE nos puede proveer información sobre la simetría de las especies de Cr^{V} , así como de los ligandos unidos al centro paramagnético.

Una de las magnitudes más importantes que se puede utilizar de un espectro de RPE es el valor conocido como “factor g”.

Este factor g es una constante física, y para el electrón libre (g_e) adquiere el valor de 2.0023. Cuando se aplica un campo magnético externo(H_0) a la muestra, el valor de g puede variar (g efectivo: g_{ef})^{44(b)}:

$$g_{\text{ef}} = (h\nu)/(\beta H_0)$$

h: constante de Plank

v: frecuencia del espectrómetro

β : magnetón de Bohr

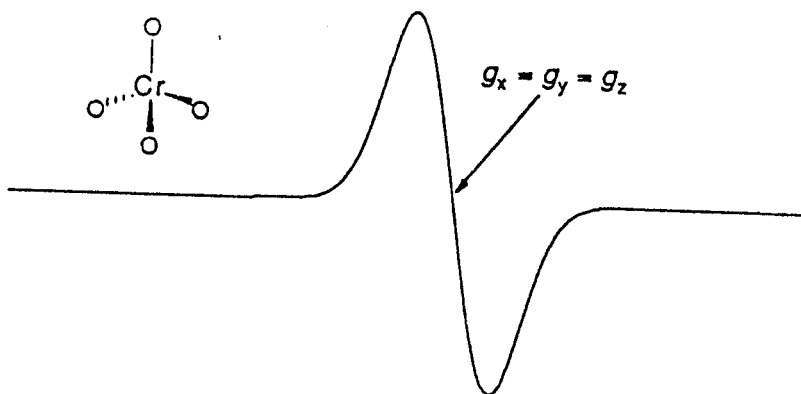
H_0 : campo magnético aplicado

Se puede emplear el valor de g_{ef} como una ayuda para identificar especies desconocidas. La principal razón por la cual puede variar el valor de g se debe al mezclado de los estados fundamentales y excitados debido al acoplamiento espín-órbita del espín electrónico y el momento angular orbital, caracterizado por la constante de acoplamiento espín-órbita: λ .

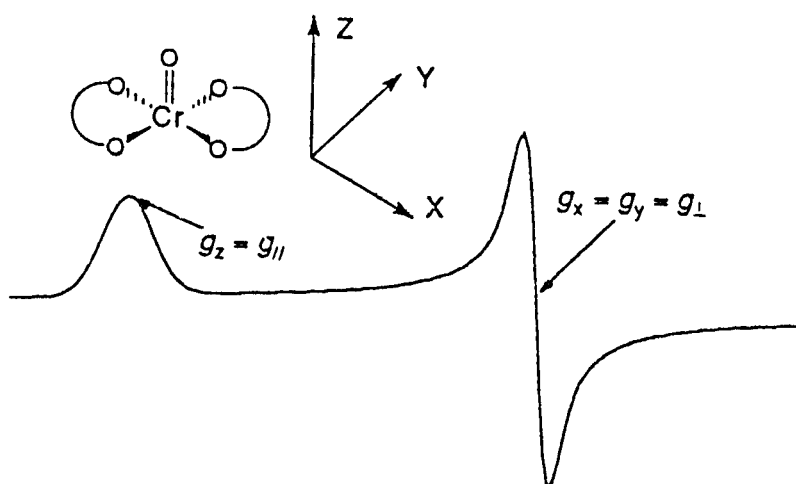
Para un sistema $d^1(\text{Cr}^V)$, $\lambda > 0$ y el valor de g_{ef} es menor al valor de $g_e^{44(b)}$. El mezclado de los estados excitados generalmente depende de la orientación de la muestra en el campo magnético, por ello los valores de g son anisotrópicos. La anisotropía del valor de g , generalmente se representa por un tensor: $\mathbf{g}^{44(b)}$. Existen tres valores principales para este tensor: g_x , g_y , g_z .

Las características de simetría de la especie paramagnética determinará si alguno o todos los valores de este tensor serán equivalentes. Cuando se realizan estudios de RPE a 77 K, se puede llegar a obtener información respecto a las características simétricas de la especie paramagnética. Los valores de g serán anisotrópicos si se encuentran representadas todas las orientaciones de la molécula respecto al campo magnético. Sin embargo, esto producirá señales muy anchas en el espectro debido a que el valor de g_{ef} se distribuirá a lo largo de un amplio rango de H_0 .

Si una molécula presenta simetría octaédrica, tetraédrica o cúbica perfecta, todos los valores principales del **tensor $\mathbf{g}$** serán equivalentes: $g_x = g_y = g_z$ y observaremos una señal de tipo isotrópico.



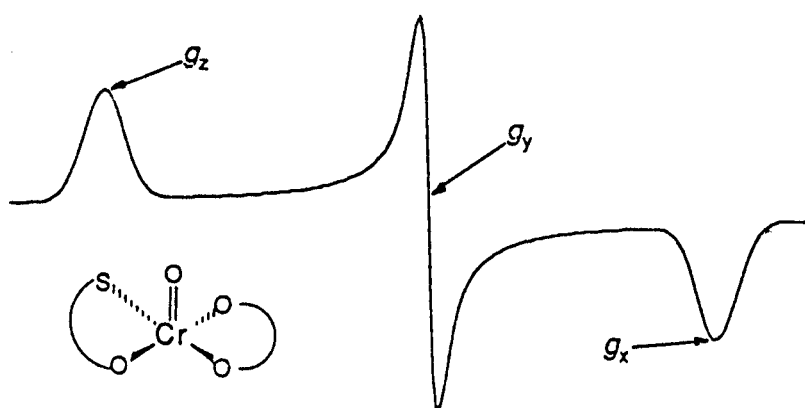
Si la molécula presenta simetría axial, por ejemplo: geometría molecular cuadrado piramidal, se debe a que $g_x = g_y \neq g_z$.



En estos casos se realiza una distinción, refiriéndose al valor de g paralelo al eje de simetría como $g_{\parallel}$ y a los otros dos valores como $g_{\perp}$. Se debe destacar que la posición de la señal $g_{\parallel}$ es dependiente de la constante de acoplamiento espín-órbita: λ entre el centro metálico, Cr^V , y el o los ligandos ecuatoriales. Cuando el valor de λ es alto, $g_{\perp} < g_{\parallel}$ obteniéndose un espectro de RPE como el indicado anteriormente.

Sin embargo, si el valor de λ es bajo, resulta ser $g_{\perp} > g_{\parallel}$, y la señal observada es la inversa respecto a la anterior.

Para una molécula que no presenta ejes de simetría de orden 3 (o superiores), los valores principales del tensor son distintos: $g_x \neq g_y \neq g_z$, observándose una señal rómbica.



Se debe remarcar que cuando se trabaja con especies paramagnéticas en solución a 298 K, generalmente se observa una única señal isotrópica para g , que se denomina g -promedio: g_{iso} , producido por el movimiento continuo de la molécula, lo cual promedia la anisotropía:

$$g_{iso}: (1/3) (g_x + g_y + g_z)$$

El núcleo de los metales de transición presenta espines, que se conocen como espines nucleares que se acoplan con los espines de los electrones desapareados y dan lugar a desdoblamiento del tipo multiplete en el espectro de RPE. Tales interacciones electrón -núcleo se denominan **desdoblamientos hiperfinos**.

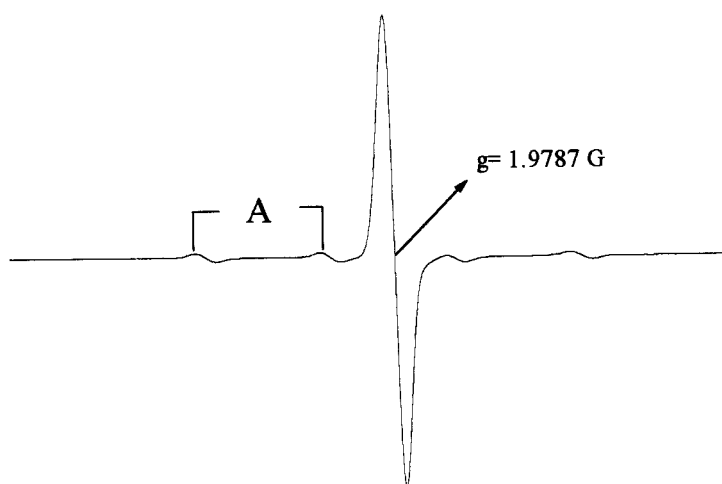
Un momento nuclear I puede adoptar $2I+1$ orientaciones relativas a un eje definido. La interacción de I y S depende de sus orientaciones relativas, y por ende se genera una variedad amplia de niveles energéticos.

Los ligandos se unen a metales paramagnéticos, se produce acoplamiento entre los espines nucleares de átomos de los ligandos con el espín electrónico del metal, generando los denominados *desdoblamientos superhiperfinos*.

El número de señales generadas por acoplamiento a un núcleo específico será dado por la ecuación: $2nI+1$, donde n es el número de núcleos equivalentes de un dado isótopo.

Los espectros RPE, de ^{53}Cr , por ejemplo, con $I = 3/2$ presentan acoplamiento hiperfino. En la siguiente figura se puede apreciar un espectro de RPE típico del complejo formado por reacción de Rib(6) y Cr^{V} (d^1). La señal mayor en el centro del espectro, con un valor de $g = 1.9787$, corresponde al ^{52}Cr , mientras que las cuatro señales satélites corresponde al ^{53}Cr (9.55% de abundancia), con un valor de constante de acoplamiento hiperfino (A) = $15.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

Valores A (constante de acoplamiento hiperfino) de ^{53}Cr , como el mencionado anteriormente, fueron observados en complejos con ligandos donores de oxígeno, tales como el ácido oxálico o el 2-etil-2-hidroxobutirato^{65,66}.



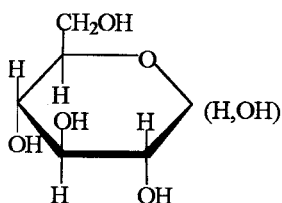
Cromo (III): d^3

Se han estudiado por RPE una gran variedad de complejos de Cr^{III} , incluyendo los alumbres y otras sales dobles. Los espectros de RPE se caracterizan por poseer poca anisotropía Zeeman. La estructura hiperfina es difícil de observar, es fundamentalmente isotrópica y del orden de $15 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

En general, trabajando en banda X, los compuestos de Cr^{III} en un ambiente oxigenado, presentan valores de $g \approx 2.0000$ tanto en estado sólido como en solución^{44(c)}. Estos complejos presentan una geometría molecular correspondiente a un octaedro distorsionado.

1.4- IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE LOS **LIGANDOS ESTUDIADOS**

D-glucosa (1)



(1)

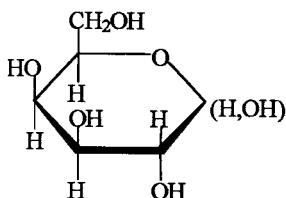
La D-glucosa (**Glc**) (1), ya sea en forma libre o combinada no solo es el azúcar mas común sino tambien el compuesto orgánico mas abundante^{67,69}.

Se encuentra distribuído tanto en el reino animal, como en el vegetal.
Se halla presente:

- * en forma libre: en frutas, jugos de plantas, miel, sangre, linfa, líquido cerebroespinal y en orina de personas diabéticas.

- * en forma combinada: en oligosacáridos (por ejemplo, sacarosa), polisacáridos (particularmente almidón, celulosa y glucógeno) y en glucósidos cardíacos.

D-galactosa (2)



(2)

La D-galactosa (**Gal**) (2) se encuentra presente:

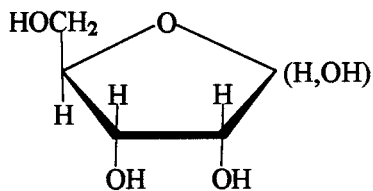
En el reino animal : ^{67,69}

- * en los cerebrósidos y gangliósidos del cerebro y tejido nervioso
- * en la lactosa (disacárido constituyente de la leche).

En el reino vegetal: ^{67,69}

- * en oligosacáridos como D-melibiosa y D-rafinosa
- * en los polisacáridos aislados de numerosas gomas y mucílagos de plantas
- * en unión glicosídica con mioinositol (en azúcar de remolacha) y con glicerol (en ciertas algas).

D-ribosa(6)



(6)

La D-ribosa **(Rib)(6)** es un constituyente del ácido ribonucleico (ARN), así como de diversas vitaminas y coenzimas. Se encuentra presente en todas las células animales y vegetales. Además, es componente de los antibióticos Neomicina A y B ^{67,69}.

Dicha pentosa aparece en el organismo humano:

- * por hidrólisis parcial de ácidos nucleicos y nucleósidos
- * en el ciclo de las pentosas fosfato: desde D-glucosa

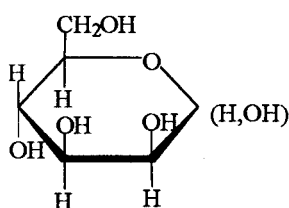
D-glucosa $\longrightarrow$ D-glucosa-6-fosfato $\longrightarrow$ 6-fosfogluconato $\longrightarrow \longrightarrow$ D-ribose

En productos naturales se encuentra principalmente bajo su forma

furanósica.

Determinaciones espectroscópicas de ^1H -RMN en agua deuterada y de poder rotatorio de soluciones acuosas indicaron la presencia de formas furanósicas, piranósicas y aldehídica de cadena abierta⁶⁵. Se encuentra en suelos, constituyendo aproximadamente el 0.001 % de los compuestos orgánicos presentes¹⁴.

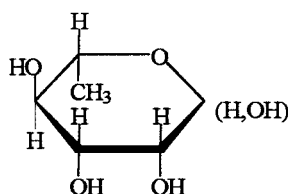
D-manosa (7)



(7)

La D-manosa (**Man**)(7), forma parte de polisacáridos vegetales (mananos), así como en la semilla del *Phytelephas macrocarpa*, que es la fuente principal de obtención del azúcar⁶⁷.

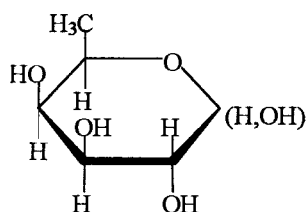
L-ramnosa (8)



(8)

La L-ramnosa o 6-desoxi-L-manosa (**Ram**) (8) se encuentra formando parte de polisacáridos, glicósidos, gomas y mucílago presentes en las plantas, en extractos de levadura y en los polisacáridos bacterianos⁶⁹.

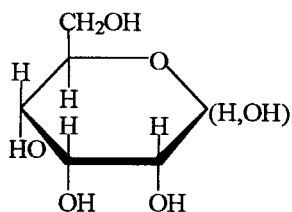
D-fucosa (9)



(9)

La D-fucosa o 6-desoxi-D-galactosa (**6dGaL**) (9), se encuentra presente como producto de hidrólisis de glucósidos cardíacos⁶⁷.

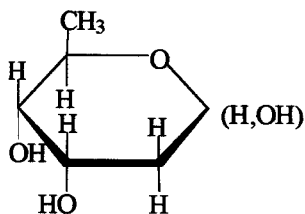
D-alosa (11)



(11)

La D-alosa (**Alo**) (11) no se halla presente en la naturaleza, sin embargo, su derivado 6-fosfato se formaría por la acción de transcetolasas a partir de octulosa 8-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato⁶⁹.

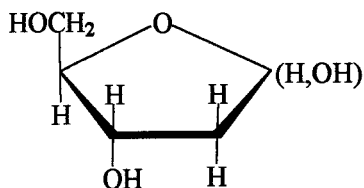
D-digitoxosa (12)



(12)

La digitoxosa o 2,6-didesoxi-D-ribo-hexosa (**26dRib**) (12), es un constituyente de los glicósidos digitoxina y digoxina, entre otros⁶⁹.

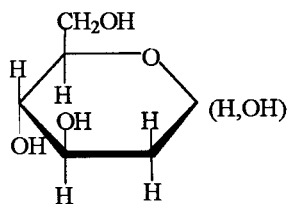
2-desoxi-D-ribosa (13)



(13)

La 2-desoxi-D-ribosa o 2-desoxi-D-eritropentosa (**2dRib**) (13) es el azúcar constituyente del ácido desoxirribonucleico (ADN). Dicha pentosa se produce en el organismo por hidrólisis parcial de ácidos nucleicos⁶⁹.

2-desoxi-D-glucosa (14)



(14)

La 2-desoxi-D-glucosa o 2-desoxi-D-arabinohexosa (**2dGlc**) (14) se encuentra presente formando parte de glucósidos cardíacos⁶⁸. Su interés bioquímico se debe a su fosforilación por acción de la enzima hexoquinasa en presencia de ATP, y a su oxidación por la glucosa oxidasa. Este azúcar inhibe la fermentación de levaduras, el crecimiento bacteriano y la utilización de la glucosa por parte del músculo y células tumorales.

OBJETIVOS

El presente trabajo de Tesis tiene como **objetivos**:

*estudiar cinética y mecanísticamente la oxidación de D-ribosa(**6**) y 2-desoxi-D-ribosa(**13**) (azúcares componentes de los ácidos nucleicos: ADN y ARN respectivamnte) con Cr(VI) en medio ácido, haciendo incapié en los productos e intermediarios que participan en las reacciones.

* estudiar la influencia de la configuración relativa de los C2, C3 y C4 de aldohexosas en la interacción aldosas-Cr(VI).

* observar la influencia de la presencia del hidroxilo en posición 2 y 6 de aldosas con Cr(VI), ampliando el estudio a 2-Desoxi-D-glucosa(**14**) y 2,6-didesoxi-D-ribo-hexosa (**12**) .

* comparar las velocidades de oxidación relativa de las aldosas con Cr(V) y Cr(VI).

* caracterizar por RPE al radical orgánico intermediario en la reducción de monosacáridos con Cr(VI), no informado aún en la literatura.

CAPÍTULO 2:
PARTE
EXPERIMENTAL



2-1- Instrumental

Procesamiento de datos

Computadoras PC IBM compatible, AT 486 y AT 586

Programas:

- Sigma Plot, versiones 4.01 y 5.01
- Quattro, versión 3.01
- Origin, versión 2.0 y 3.5

Espectroscopia uv-visible

1) Shimadzu UV-140-02, doble haz, con cubetas termostatzadas por circulación de agua externa.

2) Guilford Response II, simple haz, con cubetas termostatzadas por sistema peltier.

3) Wayers UV-Vis 6000, doble haz, cubetas con camisa termostatzadas por circulación de agua externa.

4) Metrolab UV-Vis 1700

Polarimetría

Polarímetro aus Jena, con celda de 2,00 dm. de paso.

Pesada de los reactivos

Balanza Mettler Mod. H6, cap.máx. 160 g, 0,0001 g/div.

Espectros de resonancia paramagnética electrónica

Espectrómetro Bruker ER-200. Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), Guemes 3450, (3000) Santa Fe.

Espectrómetro Bruker ESP-300. Instituto de Radicales Libres en Biología y Medicina (LANAIS) de la FFyB-UBA .Junín 956 (1113)Buenos Aires.

La frecuencia de microonda se generó con un Bruker 04 ER (9-10 GHz) y se midió con un frecuencímetro Racal-Dana.

El campo magnético fue moderado con un Bruker NMR-sonda gaussmeter.

Las siguientes mediciones se realizaron en el Centro de Investigación Científica del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada. Calle Fuentenueva s/n. (18075) Granada.España

Análisis elemental de C e H

Microanalizador CHNS Fisons 1108

Susceptibilidad Magnética

Balanza Manics DSM-8

Curvas termogravimétricas

Termobalanza Mettler TG-5

Espectros infrarrojos

Espectrofotómetro FTIR Nicolet 20 SXB

2.2- Materiales

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica.

Reactivos inorgánicos

$K_2Cr_2O_7$ (BDH)

$HClO_4$ 70% $\delta = 1,66 \text{ g/cm}^3$ (Merck)

NaOH (Merck)

$Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ (BDH)

Na_2CO_3 (Sigma Chemical Co.)

$NaHCO_3$ (Sigma Chemical Co.)

Agua bidestilada sobre $KMnO_4$

Los patrones primarios sólidos ($K_2Cr_2O_7$ y Na_2CO_3) fueron secados durante 1 hora a $110^\circ C$ y se enfriaron en desecador hasta temperatura ambiente⁵⁰.

Reactivos orgánicos

* **Sustratos:**

-2dRib(13) , Rib(6), Gal(2), Man(7) y 2dGlc(14) (Sigma Chemical Co.)

- Alo(11), 6dGal(9) y 2,6dRib(12) (Fluka)

- Glc(1) (Merck)

* 2,4-dinitrofenilhidrazina (24DNFH)(Cicarelli)

* Acrilonitrilo 99% $\delta = 0,806 \text{ g/cm}^3$ (Aldrich)

* Biftalato de potasio (Sigma Chemical Co.)

* N-óxido de 5,5- dimetil-1-pirrolina (DMPO) (Aldrich)

2.3- Métodos

2.3.1 - Preparación de soluciones

Las soluciones stock de ácido perclórico se prepararon a partir de una solución de HClO_4 70% P/P $\delta = 1,67$ g/ml. Para obtener 500 ml de solución de HClO_4 2M se midieron 86,0 ml de la solución concentrada, diluyendo con agua destilada en matraz aforado. En los casos en que fue necesario, se ajustó la fuerza iónica con NaClO_4 . Las soluciones preparadas de HClO_4 se valoraron con Na_2CO_3 usando como indicador naranja de metilo⁵⁰.

Las soluciones stock de los substratos orgánicos se prepararon por pesada directa de los mismos, momentos previos a la realización de las experiencias empleando H_2O como solvente.

Las soluciones stock del agente oxidante se prepararon a partir de una solución madre de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en solución acuosa. Para preparar 50 ml de solución madre de Cr(VI) 0,0032 M se disolvieron 0,0236 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en cantidad suficiente de agua, llevando a volumen en matraz aforado.

2.3.2 - Detección de productos de reacción

a) Cromatografía en papel

Se utilizó la técnica de cromatografía descendente⁷⁰ en papel Whatman n° 1.

Se preparó una mezcla de reacción con una relación $1 < [\text{S}]/[\text{Cr(VI)}] \leq 10$ y se calentó a 33° C hasta desaparición del color del agente oxidante, comprobándose la máxima formación de Cr(III) por espectrofotometría a 570 nm. Se neutralizó hasta $\text{p[H]} = 6$ por agregado de solución saturada de NaHCO_3 .

Volumen de siembra: 10 μ l

Tiempo de desarrollo: 24 horas

Temperatura de corrida: 25° C

Solvente de desarrollo: n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5, 4:1:1, y 4:3:2, empleando siempre la capa superior).

Los reactivos de revelado fueron los siguientes:

Nitrato de plata-hidróxido de sodio (técnica descrita por Trevelyan y col.^{71.a})

Se agrega 0,1 ml de solución acuosa saturada de AgNO_3 a 20 ml de acetona. El precipitado obtenido se disolvió por agregado de la mínima cantidad de agua. Se sumergieron los cromatogramas en esta solución y se secaron a temperatura ambiente. Luego se pulverizaron con una solución de NaOH 0,5M en etanol al 50%V/V, fijándose las manchas por inmersión en solución acuosa de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 5%P/V. Los azúcares reductores y los polialcoholes revelan como manchas de color marrón oscuro.

Clorhidrato de p-anisidina (técnica de Hough y col.^{71.b})

Se pulverizaron los cromatogramas con una solución de clorhidrato de p-anisidina 3%P/V en n-butanol-etanol-agua (4:1:1) con trazas de cloruro estannoso. Se secaron a temperatura ambiente y para su revelado se colocaron en estufa a 120° durante 10 minutos. El color de la mancha es característico del tipo de compuesto:

aldotetrosas	amarillo intenso
aldopentosas	rosado
aldohexosas	marrón
ácidos urónicos	marrón rojizo

Acido perclórico al 60% en acetona^{71.c}

Los cromatogramas fueron sumergidos en una solución de 1,5 ml de HClO_4 (60%) en 20 ml de acetona; secándose posteriormente a temperatura ambiente y luego calentándolos en estufa a 90°C durante 2-3 minutos. Los desoxiazúcares revelan como manchas marrones.

Para la preparación de los testigos empleados en las corridas cromatográficas, se disolvieron 10 mg de sustrato orgánico por ml de agua.

*** Síntesis de Ácido 2-desoxi-D-glucónico y ácido 2-desoxi-D-ribónico usados como testigos de cromatografía**

Se utilizó el método descripto por Isbell⁷³:

A una solución del desoxiazúcar (2dGlc ó 2dRib) (1×10^{-3} mol) a 0°C se le agregaron 0,07 ml de bromo y la mezcla se agitó hasta disolución del bromo, dejándola 36 horas a temperatura ambiente. Se consideró finalizada la reacción cuando se obtuvo resultado negativo en el ensayo de Fehling para azúcares reductores. El exceso de bromo se eliminó haciendo pasar una corriente de aire.

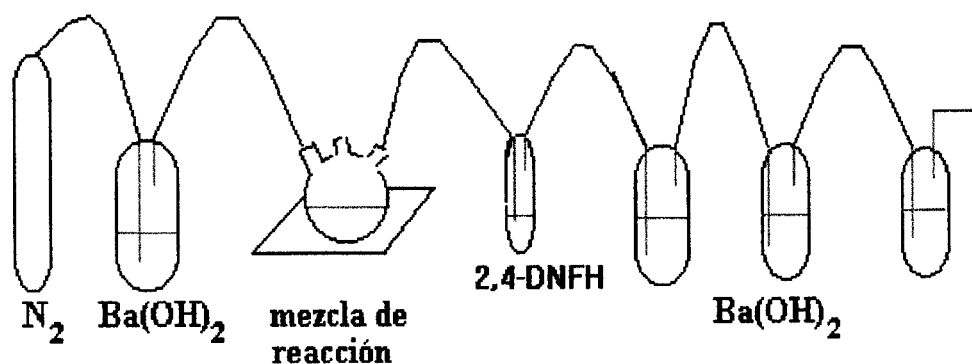
b) ^{13}C - RMN

La identificación del ácido aldónico como único producto de la reacción también fue realizada por ^{13}C RMN. En un experimento típico una mezcla de aldosa (desoxialdosa) (5.55 mmol) y dicromato de potasio (0.94 mmol) en HClO_4 1.2 M (2 cm^3) se dejó reaccionar a 33°C . Una vez finalizada la reacción la mezcla se agitó con resina de intercambio catiónico

Dowex 50W-X8 para eliminar el Cr^{III} , lo cual se manifestó por una decoloración de la solución acuosa. Una muestra concentrada se analizó por ^{13}C RMN. En cada caso, el ácido aldónico (y/o la aldonolactona correspondiente) (productos de la reacción) y las aldosas(desoxialdosa) que no reaccionaron (reactivo en exceso) fueron identificados comparando con testigos apropiados.

c).- Cuantificación del CO_2 desprendido, en condiciones de la cinética.

Para determinar la cantidad de CO_2 que se desprendió en la reacción en presencia de exceso de agente reductor, se utilizó un equipo como el que muestra el siguiente esquema:



Durante el curso de la reacción se burbujeó nitrógeno para arrastrar los productos gaseosos formados. La corriente de nitrógeno se pasó primero por una solución de hidróxido de bario para eliminar el dióxido de carbono que pudiera contener el gas; luego por la mezcla de reacción, a través de una solución ácida de 2,4-dinitrofenilhidrazina (para retener aldehídos volátiles) y por último por frascos lavadores que contenían solución valorada de hidróxido de bario para retener el dióxido de carbono formado como producto de reacción.

Para cuantificar la cantidad de dióxido de carbono formada, se procedió a valorar con biftalato de potasio, empleando fenolftaleína como indicador, las soluciones de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ contenidas en los frascos lavadores.

En experiencias similares, se recogió el dióxido de carbono sobre solución valorada de hidróxido de sodio, titulándola luego de la reacción con biftalato de potasio y fenolftaleína.

Ejemplo aplicado a un sistema típico: Rib/Cr(VI):

La mezcla reaccionante se preparó en exceso de Rib (6) con respecto a Cr(VI) en relaciones $[\text{S}]/[\text{Cr(VI)}]=15/1$.

La aldosa: Rib(6) (4×10^{-4} moles) se hizo reaccionar con una solución preparada a partir de 0,0039 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ disuelto en 10 ml de HClO_4 1M. El sistema se calentó a 33°C , con burbujeo continuo de gas N_2 a través del sistema, durante 8 horas, para arrastrar los productos gaseosos formados. Al cabo de ese tiempo no se observó turbidez en la solución de 24DNFH, lo cual demostró la ausencia de aldehídicos o cetonas volátiles.

Se filtró la solución acuosa de $\text{Na}(\text{OH})$, titulándose el filtrado con biftalato de potasio (indicador: fenolftaleína). Se determinó el rendimiento de CO_2 por mol de sustrato:

Normalidad del $\text{Na}(\text{OH})$ inicial: 0,1036N

Normalidad del $\text{Na}(\text{OH})$ final: 0,1030N

Variación de normalidad del $\text{Na}(\text{OH})= 3,98 \times 10^{-4}$ N

Volumen de $\text{Na}(\text{OH})= 100$ ml

Moles de CO_2 desprendidos= $3,98 \times 10^{-5}$ moles

Moles de Rib(6) = 4×10^{-4} moles

moles CO_2 / moles Rib = 0,099

La experiencia se llevó a cabo por **duplicado**.

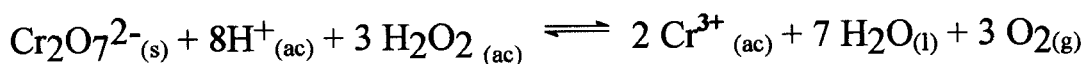
Según estos resultados podemos decir que la degradación de Rib(6) en relación $[S]/[Cr(VI)]=15/1$, no produjo desprendimiento de CO_2 por mol de Rib(6), ya que el valor obtenido (menos del 10 %) es atribuible al inevitable manipuleo de la solución alcalina

Para todas las aldosas estudiadas, no se halló desprendimiento de CO_2 , ni liberación de aldehídos volátiles en estas condiciones de trabajo.

d).- Síntesis del complejo Ribonato de Cr^{III}

Preparación de solución de Cr^{III} 0,288M

Dicha solución se preparó a partir de $K_2Cr_2O_7(s)$ y agua oxigenada en medio ácido:



8,472 g de $K_2Cr_2O_7(s)$ (0,0576 moles de Cr(VI)) se hicieron reaccionar con 11.0 ml de agua oxigenada 100 Vol, en medio ácido dado por 140 ml $HClO_4$ 2M.

Para eliminar el exceso de agua oxigenada que no reaccionó, se calentó la solución a ebullición, hasta la desaparición de burbujeo de O_2 , procedente de la dismutación del exceso de H_2O_2 . Posteriormente se agregó agua csp. 200 ml, en matraz aforado.

Preparación de $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$

A 70 ml de una solución de Cr^{III} 0,288 M se le adicionó gota a gota y agitando, solución Sorënsen hasta lograr precipitación total del $\text{Cr}(\text{OH})_3$ (precipitado verde- grisáceo) y solución sobrenadante incolora.

El $\text{Cr}(\text{OH})_3 (\text{s})$ se separó por centrifugación y se lavó reiteradas veces con agua fría bidestilada.

Preparación del complejo ribonato de $\text{Cr}(\text{III})$

8,8860 g (0,06 mol) de D-ribono-1,4-lactona (**15**) se disolvieron en 25 ml de agua, refluándose la solución resultante durante 3,5 horas a 100°C, para facilitar la apertura del anillo lactónico y aumentar la concentración de ácido aldónico libre en solución. Se agregaron $2 \cdot 10^{-2}$ mol de Cr^{III} como $\text{Cr}(\text{OH})_3$ y se continuó el reflujo a 100°C durante tres horas más. Se agregó etanol absoluto a la solución enfriada, hasta aparición de turbidez y se la dejó en reposo a 5°C durante tres días.

El precipitado verde separado a partir de la solución se filtró, se disolvió en el mínimo volumen de agua y se reprecipitó con etanol al 90%. Este proceso se repitió tres veces. Por último, el sólido fue secado en desecador al vacío sobre pentóxido de fósforo(s) y granallas de hidróxido de sodio, hasta lograr peso constante. Masa de complejo obtenido: 3,7200 g. Rendimiento: 74 %.

Antes de realizar el análisis elemental, el complejo fue secado durante 2 horas al vacío.

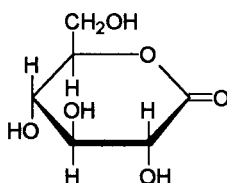
2.3.3 - Detección de radicales libres orgánicos

a) Polimerización de acrilonitrilo

En un experimento típico, se añadieron $0,2 \text{ cm}^3$ de una solución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ en HClO_4 1 M , a 2 cm^3 de una solución de aldosa: $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ en HClO_4 1 M (mezcla de reacción: $[\text{ald}]/[\text{Cr(VI)}]=10/1$). Se mantuvo la temperatura a 33°C .

Al mismo tiempo se llevaron a cabo los blancos de todos los reactivos involucrados en la reacción. Como testigo positivo, se usó la reacción de D-glucono-1,5-lactona (17): $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ con Cr^{VI} en medio sulfúrico⁷³. (Tabla I)

En todos los tubos se agregaron 0.5 ml . de acrilonitrilo $1,5 \text{ M}$.



(17)

	Sustrato $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (ml)	Cr(VI) $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (ml)	Acrilonitrilo $1,5 \text{ M}$ (ml)	D-Glucono- 1,5-lactona (testigo (+)) $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, (ml)	Resul- tado
Mezcla de reacción	2,0	0,2	0,5	-	(+)
Blanco de azúcar	2,0	-	0,5	-	(-)
Blanco de oxidante	-	2,0	0,5	-	(-)
Blanco del testigo (+)	-	-	0,5	1,0	(-)
testigo(+) + oxidante	-	0,2	0,5	2,0	(+)

Tabla I: Detección de radicales libres mediante la polimerización de acrilonitrilo. Esquema de la técnica seguida

b) Espectroscopía RPE

Se empleó (DMPO) para atrapar cualquier radical orgánico intermediario formado durante la reducción de Cr^{VI} por acción del monosacárido y descartar interferencias de Cr^V y Cr^{IV} en el ensayo de polimerización de acrilonitrilo.

Previamente a la experiencia de medición espectroscópica, el atrapador de radicales libres orgánico: DMPO, fue purificado por decoloración con carbón activado. El método consiste en tratar el DMPO consecutivamente con carbón activado hasta observar por RPE la desaparición de todas las impurezas de radicales libres presentes en el reactivo⁷⁴.

Condiciones de medición:

En un experimento típico, se trabajó en relación [ald]/[Cr(VI)]=10/1, siendo las concentraciones finales de reacción:

[S]=0.375 M [Cr(VI)]=0.0375M
[H⁺]=0.1 M [DMPO]=0.09 M

Medición: a los 4 minutos de iniciada la reacción

Temperatura: 20° C.

ganancia: 5.10 ⁴	campo central: 3450 Gauss
tiempo de conversión: 20.48 ms	constante de tiempo: 163.84 ms
modulación de frecuencia: 50khz	Tiempo de barrido: 20.972 seg.
ancho de barrido: 150 Gauss	potencia: 1 mW
modulación de amplitud: 0.514 Gauss	

2.3.4 - Mediciones cinéticas

Medidas Espectrofotométricas.

Todos los experimentos se llevaron a cabo a 33°C a menos que se mencione lo contrario.

La longitud de onda de trabajo se seleccionó barriendo los espectros correspondientes a las soluciones del oxidante y del agente reductor y a la mezcla una vez finalizada la reacción.

Los estudios cinéticos se llevaron a cabo espectrofotométricamente, empleando celdas termostatzadas de vidrio y/o cuarzo de 1 cm de paso de luz, registrando la disminución en el tiempo de la absorbancia del oxidante a 350 nm. Se tuvo en cuenta que se cumpliera la Ley de Beer en todo el rango de condiciones de trabajo, para el agente oxidante.

A modo de ejemplo, se presenta una curva de calibración a $[\text{HClO}_4] = 1.0 \text{ M}$, $I = 1.0 \text{ M}$ (Tabla 2, fig.1):

Se preparó una solución madre de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $1.006 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ en HClO_4 1.0 M (0.0148 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ + HClO_4 1.0 M csp. 100 ml). Se tomó con pipeta calibrada un volumen determinado de solución madre y se lo llevó en matraz aforado a un volumen final de 5 ml con HClO_4 1.0 M .

