

# BIOQUIMICA GENERAL

## Héctor N. Torres

Profesor Titular del Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A.  
Director del Programa de Ingeniería Genética y Biología Molecular (CONICET).  
Miembro de la Carrera del Investigador Científico, CONICET

## Héctor Carminatti

Profesor Titular del Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A.  
Miembro de la Carrera del Investigador Científico, CONICET

## Carlos E. Cardini

Profesor Emérito, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A.



LIBRERIA "EL ATENEO" EDITORIAL  
BUENOS AIRES - LIMA - RIO DE JANEIRO - CARACAS - MEXICO  
BARCELONA - MADRID - BOGOTA

## Estructura de porfirinas y metaloporfirinas

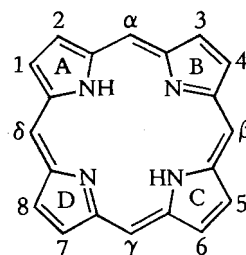
*Benjamín Frydman y Rosalía Bryks de Frydman*

Las *porfirinas* y sus derivados, así como las *metaloporfirinas* y las hemoproteínas que derivan de ellas, son sustancias fundamentales para el desarrollo de la vida en nuestro planeta. El color verde de las plantas se debe a las clorofilas, que son *magnesio-dihidroporfirinas* (*clorinas*). El color rojo de la sangre es comunicado por una *hierroporfirina*, el *hemo*. Estas menciones ya dan una idea de la importancia y abundancia de esos pigmentos en los seres vivos. Toda la vida en este planeta depende directamente de la función primordial de las *clorofilas* y de los *citocromos* (hierro-porfirinas unidas a proteínas) en la fotosíntesis, o sea, en el proceso de almacenamiento de la energía solar y su conversión en energía química. Es casi seguro que mucho antes que el oxígeno se hiciera abundante en la atmósfera, ya los citocromos funcionaban como pigmentos respiratorios. Con el advenimiento de la fotosíntesis, el oxígeno producido por ella se convirtió en el aceptor terminal de electrones en la respiración aeróbica. El oxígeno es transportado, almacenado, reducido y activado por medio de hemoproteínas. En los mamíferos, lo transporta la *hemoglobina*, una proteína tetramérica cuyo grupo prostético es el *hemo*. El oxígeno es almacenado por la *mioglobina*, también una hemoproteína. Cuando el oxígeno se reduce a agua en las últimas etapas de la respiración, cuatro electrones son transportados a través de una serie de citocromos a la *citocromo-oxidasa*. Esta última contiene dos hierroporfirinas y dos átomos de cobre. En el metabolismo también se reduce el oxígeno empleando uno o dos electrones, caso en el cual se genera superóxido y peróxido. La descomposición y la activación del peróxido de hidrógeno se realizan por las hemoproteínas *catalasa* y *peroxidasa*. Las hemoproteínas también funcionan como *monooxigenasas* y *dioxigenasas*; además, el *citocromo P<sub>450</sub>*, que funciona como una *monooxigenasa* y que combina las propiedades de unirse al oxígeno y de transportar electrones, tiene gran importancia en las hidroxilaciones biológicas. Una metalotetrahidroporfirina, el *sirohemo*, es el grupo prostético de las *nitrito-reductasas* y *sulfito-reductasas*, enzimas importantes en la asimilación (o reducción) del nitrógeno y del azufre.

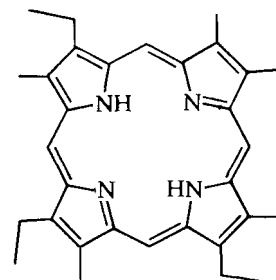
### Estructura y nomenclatura de las porfirinas

El núcleo de las porfirinas se denomina *porfina 1*, y consiste en cuatro *anillos pirrólicos* unidos por puentes *metinos* que forman así un macrociclo (fig. 15-1).

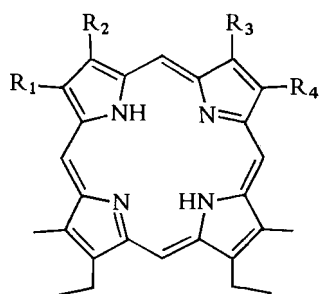
Las posiciones periféricas de los anillos se numeran del 1 al 8, y los puentes metinos (llamados también "meso"), con las letras del alfabeto griego  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , y  $\delta$ . Se suele denominar a los anillos pirrólicos con las letras A, B, C y D. A las porfirinas sustituidas con



Porfina I

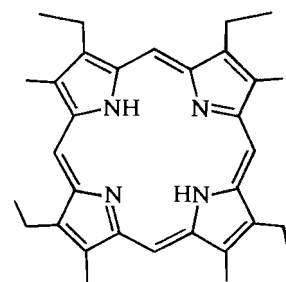


Etioporfirina I



Etioporfirina II:  $R_1 = R_4 = \text{CH}_3$  (metilo);  $R_2 = R_3 = \text{C}_2\text{H}_5$  (etilo)

Etioporfirina III:  $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$  (metilo);  $R_2 = R_4 = \text{C}_2\text{H}_5$  (etilo)



Etioporfirina IV

Fig. 15-1. Estructura de la porfina I y de las etioporfirinas.