Nº tubo	ml sol. madre	$[\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{final}} \cdot 10^4 \text{ M}$	Absorbancia
1	0.5	1.01	0.131
2	1.0	2.01	0.271
3	1.5	3.02	0.403
4	2.0	4.02	0.548
5	2.5	5.03	0.676
6	3.0	6.04	0.822
7	3.5	7.04	0.948
8	4.0	8.05	1.081
9	4.5	9.05	1.237
10	5.0	10.06	1.384

Tabla 2: Comprobación del cumplimiento de la Ley de Beer

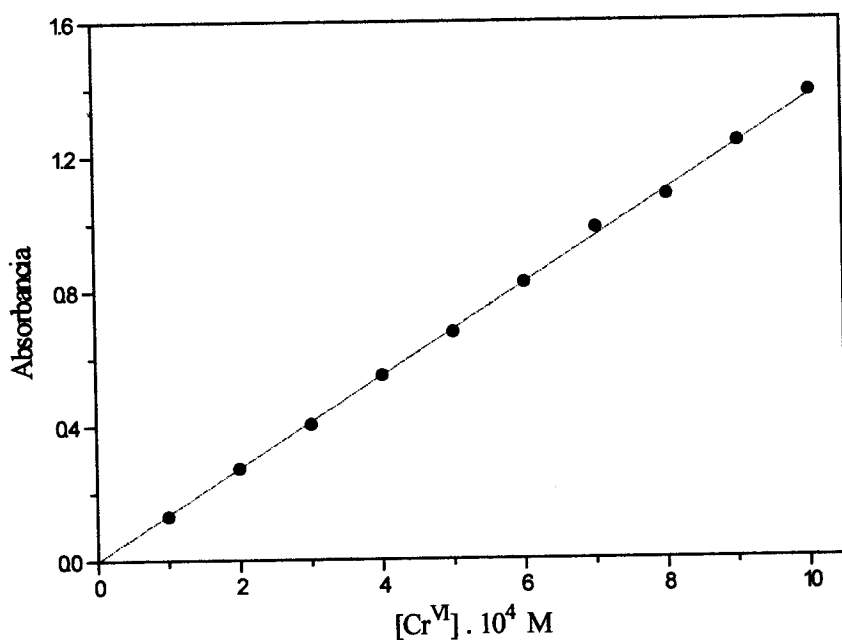


Fig.6. Curva de Calibración de Cr^{VI}

$[\text{HClO}_4] = 1.0 \text{ M}$, $I = 1.0 \text{ M}$. $T = 25^\circ\text{C}$. $\lambda = 350 \text{ nm}$.

$$\epsilon_{\text{calc.}} = 1365.7 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

Las reacciones se iniciaron por el agregado de solución acuosa del oxidante a la solución del azúcar con cantidades de perclorato de sodio y de ácido perclórico de manera tal que se mantuviera la fuerza iónica (I) constante a valor 1.0 M, lográndose a su vez las condiciones de acidez requeridas.

En una experiencia típica: para un volumen final de 4ml, relación $[\text{ald}]/[\text{Cr(VI)}]=100/1$ y $[\text{H}^+]=0.5\text{ M}$, se colocó en baño termostatzado 1 ml de solución acuosa de aldosa 0.32 M, 1 ml de solución de HClO_4 2M y 1 ml de NaClO_4 2M. Una vez alcanzada la temperatura de trabajo, se inició la reacción con el agregado de 1 ml de solución de Cr^{VI} (como $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 0.0032 M previamente termostatzada.

La mezcla de reacción se transfirió inmediatamente a una celda espectrofotométrica de 1 cm de paso de luz después de mezclar. Por lo tanto, debido a la dilución realizada, las concentraciones iniciales de los reactivos fueron:

$$[\text{ald}] = 0.08\text{ M}$$

$$[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 8 \times 10^{-4}\text{ M}$$

$$[\text{H}^+] = 0.5\text{ M}$$

Al trabajar con concentración inicial del agente oxidante constante: $8 \times 10^{-4}\text{ M}$, se varió la concentración de azúcar de 0.02 a 0.2M con lo que se logró el siguiente rango de relaciones $[\text{S}]/[\text{Oxidante}]$: 25/1 a 250/1.

Determinación del orden de reacción respecto a Cr^{VI} .

Con el fin de comprobar el decaimiento de primer orden respecto a concentraciones variables de Cr^{VI} para todos los sistemas estudiados, se determinaron los valores de la constante cinética en condiciones de [ald], acidez y fuerza iónica constantes y se varió la $[\text{Cr}^{\text{VI}}]$ en el rango de $3 \cdot 10^{-4}$ a $8 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{92}$.

Los valores de k_{obs} para los sistemas formados por Cr^{VI} y las aldosas: 2dGlc(14), Rib(6), 2dRib(13) y 26dRib(12) y los valores deducidos de k_6 para Glc(1), Gal(2), 6dGal(9) y Alo(11) resultaron independientes de la $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0$ usada, lo que implica que la constante de velocidad de reacción es independiente de la $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0$.

A modo de ejemplo, se indica en la siguiente tabla los valores obtenidos para la oxidación de Rib(6) por acción del Cr^{VI} .

$[\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} \cdot 10^4 (\text{M})$	$k_{\text{obs}} 10^4 (\text{s}^{-1})$
4	4.2
5	4.4
5.5	4.3
6	4.6
7	4.5
8	4.1

Tabla 3: Efecto de la $[\text{Cr}^{\text{VI}}]$ en la oxidación de 2dGlc(1).

$[\text{Rib}]_0 = 0.12 \text{ M}$, $[\text{HClO}_4] = 0.75 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$, $T = 33^\circ \text{C}$. $\lambda = 350 \text{ nm}$.

2.3.5 - Control de la estabilidad del sustrato

En todos los casos se controló la estabilidad del sustrato orgánico en las condiciones de acidez de la reacción, a través de mediciones de:

- (a) ^{13}C -RMN del ligando en agua y según la acidez de trabajo
- (b) espectroscopía uv-visible.
- (c) cromatografía descendente en papel

Ejemplo: RIB-Cr^{VI}

- (a) Mediciones de ^{13}C -RMN del ligando en agua y en las condiciones de acidez estudiadas:

Al realizar las experiencias en dichas condiciones se comprueba que las mismas se corresponden con los datos de literatura, por lo tanto, no existen modificaciones estructurales en las condiciones de trabajo^a.

	Rib(6) en agua ^b				Rib(6) en HClO ₄ 1M			
	α -pir	β -pir	α -fur	β -fur	α -pir	β -pir	α -fur	β -fur
C1	94.3	94.7	97.1	101.7	94.7	95.1	97.5	102.1
C2	70.8	71.8	71.7	76.0	71.4	72.3	72.1	76.4
C3	70.1	69.7	70.8	71.2	70.4	70.0	71.4	71.3
C4	68.1	68.2	83.8	83.3	68.6	68.7	84.1	83.8
C5	63.8	63.8	62.1	63.3	64.2	64.2	62.5	63.8

^a con un corrimiento de + 0.4 unidades, probablemente debido a un efecto de protonación del oxígeno endocíclico debido a la acidez del medio⁷².

^b los datos experimentales coinciden con los informados en la literatura⁷⁵.

(b) La figura 7 muestra los espectros del azúcar a tiempo= 2 min. y a 24 horas de disolución en el solvente de trabajo, en el rango de acidez utilizado en las medidas cinéticas.

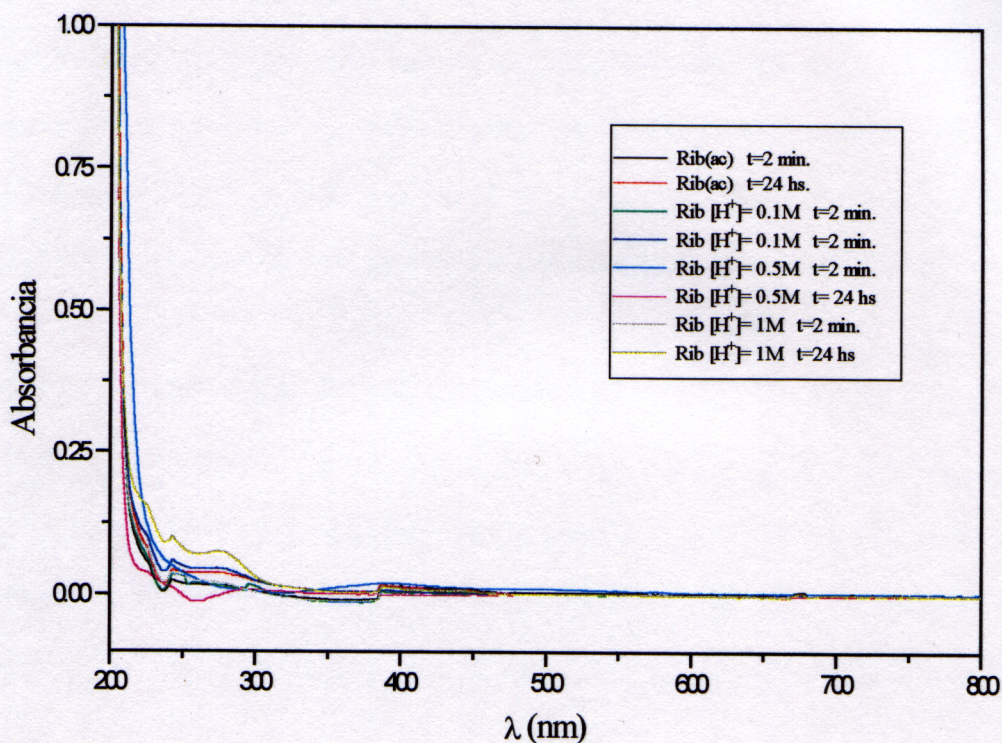


Figura 7 : Espectros uv-visible de soluciones de Rib en agua .

$[HClO_4]=0.1, 0.5$ y $1 M$, $I=1M$. $T=25^\circ C$. $[Rib]=0.4M$

(c) cromatografía descendente en papel: se trabajó en las mismas condiciones de acidez, fuerza iónica, temperatura y tiempo que la experiencia anterior; observándose solamente la aparición de una mancha característica del azúcar bajo estudio.

Volumen de siembra: 10 μl .

Tiempo de desarrollo: 24 hs.

Reactivos de revelado: * Nitrato de plata en medio alcalino

* clorhidrato de p-anisidina.

T 546 D132
E 5518
F 19.10.99 D.

2.3.6 - Detección de Cr^V

6-a) Mediciones espectrofotométricas a 750 nm

A 750 nm los complejos de Cr^V presentan una absorción distintiva y única, cuya intensidad depende del coeficiente de extinción molar ⁸¹.

Todos los intentos de realizar mediciones de absorbancia a 750 nm, para los distintos sistemas en estudio, fueron fallidos, probablemente debido al bajo coeficiente de extinción molar de los complejos de Cr^V -aldosa.

6-b) Mediciones de RPE para los sistemas Aldosa- Cr^{VI}

Dado que la configuración electrónica del Cr^V es: $[\text{Ar}]3d^1$ el electrón desapareado confiere propiedades paramagnéticas al cromo pentavalente. En consecuencia, los complejos intermediarios de Cr^V pueden ser detectados por espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (RPE) ⁷⁴.

Se registraron los espectros de RPE de diversas mezclas de reacción Cr^{VI} -sustrato, utilizando el radical difenilpicrilhidrazilo (DPPH) como referencia ($g = 2.0036$).

Las soluciones de Cr^{VI} sin agregado de sustrato no dieron señal de RPE.

Tanto la detección puntual como el seguimiento cinético de la señal de Cr^V se realizaron a temperatura ambiente.

Condiciones de reacción, generales para los sistemas estudiados:



A) MEDIDAS CINÉTICAS:

Relación $[S] / [Cr^{VI}] = 10/1$

$[S] = 0.375 \text{ M}$

$[H^+]$ variable

$[Cr^{VI}] = 0.0375 \text{ M}$

B) MEDIDAS PUNTUALES:

relación 2/1	$[S] = 0.375 \text{ M}$	$[Cr^{VI}] = 0.1875 \text{ M}$
relación 5/1	$[S] = 0.375 \text{ M}$	$[Cr^{VI}] = 0.075 \text{ M}$
relación 10/1	$[S] = 0.375 \text{ M}$	$[Cr^{VI}] = 0.0375 \text{ M}$
relación 20/1	$[S] = 0.375 \text{ M}$	$[Cr^{VI}] = 0.01875 \text{ M}$

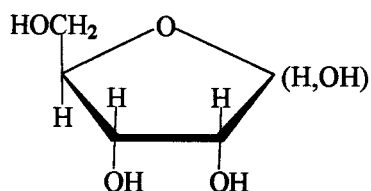
Las experiencias fueron realizadas

(a) en el rango de $p[H] = 2-7$.

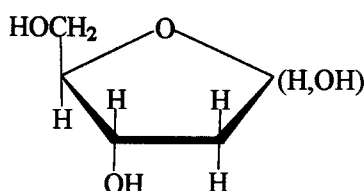
(b) en el rango de acidez $[H^+] = 0,1 \text{ a } 1,0 \text{ M}$.

CAPÍTULO 3:
RESULTADOS Y
DISCUSIÓN

3.1- Oxidación de 2-desoxi-D-ribosa (13) y D-ribosa (6) por acción del Cr^{VI} en medio ácido.



(6)

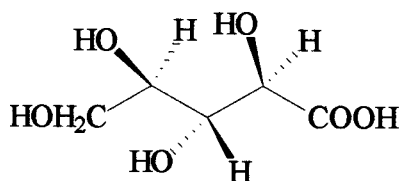


(13)

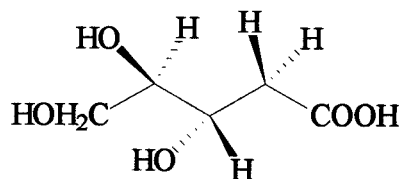
3.1.1.- Análisis de los productos de reacción

a) Cromatografía descendente en papel.

Por el análisis cromatográfico de mezclas de reacción a tiempo infinito, se detectó un único producto de reducción identificado como **ácido D-ribónico (Riba)(15)** o **ácido 2-desoxi-D-ribónico (2dRiba) (17)**, según se trate de la oxidación de Rib(6) o 2dRib(13) respectivamente.



(15)



(17)

2A

A continuación se dan las relaciones de frente referidas a Rib(6) (R_r) o 2dRib(13) (R_{2dr}) para cada sistema Cr^{VI} -S.

Muestra sembrada	R_r	
	nitrato de plata / NaOH	p-anisidina
Rib (ac)(6)	1	1
D-ribonato de sodio (ac) (15)	0.6	-
D-ribono-1,4-lactona (ac) (15)	0.6	-
	1.3	
Mezcla de reacción t_{α}^A	0.6	
	1	1
	1.3	

A: mezcla de reacción en una experiencia típica $[Rib] / [Cr^{VI}] = 5$ y $[HClO_4] = 0.5\text{ M}$
 Volumen de siembra: 10 μ l. Tiempo de desarrollo: 24 horas T: 25° C
 Solvente de desarrollo: n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5, 4:1:1, y 4:3:2, empleando siempre la capa superior).

Muestra sembrada	R_{2dr}		
	p-anisidina	HClO ₄ en acetona	nitrato de plata / NaOH
2dRib (ac) (13)	1	1	1
2dRiba (ac) (13)	-	1.35	1.34
Mezcla de reacción t_{α}^B	1	1	1
	-	1.35	1.34

B: mezcla de reacción en una experiencia típica $[2dRib] / [Cr^{VI}] = 5$ y $[HClO_4] = 0.5\text{ M}$
 Volumen de siembra: 10 μ l. Tiempo de desarrollo: 24 horas T: 25° C
 Solvente de desarrollo: n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5, 4:1:1, y 4:3:2, empleando siempre la capa superior).

b).- Cuantificación del CO₂ desprendido, en condiciones de la cinética.

Según los resultados obtenidos y descriptos en la parte experimental podemos decir que la degradación de Rib(6) y 2dRib(13) en condiciones de exceso de agente reductor, no produjo desprendimiento de CO₂ por mol de sustrato.

c) ¹³C- RMN

La identificación del ácido aldónico como único producto de la reacción por ¹³C RMN se realizó según la técnica descripta en la parte experimental .

En cada caso, el ácido aldónico y/o la aldonolactona correspondiente, productos de la reacción y las aldosas (desoxialdosa) que no reaccionaron (reactivo en exceso) fueron identificados comparando contra testigos apropiados.

A modo de ejemplo se presentan en la tabla 4 los desplazamientos en ¹³C-RMN obtenidos para el sistema 2dRib-Cr^{VI} y las asignaciones correspondientes a cada señal.

Las abreviaturas empleadas en la tabla son las siguientes:

α fur.: 2-desoxi-α-D-ribofuranosa

α pir.: 2-desoxi-α-D-ribopiranososa

β fur.: 2-desoxi-β-D-ribofuranosa

β pir.: 2-desoxi-β-D-ribopiranososa

2dRiba.: ácido-2-desoxi-D-ribónico

2dRiblac.: D-ribono-1,4-lactona

2-desoxi-D-Ribosa (13)				
Testigos			Asignaciones realizadas a la mezcla de reacción	
2dRiba / 2dRiblac (a)	2dRib ⁷⁵			
180.6 (C12dRiba)	180.6 (C1 2dRiba)	92.5 (C1 α pir.) 98.9 (C1 α fur.)	94.6 (C1 β pir.) 98.9 (C1 β fur.)	98.9 (C1 α y β fur.) 92.5 (C1 α pir.)
38.9 (C2 2dRiba)	39.2 (C2 2dRiblac)	34.5 (C2 α pir.) 41.9 (C2 α fur.)	35.9 (C2 β pir.) 41.8 (C2 β fur.)	41.9 (C2 α fur.) 34.5 (C2 α pir.)
75.3 (C3 2dRiba)	69.8 (C3 2dRiblac)	65.1 (C3 α pir.) 71.7 (C3 α fur.)	67.3 (C3 β pir.) 72.0 (C3 β fur.)	71.7 (C3 α fur.) 65.1 (C3 α pir.)
69.4 (C4 2dRiba)	90.1 (C4 2dRiblac)	68.1 (C4 α pir.) 86.1 (C4 α fur.)	68.3 (C4 β pir.) 86.6 (C4 β fur.)	86.1 (C4 α fur.) 68.1 (C4 α pir.)
63.8 (C5 2dRiba)	62.2 (C5 2dRiblac)	66.8 (C5 α pir.) 62.3 (C5 α fur.)	63.6 (C5 β pir.) 62.3 (C5 β fur.)	62.3 (C5 α y β fur.)

Tabla 4. Desplazamientos químicos de RMN de ¹³C para la mezcla de reacción: [2dRib]-[Cr^{VI}].
 Mezcla de reacción: relación [2dRib]/[Cr^{VI}] = 1
 (a) Datos obtenidos a partir del espectro de ¹³C-RMN del testigo 2dRiba (17).

d).- Cromo^{III}.

Se realizó la síntesis del complejo D-ribonato de Cr^{III} con el fin de dilucidar la posible estructura del producto final de la reacción en las condiciones de trabajo:

Análisis elemental:

Composición: [(C₅H₇O₆) Cr (H₂O)₂]

	% C	% H	% Cr
Experimental	24.60	4.39	19.97
Calculado	23.90	4.41	20.70

Curvas termogravimétricas

Del análisis termogravimétrico (figura 8), podemos apreciar:

- hasta los 240°C sólo se desprende agua, esta pérdida de peso de 0.74 mg (14%) de los 5.181 mg iniciales corresponde a la pérdida de peso teórica de dos moléculas de agua por mol de complejo.
- Por las gráficas de Gram-Schmidt se observa que los productos gaseosos de descomposición térmica (o pirólisis) son CO₂ (producto mayoritario), CO y H₂O.

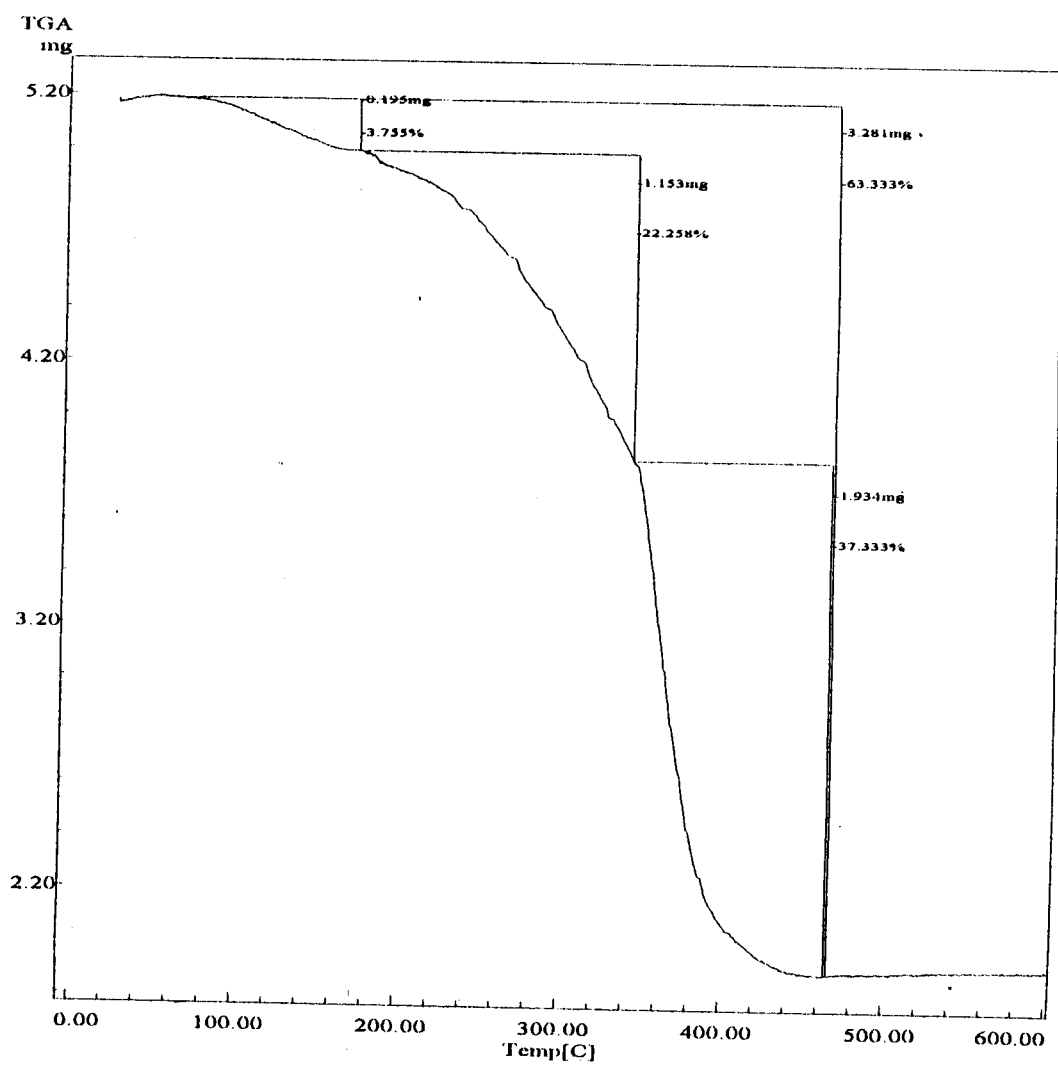


Figura 8 (a) : Curva termogravimétrica del complejo Riba-Cr^{III}.

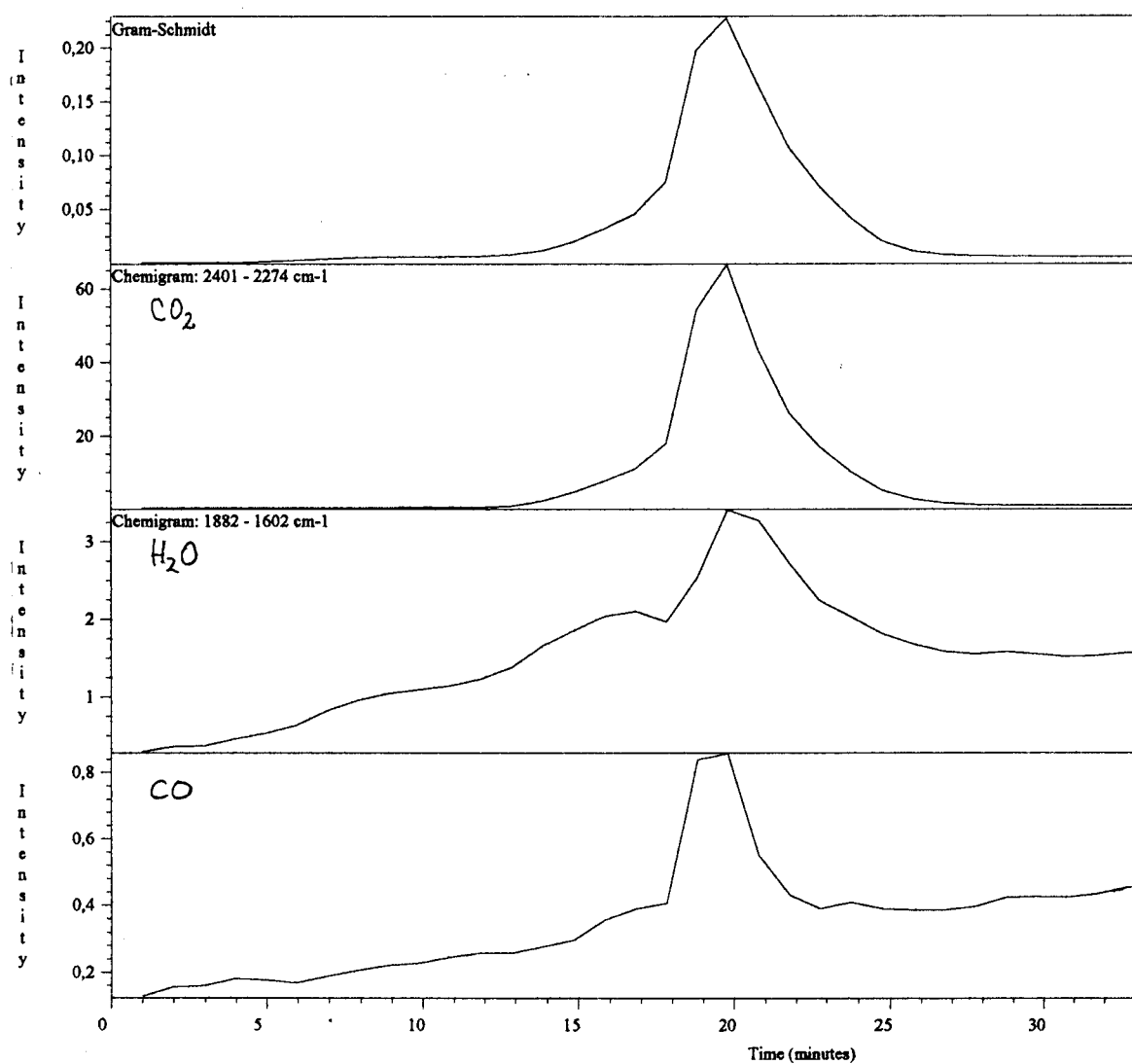


Figura 8 (b) : Gráficas de Gram-Schmidt del complejo Riba-Cr^{III}.

Análisis infrarrojo

El espectro del complejo se realizó en la región $4000-400\text{ cm}^{-1}$ y su interpretación se basó en comparación con el espectro del ligando libre.

Del análisis de los espectros infrarrojos de las figuras 9 y 10, se realizaron las siguientes asignaciones:

- las bandas anchas e intensas observadas en la región $3100-3500\text{ cm}^{-1}$ se asigna a los enlaces H de los grupos OH y H_2O ⁷⁶.
- en la región $2800-3000\text{ cm}^{-1}$ se presentan las vibraciones de estiramiento de los enlaces CH y CH_2 tanto en la lactona, como en el complejo
- en el espectro del ligando libre, a 1774 cm^{-1} se observan la señal del grupo carbonilo, mientras que en el complejo esta banda desaparece, observándose dos señales a 1372 y 1626 cm^{-1} siendo asignadas a las vibraciones de estiramiento OCO^- simétrico y antisimétrico, respectivamente ⁷⁷.
- la señal a 537 cm^{-1} puede asignarse a la unión M-OH y M-OR.

La diferencia entre las frecuencias simétrica y antisimétrica del orden de 200 cm^{-1} indicaría que el Cr^{III} se coordina con el grupo carboxilato, actuando éste como monodentado y con grupos alcoholato o alcóxido.

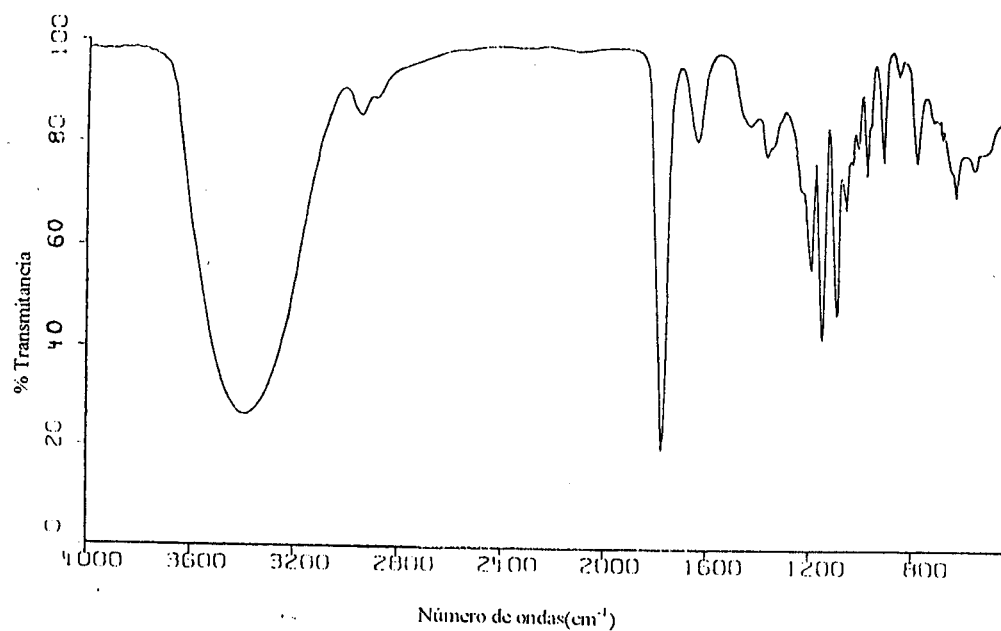


Figura 9 : Espectro IR de D-ribo-1,4-lactona.

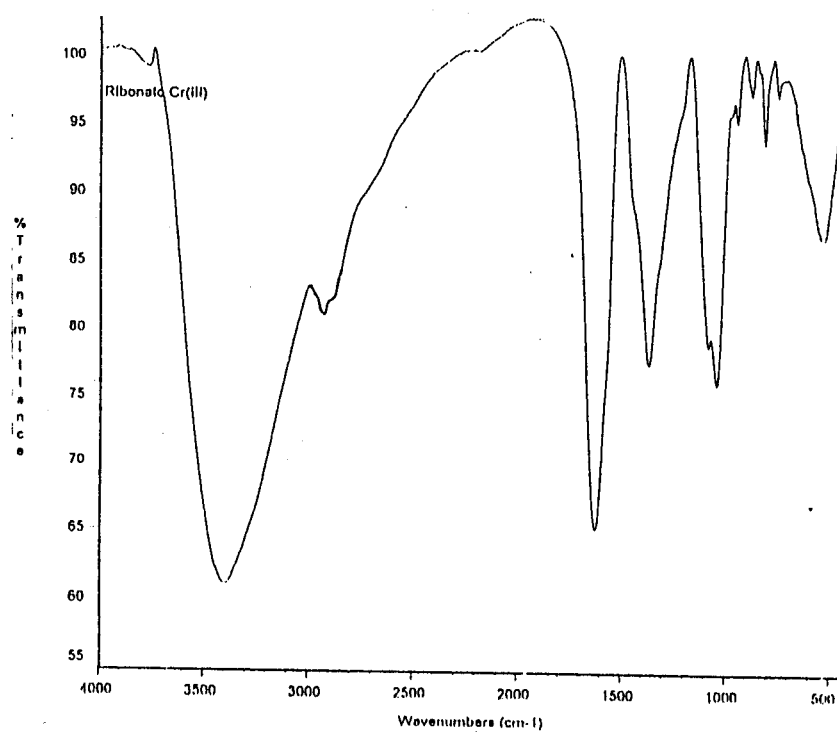


Figura 10 : Espectros IR del complejo Riba-Cr^{III}.

Susceptibilidad magnética

Se realizaron medidas de susceptibilidad magnética en un rango de temperatura entre 77 y 290 K, obteniéndose los siguientes valores:

T (K)	$\chi \cdot 10^5$ (emu)
77.82	4.414
85.09	4.301
89.72	4.159
94.87	4.017
99.57	3.895
109.93	3.665
120.14	3.477
129.99	3.282
139.98	3.114
150.19	2.976
159.89	2.828
170.03	2.700
180.17	2.582
190.02	2.475
200.01	2.374
210.29	2.289
219.99	2.198
229.99	2.129
240.12	2.051
249.97	1.984
260.26	1.913
270.25	1.854
280.24	1.796
290.09	1.745

El comportamiento de la susceptibilidad magnética (χ) vs. la temperatura (T), pudo describirse con la ecuación correspondiente a la ley de Curie-Weiss:

$$\chi = \frac{C}{T - \theta}$$

Siendo:

θ = Constante de Weiss, que considera las interacciones interiónicas o intermoleculares.

$\theta > 0$ comportamiento ferromagnético

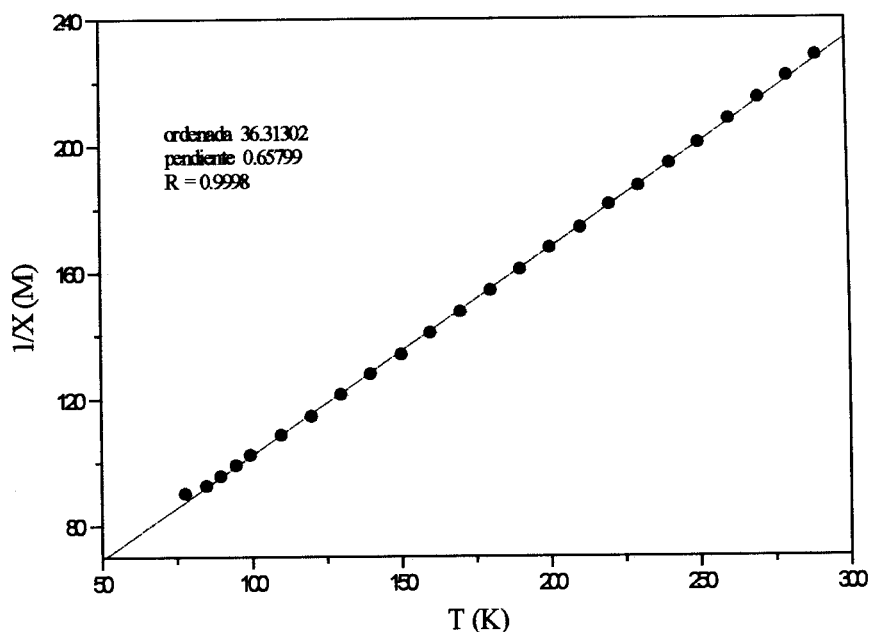
$\theta < 0$ comportamiento antiferromagnético

La susceptibilidad magnética, χ , es una propiedad macroscópica. Por ello, para los complejos de metales de transición es común emplear el momento magnético efectivo, μ_{eff} , que se calcula a partir del valor de la χ :

$$\mu_{\text{eff}} = 2.828 \sqrt{T\chi}$$

En nuestro estudio, la representación de χ^{-1} vs. T(K) dio lugar a una recta con pendiente positiva, como puede observarse en la siguiente figura, , de donde extraemos los valores de θ y de μ_{eff} :

$$\theta = -55 \text{ K} \quad \mu_{\text{eff}} = 3.49 \text{ MB}$$



El Cr^{III} tiene configuración $3d^3$, por lo tanto para un valor de $S = 3/2$ corresponde, un valor de momento magnético debido sólo a espín (μ_s) = 3.87 MB :

$$\mu_s = g\sqrt{s(s+1)}$$

donde: $g = g$ del electrón libre = 2.0023 MB

Dado que el valor obtenido de $\mu_{\text{eff}} = 3.49$ MB es similar al momento magnético debido sólo al momento de espín (μ_s), el estado fundamental es $^4A_{2g}(t_{2g}^3)$ en un entorno octaédrico, y el complejo no presenta acoplamiento espín-órbita.

Dado que el valor experimental de la constante θ es -55 K, podemos decir que existe acoplamiento antiferromagnético entre las moléculas del complejo.

Espectroscopía UV- Visible

Los espectros del complejo en distintas condiciones de acidez, muestran dos máximos cuyas longitudes de onda se detallan en la siguiente tabla:

Acidez	A _{max} 1 (nm)	A _{max} 2 (nm)
p[H]= 8,4	426	585
p[H]= 6,7	425	582
p[H]= 4,0	425	578
p[H]= 3,0	424	577
p[H]= 2,0	424	577
[H ⁺]= 0.1 M	421	576
[H ⁺]= 0.25M	421	576
[H ⁺]= 0.5 M	421	576
[H ⁺]= 1.0 M	421	576

Del análisis de la figura 12 podemos deducir que el complejo ribonato de Cr^{III} es estable en el rango de acidez empleado en las medidas cinéticas (0.1- 1 M de HClO₄).

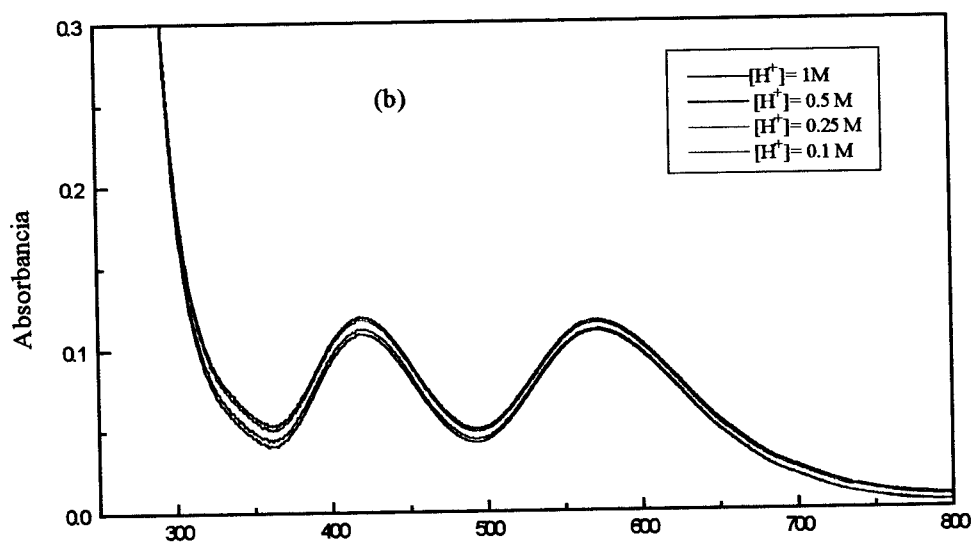
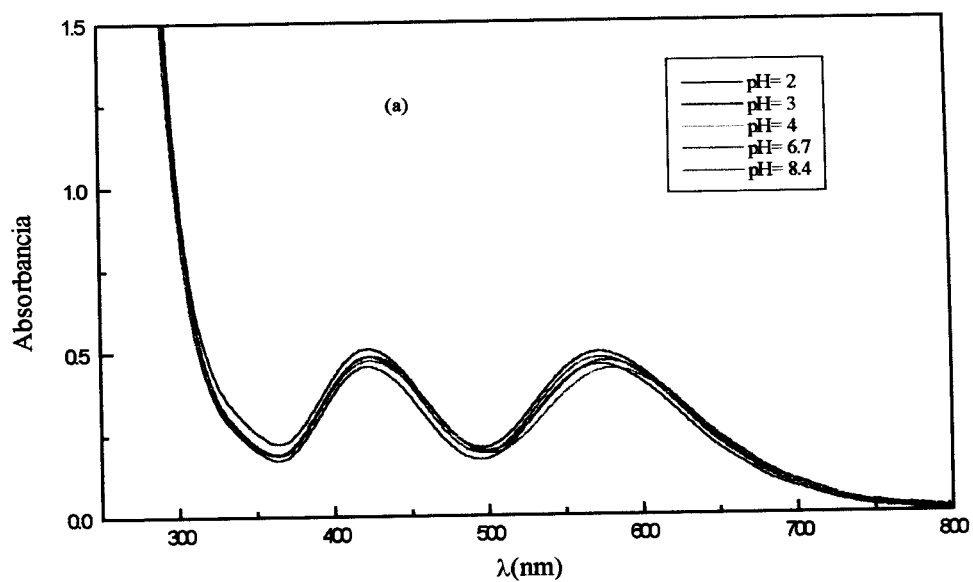


Figura 11 : Espectros uv-visible del complejo Riba- Cr^{VI}
(a) rango de p[H] 2-8.4 **(b) Acidez 0.1-1M de HClO_4**

A fin de determinar cuál es la clase de ligando que quedaría coordinado a la esfera de coordinación primaria del ion Cr^{III} , en el sistema Rib/ Cr^{VI} al finalizar la reacción, se realizaron los espectros uv-visible de las siguientes soluciones:

- 1- $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ 0.018 M
- 2- $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ 0.018 M + Rib(6) 0.4 M
- 3- $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ 0.018 M + Riba(15) 0.4 M
- 4- Complejo Ribonato de Cr^{III} 0.004 M .
- 5- Mezcla de reacción Cr^{VI} 0.018 M + Rib(6) 0.4 M, a t_{∞} .

Todas las soluciones se prepararon en medio HClO_4 0.5 M

Muestra	$\lambda(\text{nm})$		$\epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$	
	λ_1	λ_2	ϵ_1	ϵ_2
1	576	412	15.5	18
2	576	408	12.7	15.4
3	576	408	13.17	17.5
4	576	421	25.8	27.4
5	576	412	15.5	18

La figura 12 nos muestra los espectros UV-Vis en el rango de 200 a 800 nm para las distintas soluciones propuestas anteriormente. A partir de la misma, podemos deducir que la mezcla de reacción a t_{∞} presenta las mismas características que el espectro Nro.1 correspondiente al hexaacuocromo (III).

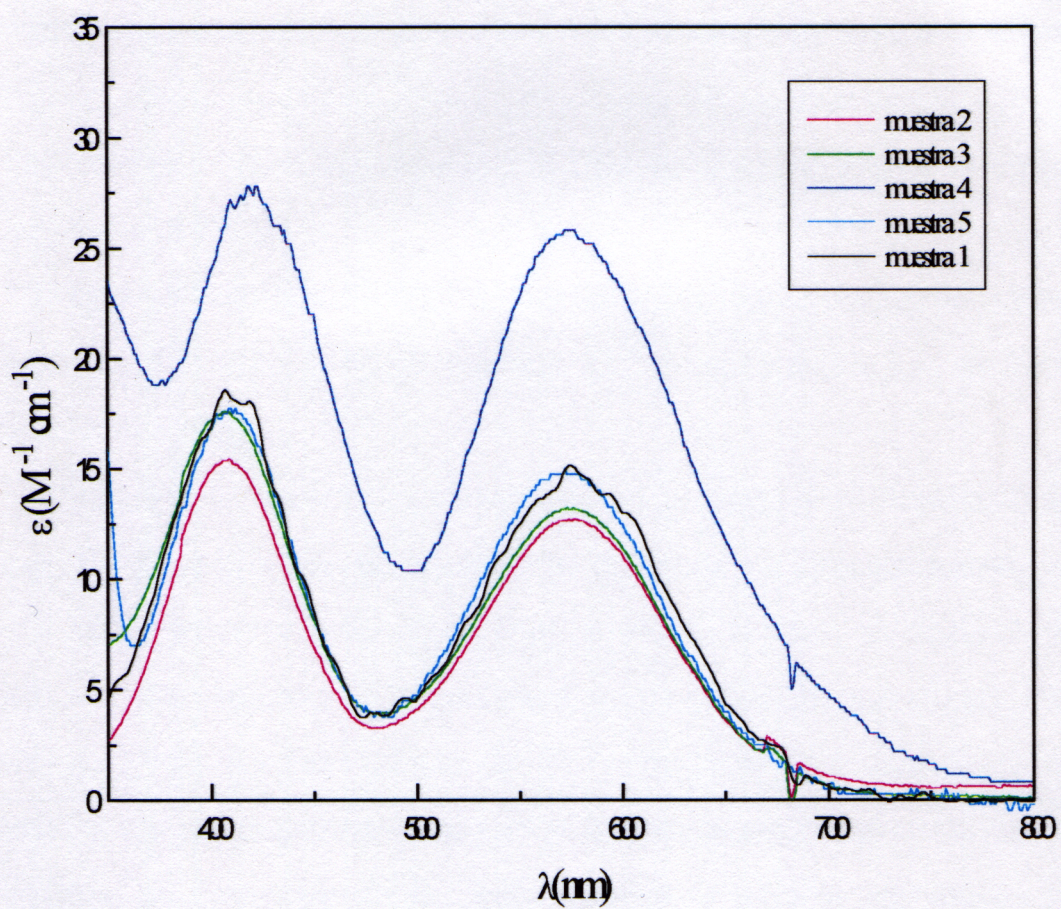


Figura 12 : Espectros uv-visible a $[\text{HClO}_4] = 0.5 \text{ M}$.

3.1.2.- Mediciones cinéticas

Para ambos sustratos, las mediciones cinéticas fueron realizadas evaluando el consumo de Cr^{VI} a 350 nm hasta haber superado más de tres tiempos de vida media. La condición de trabajo fue emplear la técnica de aislamiento comúnmente conocida como condición de pseudo orden n, la cual consiste en emplear un exceso de agente reductor o de agente oxidante. En nuestro estudio se debió trabajar en exceso de sustrato orgánico dado que el producto de reacción es capaz de reaccionar con el agente oxidante: Cr^{VI} en medio ácido.

Previo al estudio cinético, se constató que en el rango de acidez empleado en el estudio, el agente oxidante Cr^{VI} cumplía con la Ley de Beer. (Tabla 2, figura 1)

Al realizar los espectros secuenciales, en el rango de concentraciones de ácido HClO_4 empleadas en las medidas cinéticas y a concentraciones de Cr^{VI} 10 veces mayores a las empleadas en dicha técnica, se observó un máximo de absorbancia a 350 nm y un hombro a 420-500 nm (figura 13). Se trabajó a esas concentraciones de Cr^{VI} debido al bajo coeficiente de extinción molar de los productos de Cr^{III} al final de la reacción.

Como se desprende de la figura anterior, a medida que avanza la reacción se produce una disminución de la absorbancia del hombro a 412 nm y un aumento a 576 y 412 nm (concuerda con los máximos de absorbancia de las dos bandas d-d del $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$). Además, se observa la aparición de un punto isosbético a 525 nm, hecho que se discute mas adelante en el texto.

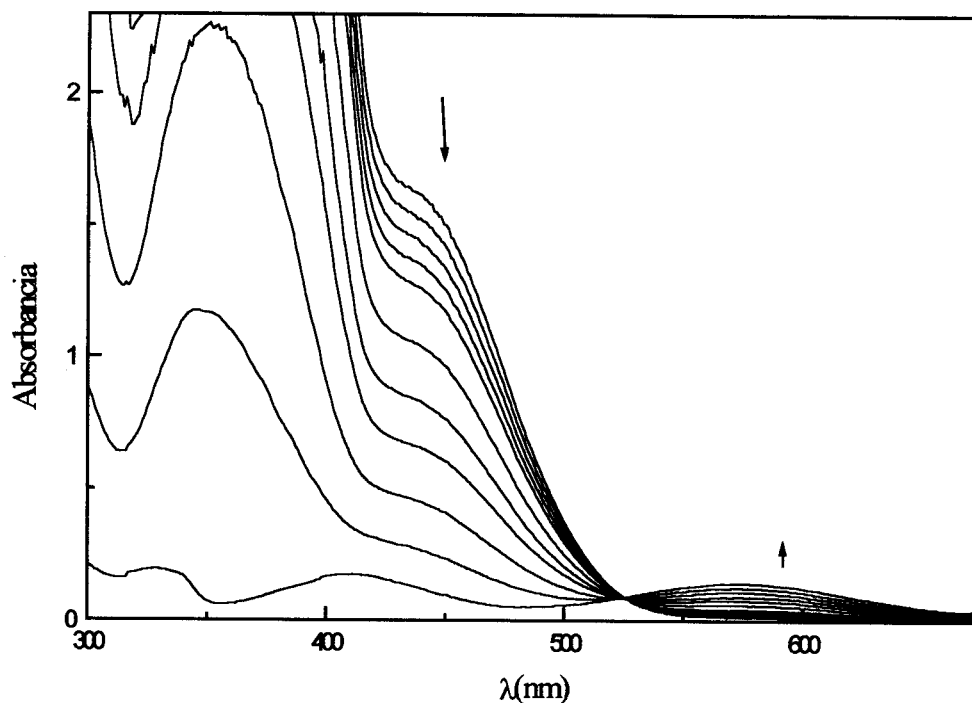


Figura 13 : Espectros uv-visible de la mezcla de reacción Rib-Cr^{VI} a distintos tiempos.

[HClO₄]= 0.25 M, I= 1M. T= 25°C. [Rib]= 0.2M. [Cr^{VI}]= 8.10⁻³ M

Los espectros representan las mediciones realizadas en un período de 110 min.

Para ambos sustratos, al seguir la **disminución de la absorbancia a 350 nm en función del tiempo**, observamos una desviación inicial del decaimiento de primer orden, que sólo se manifiesta en un intervalo de tiempo muy pequeño (figuras 14 y15).

Las especies complejas de Cr^V presentan un valor de absorbancia a 350 nm que puede superponerse a la de Cr^{VI} presentando un valor de ϵ

semejante al de Cr^{VI} , comúnmente observado en las oxidaciones crómicas⁸⁰. No tener en cuenta esta interferencia puede conllevar a una interpretación errónea de los valores de decaimiento espectrofotométrico de la absorbancia⁸¹. Sin embargo, si el Cr^{V} reacciona más rápido que Cr^{VI} y se presenta en muy baja concentración en el medio de reacción, los cambios en los valores de absorbancia a 350 nm esencialmente reflejan los cambios en la concentración de Cr^{VI} ⁸¹. Entonces, se puede calcular el valor de la constante de velocidad de pseudo-primer-orden, k_{obs} a partir de la pendiente de la parte recta de las curvas de $\ln(\text{Abs})$ vs tiempo.

Para poder decidir si se cumple lo manifestado anteriormente es necesario recurrir a un técnica independiente que permita evaluar la velocidad de aparición y decaimiento de Cr^{V} , siendo apropiada la espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (RPE) dado que permite seguir el Cr^{V} , sin interferencia de Cr^{VI} (diamagnético). Para ello, se siguió la altura pico a pico de la primer derivada de la señal de RPE, en función del tiempo.

Se ejemplifica para el sistema Rib(6) / Cr^{VI} en las siguientes condiciones: $[\text{H}^+] = 0.15 \text{ M}$, $[\text{Rib}] = 0.375 \text{ M}$ y $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 = 0.0375 \text{ M}$, a temperatura ambiente

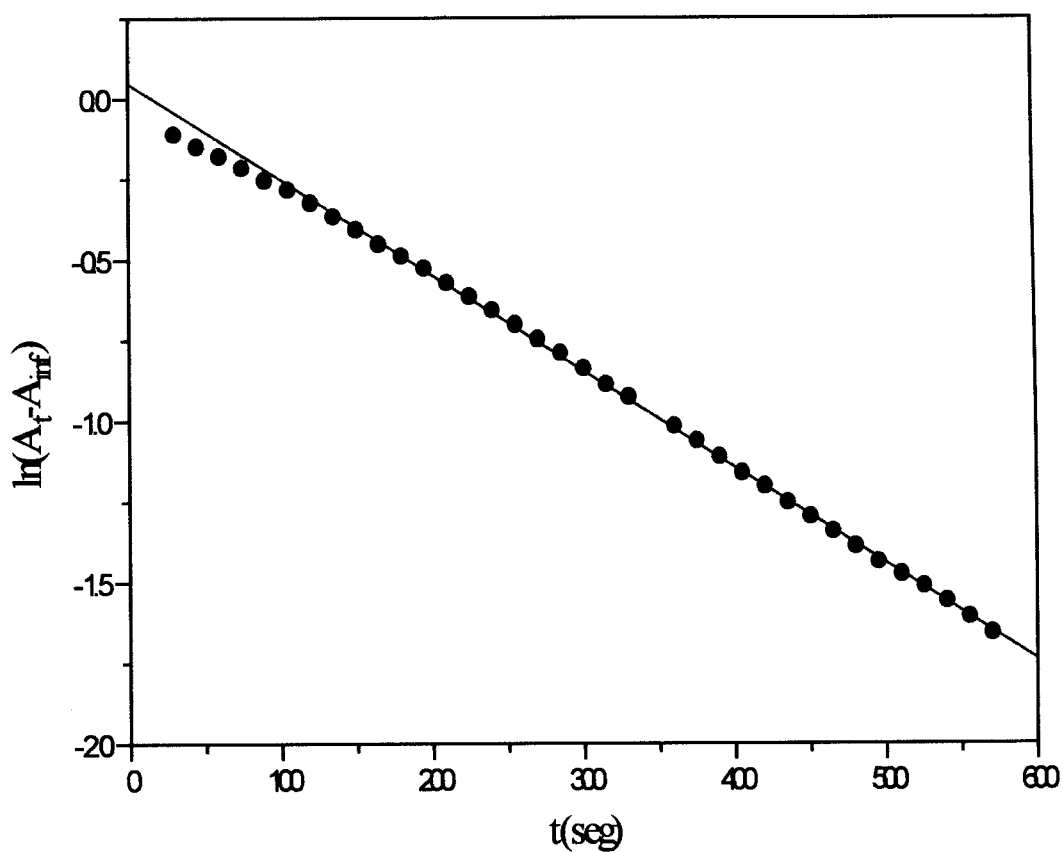


Figura 14 : Dependencia del $\ln(A_t - A_{inf})$ con el tiempo en la oxidación crómica de Rib(6).

$[HClO_4] = 0.75 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[Rib] = 0.08 \text{ M}$. $[Cr^{VI}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

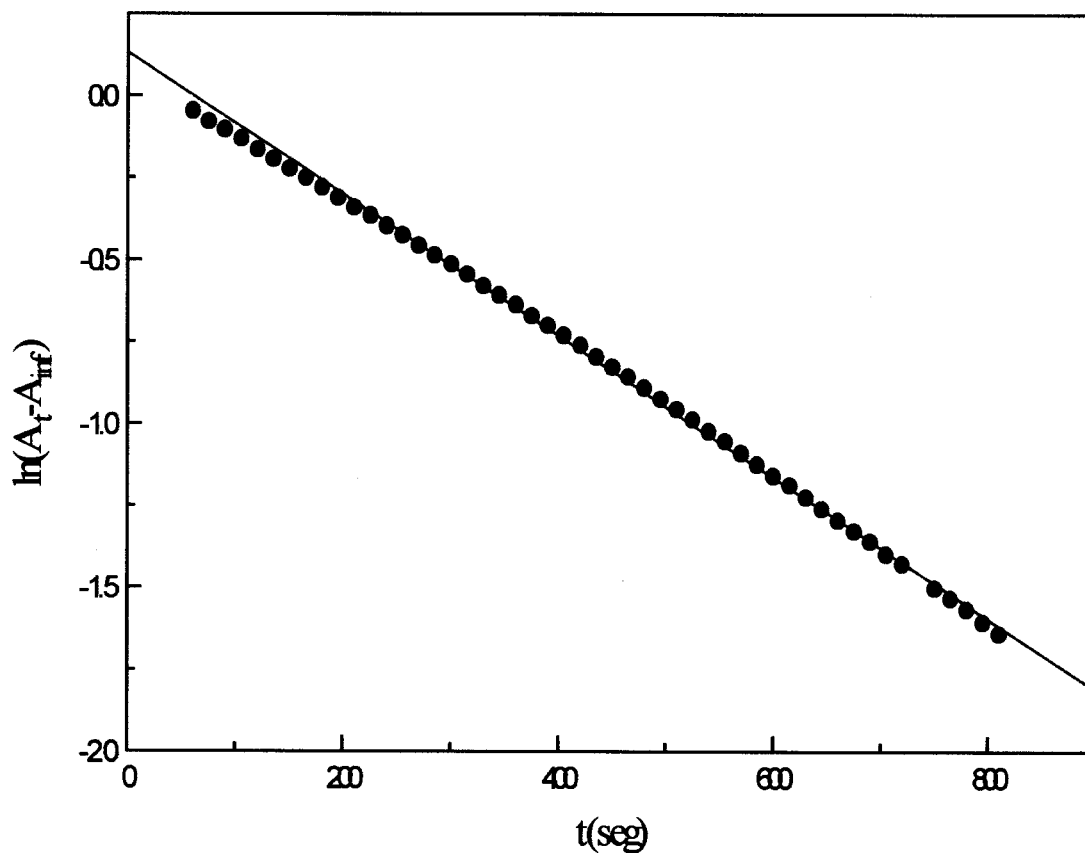


Figura 15 : Dependencia del $\ln(A_t - A_{\infty})$ con el tiempo en la oxidación crómica de 2dRib(13).

$[\text{HClO}_4] = 0.75 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[\text{2dRib}] = 0.08 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

La fig. 16 corresponde a la curva obtenida para la señal pico a pico de RPE de Cr^{V} vs el tiempo. Los valores de la constante de velocidad para la desaparición de Cr^{VI} (k_6) y Cr^{V} (k_5), respectivamente, pueden ser calculados mediante la ecuación^{56,83}:

$$h = Ak_6(\exp(-k_5t) - \exp(-2k_6t)) / (2k_6 - k_5) \quad (13)$$

la cual presenta un muy buen ajuste con la curva experimental correspondiente al crecimiento y decaimiento de la señal del intermediario de Cr^{V} (fig. 16).

Para las condiciones ya descriptas, se obtuvieron los siguientes valores:

$$k_6 = 1.35 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$$

$$k_5 = 1.57 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$$

$$T_{\text{max}} = 4.4 \text{ min.}$$

Con el fin de verificar si la asignación del valor de las constantes de velocidad informada en el párrafo anterior era correcto, se evaluó espectrofotométricamente el valor de k_{obs} ($2k_6$) a 25°C bajo las mismas condiciones empleadas en las experiencias de RPE, obteniéndose el mismo valor.

Por lo tanto, ***el hecho de que k_5 sea 116 veces mayor que k_6 justifica nuestra presunción inicial que los cambios de absorbancia evaluados a 350 nm corresponden a cambios en la concentración de Cr^{VI} .***

Otra forma de verificar las condiciones anteriores, es que el tiempo de concentración máxima de Cr^{V} (T_{max}) debe ser muy pequeño comparado con el tiempo necesario para que se complete la reacción. Se requirieron 12 horas para lograr una completa reducción del Cr^{VI} a Cr^{III} .

Tiempo de reducción de Cr^{VI} a Cr^{III} = 12 horas

Tiempo máximo de formación de Cr^{V} = 4.4 min.

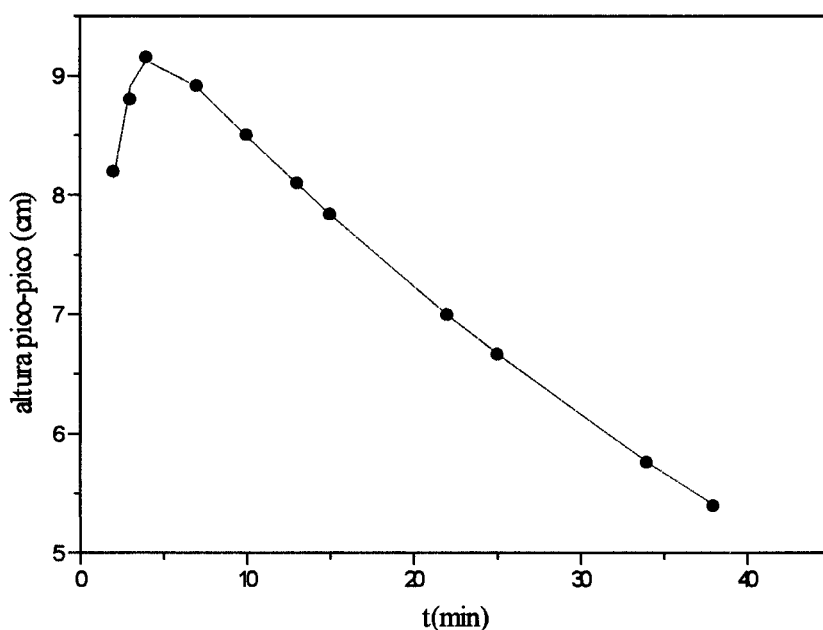


Figura 16: Altura pico- pico de la señal de RPE de Cr^{V} vs. tiempo.

$[\text{H}^+] = 0.15\text{M}$, $[\text{Rib}] = 0.375\text{ M}$, $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 = 0.0375\text{ M}$, $I = 1\text{ M}$, $T: 25^\circ\text{C}$.

$T_{\text{máx}} = 4.4\text{ min.}$

Por otra parte, las determinaciones cinéticas llevadas a cabo evaluando la formación de Cr^{III} a 570 nm indicaron que la velocidad de formación de Cr^{III} es igual a la velocidad de decaimiento de Cr^{VI} . Esto es consistente con la observación de un punto isobéptico a 525 nm (fig. 13) e implica una baja $[\text{Cr}^{\text{V}}]$ a lo largo del rango de acidez seleccionado en el presente trabajo.

De lo visto anteriormente, podemos concluir que, efectivamente se

puede calcular el valor de la constante de velocidad de pseudo-primer-orden, k_{obs} a partir de la pendiente de la parte recta de las curvas de $\ln(\text{Abs})$ vs tiempo; dado que el Cr^{V} decae más rápido que el agente oxidante Cr^{VI} .

Para el sistema Rib(6)-Cr^{VI}: los gráficos de k_{obs} vs [Rib] (fig. 17) ajustaron con ecuaciones lineales a partir de las cuales se determinaron los valores de k.

$$k_{obs}= k[\text{Rib}]$$

La Tabla 5 resume los valores de k_{obs} y de k para varias concentraciones de **Rib(6)**, a concentraciones fijas de HClO_4 .

	$10^4 k_{obs}^* \text{ (s}^{-1}\text{) para } [\text{HClO}_4]/\text{ M de}$						
[Rib]/M	0.10	0.25	0.50	0.60	0.75	0.90	1.00
0.02	-	1.35	3.89	5.33	7.80	10.1	14.1
0.04	-	2.31	7.49	10.6	13.5	19.2	24.2
0.08	1.02	4.12	13.7	20.2	28.2	39.9	47.3
0.12	1.42	5.61	20.0	25.1	40.6	52.6	72.1
0.14	1.55	6.35	23.7	31.7	49.1	68.6	85.3
0.16	1.75	6.63	26.4	36.2	52.6	69.8	92.2
$10^3 k/\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	1.13	4.5	16.8	22.3	34.0	45.9	59.4

* Constantes de velocidad obtenidas por múltiples determinaciones

**Tabla 5. Valores observados de la constante de velocidad de pseudo-primer orden (k_{obs}) y k a diferentes concentraciones de HClO_4 y Rib(6).
T = 33°C; $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0= 8 \times 10^{-4} \text{ M}$; I = 1.00 M**

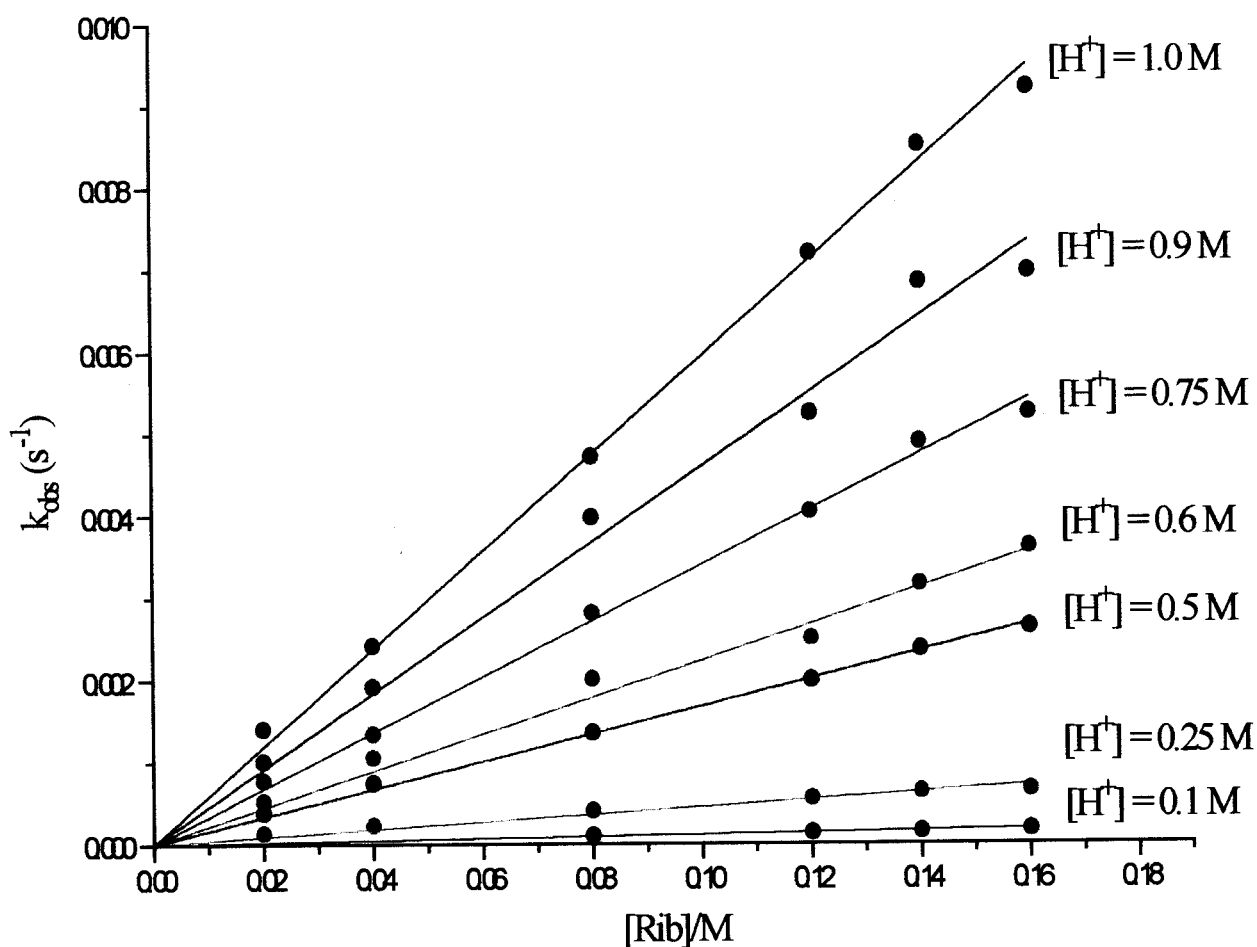


Figura 17: Influencia de la concentración de Rib(6) sobre la k_{obs} a distintas concentraciones de HClO_4 .

$[\text{HClO}_4] = 0.1\text{--}1\text{ M}$. $I = 1\text{ M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[\text{Rib}] = 0.02\text{--}0.16\text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 = 8 \cdot 10^{-4}\text{ M}$

En la figura 18 puede observarse la influencia de la acidez sobre la constante de velocidad, independizada del sustrato orgánico: Rib(6).

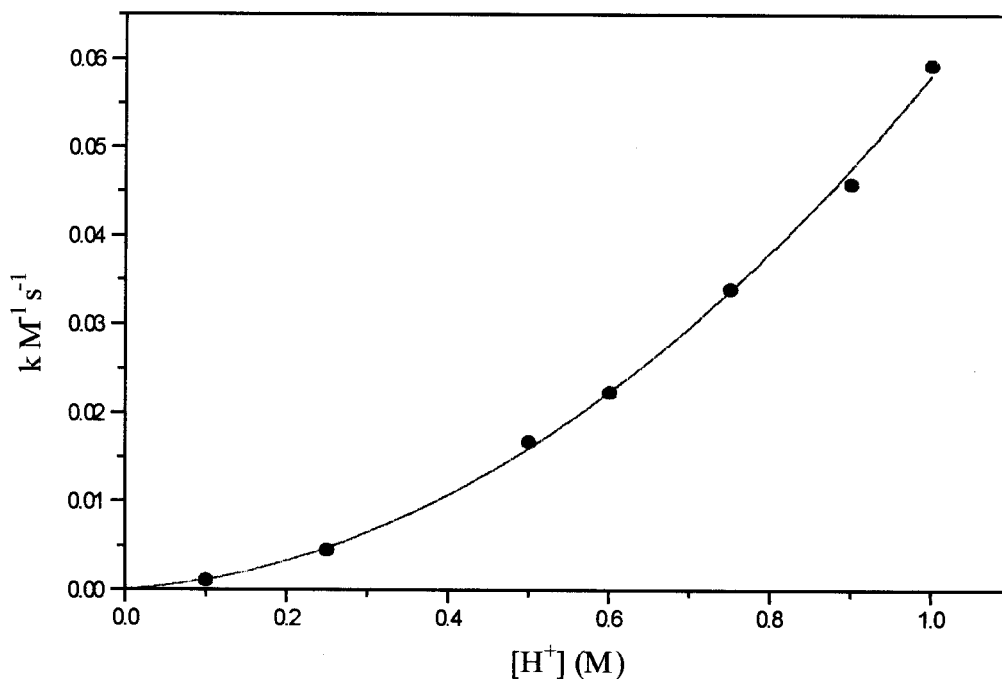


Figura 18 : Influencia de la concentración de HClO₄ sobre la k.

[HClO₄] = 0.1-1 M. I = 1M. T = 33°C. [Rib] = 0.02-0.16 M. [Cr^{VI}]₀ = 8.10⁻⁴ M

A partir de estas gráficas se puede deducir la dependencia de la constante k (independizada del efecto de la concentración de sustrato) con la concentración de protones.

$$k = k_H [H^+]^2 \quad (7)$$

siendo el valor de $k_H = (5.9 \pm 0.1) \times 10^{-2} \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$

La ley de velocidad experimental para la oxidación de Rib(6) por acción del Cr^{VI} puede expresarse de la siguiente forma:

$$-d[Cr^{VI}]/dt = k_{obs} [Cr^{VI}]_T = k_H [H^+]^2 [Rib] [Cr^{VI}]_T \quad (8)$$

[Cr^{VI}]_T = concentración total de Cr^{VI}

Para la oxidación de 2dRib(13), los gráficos de k_{obs} vs [2dRib] (fig. 19) dan líneas rectas sin ordenada al origen. A partir de las pendientes de estas rectas se obtuvieron los valores de k' .

	$10^4 k_{\text{obs}}^* \text{ (s}^{-1}\text{) para [HClO}_4\text{]/ M de}$					
[2dRib]/M	0.10	0.15	0.25	0.50	0.75	1.00
0.02	-	-	0.97	2.87	5.70	9.68
0.04	-	0.74	1.73	5.35	10.1	16.7
0.08	0.78	1.51	3.48	10.5	20.5	33.7
0.12	1.05	2.05	4.84	14.3	30.5	50.3
0.16	1.32	2.65	6.79	21.4	40.7	69.3
$10^3 k'/\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	0.86	1.66	4.20	12.9	25.5	42.7

* Constantes de velocidad obtenidas por múltiples determinaciones

Tabla 6. Valores observados de la constante de velocidad de pseudo-primer orden (k_{obs}) y de k' a diferentes concentraciones de HClO_4 y 2dRib(13). $T = 33^\circ\text{C}$; $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 = 8 \times 10^{-4} \text{ M}$; $I = 1.00 \text{ M}$

La representación de k' vs. $[\text{H}^+]^2$ (fig. 20) dio lugar a una gráfica que se ajusta a una ecuación lineal con ordenada al origen positiva, indicando que la constante de velocidad independizada de sustrato puede expresarse con un término dependiente y otro independiente de la acidez:

$$k' = k_0 + k_H' [\text{H}^+]^2 \quad (9)$$

$$k_0 = (1.3 \pm 0.5) \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ y } k_H' = (4.2 \pm 0.1) \times 10^{-2} \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

La ley de velocidad experimental para la oxidación de 2dRib(13) por acción del Cr^{VI} en medio ácido está dada por

$$d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{obs}}' [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} = (k_0 + k_{\text{H}}' [\text{H}^+]^2) [2\text{dRib}] [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} \quad (10)$$

Las leyes de velocidad experimental para la oxidación de Rib(6) y 2dRib(13) por Cr^{VI} difieren en un término independiente de $[\text{H}^+]$ para el caso de oxidación de 2dRib(13).

$$-d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{obs}} [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} = k_{\text{H}} [\text{H}^+]^2 [\text{Rib}] [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} \quad (8)$$

$$d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{obs}}' [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} = (k_0 + k_{\text{H}}' [\text{H}^+]^2) [2\text{dRib}] [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} \quad (10)$$

Estos dos términos en la ley de velocidad para la oxidación de 2dRib(13) (ec.10) indican la existencia de por lo menos dos estados de transición, que difieren en su composición química. Además, como ambas constantes son de órdenes similares, se concluye que no deben diferir demasiado en sus valores de energía potencial, porque si no la reacción ocurriría esencialmente por uno de los dos caminos. Por lo tanto, ambos intermediarios se verían involucrados en el proceso de reducción del agente oxidante: Cr^{VI} .

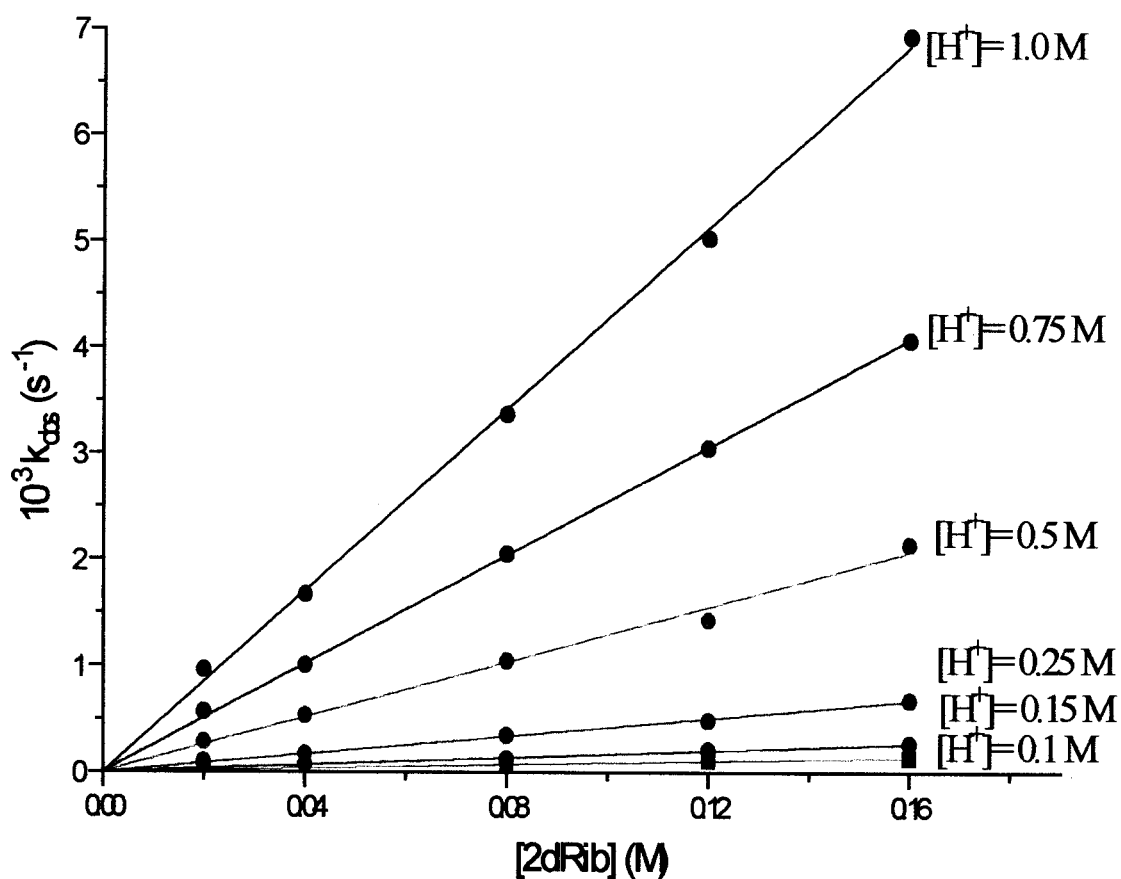


Figura 19 : Influencia de la concentración de 2dRib(13) sobre la k_{obs} a distintas concentraciones de HClO_4 .

$[\text{HClO}_4] = 0.1\text{-}1 \text{ M}$. $I = 1\text{ M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[\text{2dRib}] = 0.02\text{-}0.16 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

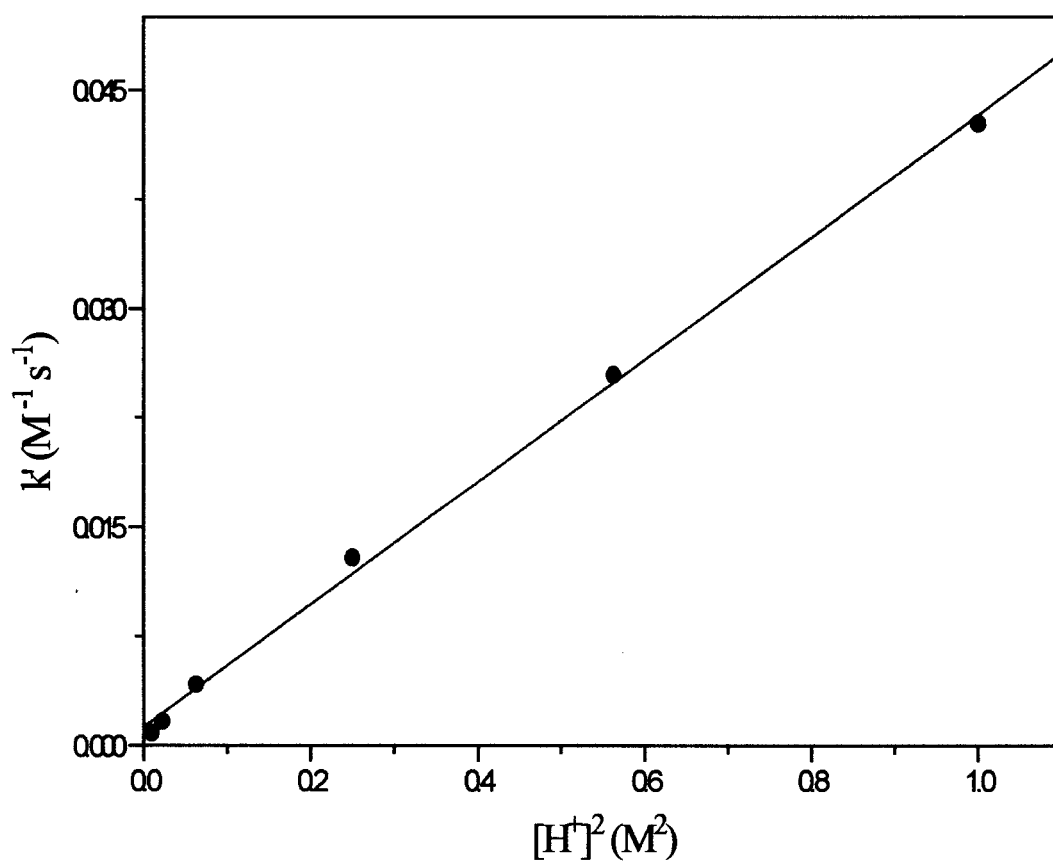


Figura 20 : Dependencia de k' con la acidez del medio de reacción.

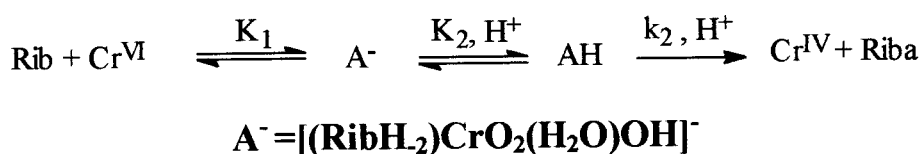
$[\text{HClO}_4] = 0.1\text{-}1 \text{ M}$. $I = 1\text{M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[\text{2dRib}] = 0.02\text{-}0.16 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

La oxidación de 2dRib(13) por Cr^{VI} se produce a través de dos pasos lentos paralelos de reacción que originarían los productos de reacción.

En el caso de Rib(6), la reacción redox ocurre a través de un estado de transición dando lugar a los productos de reacción en una etapa con catálisis ácida; lo cual permitiría explicar por qué a p[H] mayores la oxidación de 2dRib(13) se lleva a cabo más rápidamente que para Rib(6).

Para ambos azúcares, en el rango de concentraciones de sustrato utilizado, solo se observó una dependencia con el sustrato de primer orden siendo los únicos productos detectados los ácidos aldónicos: Riba(15) (ó 2dRiba(17)).

Teniendo en cuenta todos los datos experimentales precedentes se propone para la oxidación de Rib(6) por acción del Cr^{VI} en medio ácido el siguiente **mecanismo de reacción** :



En el rango de $[\text{H}^+]$ estudiado, el Cr^{VI} existe mayoritariamente como HCrO_4^- ⁸². Por ello, el primer paso en el mecanismo propuesto en el **esquema mecanístico** puede interpretarse como la formación de un monoquelato con el ligando polidentado: Rib(6) coordinado al centro metálico: Cr^{VI} a través de los átomos de oxígeno del C1 y C2 para dar la especie aniónica A^- . Dado que sería posible la formación de varios isómeros *vía* algún grupo hidroxilo con la disposición espacial adecuada en el ligando

y teniendo en cuenta que el único producto de reacción en las condiciones de la cinética (exceso de sustrato orgánico) es el ácido aldónico: Riba(15), proponemos el complejo constituido por la unión del hidroxilo anomérico al Cr^{VI} como precursor del paso lento redox. La forma monoprotonada de este intermediario (AH) daría los productos redox en una etapa catalizada por ácido.

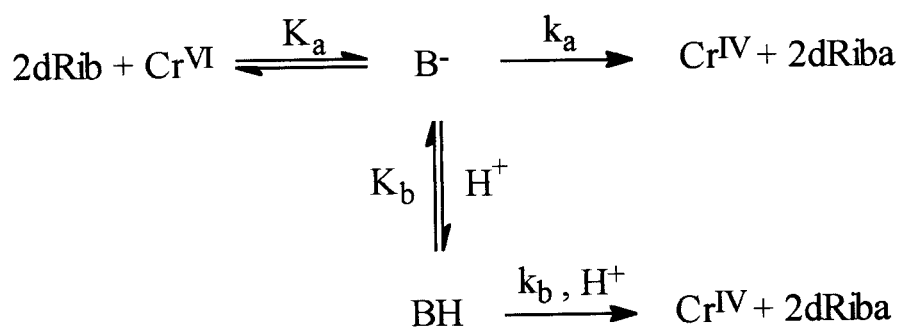
La **Ley de Velocidad Teórica derivada para este mecanismo** corresponde a:

$$-d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_2 K_1 K_2 [\text{H}^+]^2 [\text{Rib}] [\text{Cr}^{\text{VI}}] \quad (11)$$

$k_2 K_1 K_2 = k_H$ de la ley de velocidad experimental.

Un **mecanismo alternativo** puede involucrar la formación de un intermediario bis-quelato $\text{Cr}^{\text{VI}}\text{-Rib}_2$, donde solo una de las dos moléculas de Rib(6) involucrada en la formación del complejo de Cr^{VI} es oxidada a Riba(15) a través de una etapa redox intramolecular de dos electrones.

Para la oxidación de la 2dRib(13) por Cr^{VI} se propone el siguiente mecanismo:



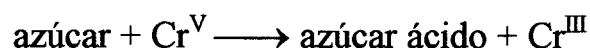
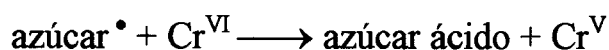
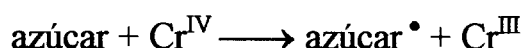
El primer paso corresponde a la formación de un complejo binario 1:1 2dRib-Cr^{VI}, con 2dRib(13) actuando como ligando monodentado unido a Cr^{VI} por el grupo hidroxilo anomérico para dar la especie aniónica B⁻. Este intermediario puede descomponerse directamente a productos o dar BH. Este intermediario monoprotonado conduciría a los productos de reacción redox a través de un paso catalizado por ácido.

La ley de velocidad teórica derivada para este mecanismo corresponde a:

$$-d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = (k_a K_a + k_b K_a K_b [\text{H}^+]^2) [2\text{dRib}] [\text{Cr}^{\text{VI}}] \quad (12)$$

$k_a K_a = k_0$ y $k_b K_a K_b = k_H'$ de la ley de velocidad experimental.

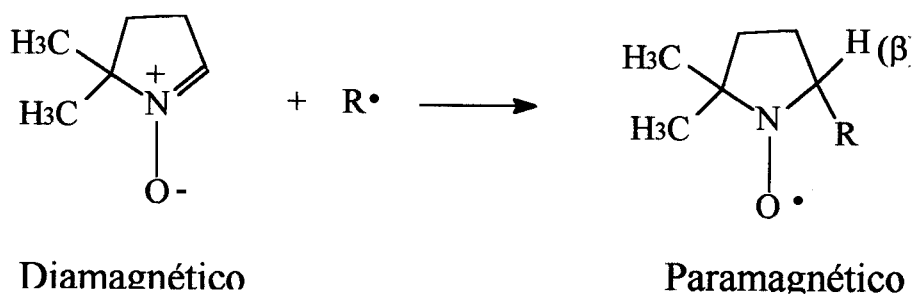
Para ambos agentes reductores: Rib(6) o 2dRib(13), posterior a las etapas lentas, determinantes de la velocidad de reacción, tendrían lugar las siguientes reacciones:



De acuerdo a este esquema, el Cr^{IV}, formado en el paso determinante

de la reacción, reacciona rápidamente con el sustrato para generar la especie Cr^{III} , que corresponde al estado de oxidación más bajo y estable del cromo, y el radical orgánico: azúcar $\cdot$. La formación de este radical azúcar se comprobó experimentalmente mediante dos técnicas independiente: química analítica clásica: polimerización observada después de la adición de acrilonitrilo; espectroscópica: adición de DMPO a la mezcla de reacción y detección del aducto: DMPO-radical azúcar por resonancia paramagnética electrónica.

Muchas especies radicalarias, son intermediarios de reacción, siendo, generalmente, muy reactivas, lo que hace dificultosa su detección en la escala de tiempo del RPE. Al ser el DMPO un compuesto diamagnético, no presenta señal en RPE pero, al formarse una especie radicalaria en presencia de DMPO, ésta es atrapada por este “atrapador de espín”, formando un aducto radicalario nitroxilo paramagnético, activo en RPE.



La señal observada en el espectro de RPE se desdobra debido a interacciones superhiperfinas entre el espín nuclear del N y el átomo de H (β) y el electrón desapareado del radical nitroxilo (a_N y a_H). El núcleo de ^{14}N ($I=1$) desdobra la señal en tres líneas, y éstas a su vez se desdoblan en dos por el núcleo del ^1H ($I=1/2$). La constante de acoplamiento hiperfino, a , depende de la especie radicalaria atrapada por el DMPO. Por ello, la señal

del aducto formado por el radical-DMPO observada en RPE puede usarse para determinar la especie radicalaria formada durante la reacción de interés.

Un problema se presenta cuando se halla más de una especie radicalaria en el medio de reacción, dado que se hace difícil hallar el valor exacto de a del espectro de RPE. En estos casos, se utilizan programas de computación que simulan los espectros, y se hallan, de esta forma, los valores de a .

En nuestros sistemas en estudio, el aducto presentó una señal a $g = 2.003$ (fig. 21) con constante de acoplamiento $a_N = 7.48 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $a_H = 3.65 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (x2).

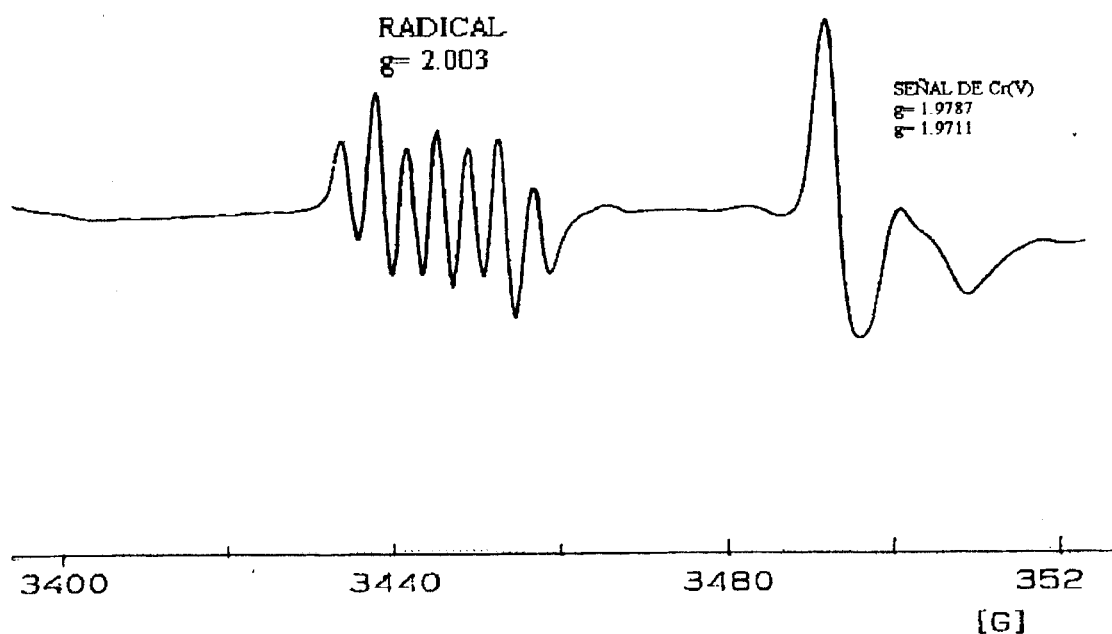


Figura 21. Espectro de RPE de la mezcla de reacción con DMPO.

$[\text{HClO}_4] = 0.1\text{M}$. $T = 25^\circ\text{C}$. $[\text{Rib}] = 0.375 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 0.0375 \text{ M}$. $[\text{DMPO}] = 0.09 \text{ M}$

Informamos, de este modo, por primera vez la detección por

RPE de un aducto radicalario DMPO/ radical-azúcar en estudios cinéticos de hidratos de carbono con iones metálicos de transición o transición interna.

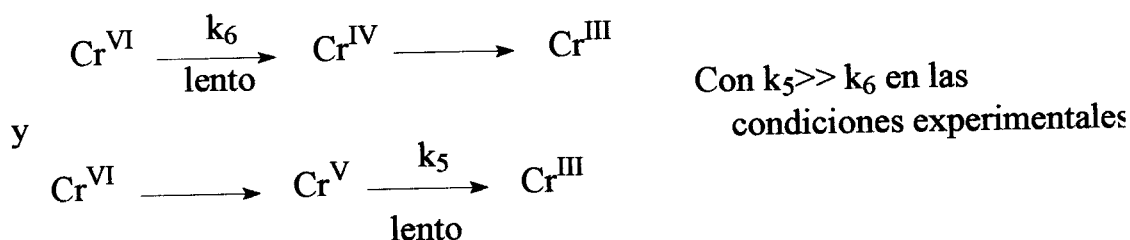
La reacción del radical orgánico y el Cr^{VI} da lugar a la formación de Cr^{V} , el cual posteriormente oxidaría al la aldosa para dar lugar al producto final de reacción redox.

Contrariamente a la Rib(6) (aldopentosa), la curvas cinética de las aldohexosas: Man(7) y Ram(8) presentan curvas con saturación, del tipo enzimático^{45,53}. Esto significa que estas aldohexosas forman complejos intermediarios de Cr^{VI} más “estables”: **esteres crómicos** con valores de K_f altos, que pueden ser detectados cinéticamente. A su vez, bajo las mismas condiciones de reacción; el parámetro cinético ($k_{\text{ox}}K_{\text{complejación}}$) para el término dependiente de $[\text{H}^+]^2$ es, al menos, seis veces menor para dichas aldohexosas que para la aldopentosa: Rib(6)⁴⁵.

Cuanto mayor es la estabilidad del complejo intermediario de Cr^{VI} , precursor de las etapas redox, mayor es el valor de la barrera energética que se debe vencer en el paso lento de transferencia electrónica, para que tenga lugar la reacción redox. Comparando los parámetros cinéticos del término dependiente de la acidez($k_{\text{ox}}K_{\text{complejación}}$) para Rib(6) y 2dRib(13) puede observarse que son del mismo orden de magnitud, esto significa que, k_{ox} y $K_{\text{complejación}}$ se compensan mutuamente para dar el mismo valor del producto $k_{\text{ox}} K_{\text{complejación}}$.

Debe notarse que el paso lento redox, que involucra tanto a los complejos intermediarios A^- o B^- (BH), es un paso de dos electrones, y la

especie final, Cr^{III} , se formaría a través de



Caracterización del Intermediario Mutagénico: Cr^{V}

Con el fin de caracterizar las especies de Cr^{V} formadas en las reacciones de Rib(6) y 2dRib(13) con Cr^{VI} , se utilizó la técnica de RPE.

La reacción de Cr^{VI} con un exceso 5-100 veces de Rib(6), se llevó a cabo en distintas condiciones de acidez, las que dividiremos en (a) rango de p[H] 4-7 y (b) rango de $[\text{H}^+] = 0.1 - 1 \text{ M}$, dado por HClO_4 .

(a) En el rango de p[H] 4-7, a 25°C , se genera un espectro de RPE dominado por una señal única detectable a $g_{\text{iso}} = 1.9787$ (fig. 22) con las cuatro señales de ^{53}Cr (abundancia 9.55%, $I = 3/2$) hiperfinas separadas $15.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. En este rango de p[H] , se observó señal de Cr^{V} en solución por más de siete días.

En estudios previos Lay y col.^{62,63,65} observaron que el valor de g_{iso} y de A_{iso} de sistemas constituidos por Cr^{V} y distintos ligandos daba información estructural sobre los complejos formados. El valor de g_{iso} depende sólo de la naturaleza y del número de los grupos donores, mientras que el valor de A_{iso} brinda información acerca de la naturaleza de los átomos donores ecuatoriales y de la geometría de coordinación. En general, para los complejos oxocoordinados de Cr^{V} , se observó que, al comparar complejos con los mismos ligandos, el valor de g_{iso} es mayor en los

complejos pentacoordinados que en los hexacoordinados, mientras que los valores de A_{iso} , guardan una relación inversa: pentacoordinado < hexacoordinado⁶⁵. De acuerdo con dichos trabajos, la señal anterior es típica de **un complejo penta-coordinado de oxocromato(V)**.

En este rango de pH, al variar la modulación de amplitud, el acoplamiento superhiperfino (shf) se resuelve parcialmente lo cual indica que el espectro global de RPE es el resultado de la contribución de distintas especies de Cr^V .

(b) A $[HClO_4] \geq 0.1$ M, la reacción de Cr^{VI} con exceso de Rib(6) da lugar a la formación de dos clases de especies de Cr^V de vida relativamente larga ($t > 70$ min). La intensidad relativa de las dos señales de RPE de Cr^V , a $g_1 = 1.9787$ y $g_2 = 1.9711$, es dependiente de $[H^+]$ (fig. 22), pero es independiente de la relación Rib: Cr^{VI} empleada (rango 5:1 a 100:1).

El valor de g_2 es significativamente menor que el observado para los complejos de oxocromato(V) penta-coordinados. Puesto que el valor de g de las especies complejas de Cr^V depende del número de coordinación³⁸, la señal a g_2 puede asignarse a un complejo de oxocromato(V) hexacoordinado⁶⁵.

Se llevarán a cabo, en el futuro, estudios empleando marcadores isotópicos en cromo para mejorar la resolución de este tipo de espectros.

En el rango de acidez: $[H^+] = 0.1-0.15$ M, la especie penta-coordinada (g_1) es la mayoritaria; formándose rápidamente (la concentración máxima se obtiene a $t < 3$ min.) con un lento decaimiento posterior. Bajo estas condiciones, la especie minoritaria siempre decae con el tiempo.

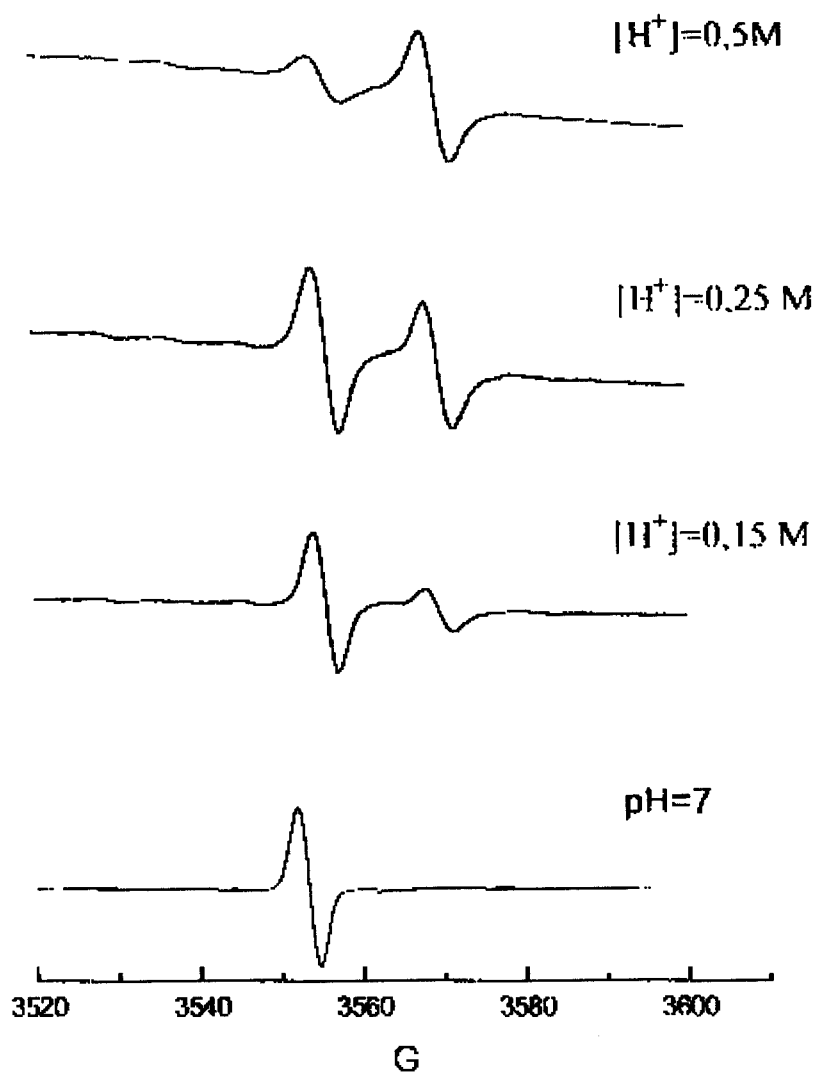


Figura 22: Espectro de RPE (banda X) de la mezcla de reacción Rib- Cr^{VI} a distintas $[\text{H}^+]$. T:25°C.

Modulación de amplitud: 4 G. Campo central: 3550 G. Frecuencia: 9.85 Ghz.

En el rango de acidez: $[H^+] = 0.25-1.0$ M la especie hexa-coordinada (g_2) es la mayoritaria. Por ejemplo, a $[H^+] = 1$ M, después de 6 min. de reacción, la relación de señales $g_1/g_2 = 0.07$. El complejo de oxocromato(V) penta-coordinado tiende a formarse para cualquier valor de acidez, mientras que la especie hexa-coordinada requiere expresamente condiciones ácidas.

A cada valor de $[H^+]$, las dos señales de Cr^V decaen a diferente velocidad, y dicha velocidad aumenta con el aumento del valor de $[H^+]$, indicando que la oxidación de las aldosas por acción del Cr^V presenta catálisis ácida.

El comportamiento observado parece indicar que ambos complejos penta y hexa-coordinados se forman independientemente y dan el producto final, Cr^{III} , por dos etapas paralelas.

La reacción de Cr^{VI} con exceso de 2dRib(13), en el rango de $p[H]$ 4-7, a $25^\circ C$, produce una única especie intermediaria de Cr^V , con $g_{iso} = 1.9791$ y $A_{iso} = 16.6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (fig. 23), característica de un complejo de oxocromato(V) penta-coordinado (fig 23).

Al disminuir la modulación de amplitud, no se resuelve la señal; por ello es probable que la señal de RPE se deba a una única especie compleja de Cr^V .

Al variar la acidez del medio de reacción, se observa la aparición de más de una señal. A $p[H] = 2$, se forman dos clases de especies de Cr^V , con distinta intensidad: la señal mayoritaria, con $g_1 = 1.9791$ y una señal

minoritaria con un valor de $g_2 = 1.9735$. Al elevar la acidez del medio de reacción: $[H^+] > 0.1 \text{ M}$, se observa una tercera señal a $g_3 = 1.9707$. El valor de g_{iso} de las dos señales a campos mayores puede asignarse a complejos de oxocromato(V) hexa-coordinados⁶³. La proporción relativa de las tres especies depende esencialmente de la acidez.

En el caso de **2drib**, para una relación inicial $2drib:Cr^{VI} = 10:1$, a diferentes valores de $p[H]$, la experiencia revela que las dos (o tres) señales decaen a velocidades comparables, por lo tanto, estas especies intermediarias de Cr^V se encontrarían en equilibrio rápido comparando con el tiempo de reducción a Cr^{III} . Estas velocidades aumentan al disminuir el $p[H]$, indicando que la catálisis ácida se encuentra presente en este caso. Un comportamiento similar fue observado para la reacción de **2dGlc (13)** y Cr^{VI} ⁵⁴.

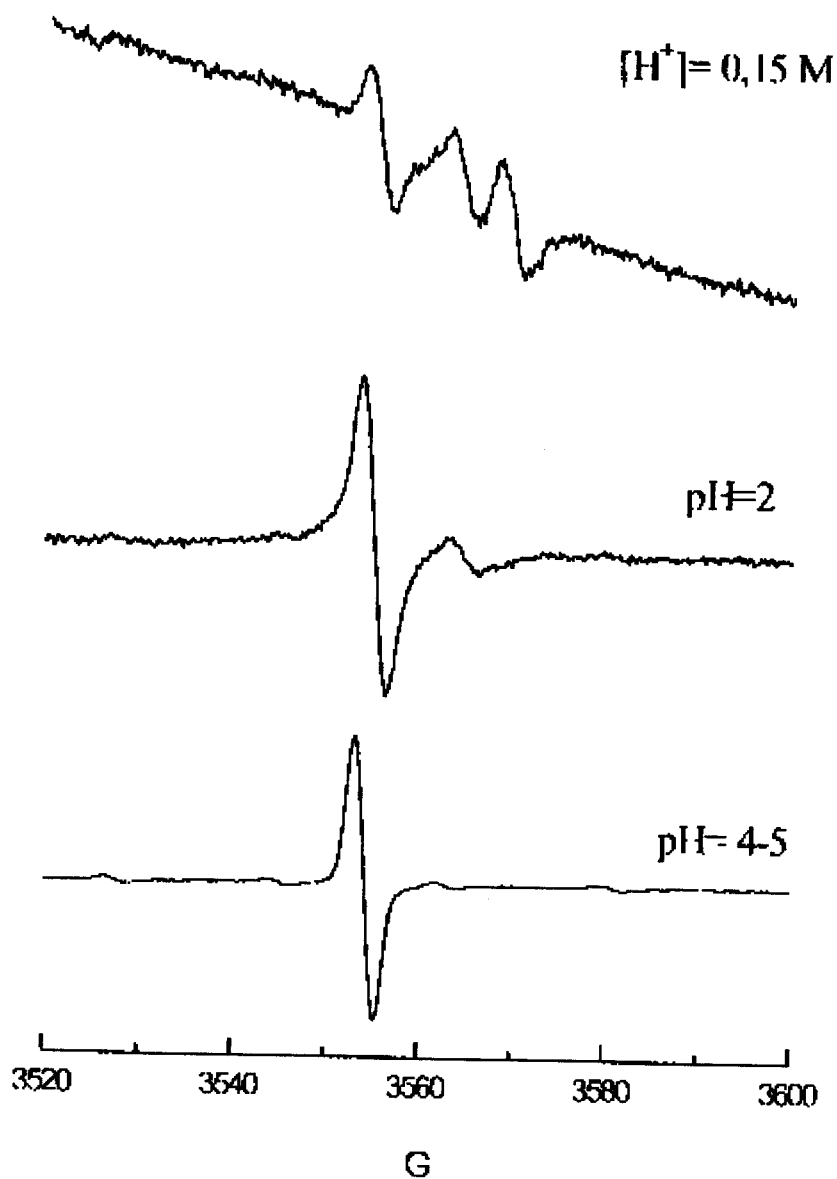
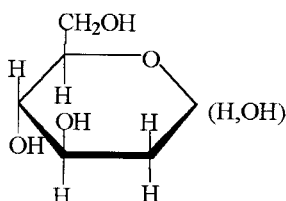


Figura 23: Espectro de RPE de banda X de la mezcla de reacción 2dRib-Cr^{VI} a distintas $[H^+]$. T:25°C.

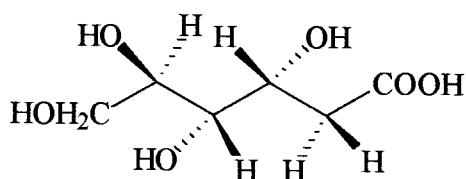
**Modulación de amplitud: 8 G. Campo central: 3550 G.
Frecuencia: 9.84 Ghz.**

3.2- Oxidación de 2-desoxi-D-glucosa (14) por acción del Cr^{VI} en medio ácido.



3.2.1- Análisis de los productos de reacción

Al analizar las mezclas de reacción a tiempo infinito por Cromatografía descendente en papel y por ^{13}C - RMN se detectó un único producto reductor identificado como el **ácido 2-desoxi-D-glucónico** (2dGlc) (16) proveniente de la oxidación de 2dGlc(14).



A continuación se dan las relaciones de frente referidas a 2dGlc(14) ($\text{R}_{2\text{DG}}$) para el sistema Cr^{VI} -S, obtenidas en el análisis cromatográfico.

Muestra sembrada	R _{2DG}		
	HClO ₄ en acetona	clorh. p-anisidina	AgNO ₃ / OH ⁻
2dGlc (ac)	1	1	1
2dGlca (ac)	1	1	1
	0.4		0.4
			1.2
Mezcla de reacción a	1	1	1
	0.4		0.4
			1.2

$[2dglc] / [Cr^{VI}] = 5$ y $[HClO_4] = 0.5$ M Volumen de siembra: 10

Tiempo de desarrollo: 24 horas T: 25° C

Solvente de desarrollo: n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5, 4:1:1, y 4:3:2, empleando siempre la capa superior).

Detección de CO₂ obtenido en condiciones de la cinética.

Según los resultados obtenidos y descriptos en la parte experimental, podemos decir que la degradación de 2dGlc(14) en condiciones de exceso de sustrato reductor, no produjo desprendimiento de CO₂ por mol de sustrato.

Cr^{III}.

La especie final de Cr^{III} fue observada espectroscópicamente. La fig. 29(b) nos muestra una señal típica de RPE ($g = 1.9826$) obtenida a 100 K, al finalizar la reacción, atribuida a Cr^{III}.

3.2.2- Mediciones cinéticas

Oxidación de 2dGlc(14) por Cr^{VI}

Los estudios cinéticos se llevaron a cabo en forma similar a la descrita para el estudio de los sistemas Rib/ Cr^{VI} y 2Rib/ Cr^{VI} . Las constantes de velocidad de pseudo-primer orden k_{obs} fueron determinadas de la parte lineal de la gráfica de $\ln(A_{350})$ vs. tiempo (fig. 24).

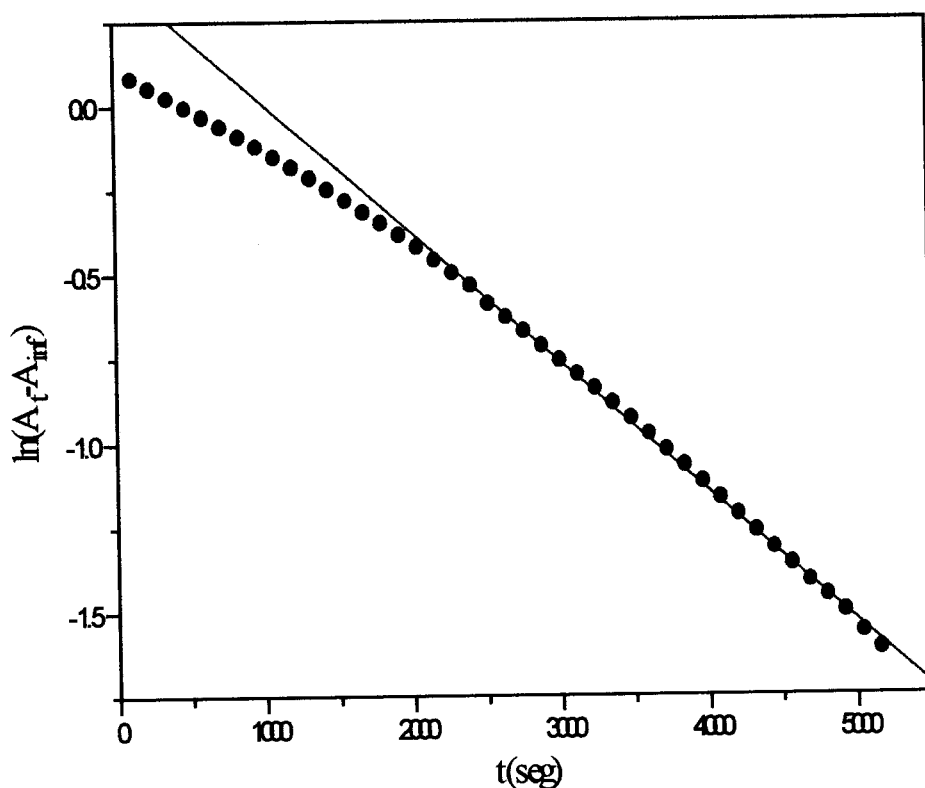


Figura 24 : Dependencia del $\ln(A_t - A_{\text{inf}})$ con el tiempo en la oxidación crómica de 2dGlc(14).

$[\text{HClO}_4] = 0.2 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$. $T = 50^\circ\text{C}$. $[2\text{dGlc}] = 0.08 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Los gráficos de k_{obs} vs $[2\text{dGlc}]$ en el rango de acidez estudiado se muestran en fig. 25.

De dichos gráficos podemos extraer las siguientes observaciones:

La dependencia de la constante de velocidad k_{obs} con $[2\text{dGlc}]$ es lineal, con ordenada al origen positiva (ec.14)

$$k_{\text{obs}} = a + b[2\text{dGlc}] \quad (14)$$

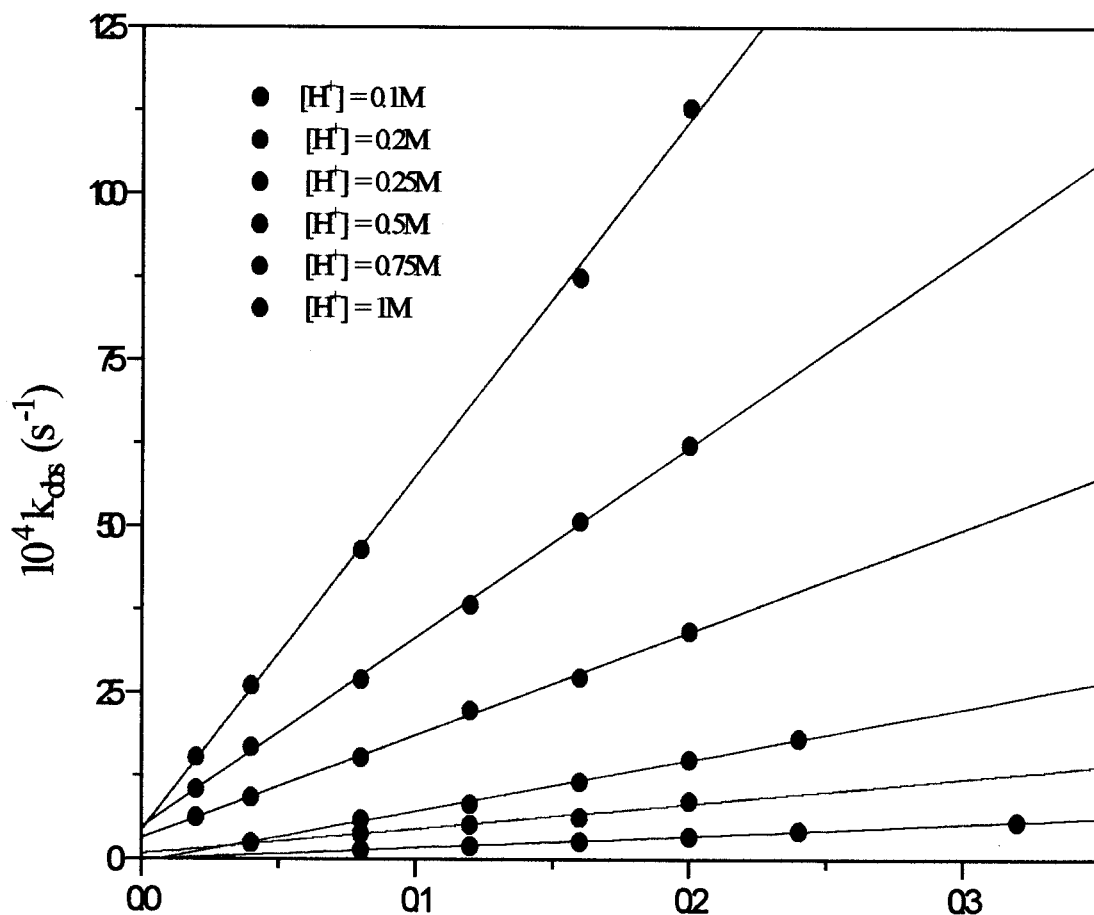


Figura 25: Efecto de la $[2\text{dGlc}]$ en k_{obs} .

$[\text{HClO}_4] = 0.1\text{-}1\text{ M}$, $I = 1\text{M}$. $T = 50^\circ\text{C}$. $[2\text{dGlc}] = 0.02\text{-}0.32\text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 8 \cdot 10^{-4}\text{ M}$

La ordenada al origen presenta una dependencia con la acidez del medio, la cual también es lineal (ec. 15)

$$a = c[H^+] \quad (15)$$

La pendiente $b = dk_{\text{obs}}/d[2d\text{Glc}]$, varía con $[H^+]$ (fig. 26) de acuerdo a la expresión cuadrática:

$$b = d + e[H^+] + f[H^+]^2 \quad (16)$$

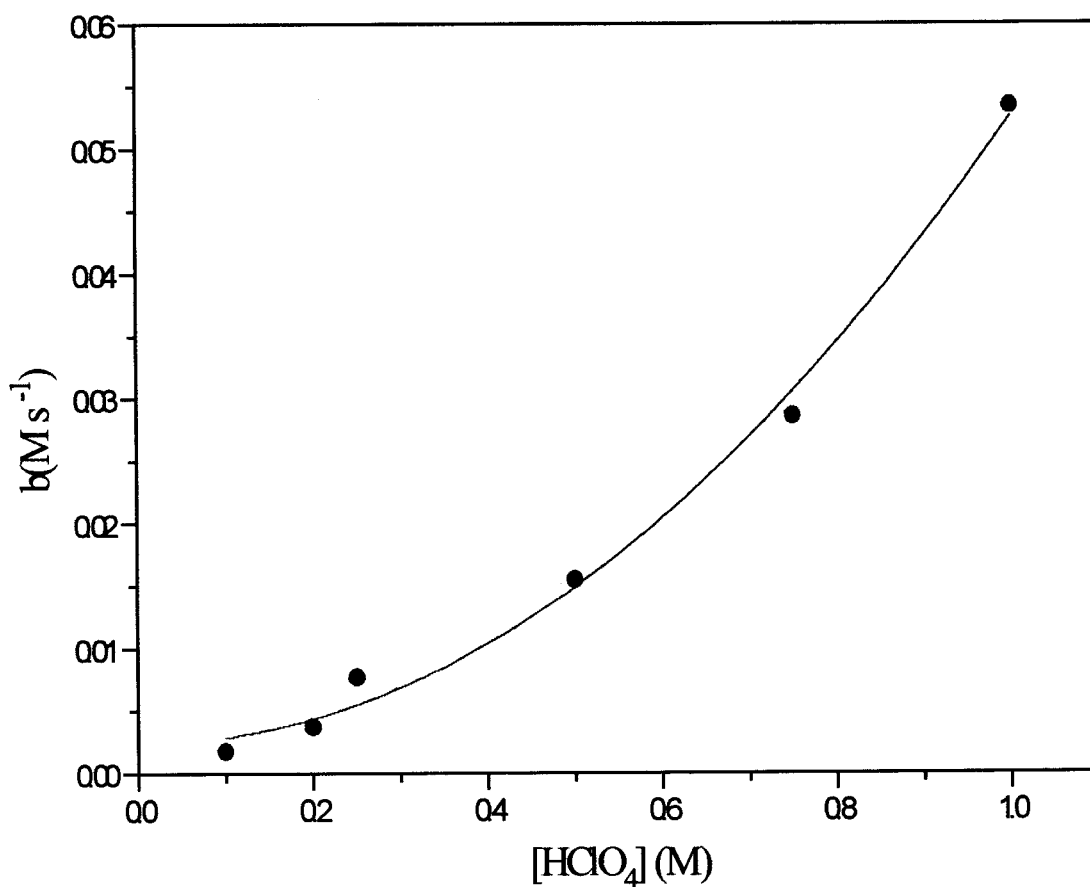


Figura 26: Efecto de la $[HClO_4]$ sobre la pendiente b .

$[HClO_4] = 0.1-1 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$. $T = 50^\circ\text{C}$. $[2d\text{Glc}] = 0.02-0.32 \text{ M}$. $[Cr^{VI}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Sustituyendo a y b en la ec. 1, se obtiene la **ley de velocidad experimental**:

$$v = -d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{obs}}[\text{Cr}^{\text{VI}}] = \{c + (d + e[\text{H}^+] + f[\text{H}^+]^2) [2\text{dGlc}]\} [\text{Cr}^{\text{VI}}] \quad (17)$$

Con el fin de minimizar errores, trabajamos con todos los datos simultáneamente, utilizando un programa de regresión multilíneal⁸⁴, que fue desarrollado para ajustar una función con varias variables. En la práctica, dicho programa nos permite ajustar parámetros comunes en una serie de experimentos realizados bajo distintas condiciones (por ejemplo: acidez o temperatura).

En principio, para obtener los valores de k_{obs} , trabajamos con $[2\text{dGlc}]$ constante, a $[\text{H}^+]$ variable ó viceversa. Los parámetros obtenidos por este método fueron empleados como los valores iniciales del ajuste matemático de k_{obs} al utilizar el programa de regresión multilíneal. De este modo, este método de cálculo nos permite obtener los valores $c \rightarrow f$ que fueron utilizados para calcular los valores de k_{calc} , expuestos en la Tabla 7, los cuales coinciden con los valores experimentales de k_{obs} en todo el rango de concentraciones usado.

$$c = (5 \pm 1) \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$d = (3 \pm 2) \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$e = (115 \pm 13) \times 10^{-4} \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

$$f = (402 \pm 17) \times 10^{-4} \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

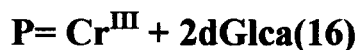
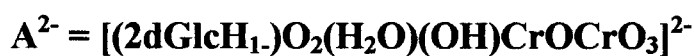
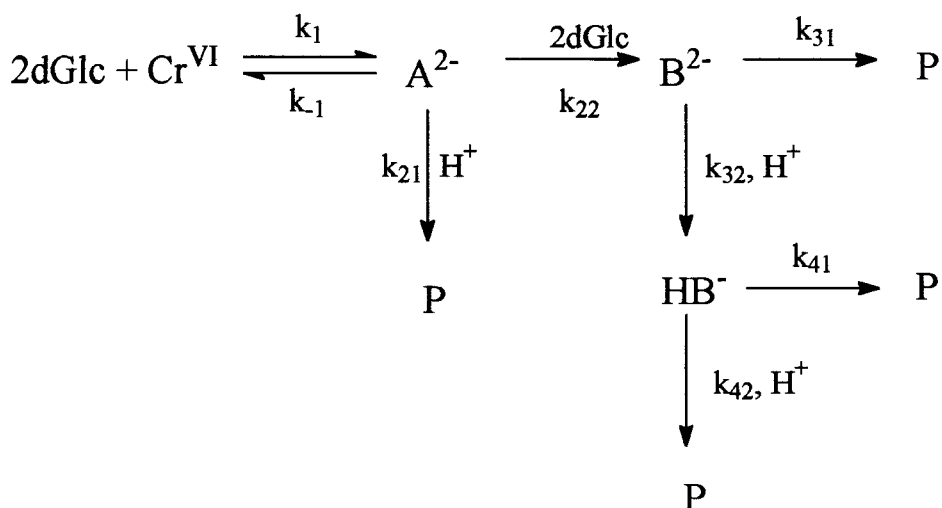
La Tabla 7 resume los valores de la constante de pseudo primer orden (k_{obs}) para varias concentraciones de 2dGlc(14) y de $HClO_4$ (ac).

[HClO ₄] / M												
	0.10		0.20		0.25		0.50		0.75		1.00	
[2dGlc]/M	k _{calc}	k _{obs}	k _{calc}	k _{obs}	k _{calc}	k _{obs}	k _{calc}	k _{obs}	k _{calc}	k _{obs}	k _{calc}	k _{obs}
0.02	-	-	-	-	-	-	5.59	6.33	9.87	10.50	15.20	15.30
0.04	-	-	2.62	2.43	-	-	8.80	9.25	16.20	16.90	25.60	26.10
0.08	1.93	1.45	4.29	3.88	5.71	6.03	15.20	15.30	28.80	27.00	46.40	46.50
0.12	2.66	1.92	5.96	5.18	7.98	8.37	21.70	22.40	41.40	38.30	-	-
0.16	3.39	2.65	7.63	6.36	10.20	11.70	28.10	27.40	54.00	50.90	87.90	87.50
0.20	4.12	3.45	9.30	8.76	12.50	15.00	34.50	34.40	66.60	62.30	109.00	113.00
0.24	4.85	4.35	-	-	14.80	18.20	-	-	-	-	-	-
0.32	6.31	5.63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 7: Constantes de velocidad de pseudo primer orden (k_{obs}), calculadas y observadas (10^4 k / s⁻¹)

De acuerdo a la ley de velocidad obtenida, la oxidación de 2dGlc(14) por Cr^{VI} debiera ocurrir a través de cuatro etapas lentas, paralelas, para dar los productos finales redox.

El esquema siguiente pone de manifiesto un mecanismo que tiene en cuenta estas consideraciones y que explica el hecho experimental de que la velocidad de reacción redox es extremadamente lenta a valores altos de p[H]:



El primer paso en el mecanismo propuesto puede interpretarse como la formación de un complejo 1:1, con 2dGlc(14) actuando como ligando monodentado para unirse al centro metálico: Cr^{VI} a través del grupo hidroxílico anomérico, para dar lugar a la especie aniónica A^{2-} . Este intermediario puede descomponerse directamente a productos a través de un paso catalizado por ácido, o dar B^{2-} $\{[\text{Cr}_2\text{O}_7\text{H}_2(2\text{dGlc})_2]^{2-}\}$ en presencia de una segunda molécula de 2dGlc(14). Este segundo intermediario puede dar directamente el producto redox o ser previamente mono o di-protonado.

Aplicando estado estacionario a A^{2-} , la ley de velocidad teórica correspondiente a este mecanismo se expresa (ecuación 18):

$$v = \frac{-d[Cr^{VI}]}{dt} = k_{obs}[Cr^{VI}] = \frac{\{(k_{21}[H^+] + k_{31}k_{22}[2dGlc] + k_{41}k_{32}k_{22}[2dGlc][H^+] + k_{42}k_{32}k_{22}[dGlc][H^+]^2)k_1[2dGlc][Cr^{VI}]\}}{k_{-1} + k_{21}[H^+] + k_{22}[2dGlc]}$$

(18)

Si $k_{22}[2dGlc] \gg k_{-1} + k_{21}[H^+]$, la ley de velocidad teórica se ajusta a la experimental (ecuación 19):

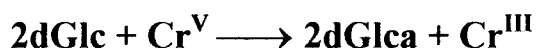
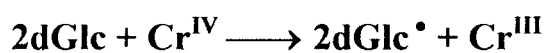
$$v = \{(k_1k_{21}/k_{22})[H^+] + k_{31}k_1[2dGlc] + k_{11}k_{32}k_{41}[2dGlc][H^+] + k_{42}k_{32}k_{41}[2dGlc][H^+]^2\}[Cr^{VI}]$$

(19)

Los **valores relativos de los parámetros cinéticos** indican que la velocidad de reacción correspondiente a la ruta catalizada por ácido para dar los productos redox a través de B^{2-} es del orden de 40 a 130 veces más rápida que la etapa no catalizada por ácido, lo cual explica la velocidad de reacción tan baja a $p[H]$ neutro.

Otro punto importante en este mecanismo es que los intermediarios A^{2-} o B^{2-} son especies complejas con interacción débil entre 2dGlc(14) y Cr^{VI} , ya que no se observa espectrofotométricamente la formación del éster, cuya absorción se manifestaría a 380 nm⁴⁵. Esto se explica si el agente reductor: 2dGlc(14) se une al Cr^{VI} solamente a través del hidroxilo anomérico, para dar lugar al intermediario de Cr^{VI} , precursor de las etapas de reacción redox.

Posteriormente a las etapas lentas pueden seguir las siguientes etapas de reacción rápidas (tal como se propuso para Rib(6) y 2dRib(13)):



El Cr^{IV} formado en los pasos lentos da como producto final Cr^{III} y el radical $2\text{dGlc}^{\bullet}$ en pasos rápidos siguientes. La formación de este radical azúcar se sustenta por la polimerización observada después de la adición de acrilonitrilo. Además, también en este caso, se empleó DMPO para detectar la posible formación de un radical orgánico intermediario formado durante la reducción de Cr^{VI} por 2dGlc (14). La adición de DMPO a la mezcla de reacción durante las mediciones espectroscópicas de RPE, produjo en la mezcla de reacción la aparición de un aducto con señal a $g = 2.003$ (valor típico de radicales orgánicos) con constante de acoplamiento $a_{\text{N}} = 7.48 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $a_{\text{H}} = 3.65 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (x2) (fig. 27).

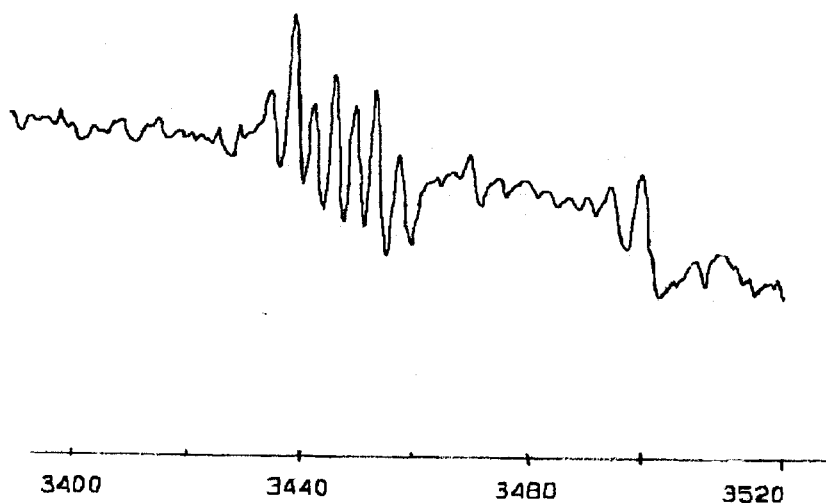


Figura 27: Espectro de RPE con DMPO.

$[\text{HClO}_4] = 0.1 \text{ M}$. $T = 25^\circ\text{C}$. $[2\text{dGlc}] = 0.375 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 0.0375 \text{ M}$. $[\text{DMPO}] = 0.09 \text{ M}$

En la gráfica se observa que la relación entre las señales DMPO / Cr^V es mayor para 2dGlc(14), que para Rib(6) y 2dRib(13).

El Cr^V generado por reacción rápida del radical sacárido y el Cr^{VI} puede oxidar a la 2dGlc (14) como se discutirá a continuación.

Oxidación de 2dGlc(14) por Cr^V

La reacción de K₂Cr₂O₇ (0.075 M) con 2dGlc(14) (≥ 0.75 M) en HClO₄, a 25°C, condujo a la formación de especies complejas de Cr^V con tiempos de vida media prolongados.

Los estudios espectroscópicos de RPE en la oxidación de 2dGlc(14) con Cr^{VI}, indicaron que se generan por lo menos dos complejos de Cr^V ($g_1 = 1.9781$ y $g_2 = 1.9754$) con valores de constantes de velocidad semejantes tanto en lo que se refiere a su formación como decaimiento (Figura 28).

Valores crecientes en la relación 2dGlc: Cr^{VI} indicaron que la intensidad relativa de las dos señales de Cr^V, a $g_1=1.9781$ y $g_2=1.9754$ (en todo el rango de acidez estudiado) fue prácticamente constante.

Para una relación $[S]/[Cr^{VI}] = 10:1$, la concentración total de Cr^V presentó un valor máximo a un tiempo inferior a los 3 min. a cada valor de p[H], y decayó lentamente con el tiempo.

Al emplear una relación de $[S]/[Cr^{VI}] = 10:1$ y $p[H]<1.6$, no se detectaron cantidades significativas de Cr^V después de 24 hs. de iniciada la reacción.

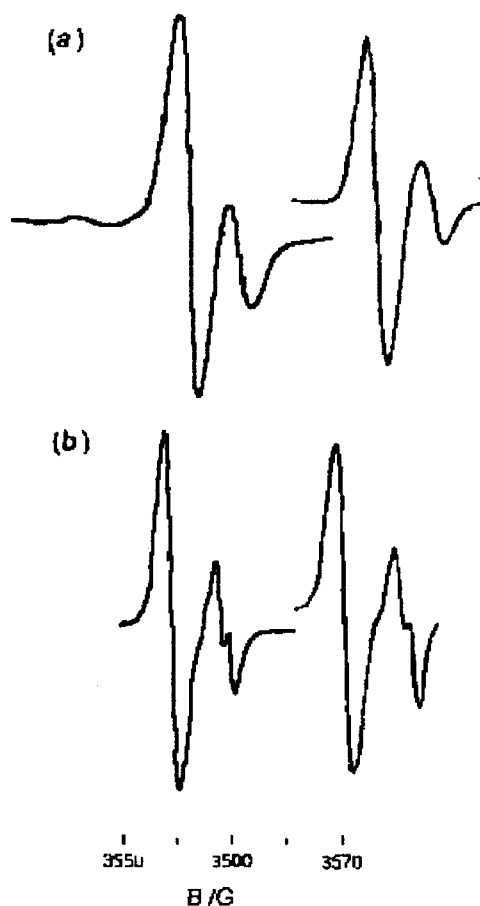


Figura 28: Señal de RPE (banda X) para la mezcla de reacción 2dGlc - Cr^{VI}. Relación [2dGlc]/ [Cr^{VI}]=10:1 a) p[H]=4, 12 min. después de la mezcla b) p[H] = 7, 4 min después de la mezcla (izquierda), con sus correspondientes espectros simulados (derecha).

T= 25°C. Ganancia: 8.10⁵. Modulación de amplitud= 1.6 G. Campo central: 3555 G. Frecuencia: 9.85 Ghz.

Por otra parte, en el rango de $p[H]$ 3-7, el Cr^V permanece en solución después de varios días. A baja temperatura (100 K), las líneas del espectro de Cr^V se ensanchan y colapsan en una única señal con geometría axial $g_{\perp} = 1.9930$ y $g_{||} = 2.0042$ (fig. 29(a)).

Cuando se trabajó a valores de $p[H]$ superiores a 1,60 (independientemente de la relación de $[2dGlc]:[Cr^{VI}]$) la señal única a $g_2 = 1.9754$ fue reemplazada por dos señales agudas parcialmente superpuestas a $g_2 = 1.9758$ y $g_3 = 1.9752$.

La altura pico a pico de la primera derivada de la señal para una relación $[2dGlc]/[Cr^{VI}]$: 10/1 graficada en función del tiempo a diferentes valores de $p[H]$ indicó que las dos (ó tres) señales decaen con valores de velocidad comparables; sin embargo, estos intermediarios de Cr^V se encontrarían en equilibrio rápido comparado con la escala de tiempo de su subsiguiente reducción a Cr^{III} .

Si bien todas las señales decaen a la misma velocidad a cada $p[H]$, esta velocidad aumenta con la disminución del $p[H]$, indicando que la oxidación del azúcar por Cr^V se produciría con catálisis ácida.

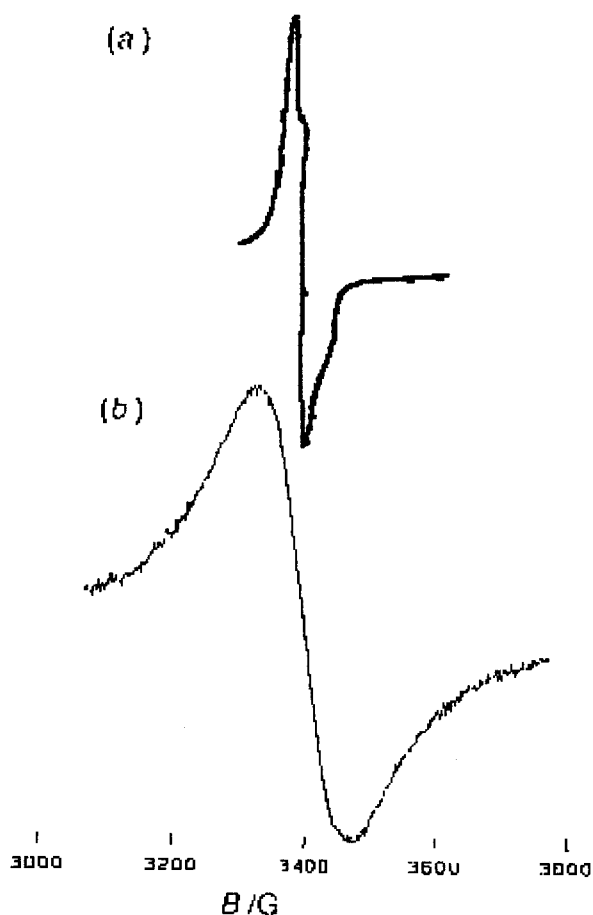


Figura 29: Señal de RPE (banda X) para la mezcla de reacción 2dGlc(14) - Cr^{VI}. Relación [2dGlc]/ [Cr^{VI}]=10:1 a) p[H]=7, solución congelada (T= 100 K) Ganancia: $5 \cdot 10^4$. Modulación de amplitud: 5.05 G. Campo central: 3400 G. Frecuencia: 9.43 Ghz. b) p[H] = 7, Temperatura ambiente. Ganancia: $2 \cdot 10^4$. Modulación de amplitud= 6.4 G. Campo central: 3400 G. Frecuencia: 9.42 Ghz.

Se cuantificó la velocidad de desaparición del Cr^{V} como la altura pico a pico de la primera derivada de la señal de RPE, en función del tiempo; los valores de la constante de velocidad para la desaparición de Cr^{V} (k_5) a cuatro valores de p[H] , se muestran en la siguiente tabla:

p[H]	$10^4 k_5 \text{ (s}^{-1}\text{)}$
3.0	408
4.0	42.4
5.2	3.59
6.7	2.78

$T = 25^\circ \text{C}$; $[\text{2dGlc}] = 0.75 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 0.075 \text{ M}$

Los mismos valores fueron obtenidos usando una ecuación que tiene en cuenta el crecimiento y decaimiento de la señal de Cr^{V} .

Experiencias realizadas a $[\text{H}^+]$ y $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0$ constante, presentaron dependencia de k_5 de primer orden con respecto a la $[\text{2dGlc}]$:

$$k_5/[\text{2dGlc}] = k = f([\text{H}^+]). \quad (20)$$

En consecuencia, la dependencia con protones puede estimarse del gráfico de $k_5/[\text{2dGlc}]$ vs. $[\text{H}^+]$, donde se observa una dependencia con respecto a $[\text{H}^+]$ del tipo:

$$f([\text{H}^+]) = k_5/[\text{2dGlc}] = k_1 + k_2 [\text{H}^+] = 2.52 \times 10^{-4} + 54.0 [\text{H}^+]. \quad (21)$$

La ley cinética experimental para la oxidación de 2dGlc(14) por Cr^{V} puede expresarse de la siguiente forma:

$$v = -d[\text{Cr}^{\text{V}}]/dt = k_5 [\text{Cr}^{\text{V}}] = (2.52 \times 10^{-4} + 54.0 [\text{H}^+]) [2\text{dGlc}] [\text{Cr}^{\text{V}}]. \quad (22)$$

Esto significa que los intermediarios de Cr^{V} que se encuentran en equilibrio rápido, decaen directamente para generar los productos ó lo hacen a través de una etapa catalizada por ácido.

Puesto que la última etapa es más rápida que la no catalizada, la oxidación ocurre principalmente por la etapa catalizada por ácido, lo que explica el hecho de que no podamos observar la señal de Cr^{V} por RPE en el rango de protones utilizado en los estudios cinéticos para determinar la ley de velocidad de Cr^{VI} .

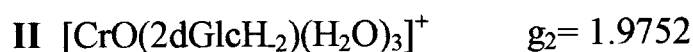
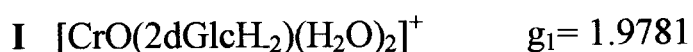
Otro hecho importante es que la intensidad relativa de las dos señales principales es independiente del valor del $p[\text{H}]$. Al aparecer la tercer señal, las áreas relativas de las señales $g_1 = 1.9781$ y $g_2 = 1.9754$ mantienen constante la relación $g_1 / g_2 = 2.6$. De este modo, el equilibrio que involucra a los protones se encuentra directamente relacionado con la formación del complejo minoritario y su forma deprotonada.

¿Cuáles son las estructuras de estos complejos de Cr^{V} ?

Se ha visto que los valores de g de las señales de RPE de Cr^{V} son dependientes de la coordinación⁸⁶. El valor de $g_1 = 1.9781$ es típico de **complejos penta-coordinados de oxocromato(V)**⁶⁵ y significativamente mayor que el valor observado para los complejos oxocromato(V) hexa-coordinados⁶⁵.

El valor de g de los **complejos hexa-coordinados de oxocromato(V)** varía entre 1.9702 y 1.9714. En algunos casos, se propone que la sexta

posición de coordinación se encuentra ocupada por una molécula de solvente: $[\text{CrOL}_2(\text{OH}_2)]$, donde L es un ligando alcóxido bidentado. La relación agua / L, en la estructura del complejo, parece aumentar con la habilidad creciente del solvente para actuar como ligando⁸⁸, en el caso que el solvente sea el agua. Previamente una señal a $g = 1.9755$ fue asignada a $[\text{CrOL}(\text{solv})_3]$ ⁸⁶. De este modo, a los tres complejos involucrados en los equilibrios rápidos, que preceden las etapas redox, se los puede postular de la siguiente forma:



(con 2dGlc(14) actuando como ligando bidentado)

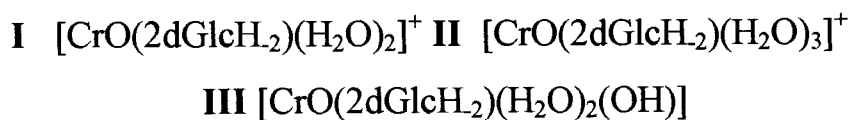
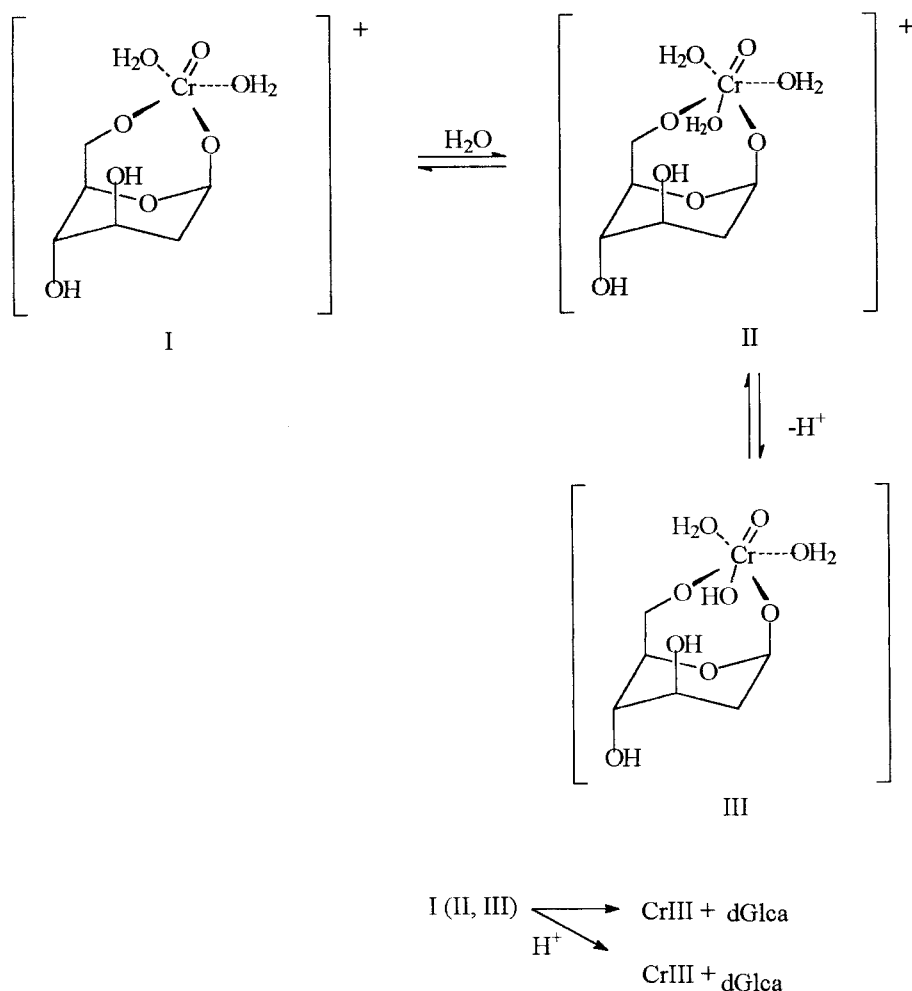
Estudios de RPE de sistemas similares han demostrado que en medio acuoso el cambio de H_2O por OH^- en el sexto lugar de coordinación sólo cambia el valor de g_{iso} en 0.0006 unidades⁸⁶. Este mismo comportamiento se observó en nuestro sistema para las señales a g_2 y g_3 .

La falta de resolución del acoplamiento superhiperfino de protones, impide un análisis más detallado del espectro; este hecho se atribuye a una rápida torsión del tipo Berry presente en complejos de oxocromato(V) penta-coordinados, lo cual provoca que todos los protones se manifiesten como “equivalentes” en la escala de RPE⁸⁹.

Se intentó favorecer la resolución, registrando espectros en soluciones congeladas; pero no se pudo lograr resolver el acoplamiento (Fig. 29(a)),

dado que el mismo es “opacado” por una señal ancha observada en el sistema “vítreo” que se obtiene a la temperatura del nitrógeno líquido.

El siguiente esquema, propone un mecanismo de reacción para la oxidación de $[2dGlc]/[Cr^V]$, teniendo en cuenta las observaciones experimentales ya expuestas:

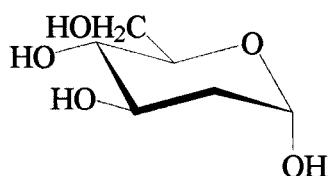


Dado que el único producto de oxidación es 2dGlcA(16), la transferencia electrónica intramolecular debe tener lugar a través de un complejo en cuya esfera de coordinación primaria, el ligando reductor se

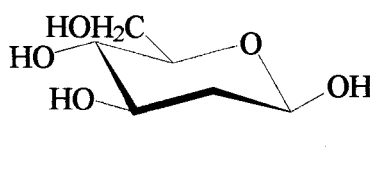
coordina con el grupo hidroxilo anomérico.

Se propone que el Cr^{V} generado en las etapas rápidas de reacción, reacciona con 2dGlc(14) para dar tres complejos intermediarios de Cr^{V} . En todos ellos, la relación $\text{Cr}^{\text{V}}:2\text{dGlc}$ es 1:1, como se deduce de la ley cinética de primer orden tanto para Cr^{V} , como para 2dGlc(14). Proponemos que en las tres especies el agente reductor 2dGlc(14) se une al Cr^{V} a través de los grupos hidroxilo de C1-OH y C6-OH, aunque la coordinación a través de C3-OH y C1-OH no debe ser desestimada.

Lo importante es que, de acuerdo a los valores de g_{iso} observados, se deduce que por lo menos, dos grupos alcoxi se encuentran implicados en la unión al Cr^{V} . Dado que el único producto de reacción es el ácido aldónico:2dGlca(14), la transferencia electrónica debe producirse en el (los) complejo(s) unido(s) al Cr^{V} a través del grupo hidroxilo anomérico. Esto sugiere que el anómero β de la 2dGlc(14) es la especie reactiva, dado que se favorece el complejo binario 2dGlc- Cr^{V} con el ligando 2dGlc(14) actuando como bidentado, mientras que con el anómero α debe unirse al Cr^{V} sólo por el C1-OH.



α -2-desoxi-D-glucosa (${}^4\text{C}_1$)



β -2-desoxi-D-glucosa (${}^4\text{C}_1$)

Los complejos **II** y **III** corresponden a las señales minoritarias del espectro RPE y se propone que en el complejo **II** una molécula de agua se posiciona en el sexto modo de coordinación. Dicho complejo **II** se encuentra en equilibrio con su forma deprotonada, observándose esta última a altos valores de $p[H]$.

A cualquier valor de $p[H]$, se puede observar el decaimiento del Cr^V sólo si la velocidad de formación de Cr^V es más rápida que la de decaimiento. Esto implica que el paso determinante de la velocidad debe involucrar la reducción de Cr^{VI} a Cr^{IV} y que el Cr^V se forma en las siguientes etapas rápidas, como se desprende de los datos de decaimiento de Cr^{VI} .

Otro hecho interesante que se desprende de la discusión anterior es que, **bajo las mismas condiciones experimentales, las aldosas forman complejos intermediarios de Cr^V más “estables” que con 2dGlc(14)⁴⁵.** Esta estabilidad relativa de los complejos de Cr^V se relaciona con la presencia de C2-OH en las aldosas que favorece la formación de especies con anillos de cinco miembros (Efecto estabilizante quelato). En estudios previos⁴⁵ se observó que el C6-OH afecta la relación $k_{ox}/K_{complejación}$ en la oxidación de Cr^V , y las diferencias en RPE de los complejos de Cr^V formados con Ram (**8**) y Man (**7**) se atribuyen a la participación del C6-OH en el complejo de Man- Cr^V ⁴⁵. Este resultado experimental sustenta la hipótesis que el hidroxilo del C6(-CH₂OH) en lugar del hidroxilo del C3 de la cadena polihidroxilada del ligando, es el que se une al Cr^V .

3.3- Estudio comparativo de la oxidación de aldosas por acción del Cr^{VI} en medio ácido.

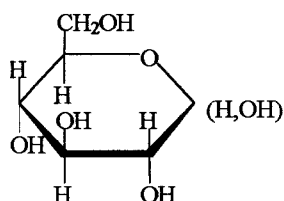
En capítulos anteriores hemos dejado establecido los antecedentes científicos que se conocen sobre el estudio de la interacción de hidratos de carbono no funcionalizados con Cr^{VI} en diferentes medios ácidos; destacando el estudio realizado por nuestro Grupo de Investigación sobre la interacción entre Cr^{VI} y ciertas aldosas (Man(7) , Rib(6)) ^{45,90} y desoxialdosas (2dGlc(14), 2dRib(13), Ram(8)) ^{45,52,54,90}.

Estos estudios proporcionaron una primera información sobre las habilidades relativas de estos monosacáridos para reducir al oxoanion cromato en medio ácido. Comparando estas aldosas con las 2-desoxi-aldosas relacionadas, se encontró que la ausencia del grupo hidroxilo en el C2 de la cadena polihidroxilada acelera la reacción total y a su vez, que los hidroxilos terminales en las hexosas: (C6-OH) pueden unirse al Cr^{VI} en un éster intermedio. No obstante, se consideró necesario ampliar el estudio a otras aldosas y desoxialdosas para ver si estos hallazgos pueden generalizarse.

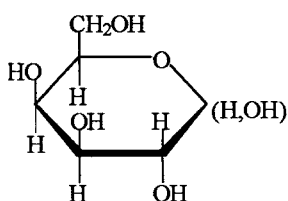
En la mayoría de los estudios realizados previamente por otros autores ^{42,47,49}, no se realizaron propuestas mecanísticas y los parámetros cinéticos se refieren a la reacción redox global, sin discriminación de la oxidación de azúcar por Cr^{VI} y Cr^{V} , un hecho muy importante especialmente cuando las constantes de velocidad de oxidación de Cr^{VI} y Cr^{V} son del mismo orden de magnitud⁸¹.

Los estudios experimentales realizados en el presente trabajo de Tesis se extendieron a un campo más amplio de aldosas y desoxialdosas, con la intención de analizar los factores que influyen en la distinta velocidad de oxidación de los agentes oxidantes: Cr^{VI} y Cr^{V} , este último generado durante el curso de la reacción redox, sobre diversos monosacáridos. Los estudios cinéticos de transferencia electrónica fueron realizados bajo las mismas condiciones experimentales; comparándose las reactividades de los diferentes hidratos de carbono empleados en el estudio e interpretándose las diferencias en términos de la capacidad de los ligandos reductores en complejar a ambos agentes oxidantes: Cr^{VI} y Cr^{V} .

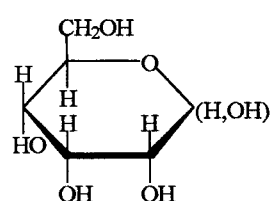
Las aldosas elegidas, fueron: Glc(1), Alo (11) y Gal(2), mientras que las desoxialdosas fueron: 6dGal (Fucosa) (9) y 2,6 dRib (Digitoxosa) (12).



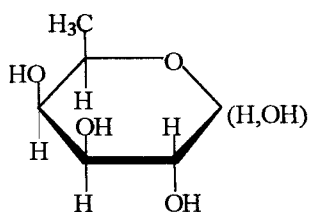
(1)



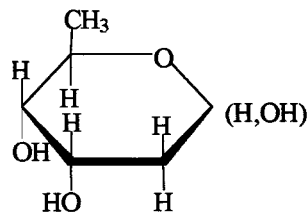
(2)



(11)



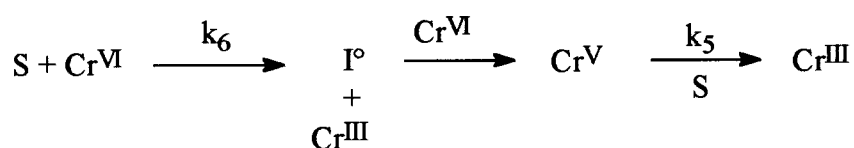
(9)



(12)

A diferencia del comportamiento observado para Rib(6), 2dRib(13) y 2dGlc(14), discutido en los capítulos precedentes, en la oxidación crómica de Gal (2), Alo(11), Glc(1) y 6dGal(9) las curvas de absorbancia vs tiempo a 350 nm presentaron una disminución de la absorbancia que no pudo ser tratada como un decaimiento exponencial simple.

Como expresamos para la oxidación de Rib(6) y 2dRib(13) por Cr^{VI} , las especies complejas de Cr^{V} absorben a 350 nm y dicha absorbancia puede superponerse a la de Cr^{VI} , ya que presenta un valor de ϵ semejante al de Cr^{VI} . Para las aldosas tratadas en este capítulo: Gal (2), Alo(11), Glc(1) y 6dGal(9), el mejor ajuste de las curvas cinéticas se obtuvo suponiendo que las velocidades de reacción de Cr^{VI} (k_6) y Cr^{V} (k_5) eran comparables. Los datos cinéticos pudieron ser descritos adecuadamente por el conjunto de reacciones consecutivas de primer orden, según el siguiente esquema :



S = sustrato organico; I° = radical intermediario

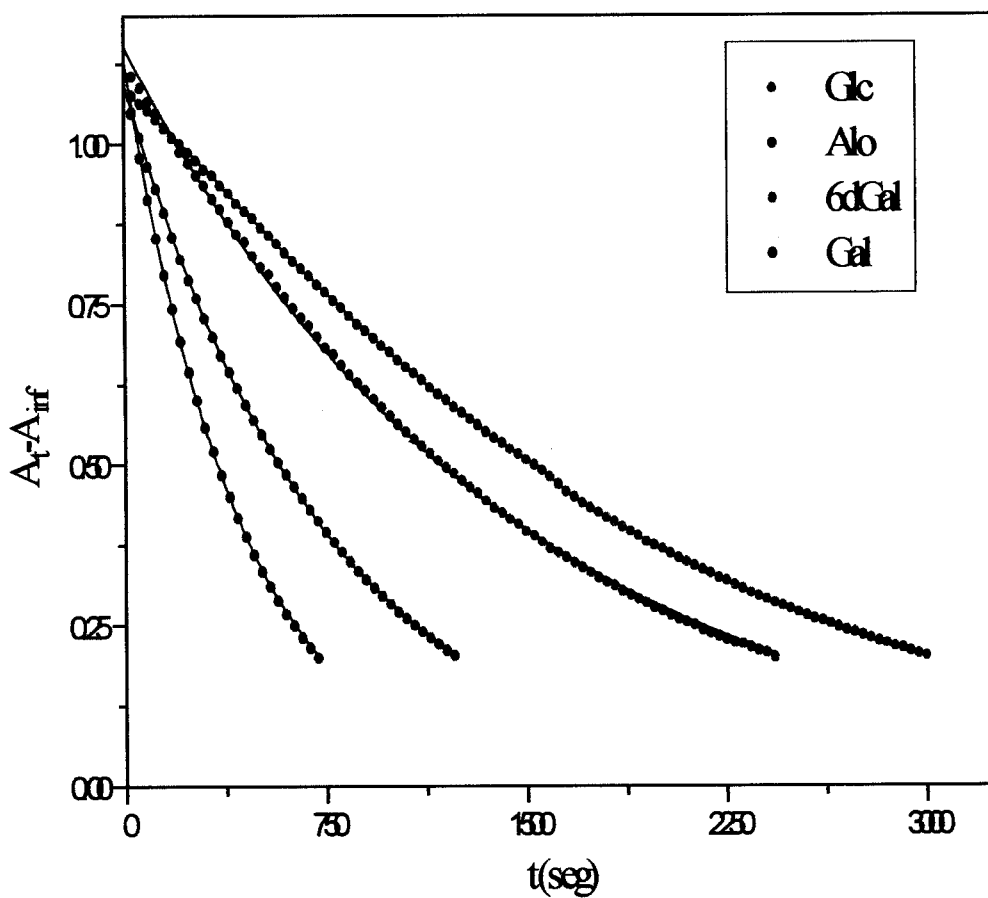


Figura 30: Dependencia de $(A_t - A_{inf})$ con el tiempo en la oxidación crómica de aldosas.

$[HClO_4] = 0.75 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$. $T = 33^\circ \text{C}$. $[Ald] = 0.16 \text{ M}$. $[Cr^{VI}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Teniendo en cuenta la superposición de absorbancia de las especies de Cr^{VI} y Cr^{V} , los valores de absorbancia a 350 nm, durante la reacción redox, están definidos por:

$$\text{Abs}^{350} = \varepsilon^{\text{VI}} [\text{Cr}^{\text{VI}}] + \varepsilon^{\text{V}} [\text{Cr}^{\text{V}}] \quad (23)$$

Combinando la ecuación precedente, con la expresión de velocidad derivada del esquema anterior, resulta:

$$\text{Abs}^{350} = \text{Abs}_0 e^{-k_6 t} + k_6 \varepsilon^{\text{V}} [\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 (e^{-k_5 t} - e^{-2k_6 t}) / (2k_6 - k_5) \quad (24)$$

En esta ecuación, ε^{V} se refiere a la absorptividad molar de Cr^{V} a 350 nm y se asume que es igual que para el complejo $[\text{Cr}^{\text{V}}(\text{O})(\text{ehba})_2]^{-80}$; dado que es muy difícil aislar al estado sólido los complejos de Cr^{V} -aldosas por ser extremadamente reactivos.

k_6 y k_5 se refieren a la velocidad de desaparición de Cr^{VI} y Cr^{V} , respectivamente, y fueron evaluados por un programa computarizado de ajuste no lineal iterativo, que utiliza la ecuación (24).

Los parámetros cinéticos calculados, k_6 y k_5 , para distintas concentraciones de aldosas, en HClO_4 0.75 M, se resumen en la Tabla 8.

Los valores de k_6 y k_5 fueron reconfirmados evaluando la formación de Cr^{III} a través de mediciones de absorbancia a 570 nm, zona del espectro electrónico en la que se puede evaluar el aumento en la concentración de Cr^{III} .

[azúcar]/M	6dGal(9)		Glc(1)		Allo(11)		Gal(2)	
	$10^4 k_6$	$10^4 k_5$	$10^4 k_6$	$10^4 k_5$	$10^4 k_6$	$10^4 k_5$	$10^4 k_6$	$10^4 k_5$
0.02	--	--	--	--	--	--	2.3	9.0
0.04	1.00	3.74	1.7	3.6	2.9	5.5	4.9	12.5
0.06	--	--	--	--	--	--	7.5	18
0.08	2.35	4.74	3.1	5.2	5.7	13	9.7	22
0.10	--	--	--	--	--	--	12	23
0.12	3.12	6.7	4.4	6.6	8.7	17	--	--
0.14	--	--	--	--	--	--	17	28
0.16	3.8	9.2	5.7	8.9	11	18	19	28
0.20	5.17	9.6	7.3	9.6	15	21	--	--

Tabla 8. Constantes de velocidad de pseudo-primer-orden (k_5 y k_6) (s^{-1}) para diferentes concentraciones de monosacáridos.

$I = 1 \text{ M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[H^+] = 0.75 \text{ M}$. $[Cr^{VI}]_0 = 8 \times 10^{-4} \text{ M}$.

Los cambios en los valores de absorbancia de Cr^{III} , en función del tiempo, se adecuaron a la siguiente expresión:

$$Abs^{570} = Abs_{\infty}^{570} + Abs_{\infty}^{570} \{(k_5 - k_6) e^{-2k_6 t} - k_6 e^{-k_5 t}\} / (2k_6 - k_5) \quad (25)$$

Los valores de k_6 y k_5 calculados por esta ecuación coincidieron con los valores obtenidos por medición de la variación de absorbancia a 350 nm.

La 26drib (12) se comporta de una manera diferente. La variación de la absorbancia a 350 nm se pudo describir por un decaimiento

exponencial simple en el cual $k_{\text{obs}} = 2k_6$, considerando que sólo la mitad del Cr^{VI} produce Cr^{III} , a través del intermediario Cr^{V} ⁸¹. (Tabla 9)

Esto significa que en este caso, al igual que para Rib(6), 2dRib(13) y 2dGlc(14), $k_5 \gg k_6$ y el Cr^{V} no interfiere con la absorbancia debida a Cr^{VI} .

Esta interpretación pudo confirmarse mediante el ajuste de los datos de absorbancia a 570 nm a la ecuación (26):

$$\text{Abs}^{570} = \text{Abs}_{\infty}^{570} (1 - e^{-k_{\text{obs}}t}) \quad (26)$$

que no considera la intermediación de Cr^{V} (puesto que éste reacciona muy rápidamente) y son consistentes con la observación de un punto isosbético a 525 nm bajo las condiciones empleadas para evaluar la formación de Cr^{III} a 570 nm.

[26drib]/ M	$10^4 k_{\text{obs}} (2k_6) (\text{s}^{-1})$ a $[\text{HClO}_4]/\text{M}$			
	0.25	0.50	0.60	0.75
0.02	3.21	10.8	14.7	21.8
0.04	6.01	20.8	26.7	40.7
0.06	10.1	35.5	46.2	67.4
0.068	10.5	35.8	48	70
$10^2 k_{\text{H}}/\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	1.6	5.1	6.9	10.1

Tabla 9. Constantes de velocidad de pseudo-primer-orden (k_{obs}) para 26drib(12) a diferentes concentraciones de HClO_4 .

$I = 1 \text{ M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 = 8 \times 10^{-4} \text{ M}$

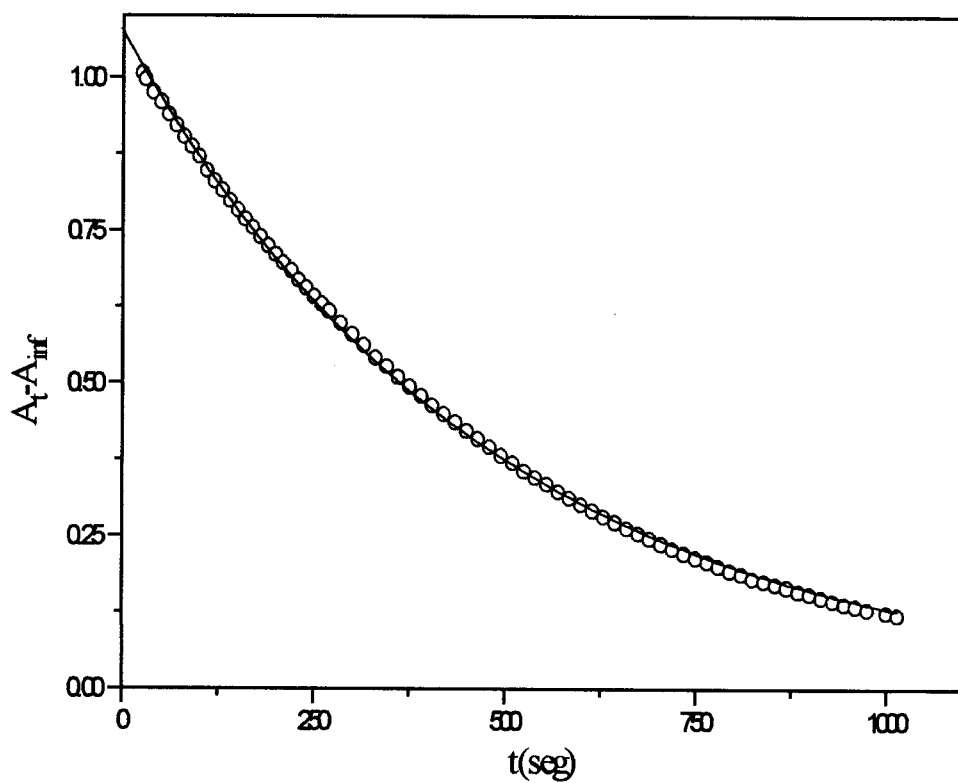


Figura 31 : Dependencia de $(A_t - A_{inf})$ y $\ln(A_t - A_{inf})$ con el tiempo en la oxidación crómica de 26drib (12).

$[HClO_4] = 0.5 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$. $T = 33^\circ\text{C}$. $[26\text{drib}] = 0.04 \text{ M}$. $[Cr^{VI}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Efecto oxidante del Cr^{VI}.

Para todos los azúcares estudiados, en HClO₄ 0.75 M, la representación de los valores de 2k₆ vs [aldosa] (fig. 32) dieron lugar a rectas que pasan por el origen, a partir de la cuales se determinaron los valores de las constantes, independizadas de la concentración de sustrato y denominadas: k_h (Tabla 10).

	6dGal(9)	Glc(1)	Allo(11)	Gal(2)
10 ³ k _h M ⁻¹ s ⁻¹	2.6	3.7	7.2	12

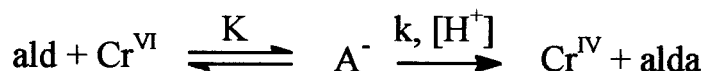
Tabla 10. Constantes de velocidad de segundo orden (k_h)

La ley de velocidad experimental se puede expresar:

$$-d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = 2k_6 [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} = k_h [\text{ald}][\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} \quad (27)$$

[Cr^{VI}]_T representa la concentración de Cr^{VI} total.

Teniendo en cuenta la dependencia de primer orden con respecto al sustrato, y considerando la detección por cromatografía en papel y por ¹³C-RMN del ácido aldónico como el único producto de reacción en relaciones [S]/[Cr^{VI}] ≥ 25, se plantea el siguiente mecanismo de reacción:



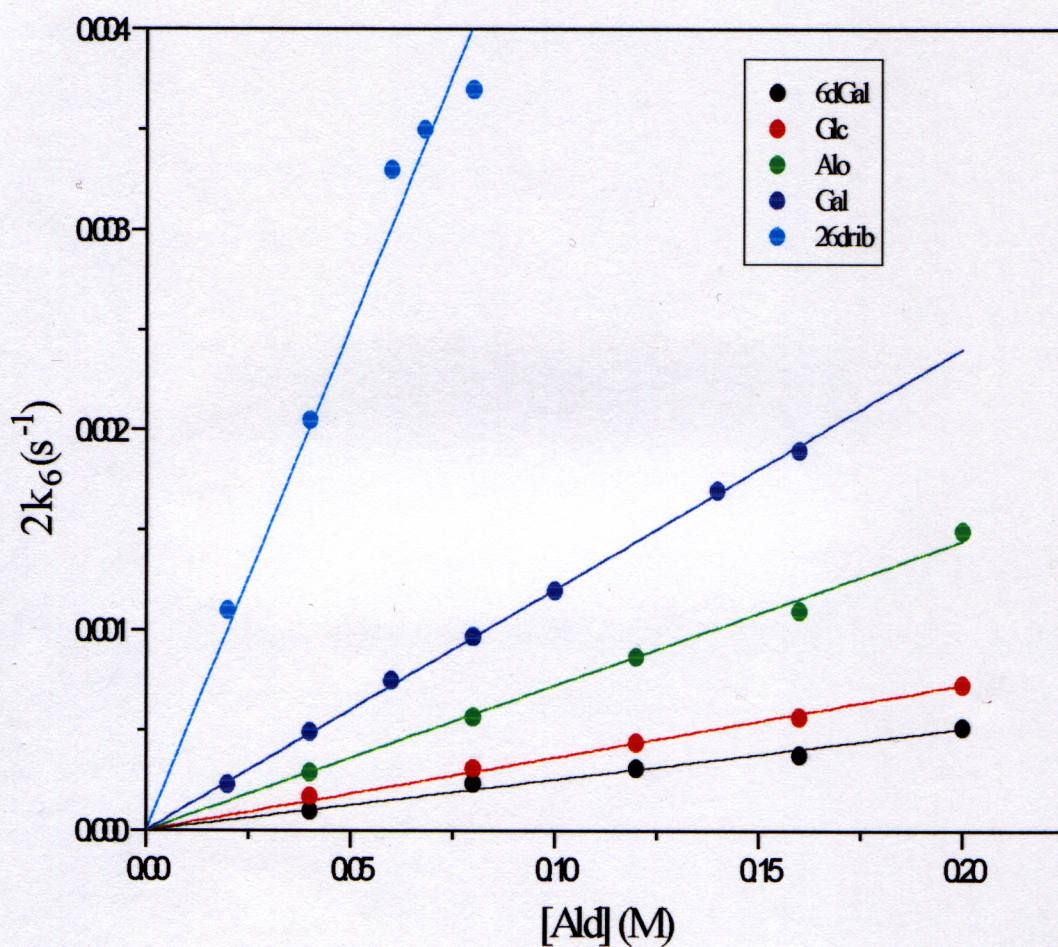


Figura 32: Dependencia de $2k_6$ con la $[Ald]$.

$[HClO_4] = 0.75$ M, $I = 1$ M. $T = 33^\circ C$. $[Ald] = 0.02 - 0.2$ M. $[Cr^{VI}] = 8 \cdot 10^{-4}$ M

El primer paso en el mecanismo propuesto puede interpretarse como la formación de un monoquelato con la aldosa actuando como ligando bidentado, unido al Cr^{VI} a través de los átomos de oxígeno de los C1 y C2 para dar la especie aniónica A^- .

El valor de k_h expresado en la ley de velocidad experimental corresponde al término kK en este mecanismo. Esto significa que la reactividad relativa de los azúcares puede ser interpretada comparando la velocidad de formación del éster de Cr^{VI} . **Esto implicaría establecer la hipótesis que la mayor reactividad del éster crómico debe asociarse con un valor bajo de Constante de estabilidad y por consiguiente, la transferencia electrónica debiera facilitarse en las especies menos estables.**

Al igual que para las aldosas tratadas en los capítulos precedentes, se propone que el complejo unido al Cr^{VI} por el hidroxilo anomérico debe ser el precursor del paso lento redox (**la oxidación de la aldosa ocurre en esa posición**). Posteriormente, este éster crómico intermediario conduce a los productos redox a través de los pasos lentos.

Para 26dRib(12), se estudió la dependencia de k_h con $[\text{H}^+]$. El gráfico de los valores de k_h (ver Tabla 9) vs $[\text{H}^+]^2$ corresponde a una línea recta con ordenada al origen positiva (fig. 33); indicando que la constante de velocidad de segundo-orden puede expresarse con un término independiente y otro dependiente de la acidez:

$$k_h = k_0 + k_1 [\text{H}^+]^2 \quad (28)$$

donde: $k_0 = 6.7(2) \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

$k_1 = 1.6(1) \times 10^{-1} \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$

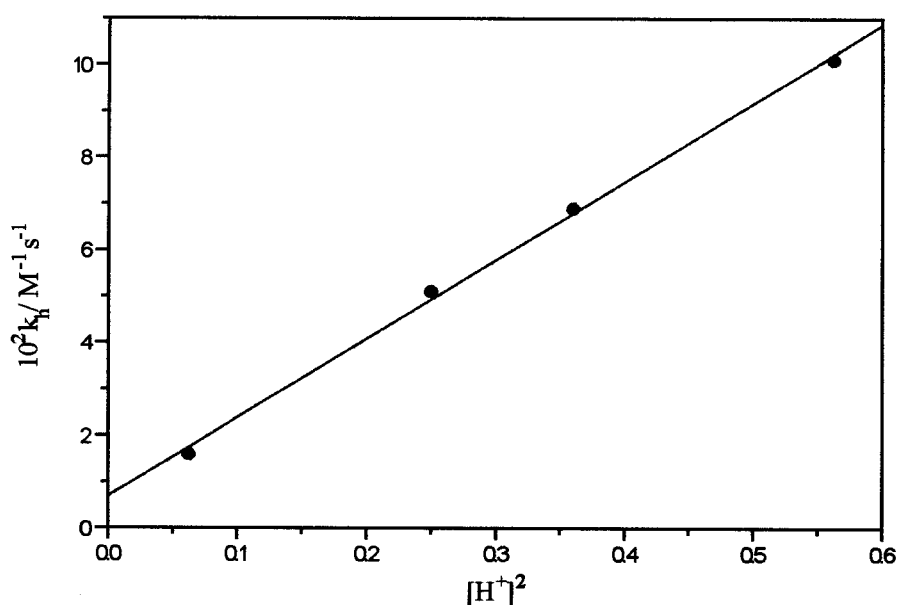
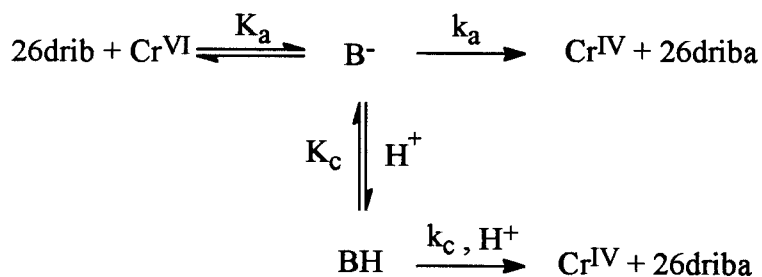


Figura 33: Dependencia de k_h con $[H^+]^2$ en la oxidación crómica de 26drib(12). $T=33^\circ C$.

$[HClO_4]=0.1-0.75\text{ M}$, $I=1\text{ M}$. $[26drib]=0.02-0.068\text{ M}$. $[Cr^{VI}]=8 \cdot 10^{-4}\text{ M}$

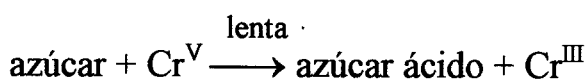
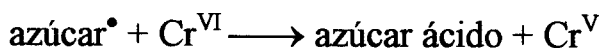
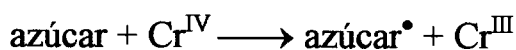
Los dos términos en la ley de velocidad experimental precedente son el resultado de la existencia de por lo menos dos estados de transición que difieren en su composición pero poseen valores similares de energía, a través de los que puede llevarse a cabo la reducción de Cr^{VI} .

La oxidación de 26dRib(12) por acción del Cr^{VI} debe producirse a través de dos pasos lentos paralelos que llevan a los productos redox, según lo establece el siguiente esquema.



El primer paso del mecanismo propuesto para la oxidación de 26dRib(12) en el esquema precedente corresponde a la formación de un complejo binario 1:1 26dRib-Cr^{VI} B⁻, actuando la 26dRib(12) como ligando monodentado uniéndose al Cr^{VI} a través del hidroxilo anomérico para dar lugar a la especie aniónica B⁻. Este intermediario puede descomponerse directamente a los productos o dar lugar al intermediario HB. Este intermediario monoprotonado a través de un paso de catálisis ácida conduce a los productos redox .

Al igual que en los otros azúcares estudiados, después de los pasos lentos, pueden tener lugar las siguientes etapas rápidas:



El Cr^{IV} formado en los pasos lentos conduce al estado de oxidación estable del cromo: Cr^{III} y el radical orgánico. La formación de estos radicales orgánicos se sustenta en la polimerización observada después de la adición de acrilonitrilo y en la captación por parte del atrapador de espin

5,5-dimethyl-1-pyrroline N-óxido (DMPO) como ya lo establecimos en los estudios de oxidación de Rib(6) y 2dRib(13) por acción del Cr^{VI} .

Posterior a la adición de DMPO a la mezcla de reacción se manifiesta la señal de un aducto a un valor de $g = 2.003$ (fig. 34) con constantes de acoplamiento $a_{\text{N}} = 7.48 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $a_{\text{H}} = 3.65 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1} (\times 2)$.

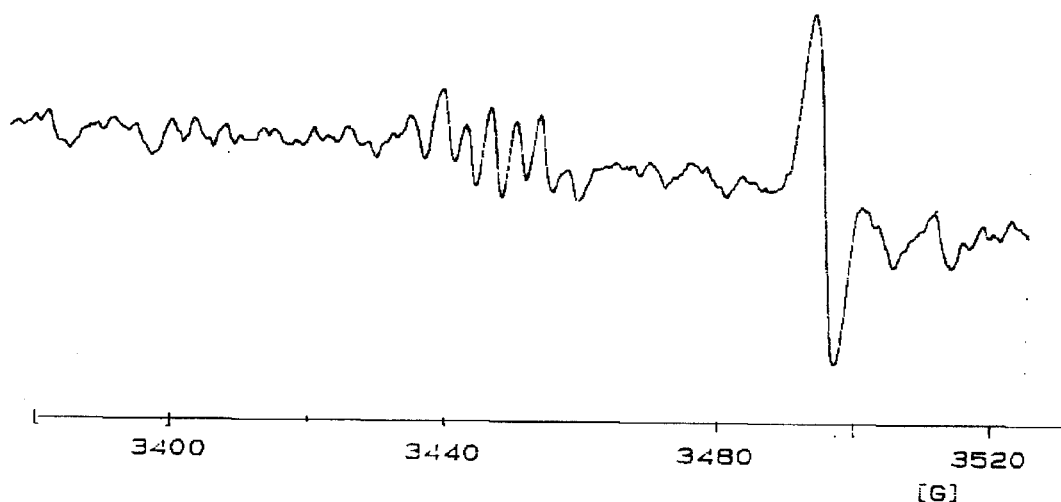


Figura 34: Espectro de RPE de la mezcla de reacción con DMPO.

$[\text{HClO}_4] = 0.1\text{M}$. $T = 25^\circ\text{C}$. $[\text{ald}] = 0.375 \text{ M}$. $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 0.0375 \text{ M}$. $[\text{DMPO}] = 0.09 \text{ M}$

El Cr^{V} formado por reacción rápida del radical y Cr^{VI} , oxida al azúcar conduciendo a los productos redox finales .

Efecto oxidante del Cr^V.

En HClO₄ 0.75 M el efecto de la concentración de la aldosa sobre el valor de k_5 (Tabla 8) puede describirse a través de una expresión del tipo:

$$k_5 = k_b K_b [\text{ald}] / (1 + K_b [\text{ald}]) \quad (29)$$

K_b : constante de equilibrio de formación del complejo S-Cr^V

k_b : constante de velocidad de transferencia electrónica intramolecular en el complejo S-Cr^V

Las gráficas de k_5 vs [ald] (ald = Gal(2), Allo(11), Glc(1), 6dGal(9)), tienen el típico aspecto de las curvas cinéticas de saturación^{45,59} (fig. 35).

A partir de estas gráficas se determinaron los valores de k_b y K_b según se puede apreciar en la siguiente tabla (Tabla 11).

	6dGal(9)	Glc(1)	Allo(11)	Gal(2)
$10^3 k_b \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	2.2	2.0	4.2	4.6
K_b	4	5	5	11

Tabla 11. Constantes de velocidad de segundo orden (k_b) y de formación de Cr^V (K_b)

Las saturación de las curvas indica que el complejo de Cr^V intermediario es más "estable" que el intermediario correspondiente al éster de Cr^{VI}. Un posible mecanismo que tiene en cuenta estos resultados cinéticos junto con las evidencias estructurales se discutirá más adelante.

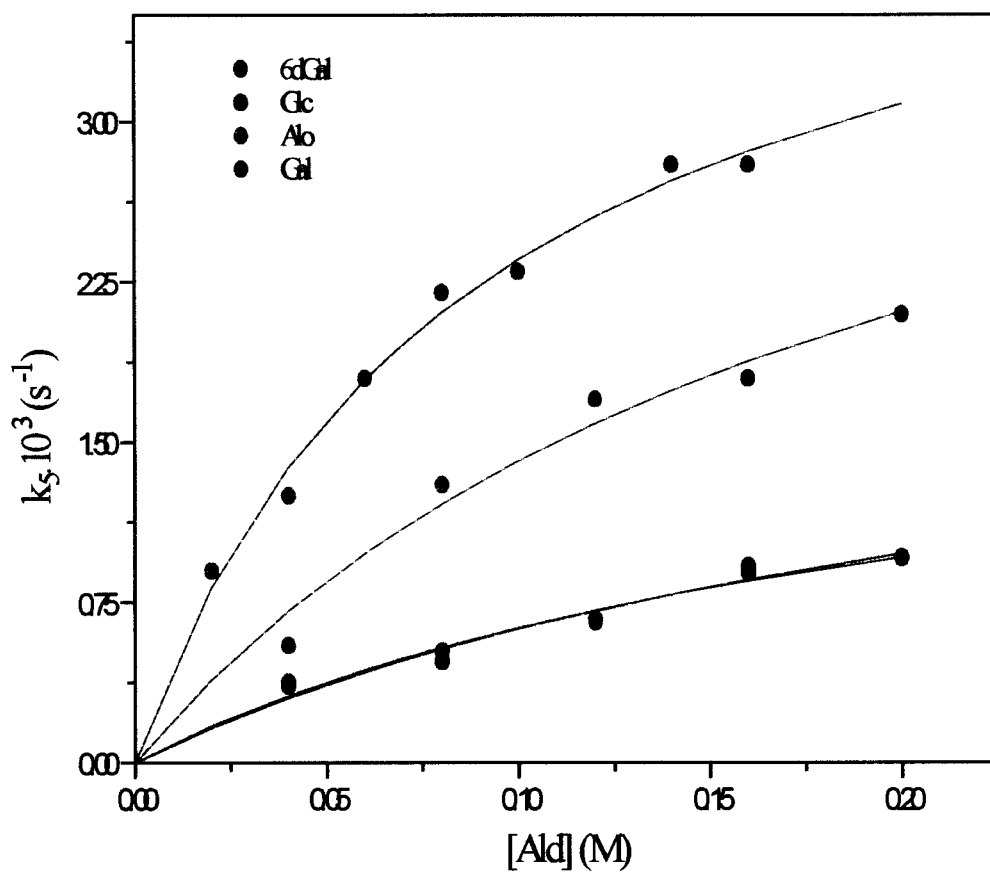


Figura 35: Dependencia de k_s con la [Ald].

$[\text{HClO}_4] = 0.75 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$, $T = 33^\circ\text{C}$, $[\text{Ald}] = 0.02 - 0.2 \text{ M}$, $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Estructura de los complejos intermediarios azúcar-Cr^V.

Con el fin de dilucidar la estructura de los complejos azúcar-Cr^V, se trabajó en las condiciones descriptas en la parte experimental; esto es, variando la relación $[S]/[Cr^{VI}]$ o variando la acidez del medio de reacción.

Los espectros de RPE obtenidos presentaban solapamiento de las señales debido a diferentes especies de Cr^V, por ello se utilizó un programa de ajuste por mínimos cuadrados (e23new)⁶³, para estimar los parámetros espectrales, especialmente las concentraciones relativas de los complejos. Una buena correlación entre los datos experimentales y calculados fue posible considerando los espectros con formas Lorentzianas. Las concentraciones iniciales y frecuencias de los picos de los espectros fueron obtenidas de las segundas derivadas de las señales. Las simulaciones no incluyen contribuciones de los picos menores del acoplamiento hiperfino del ⁵³Cr.

La composición de las especies de Cr^V en solución fueron estimadas a partir de los parámetros isotrópicos de RPE basados en el método empírico desarrollado por Lay y col.⁶⁶ junto con el patrón de acoplamiento superhiperfino. Basándonos en este criterio, realizamos una estimación de las especies complejas de Cr^V presentes en la mezcla.

Al trabajar a diferentes relaciones $[S]/[Cr^{VI}]$, en exceso de monosacárido del orden de 2 a 100 veces respecto al Cr^{VI}, en el rango de $p[H] = 3-7$, a 25°C, los espectros de RPE presentaban una sola señal detectable a $g_{iso} \cong 1.979$ con las cuatro señales hiperfinas débiles de ⁵³Cr (abundancia 9.55%, $I = 3/2$) espaciadas a $16.4(3) \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, típicos de los

complejos penta- coordinados de oxocromato(V)^{62,63}. En este rango de p[H], el Cr^V permaneció en solución por más de siete días.

Al trabajar en las mismas condiciones anteriores, pero modificando la amplitud de la modulación del equipo , las señales se angostan y el acoplamiento superhiperfino (shf) se resuelve parcialmente , como podemos apreciar, como ejemplo, en el sistema Glc-Cr^V (fig. 36 (a) y (b)).

Usando el programa e23new, se encontró que el espectro de RPE de Cr^V resulta compuesto de varias especies complejas de Cr^V. El acoplamiento shf de ¹H, junto con los valores de g_{iso}, se utilizaron para determinar la unión de moléculas 1,2-dioxolato de la aldosa al ion metálico central : Cr^V^{45,62} .

Los valores calculados de g_{iso} para todas las señales de RPE ald-Cr^V, se pueden apreciar en la Tabla 12. Dichos valores se encuentran dentro del rango esperado para los complejos penta-coordinados de oxocromato(V). La proporción relativa de cada especie en la mezcla de reacción depende del tiempo de reacción y no de la concentración de ácido mineral o la relación [azúcar]:[Cr^{VI}].

Esto puede observarse para el sistema: Glc-Cr^V variando las condiciones de reacción:

fig. 36 (b) y (c): a distinto tiempo de reacción

fig. 37 (a) y (b): a distinta relación Glc/Cr^V

fig. 37(a) y (c): a distinto p[H⁺]

En el rango de p[H] = 3-7, a 25°C, el espectro de RPE para el sistema Glc-Cr^V (luego que las señales fueron individualizadas, ajustando los espectros por el programa anteriormente citado) pudo simularse proponiendo la presencia de dos especies complejas de Cr^V con valores de g₁ = 1.9789 y g₂ = 1.9793 respectivamente.

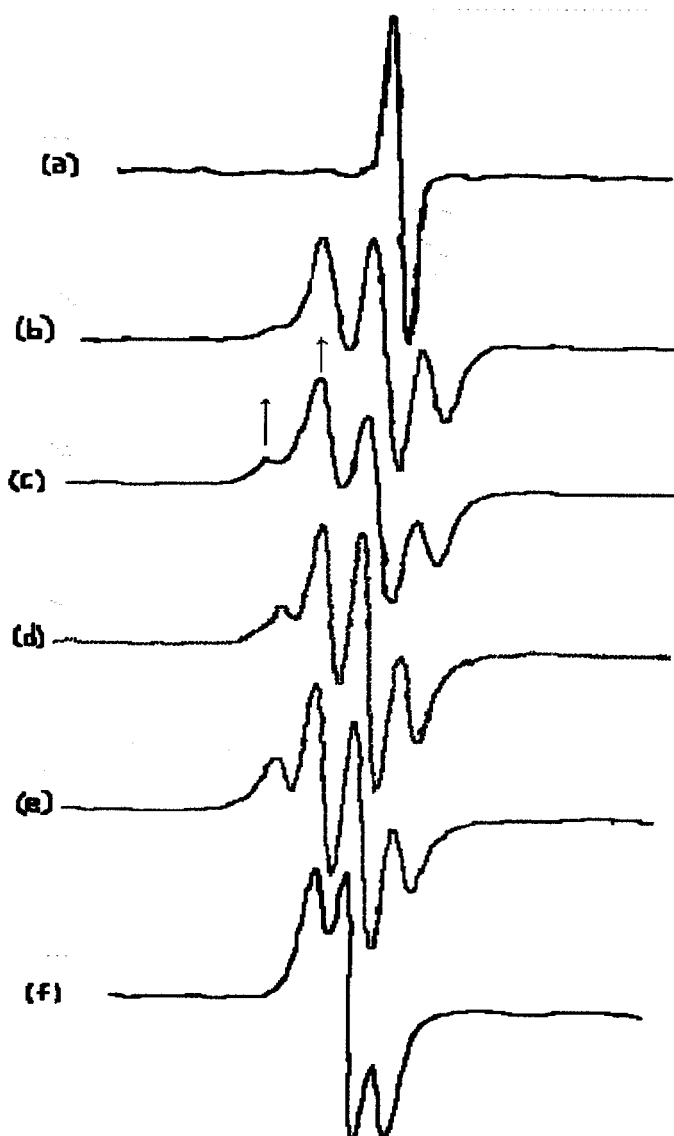


Figura 36: Espectro de RPE (banda X) para distintas mezclas de reacción. T:25°C. [S]= 0.375 M, [Cr^{VI}]= 0.0375 M

- (a) Glc-Cr^{VI}, p[H]:5; 5 min. después de mezclar, modulación de amplitud: 0.4**
- (b) Glc-Cr^{VI}, p[H]:5; 5 min. después de mezclar, modulación de amplitud: 0.056**
- (c) Glc-Cr^{VI}, p[H]:5; 1 día después de mezclar, modulación de amplitud: 0.056**
- (d) Glc-Cr^{VI}, p[H]:5; relación g_1 / g_2 : 1.2**
- (e) Glc-Cr^{VI}, p[H]:5; relación g_1 / g_2 : 0.3**
- (f) 26dRib-Cr^{VI}, p[H]:7; 5 min. después de mezclar.**

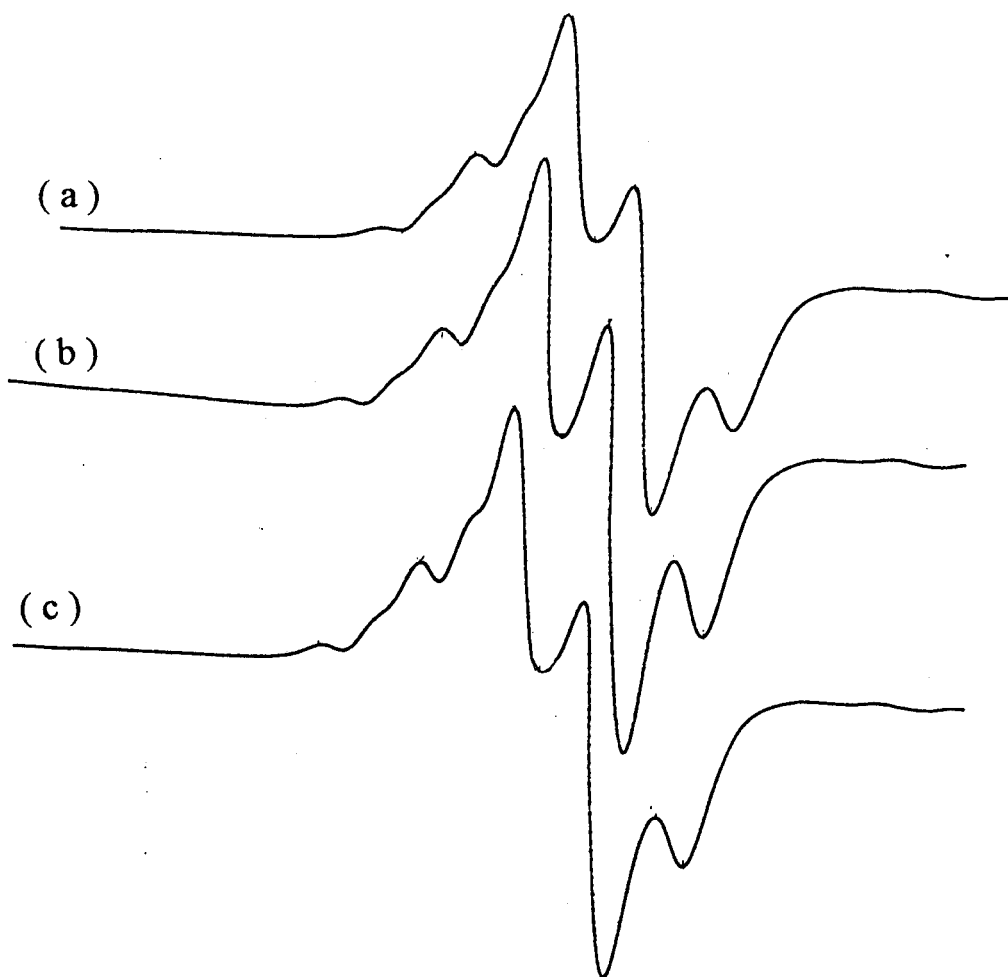


Figura 37: Espectro de RPE (banda X) para distintas mezclas de reacción. T:25°C.

(a) Glc-Cr^{VI}, p[H]:5; 5 días después de mezclar, [S]= 0.375 M, [Cr^{VI}]= 0.0375 M

(b) Glc-Cr^{VI}, p[H]:5; 5 días después de mezclar, [S]= 0.375 M, [Cr^{VI}]= 0.00375 M

(c) Glc-Cr^{VI}, p[H]:7; 5 días después de mezclar, [S]= 0.375 M, [Cr^{VI}]= 0.0375 M

Azúcar	pH	g (m)	$10^4 a_H (\text{cm}^{-1})$
Glc(1)	3-7	1.9793 (c)	0.94
		1.9789 (t)	0.92
Man(7)	3	1.9791 (t)	0.92
		1.9795 (c)	0.93
	5-7	1.9791 (t)	0.92
26dRib(12)	3	1.9789 (t)	0.92
		1.9794 (c)	0.93
	7	1.9789 (t)	0.92
Gal(2)	3	1.9789 (c)	0.92
		1.9796 (q)	0.93
	5-7	1.9789 (c)	0.92
		1.9785 (q)	0.94
6dGal(9)	3-7	1.9785 (t)	0.92
		1.9786 (q)	1.19
		1.9794 (t)	0.92
Allo(11)	3-7	1.9785 (t)	0.92
		1.9787 (q)	1.19
		1.9794 (t)	0.92

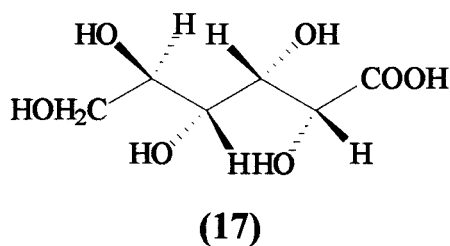
t = triplete; c = cuarteto; q = quinteto

Tabla 12. Parámetros del espectro de RPE de Cr^{V} .

$[\text{S}] = 0.375 \text{ M}$, $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 0.0375 \text{ M}$

En la tabla 12 podemos observar los valores resultantes del mejor ajuste de los espectros de RPE. Los valores del g_{iso} obtenidos para las dos señales son los esperados para los complejos penta coordinados de oxocromato(V); mientras que los diferentes modelos de acoplamiento superhiperfino (shf) implican isómeros de unión⁶⁶. El acoplamiento shf de la señal a g_1 proviene del acoplamiento de dos protones equivalentes y puede atribuirse a un complejo de Cr^V con una molécula del Glc(1) que actúa como ligando bidentado en una de las unidades 1,2-diolato (este modo de coordinación puede manifestarse de distintas formas).

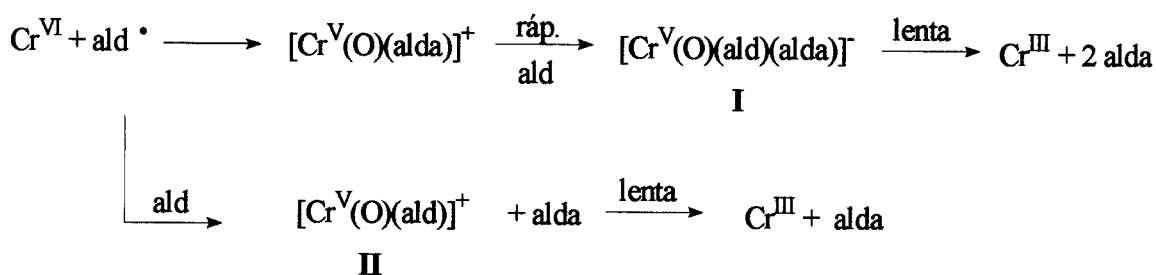
El acoplamiento shf de la señal a g_2 puede atribuirse a dos modos de unión diferentes de las dos moléculas del ligando, coordinadas al Cr^V vía los sitios donores: 1,2-diolato (Glc(1)) y un α -hidroxocarboxilato (GlcA)(17), respectivamente.



La intensidad relativa de los picos varía con el tiempo, y, para cualquier valor de $p[H]$, hay momentos en el que los espectros pueden llegar a superponerse, como puede observarse en las figuras 36 (d) y 36 (e). Los espectros simulados corresponden a la misma mezcla de reacción, pero con distintas relaciones de $g_1:g_2$: relación 6:5 (fig. 36 (d)) y 3:10 (fig. 36(e)).

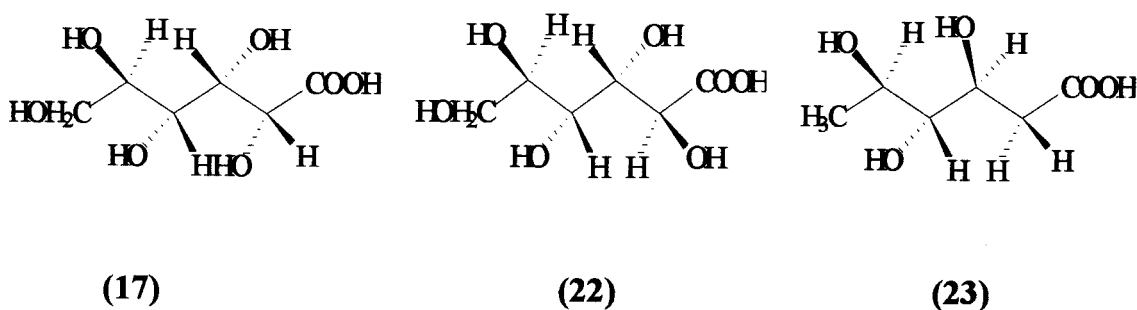
En los casos de **Man(7)** y **26dRib(12)**, se observó un cuarteto y un triplete a $p[H] = 3$ (Tabla 12), mientras que a valores más altos de $p[H]$ entre 5,0 -7,0 sólo se observó el triplete (fig. 36 (f)).

A continuación se propone un mecanismo para las aldosas: Glc(**1**), Man(**7**), 26dRib(**12**); que tiene en cuenta la evidencia estructural de los complejos intermediarios de Cr^V junto con los resultados cinéticos:



Aldosas = Glc(1), Man(7), 26dRib(12);

Alda = Glca(17), Mana(22), 26dRiba(23)



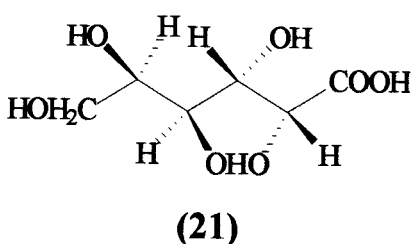
Para Man(7) y 26dRib(12), a $p[H] > 5$, la etapa redox se manifiesta a través de un complejo de tipo II.

El Cr^{V} se genera por reacción del radical orgánico y Cr^{VI} . Además de acuerdo a los datos cinéticos, se infiere que se forma un complejo intermediario de Cr^{V} bastante estable antes de la reacción redox. Por ende,

la transferencia intramolecular electrónica tiene lugar dentro de los complejos I y II y la formación de estos complejos requiere una molécula del aldosa adicional, como se dedujo de los datos cinéticos obtenidos de las mediciones espectrofotométricas.

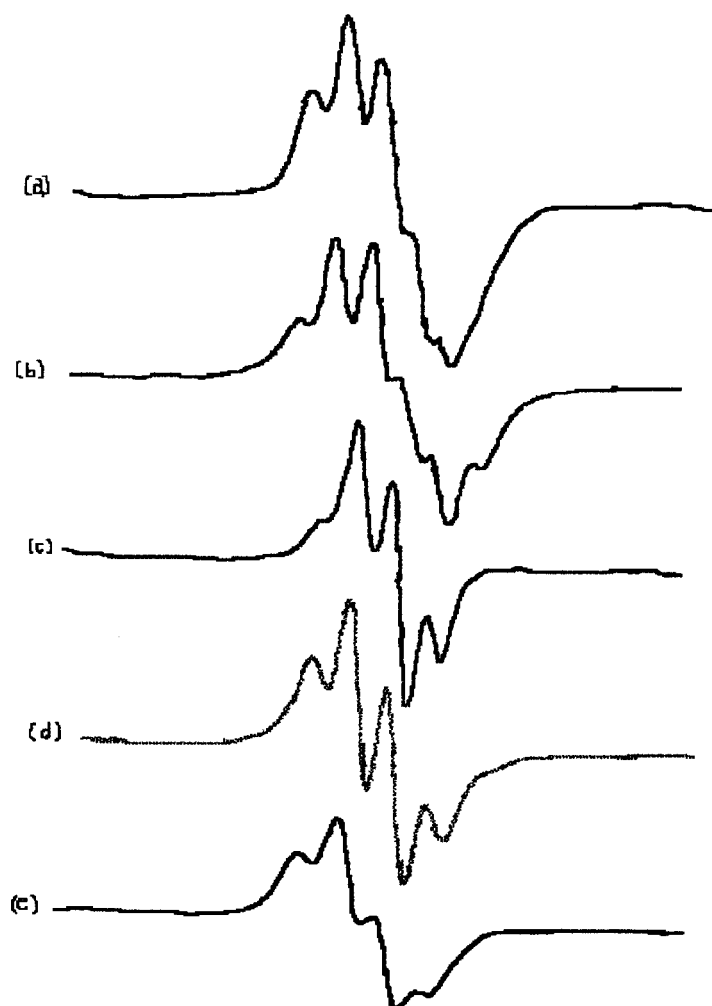
Para el sistema $\text{Gal(2)/Cr}^{\text{VI}}$, en el rango de $\text{p[H]} = 3\text{--}7$, los espectros presentan un predominio de un cuarteto a 1.9789. El valor de g_{iso} y el patrón de acoplamiento superhiperfino indicarían que el grupo CrO^{3+} se coordinaría con dos moléculas del ligando, una de Gal(2) y la otra atribuible a Gala(21) a través de los sitios donores 1,2-diolato y α -hidroxocarboxilato (considerando que el ácido aldónico es una muy buena base de Lewis y es el producto principal de la reacción redox).

En el rango de $\text{p[H]} = 5\text{--}7$, la señal de menor intensidad ($g_{\text{iso}} = 1.9785$) puede atribuirse al isómero con los ligandos Gal(2) y Gala(21) coordinados al Cr^{V} vía una estructura 1,2-diolato, mientras que a $\text{p[H]} = 3$ el quinteto ($g_{\text{iso}} = 1.9796$) puede asignarse al $[\text{Cr}^{\text{V}}(\text{O})(\text{ald})_2]^-$ (Fig. 38).



Las figuras 38 (a y b) nos muestran los espectros de una mezcla de reacción a $\text{p[H]} = 3$ a dos tiempos de reacción diferentes.

Las figuras 38 (c y d) corresponden al espectro de la mezcla de reacción a $\text{p[H]} = 7$ y su espectro simulado.



**Figura 38: Espectro de RPE (banda X). T:25°C. [S]= 0.375 M, [Cr^{VI}]= 0.0375 M
Mezcla de reacción Gal(2)- Cr^{VI}.**

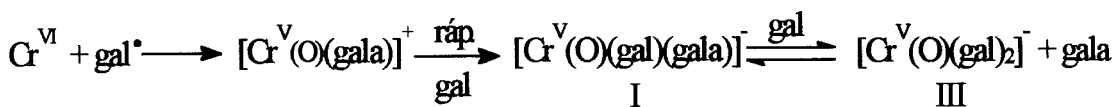
(a) p[H]:3; 5 min. después de mezclar. (b) p[H]:3; 1 día después de mezclar.

(c) p[H]:7. (d) espectro simulado para g_1 / g_2 : 5

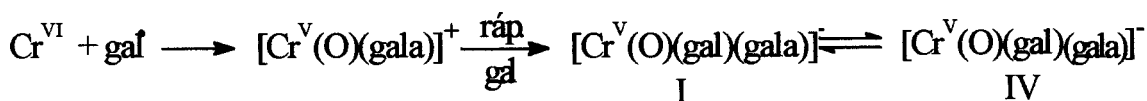
(e) Espectro de RPE de banda X para la mezcla de reacción 6dGal- Cr^{VI}. 5 min. después de mezclar.

Un resumen mecanístico que involucra a las especies presentes en el sistema Gal/Cr^V a diferentes valores de p[H] se indica a continuación.

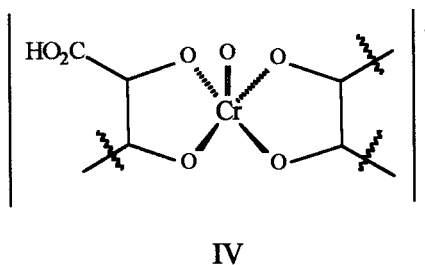
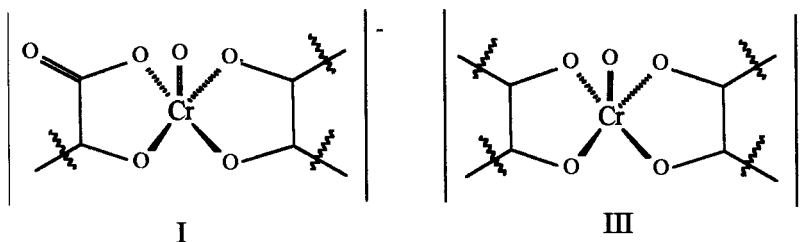
(a) p[H] = 3



(b) p[H] = 5-7

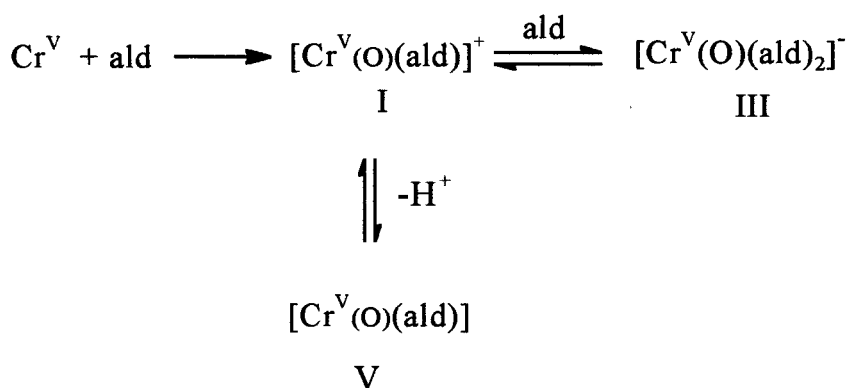


(c) Modos de coordinación para los complejos I, III y IV para Gal(2) y Gala (21)



A distintos valores de $p[H]$, los complejos: I (III ó IV) dan lugar al ion Cr^{III} y Gala como productos finales de reacción redox.

Las aldosas 6dGal(9) y Alo(11) presentaron comportamiento similar, generando con el ion Cr^V tres complejos intermediarios caracterizados por dos tripletes y un quinteto en el espectro de RPE, en el rango de $p[H]= 3-7$. Los datos se pueden apreciar en la Tabla 12 y el espectro registrado para 6dGal(9) en la figura 38 (e). Los complejos de Cr^V involucrados en el proceso redox pueden resumirse en el siguiente esquema:



Aldosas = 6dGal(9), Alo(11)

La aldosa actuaría a través de una unión 1,2-diolato en los monoquelatos de oxocromato(V) penta coordinados (I y V) y bisquelato (III).

A $[HClO_4] \geq 0.1$ M, la reacción de Cr^{VI} con exceso de aldosa da lugar a la formación de tres o cuatro tipos de especies de Cr^V de vida relativamente larga. La intensidad relativa de la señal de RPE de Cr^V depende de la acidez del medio, pero es independiente de la relación $[ald]:[Cr^{VI}]$ empleada en este estudio de RPE que abarcó un rango de relaciones de concentración desde 2:1 a 100:1 (figura 39).

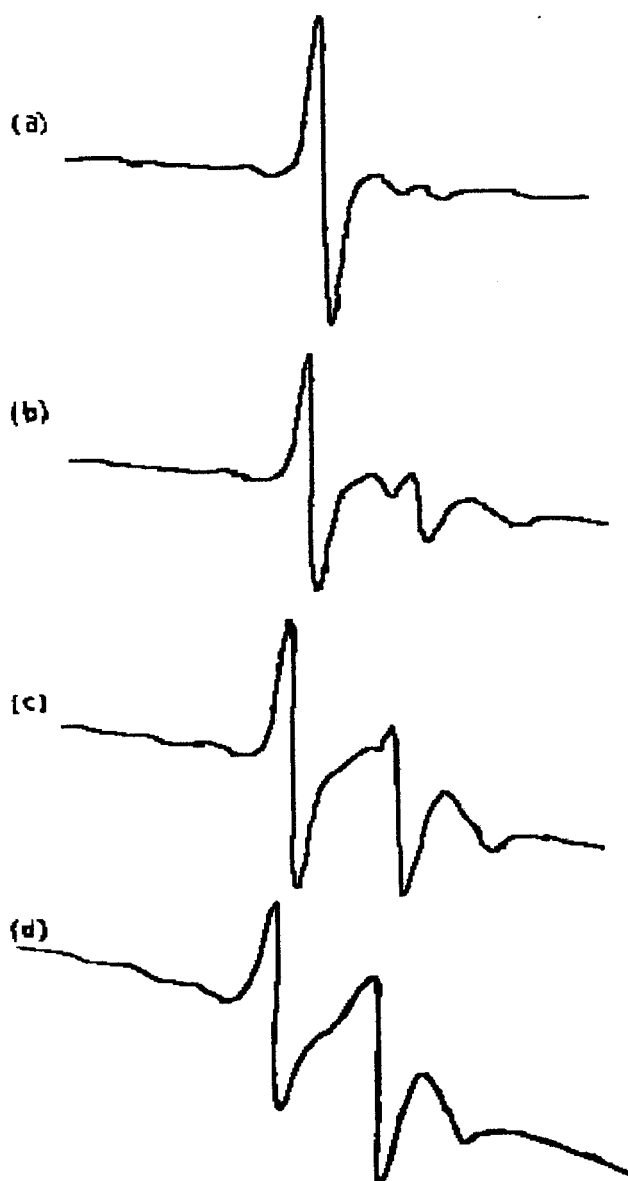


Figura 39: Espectro de RPE (banda X) de la mezcla de reacción Gal- Cr^{VI} , 5 min. después de mezclar. T:25°C. [S]= 0.375 M, $[Cr^{VI}]$ = 0.0375 M

- | | |
|---------------------|----------------------|
| (a) $[H^+]$:0.1 M. | (b) $[H^+]$:0.25 M. |
| (c) $[H^+]$:0.5 M. | (d) $[H^+]$:0.75 M. |

Los valores de g_1 son típicos de complejos pentacoordinados de oxocromato(V), mientras que los valores de g_2 , g_3 y g_4 están en el rango esperado para los complejos hexacoordinados de oxocromato(V)⁶⁵. Sin embargo, la falta de un patrón resuelto de acoplamiento superhiperfino de protones; bajo estas condiciones ácidas, impide un análisis más detallado de las señales mencionadas anteriormente.

La Tabla 13 muestra que para $[H^+] = 0,1 \text{ M}$, la especie pentacoordinada (g_1) es la mayoritaria, pero cuando se trabaja a una concentración de $[H^+]$ superior a $0,1 \text{ M}$, comienza a predominar una de las especies hexacoordinadas (g_3).

Como ya se había observado en los capítulos precedentes, el complejo pentacoordinado de oxocromato(V) se forma a cualquier valor de $[H^+]$, en cambio la formación de las especies hexa-coordinadas se ve favorecida en condiciones de acidez altas.

En este rango de $[H^+]$ y, contrariamente a lo que ocurre a $p[H]$ 3-7, el decaimiento de las tres o cuatro señales se produce esencialmente a la misma velocidad, significando que la intensidad relativa observada en los espectros y detallada en la Tabla 13 es dependiente sólo de la concentración de protones y no depende del tiempo de la reacción. Así por ejemplo, el seguimiento de la altura pico a pico de la primer derivada de la señal de RPE en función del tiempo para una relación inicial $[6dGal]:[CrVI] = 10:1$, a $[H^+] = 0.15 \text{ M}$, demostró que las tres señales decaen a velocidades comparables con un valor de $k_5 = 1.2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. De esta manera podemos

afirmar que la relación de especies: [hexa / penta-coordinadas] depende de la acidez del medio; permaneciendo constante durante el curso de la reacción; siempre y cuando se disponga de un exceso de protones con respecto a la concentración de Cr^{VI} en la mezcla de reacción. Esto significa que los intermediarios de Cr^{V} se encuentran en equilibrio rápido comparado con la escala de tiempo de su subsecuente reducción a Cr^{III} .

Las velocidades de decaimiento de Cr^{V} aumentan cuando se disminuye el valor del p[H] , lo cual indica que la transferencia electrónica intramolecular de estos complejos está catalizada por ácido. Una conducta similar se había observado previamente para la reacción de 2dGlc(14) y 2dRib(13) con Cr^{VI} 52,54,90.

Independientemente de la acidez del medio empleada en este estudio: el estado de oxidación final del cromo es el (+ III), caracterizado por una señal de RPE ancha, centrada a $g \sim 1.98$, que se pone de manifiesto en los últimos tramos de la reacción.

Azúcar	g ₁	g ₂	g ₃	g ₄
Glc(1) [H ⁺]	1.9791	1.9742	--	1.9665
0.10	4.3	1.0		0.2
0.25	1.4	1.0		0.2
0.50	1.0	1.0		0.2
0.75	0.8	1.0		0.2
Man(7) [H ⁺]	1.9791	1.9740	1.9713	1.9660
0.10	9.8	1.7	1.0	--
0.25	1.9	0.3	1.0	--
0.50	0.7	0.1	1.0	0.06
0.75	0.4	0.03	1.0	0.04
26dRib(12) [H ⁺]	1.9792	1.9738	1.9707	--
0.10	5.9	1.6	1.0	
0.25	1.4	0.6	1.0	
0.50	0.6	0.3	1.0	
Gal(2) [H ⁺]	1.9789	1.9740	1.9709	1.9655
0.10	23	1.4	1.0	--
0.25	3.3	0.3	1.0	0.15
0.50	1.6	0.05	1.0	0.2
0.75	1.0	--	1.0	0.2
6dGal(9) [H ⁺]	1.9791	1.9740	1.9712	--
0.10	11	1.0	1.0	
0.25	3.0	0.5	1.0	
0.50	1.7	0.09	1.0	
0.75	0.8	0.06	1.0	
Allo(11) [H ⁺]	1.9791	1.9744	1.9714	--
0.10	7.30	0.63	1.0	
0.25	1.77	0.17	1.0	
0.50	0.98	0.12	1.0	

Tabla 13. Intensidades relativas de las señales de RPE de Cr^V tomadas cinco minutos despues de preparada la mezcla de reacción, a distintas [H⁺]. [S]= 0.375 M, [Cr^{VI}]= 0.0375 M

De lo anterior, se desprende lo siguiente:

1. Para las aldosas involucradas en este estudio, la función hemiacetálica C1-OH reacciona más rápidamente que el grupo alcohólico primario o cualquiera de los secundarios; lo cual se comprueba fehacientemente por el hecho de que el ácido aldónico y/o su aldonolactona en equilibrio, son los únicos productos de reacción. En consecuencia, el primer paso debería implicar un quelato de cinco miembros: éster crómico, involucrando al hidroxilo anomérico en uno de los sitios de coordinación (C1-OH).

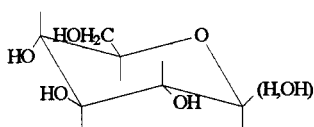
2. Los azúcares estudiados, excepto la 26drib(12), son oxidados por los agentes oxidantes: Cr^{VI} y Cr^{V} a velocidades comparables cuando se emplean concentraciones altas de aldosa. Estos resultados demuestran que la reducción de Cr^{VI} ocurre simultáneamente con la de Cr^{V} , y, por consiguiente, las absorbancias de ambas especies: Cr^{V} y Cr^{VI} a 350 nm se superponen, lo cual debe tenerse en cuenta en el tratamiento matemático de los resultados cinéticos.

3. La tendencia en la reactividad de las aldosas en estudio, sigue el siguiente orden :

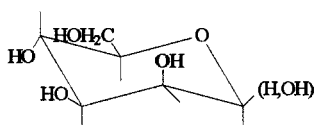
26dRib(12) > Gal(2) > Man(7)⁹¹ > Alo(11) > Glc(1) >> 6dGal(9)

lo cual indicaría que el hidroxilo del C4 en posición axial en el estereoisómero Gal(2) acelera la velocidad de reacción redox. Le sigue la

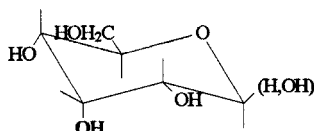
el OH axial en C3; teniendo en cuenta que en estas tres aldosas (Gal(2), Man(7) y Alo(11)) la conformación para ambos anómeros α y β ⁶⁷ es la siguiente:



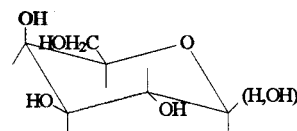
Glc (1) 4C_1



Man (7) 4C_1



Alo (11) 4C_1



Gal (2) 4C_1

Si la reactividad del complejo intermediario se relaciona con la “inestabilidad” inducida por un sustituyente axial, entonces, por las velocidades relativas observadas, se deduce que el efecto del $C4-OH_{axial} > C2-OH_{axial} > C3-OH_{axial}$.

La Glc(1), con todos los sustituyentes del anillo en posición pseudo-ecuatorial, daría lugar a el quelato más "estable" lo que provocaría que dicha aldosa se oxidara más lentamente que las otras aldohexosas mencionadas anteriormente.

4. En el caso de 26dRib(12) la ausencia de los sitios de quelación HO-C2 y OH-C6, acelera la velocidad de transferencia electrónica. Dado que la formación del complejo de Cr^V implica al ácido: 26driba(23)

actuando como un ligando bidentado (a través del OH β del hidroxácido) para generar un anillo de seis miembros en el complejo intermediario, probablemente por ésto es que los valores relativos $k_5 \gg 2k_6$ observados para la oxidación de este azúcar en medio ácido.

Este resultado es coincidente con lo ya observado para las oxidaciones de 2dGlc(14) y 2dRib(13), donde las velocidades son menores comparadas con Glc(1) y Rib(6), respectivamente.

5. El monosacárido que dé lugar al quelato aldosa-Cr^{VI} menos "estable" de acuerdo a la estructura requerida para la transferencia intramolecular de hidruro, sería el que presentaría la velocidad redox más alta. Sin embargo, contrariamente a lo esperado, la ausencia de los C6-OH en 6dGal(9) no actúa como un factor acelerante, sino que la reacción ocurre a menor velocidad. Una explicación conveniente es que probablemente el complejo intermediario presenta una conformación diferente (a) a la que presenta la aldosa en solución acuosa (b), como se propone en la figura 40.

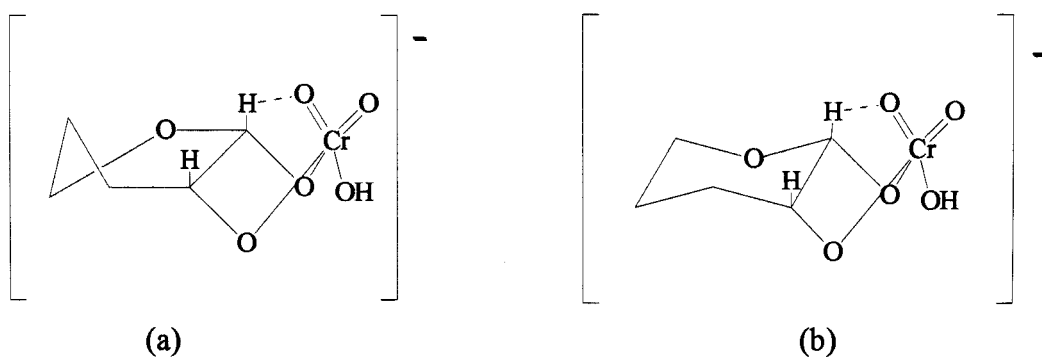


Figura 40: Intermediario quelato con dos conformaciones diferentes del anillo azúcar.

6. Las aldosas empleadas en este estudio estabilizan al agente

oxidante: Cr^{V} mediante la formación de complejos penta y hexa-coordinados de oxo-cromato(V) cuya existencia dependen de la acidez del medio de reacción. A $[\text{H}^+] > 0.1 \text{ M}$, se formarían complejos penta y hexacoordinados en equilibrio rápido, previo a la reacción redox intramolecular.

A $\text{p}[\text{H}] > 2$, sólo se forman las especies de Cr^{V} penta-coordinadas lo cual indicaría que la formación de las especies hexa-coordinadas requiere catálisis ácida. Las especies de Cr^{V} penta-coordinadas se forman y decaen a velocidades diferentes. En este rango de $\text{p}[\text{H}]$, las reacciones intramoleculares redox son muy lentas y los complejos de Cr^{V} permanecen en solución desde días a semanas.

7. En cualquier caso, la reactividad relativa de los monosacáridos hacia el Cr^{V} es del mismo orden que la observada con respecto al Cr^{VI} . Esta conducta refleja que las estructuras de los complejos intermediarios de cromato formados entre las aldosas y Cr^{VI} deben ser similares a las formadas con Cr^{V} .

8. Comparando la velocidad de oxidación por acción del Cr^{VI} de la Rib(6) con respecto a Alo(11) (aldohexosa que presenta la misma configuración en los hidroxilos de los C-2 y C-3); la constante de velocidad de segundo orden (k , $\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) es seis veces mayor para Rib (6) que para Alo(11), lo cual indica que las formas furanosa (preponderante en la Rib(6)) vs piranosa (preponderante en la Alo(11))⁶⁸ tendrían influencia sobre su reactividad. El hecho que el anillo furanósico favorezca los procesos de oxidación vs los de complejación puede interpretarse como consecuencia de la inestabilidad inducida en el quelato por la tensión en el anillo furanósico al formarse el éster cromato. Este efecto se incrementa en las especies

Cr^{V} /furanosa, respecto a Cr^{VI} /furanosa, como se evidencia al comparar k_5 y k_6 . En la oxidación crómica de aldohexosas (forma preponderante: piranósica) ^{68, 93}, k_5 no es mas de 10 veces mayor que k_6 ; mientras que para Rib(6) (mayor presencia de forma furanósica), $k_5 > 100 k_6$.

La diferencia de reactividad entre Rib(6) y Alo(11), justifica que la forma furanósica de la Rib(6) sea la especie reactiva.

9. El Cr^{III} formado como producto final de reducción del Cr^{VI} existe, principalmente, como $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}(\text{ac})$.

CAPÍTULO 4:
RESUMEN

La oxidación de las aldosas y desoxialdosas estudiadas por acción del Cr^{VI} conduce a la formación del ácido aldónico (o su lactona) correspondiente y Cr^{3+} como productos finales de reacción, cuando se trabaja en exceso de agente reductor respecto al Cr^{VI} (condiciones de pseudo- orden n).

La reacción redox se produce simultáneamente a través de dos caminos de reacción:



Las leyes de velocidad para las reacciones de oxidación por acción del Cr^{VI} se expresan de la siguiente forma:

Rib(6)

$$-d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{obs}} [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} = k_{\text{H}} [\text{H}^+]^2 [\text{Rib}] [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}}$$

2dRib(13)

$$d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{obs}}' [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}} = (k_0 + k_{\text{H}}' [\text{H}^+]^2) [2\text{dRib}] [\text{Cr}^{\text{VI}}]_{\text{T}}$$

2dGlc(14)

$$v = -d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{obs}} [\text{Cr}^{\text{VI}}] = \{c + (d + e[\text{H}^+] + f[\text{H}^+]^2) [2\text{dGlc}]\} [\text{Cr}^{\text{VI}}]$$

$$v = -d[\text{Cr}^{\text{V}}]/dt = k^{\text{V}} [\text{Cr}^{\text{V}}] = (k_1 + k_2 [\text{H}^+]) [2\text{dGlc}] [\text{Cr}^{\text{V}}].$$

Glc(1), Gal(2), 6dGal(9), Alo(11), 26dRib(12)

$$-d[\text{Cr}^{\text{VI}}]/dt = k_{\text{H}} [\text{ald}] [\text{Cr}^{\text{VI}}]$$

$$-d[\text{Cr}^{\text{V}}]/dt = k_{\text{b}} K_{\text{b}} [\text{ald}] [\text{Cr}^{\text{V}}] / (1 + K_{\text{b}} [\text{ald}])$$

En el estudio comparativo de aldosas, el orden de reactividad, a 33°C,
fue el siguiente:



El radical aldosa- alcóxido intermediario pudo atraparse con DMPO, detectándose por espectroscopía RPE dando lugar a una señal multilínea a $g = 2.003$.

El intermediario paramagnético: Cr^{V} se genera, probablemente, en un paso rápido de reacción por reacción del radical- aldosa $\cdot$ con Cr^{VI} .

El sustrato orgánico es oxidado por ambos agentes oxidantes Cr^{VI} y Cr^{V} con:

a) velocidades comparables, especialmente a medida que aumenta la concentración de aldosa, produciéndose la reducción de Cr^{VI} simultánea a la de Cr^{V} . Aldosas: Glc(1), Gal(2), 6dGal(9) y Alo(11)

b) velocidades de oxidación por $\text{Cr}^{\text{V}} \gg \text{Cr}^{\text{VI}}$. Aldosas: Rib(6), 2dRib(13), 26dRib(14) y 2dGlc(14)

Las mediciones espectroscópicas de RPE demostraron que se formaban intermediarios penta - y hexa- coordinados de oxocromato(V), con la aldosa y/o el ácido aldónico actuando como ligando bidentado.

CAPÍTULO 5: **BIBLIOGRAFÍA**

- 1.- *Biological and enviromental aspects of chromium*, (1982), Elsevier biomedical press, 49-53.
- 2.- *Chromium: Metabolism and Toxicity*, (1983), CRC press, Inc, Boca Raton, Florida, 2-3.
- 3.- Katz, S.A.; Salem, H., (1994), *The biological and environmental chemistry of chromium*, VCH Publishers, Inc., New York, 1-6.
- 4.- Hamilton, W.; Wetterhahn, K., (1987), *Chromium*, in *Handbook on toxicity of Inorganic compounds*; H.G.Seiter, H.Sigel Editor. Marcel Dekker, Inc, New York, 239-252.
- 5.- P. R.Wittbrodt; C.D. Palmer, (1997), *Reduction of Cr(VI) by soil and humic acids*, Eurp. J Soil Science, **48**,151-162.
- 6.- J.E.Fagliano; J.Savrin; I Udasin; M.Gochfeld, (1997), *Community exposure and medical screening near chromium wastes sites in New Jersey*, Reg. Tox. and Farm., **26**, S13-S22.
- 7.- S.P Felter; M.L Dourson, (1997), *Hexavalent chromium-contaminated soils: Options for risk assessment and risk management*, Reg. Tox. and Farm., **25**, 43-49.
- 8.- C. M.Davis; K. H. Sumrall; J. B. Vincent, (1996), *A biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP)*, Biochem., **35**,12963-12969.

9.- C. M.Davis; J. B. Vincent, (1997), *Chromium in carbohydrate and lipid metabolism*, JBIC, **2**, 675-679.

10.- C. M.Davis; J. B. Vincent, (1997), *Chromium oligopeptide activates Insulin receptor tyrosine kinase activity*, Biochemistry, **36**, 4382- 4385.

11.- K. H. Sumrall; J. B. Vincent, (1997), *Is glucose tolerance factor an artifact produced by acid hydrolysis of low-molecular-weight chromium-binding substance?*, Polyhedron, **16**, N° 23, 4171-4177.

12.- Glaser, E.; Halpern, G., (1929), *Über die aktivierung des insulins-durch Hefapressaft*, Biochem.Z., **207**, 377-383.

13.- Mertz, W., (1969), *Chromium occurrence and function in biological systems*, Physiol. Rev., **49**, 163-239.

14.- Mehta, N.C.; Dubach P.; Deuel, H., (1958), *Carbohydrates in the soil*; Advance in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, **16**, 335-355.

15.- Tar-ching Aw, (1997), *Clinical and epidemiological data on lung cancer at a chromate plant*, Reg. Tox. and Farm., **26**, S8-S12.

16.-a) Boyko,S.; Goodgame,D., (1986), *The interaction of soil fulvic acid and chromium(VI) produces relatively long-lived, water soluble chromium(V) species*, Inorg.Chim.Acta, **123**, 189-191.

b) Quiros, M.; Goodgame D., (1992), *EPR studies on the formation of chromium (V) complexes of adenosine in the presence of formaldehyde.*,

Polyhedron, **11**, 1 - 5.

17.- Micera, G.; Dessi, A., (1988), *Chromium adsorption by plants roots and formation of long-lived Cr(V) species: an ecological hazard?* J.Inorg. Biochem., **34**, 157-166.

18.- Goodgame, D.; Joy, A., (1987), *Formation of chromium(V) during the slow reduction of carcinogenic chromium(VI) by milk and some of its constituents*, Inorg.Chim.Acta, **135**, L5-L7.

19.- Sala, L.F.; Rizzotto, M.A; Frascaroli, M.I; Signorella, S.R., (1995), *Contaminación ambiental por el metal de transición cromo. Estamos frente a un serio problema ecológico?* Química Nova, **18** (5), 468-474.

20.- M.J.Tsapakos; K.W.Jennette, (1983), Chem.Biol. Interact. J. Biol. Chem., **46**, 265-277.

21.- Connett, P.H.; Wetterhahn, K.E., (1985), *In vitro reaction of the carcinogen chromate with cellular thiols and carboxylic acids*, J. Am.Chem.Soc., **107**, 4282-4288.

22.- L.C.Bridgewater; F.C.R.Manning; S.R.Patierno, (1994), *Base-specific arrest of in vitro DNA replication by carcinogenic chromium: relationship to DNA interstrand crosslinking*, Carcinogenesis, **5**, 2421-2427.

23.- K.D.Sugden; K.E.Wetterhahn, (1996), *Identification of the oxidized products formed upon reaction of chromium(V) with thymidine nucleotides*, J.Am.Chem.Soc., **118**, 10811-10818.

- 24.- T.C.Tsou; C.L.Chen; T.Y.Liu; J.L.Yang, (1996), *Induction of 8-hydroxideoxiguanosine in DNA by chromium (III) pus hidrogen peroxide and its prevention by scavengers*, Carcinogenesis, **17**, 103-108.
- 25.- K.D.Sugden; K.E.Wetterhahn, (1997), *Direct and hidrogen peroxide-induced chromium(V) oxidation of deoyribose in singles stranded and double-stranded calf thymus DNA*, Chem.Res.Toxicol., **10**, 1397-1406.
- 26.- Jennette, K.E, (1982), *Microsomal reduction of the carcinogenic chromate produces chromium(V)*, J.Am.Chem.Soc., **104**, 874-875.
- 27.- Aiyar, J.; Borges, K.M.-Floyd, R.A.; Wetterhahn, K. E., (1989), *Role of chromium(V), glutathione thiyl radical and hydroxyl radical intermediates in chromium(VI)- induced DNA damage*, Toxicol.Environ. Chem., **22**, 135-147.
- 28.- Aiyar,J.; Berkovits,H.J.; Floyd,R.A; Wetterhahn,K.E,(1990). *Reaction of Chromium(VI) with hydrogen peroxide in the presence of glutathione:Reactive intermediates and resulting DNA damage*, Chem.Res. Toxicol.,**3**, 595-603.
- 29.- Aiyar, J.; Boswell,J.; Liebross, R.H.; Wetterhahn, K. E., (1991), *Activation of chromium(VI) by thiols results in chromium(V) formation, chromium binding to DNA and altered DNA conformation*, Carcinogenesis, **12**, 551-561.

- 30.-** Cieslak-Golonka, M., (1996), *Toxic and mutagenic effects of chromium(VI). A review*, Polyhedron, **15**, 3667-3689.
- 31.-** Angyal, S. J, *Complex formation between sugars and metal ions*, (1973), Pure Appl.Chem., **35**, 131-147.
- 32.-** S. de Flora; K.E.Wetterhahn, (1989), *Mechanisms of Chromium metabolism and genotoxicity*, Life Chem.Reports, **7**, 169-244.
- 33.-** Chandra, S.; Mittal, R.K., (1971), *Oxidation of D-glucose by a mixture of chromic and perchloric acids*. Carbohyd. Res., **19**, 123-126.
- 34.-** Sen Gupta, K.K; Sen Gupta, S.; Nath Basu, S, (1979), *Kinetics and mechanism of oxidation of some aldoses by chromic acid in perchloric acid medium*, Carbohyd. Res., **71**, 75-84.
- 35.-** Sen Gupta, K.; Basu, S., (1980), *Kinetics and mechanism of oxidation of D-glucose and D-ribose by chromium(VI) and vanadium(V) in perchloric acid medium*, Carbohyd.Res., **80**, 223-232.
- 36.-** Sen Gupta, K.; Basu, S., (1986), *Kinetics and mechanism of oxidation of D-erythrose and DL-glyceraldehyde by chromium(VI) and vanadium(V) in perchloric acid medium*, Carbohyd.Res., **86**, 7-16.
- 37.-** Sen Gupta, K.; Basu, S.; Sen Gupta, S., (1981), *Kinetics and mechanism of oxidation of D-fructose and L-sorbose by chromium(VI) and*

vanadium(V) in perchloric acid medium, Carbohyd.Res., **97**, 1-9.

38.- Virtanem, P.; Lindroos, R., (1988), *Comparison of the kinetics of oxidation of monosaccharides by Ce(IV), Cr(VI) and V(V)*, Acta Chem.Scand, **B42**, 411-413.

39.- Alvarez Macho, M., (1988), *Estudio cinético de la oxidación crómica de disacáridos en medio de ácido perclórico*, Revue Roumaine de Chimie, **33**, 171-176.

40.- Alvarez Macho, M., (1989), *Estudio cinético de la oxidación de D-glucosa, D-fructosa y D-galactosa por Cr(VI) en medio de ácido perclórico*, Anales de Química, **85**, 72-75.

41.- Noller, C., (1968), *Química de los compuestos orgánicos*, Editorial Médico Quirúrgica, Buenos Aires, 516-517, 528-532.

42.- Clamp J.; Hough L.; Hickson, J.L; Whistler, R.L., *Advances in Carbohydrates Chemistry*, (1958), Vol. 16.

43.-a) Mitewa,M; Bontchev,P.R (1985) *Chromium(V) Coordination Chemistry. Coord.Chem.Rev.*, **61**, 241-272.

b) Gould,E.S, (1986), *Reductions of Carboxylate-Bound Chromium(V).*, Acc.Chem.Res., **19**, 66-72.

44.- a) Krumpolc, M.; Rocek, J., (1979), *Synthesis of stable Chromium (V) complexes of tertiary Hydroxy Acids.*, J. Am. Che. Soc., **101**, 3206-3209.

b) Swartz, H.; Bolton, J.R; Borg, D.C, (1972), *Biological Applications of*

Electron Spin Resonance, 1st. ed., Wiley-Interscience, New York.

c) S.P.Kaiwar; M.S.S.Raghavan; C.P.Rao, (1995), *Transition-metal saccharide chemistry and biology : synthesis, characterisation, redox behaviour, biointeraction and data correlations of dinuclear chromium (III) complexes.*, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1569 - 1576

45.- Sala, L.F.; Signorella, S.R.; Rizzotto, M.A.; Frascaroli, M.I.; Gandolfo, F., (1992), *Oxidation of L-rhamnose and D-mannose by Cr(VI) in perchloric acid. A comparative study*, Can.J.Chem., **70**, 2046-2052.

46.- C.P.Rao; S.P.Kaiwar, (1992), *Chromate reduction: reduction of potassium chromate by D-glucose and D- fructose to form Cr(III)-saccharide complexes.* Carbohyd.Res., **237**, 195-202.

47.- C.P.Rao; S.P.Kaiwar, (1993), *Reduction of potassium chromate by D-fructose, D-galactose, D-mannose, D-glucose and L-sorbose*, Carbohyd.Res., **244**, 15-25.

48.- S.P.Kaiwar; M.S.S.Raghavan; C.P.Rao, (1994), *In vitro reducing abilities towards chromate of various hydroxy-containing compounds, including saccharides and their derivatives*, Carbohyd.Res., **256**, 29-40.

49.- S.P.Kaiwar; C.P.Rao, (1995), *In vitro reduction of Cr(VI) by low molecular weight biomimetic components: a comparative study using UV-Vis spectroscopy*, Chem.-Biol.Interact., **95**, 89-96.

- 50.- Kolthoff, I.M; Sandell, E.B; Meehan E.J; Bruckenstein, S., (1988), *Análisis Químico cuantitativo*, Editorial Nigar, Buenos Aires, 867-868.
- 51.- Cotton, F.A; Wilkinson,G; (1990), *Química Inorgánica Avanzada*, Editorial Limusa, México D.F, 879.
- 52.-M. Rizzotto, S. Signorella, M. I. Frascaroli, V. Daier and L. F. Sala, (1995), *Chromic oxidation of 2-deoxy-D-glucose. Comparative study with aldoses. Part I*, J. Carbohyd. Chem., , **14**, 45-51.
- 53.- M. Rizzotto, M. I. Frascaroli, S. Signorella, L. F. Sala, (1996), *Oxidation of L-rhamnose and D-mannose by chromium(VI) in aqueous acetic acid*, Polyhedron, **15**, 1517-1523.
- 54.- S. Signorella, M. Rizzotto, V. Daier, M. I. Frascaroli, C. Palopoli, D. Martino, A. Boussecksou and L. F. Sala, (1996), *Comparative study of oxidation by chromium(V) and chromium(VI).*, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1607 - 1611.
- 55.- García S. I., Signorella S., Acebal S., Piaggio E. and Sala L. F.(1993), *Preliminary results on the degradative oxidation of D-ribono-1,4-lactone by Cr(VI) in acidic medium.*, Oxid. Commun.,**16**, 313 - 318.
- 56.- Signorella S.R., Santoro M.I., Mulero M.N. and Sala L.F., (1994), *Oxidation of D-gluconic acid by chromium (VI) in perchloric acid.*, Can. J. Chem., **72**, 398 - 402.
- 57.- Signorella S., Garcia S. and Sala L. F., (1997), *Degradative oxidation*

- of D-ribo-1,4-lactone by Cr(VI) in perchloric acid.*, Polyhedron, **16**, 701-706.
- 58.-** Sala L. F.; Palopoli C.; Alba V. and Signorella S., (1993), *A secondary reaction in the oxidation of L-methionine by chromium (VI) in acidic medium.*, Polyhedron, **12**, 2227 - 2234.
- 59.-** Sala L.F.; Palopoli C. and Signorella S., (1995), *Oxidation of 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose by Cr (VI) in perchloric acid.*, Polyhedron, **14**, 1725 - 1730.
- 60.-** Palopoli C.; Signorella S. and Sala Luis F., (1997), *Kinetics and mechanism of the oxidation of DL-homoserine by Cr(VI).*, New J. Chem., **21**, 343 - 348.
- 61.-** Branca, M.; Micera, G.; Dessi, A., (1988), *Reduction of chromium (VI) by D-galacturonic acid and formation of stable chromium (V) intermediates.*, Inorg. Chim. Acta, **153**, 61-65.
- 62.-** Branca, M.; Dessi, A.; Kozlowski, H.; Micera, G.; Swiatek, J. (1990), *Reduction of chromate ions by glutathione tripeptide in the presence of sugars ligands*, J. Inorg. Biochem., **39**, 217-226.
- 63.-** Barr-David, G.; Charara, M.; Codd, R.; Farrell, R.P.; Irwin, J.A; Lay, P., (1995), *EPR characterization of the CrV intermediates in the CrVI/V oxidations of organic substrates and of relevance to Cr-induced cancers.*, J. Chem. Soc. Faraday Trans., **91(8)**, 1207-1216.

64.- Lu, X-Q.; Johnson, W.D.; Howe, R.F.; Chen, Y-Y., *Reaction of Aquatic Humic Substances with Manganese and Chromium*, (1997), Aust. J. Chem., **50**, 173-179.

65.- Farrell, R.P.; Judd, R.J.; Lay, P.A.; Bramley, R.; Ji, J.Y., (1989), *Ligand exchange and reduction reactions of oxochromate (V) complexes : characterization of the common chromium (V) intermediates in the reductions of chromium (VI) and of trans-bis-(2-ethyl-2-hydroxybutanoato(2-))oxochromate (V) by oxalic acid.*, Inorg.Chem., **28**, 3401-3403 .

66.- Bramley, R.; Farrell, R.P.; Ji-Ying Ji; Lay, P.A., (1990), *Ligand exchange and redox reactions of chromium (V) : isolation of the chromium (V) oxalato complexes from the ligand exchange reaction of bis[2-ethyl-2-hydroxybutanoato(2-)]oxochromate (V) with oxalate in 50 % aqueous acetic acid.* , Aust. J. Chem., **43**, 263-279.

67.- Pigman, W.; Horton, D., (1972), *The carbohydrates, chemistry and biochemistry*, 2da. Ed., Academic Press, vol.1A, 81-82, 170-171.

68.- Pigman, W.; Horton, D., (1980), *The carbohydrates, chemistry and biochemistry*, 2da. Ed., Academic Press, vol.1B, 762-764, 1015-1018.

69.- *Rodd's Chemistry of carbon compounds*, vol 1, part F, (1967), Elsevier publishing Company, Holanda, 229-231, 500-502, 509-510.

70.- Lederer, E. y Lederer, M., (1960), *Cromatografía*, 2^{da}. Ed., El Ateneo, Bs. As., 268-281.

71.- a) Trevelyan, M.E.; Procter, D.P.; Harrison, J.S., (1950), *Detection of sugar on paper chromatograms*, *Nature*, **166**, 444.

b) Hough, L.; Jones, J.K.N.; Wadman, H.W., (1950), *Quantitative analysis of mixture of sugars by method of partition Chromatography. Part V. Improved methods for the separation and detection of the sugars and their methylated derivatives*. *J.Chem.Soc*, 1702-1706.

c) Sala, L.F., (1977), Tesis: *Reacciones de eliminación beta en aldonolactonas con sulfato cérico-Síntesis de 2-desoxiazúcares*,. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Univesidad Nacional de Buenos Aires. p.132, 176-178, 180-181, 211.

72.- Jackman, L.M.; Sternhell, S., (1969), *"Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry"*, 2da. Ed., Pergamon Press, New York.

73.- Signorella, S.R.; Santoro, M.I.; Palopoli, C.M; Brondino, C.; Salas-Peregrín, J.M; Quiroz, M.; Sala L.F., (1998), *Kinetics and mechanism of the oxidation of D-galactono-1,4-lactone by Cr^{VI} and Cr^V*, *Polyhedron*, **17**, 2739-2749.

74.- G. R. Buettner and L. W. Oberley, (1978), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **83**, 69-71.

- 75.- Bock, K.; Pedersen, C., (1983), *Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Monosaccharides*, Adv. in Carb. Chem. and Biochem., **14**, 27-65.
- 76.- Tajmir-Riahi, H.A, (1986), *Sugar interaction with metal ions: Synthesis, spectroscopic, and structural analysis of Zn(II), Cd(II), and Hg(II) complexes, containing D-glucuronate anion*, J. Inorg.Biochem., **26**, 23-33.
- 77.- Nakamoto, K., (1986), *Infrared spectra of inorganic and coordination compounds*, 4^{ta} ed., John Wiley & Sons, New York, 231-233.
- 78.- Escandar, G.; Gonzalez Sierra, M.; Salas Peregrin, J.M.; Labadie, G.; Santoro, M.; Frutos, A.; Sala, L.F.; (1994), *Interaction of Zn(II) ion with acids in the crystalline solid and aqueous solution.*, Polyhedron, **13**, 909-914.
- 79.- Pretsch, E.; Clerc, T.; Seibl, J.; Simon, N., (1985), *Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos*, 2^{da} ed., Editorial Alhambra, S.A., Madrid, España.
- 80.- Krumpolc, M.; Rocek, J., (1980), *Sodium bis[2-ethyl-2-hidroxybutyrato (2-)]oxocromate(V)]*, Inorg.Synth., **20**, 63-65.
- 81.-G. P. Haight, G. M. Jursich, M. T. Kelso and P. J. Merrill, (1985), *Kinetics and mechanism of oxidation of lactic acid by chromium (VI) and*

chromium (V), *Inorg. Chem.*, , **24**, 2740- 2746.

82.- N. E. Brasch, D. A. Buckingham, A. B. Evans and C. R. Clark, (1996), *NMR study of chromium(VI) ions in water.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 7969-7980.

83.- Signorella S., García S. and Sala L. F., (1992), *Kinetics and mechanism of the oxidation of (+/-)-2-hydroxy-3-methyl butanoic acid by chromium (VI) in perchloric acid medium.*, *Polyhedron*, **11**, 1391 - 1396.

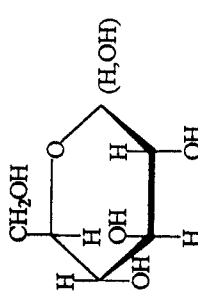
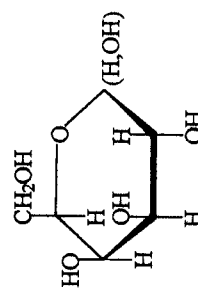
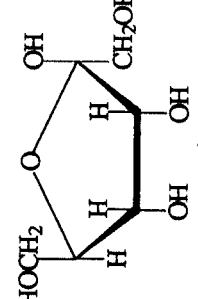
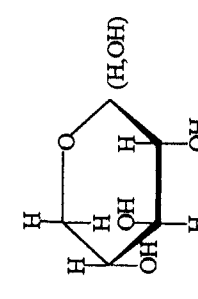
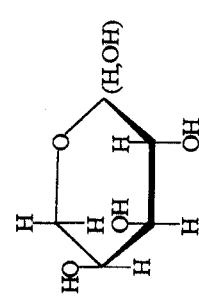
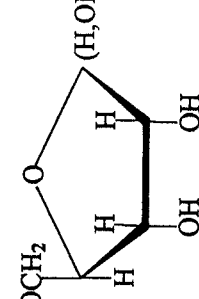
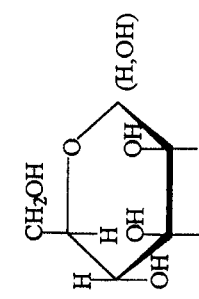
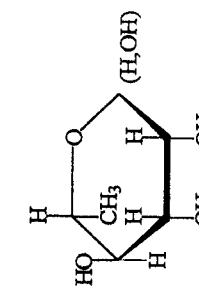
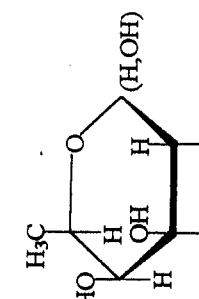
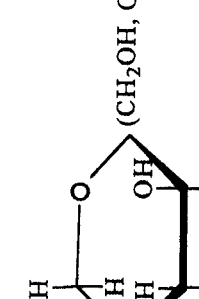
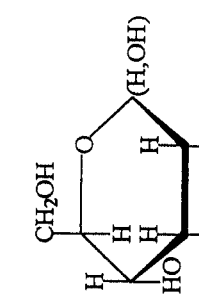
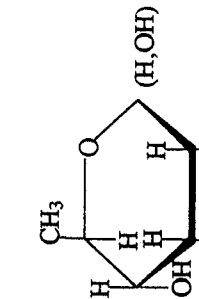
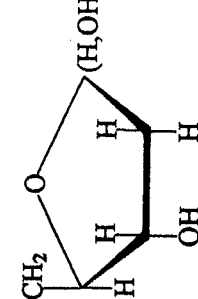
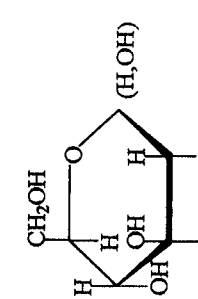
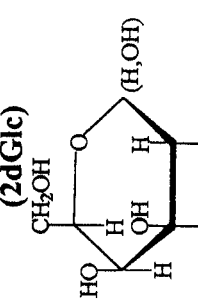
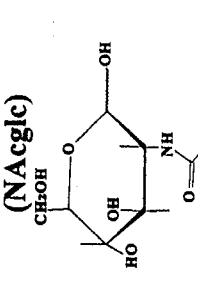
84.- Varret, F., *Proceedings of the International Conference on Mössbauer Effect Applications*, India, 1981.

85.- Cieslak-Golonka M., (1991), *Spectroscopy of chromium (VI) species.*, *Coord. Chem. Rev.*, **109**, 223 - 249.

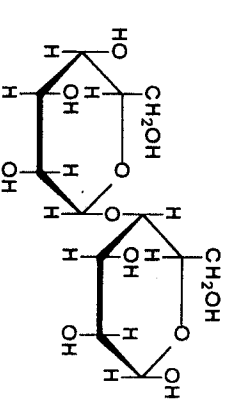
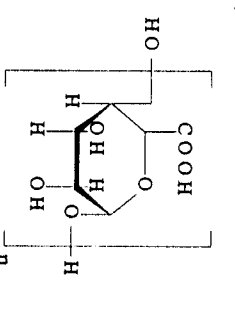
86.- Bramley R., Ji-Ying Ji. Judd R. J. and Lay P. A., (1990), *Solvent dependence of the EPR spectra of oxochromate (V) complexes : solution structures and the effects of hydrogen bonding between the solvent and the complex.*, *Inorg. Chem.*, **29**, 3089 - 3094.

87.- Judd R.J.; Hambley T.W. and Lay Peter A., (1989), *Electrochemistry of the quasireversible bis[2-ethyl-2-hydroxybutanoato(2)] -oxochromate-(V) and -(IV) and bis[2-hydroxy-2-methylbutanoato(2-)]oxo-chromate-(V) and -(IV) redox couples and the crystal and molecular structure of sodium bis[2-ethyl-2-hydroxybutanoato(2-)]oxochromate(V) sesquihydrate.*, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2205 - 2210.

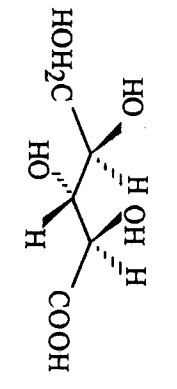
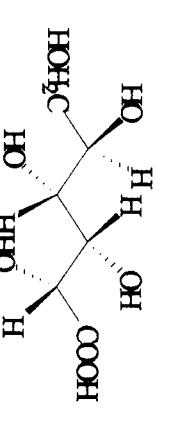
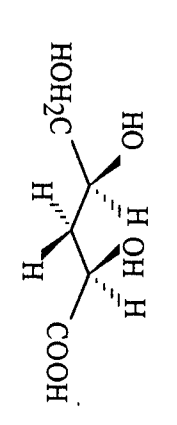
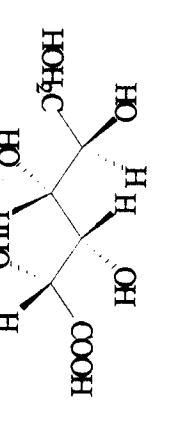
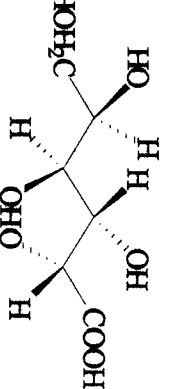
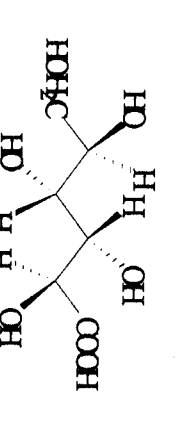
- 88.- Mitewa M.; Russev P.; Bontchev P. R.; Kabassanov K. and Malinovski A. , (1983), *Cr (V) complex species with crown ethers.*, Inorg. Chim. Acta, **70**, 179- 182.
- 89.- Bramley R.; Ji Ji-Ying and Lay P.A., (1991) , *Ligand-exchange reactions of chromium (V) : characterization of the ligand-exchange equilibria of bis(2-ethyl-2-hydroxybutanoato(2-))oxochromate (V) in aqueous 1,2-ethanediol and the solution structure of bis(1,2-ethanediolato(2-))oxochromate (V)*, Inorg. Chem., **30**, 1557-1564.
- 90.- V. Daier; S. Signorella, M. Rizzotto, M. I. Frascaroli, C. Palopoli, C.Brondino; J.M.Salas-Peregrín and L. F. Sala, (1998), *Kinetics and mechanism of the reduction of Cr^{VI} to Cr^{III} by D-Ribose and 2-deoxy-D-Ribose*, Can.J. Chem., en prensa.
- 91.- Signorella S., García S. and Sala L. F., (1998), J.Chem. Ed., en prensa.
- 92.- Sen Gupta, K.K; Sen Gupta, S.; Nath Basu, S, (1985), *Kinetics of oxidation of methanol and deuteromethanol by Chromium(VI) in perchloric acid medium*, Polyhedron, **41**, 205-206.
- 93.- Angyal, S. J, *The composition of reducing sugars in solution: current aspects.*, (1991), Adv. in Carb. Chem. and Biochem.

D-glucosa (1) (Glc) 	D-galactosa (2) (Gal) 	D-fructosa(3) (Fru) 	D-xilosa(4) (Xil) 
D -arabinosa(5) (Ara) 	D-ribose(6) (Rib) 	D-manosa(7) (Man) 	L-ramnosa (8) (Ram) 
D-fucosa (9) (6dGal) 	L-sorbosa(10) (Sor) 	D-alosa (11) (Alo) 	D-digitoxosa (12) (26dRib) 
2-desoxi-D-ribose (13) (2dRib) 	2-desoxi-D-glucosa(14) (2dGlc) 	2-desoxi-D-galactosa(14) (2dGlc) 	N-Acetil -D-glucosamina (NAcglc) 

DISACÁRIDOS/ POLISACÁRIDOS

D- lactosa (18) 	Ácido-D-poligalacturónico (19) 
---	---

ÁCIDOS ALDÓNICOS

Ác. -D-Ribónico(15) (Riba) 	Ác. 2-desoxi-D-Glucónico(16) (2dG1ca) 	Ác. -2-desoxi-D-Ribónico(17) (Riba) 	Ác. -D-Glucónico(20) (G1ca) 
Ác. -D-Galactónico(21) (Gala) 	Ác. -D-Manónico(22) (Mana) 	Ác. -digitoxónico (23) (26dRiba) 