cuatro restos metilo y cuatro restos etilo en las ocho posiciones periféricas (distribuidos de manera que lleven un etilo y un metilo en cada anillo pirrólico) se las denomina *etioporfirinas*. Se les ha asignado numerales romanos de acuerdo con su "tipo isomérico": etioporfirina I, etioporfirina II, etioporfirina III y etioporfirina IV. El nombre sistemáti-

Tabla 15-1. Nombres y estructuras de porfirinas de interés biológico

Porfirina	1	2	3	4	5	6	7	8
Uroporfirina I	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>
Uroporfirina III	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	A <sup>H</sup>
Coproporfirina I	Me	p <sup>H</sup>	Me	p <sup>H</sup>	Me	p <sup>H</sup>	Me	p <sup>H</sup>
Coproporfirina III	Me	p <sup>H</sup>	Me	p <sup>H</sup>	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Protoporfirina IX	Me	V	Me	V	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Mesoporfirina IX	Me	Et	Me	Et	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Hematoporfirina IX	Me	CHOH.Me	Me	CHOH.Me	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Deuteroporfirina IX	Me	H	Me	H	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Clorocruoroporfirina	Me	CHO	Me	V	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Pemptoporfirina	Me	H	Me	V	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Harderoporfirina	Me	V	Me	p <sup>H</sup>	Me	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me
Isocoproporfirina	Me	Et	Me	p <sup>H</sup>	A <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	p <sup>H</sup>	Me

Abreviaturas: A<sup>H</sup>, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H (acetato); P<sup>H</sup>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H (propionato); Me, CH<sub>3</sub> (metilo); V, CH=CH<sub>2</sub> (vinilo); Et C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (etilo). Estas abreviaturas serán usadas en las figuras de este capítulo.

co correcto de la etioporfirina III es, por lo tanto: 2, 4, 6, 7-tetraetil -1, 3, 5, 8-tetrametilporfina. Estos "tipos isoméricos" se mantienen al designar porfirinas sustituidas con otros restos (tabla 15-1). En algunas porfirinas de interés biológico, el "tipo III" se denomina "tipo IX". Los nombres triviales de las porfirinas más comunes se indican en la tabla 15-1, en donde la numeración corresponde al anillo de la porfirina I (fig. 15-1).

Las *clorinas* son las *7,8-dihidroporfirinas* (fig. 15-2), en las que el anillo D está reducido. Sus complejos con magnesio son las *clorofilas*, de las cuales las más abundantes son las *clorofilas a* y *b*, presentes en el reino vegetal en la proporción 3 de *a* para 1 de *b*.

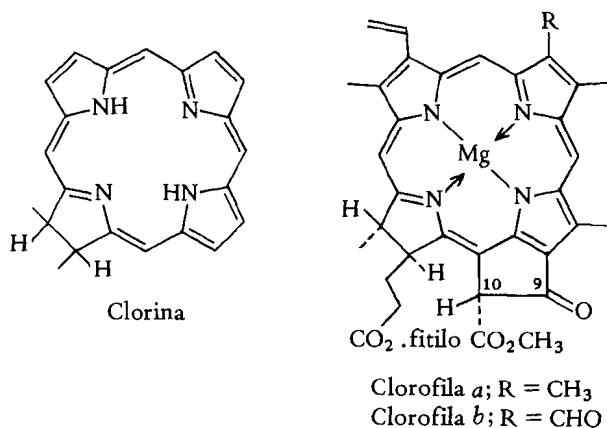


Fig. 15-2. Estructura de la clorina y de las clorofilas.

Existen dos tipos de *tetrahidroporfirinas*, y se denominan *a-* (por adyacente) *tetrahidroporfirinas* o *isobacterioclorinas* (fig. 15-3), en los que los anillos contiguos están reducidos, y *b-tetrahidroporfirinas* o *bacterioclorinas*, en las que los anillos pirrólicos opuestos están reducidos. Ejemplo de una isobacterioclorina es la *sirohidroclorina*, cuyo complejo con hierro es el *sirohemo* o grupo prostético de la *nitrito-reductasa* y *sulfito-reductasa*. Ejemplo de una bacterioclorina es la *bacterioclorofila a*, que es el pigmento fotosintético de las *Tiodoráceas*.

#### Distribución de las porfirinas en la naturaleza

Los pigmentos pirrólicos son las sustancias colorantes más abundantes en los sistemas naturales. El *hemo* o *Fe<sup>2+</sup>-protoporfirina* (fig. 15-4) es el grupo prostético de la hemoglobina, la mioglobina, los citocromos, las peroxidasas y la catalasa. Ya mencionamos las *clorofilas a* y *b* (fig. 15-2), que son los pigmentos verdes de las plantas; existen también las *clorofilas c* en las algas y la *clorofila d* en las *Rodofíceas* (fig. 15-4).

El complejo de cobre de la *uroporfirina III* está presente en las plumas del loro *Turacus indicus*. La *Fe<sup>2+</sup>-clorocruoroporfirina* (tabla 15-1) es el grupo prostético de las proteínas verdes de los moluscos marinos, en los que cumplen idéntica función que la hemoglobina en los mamíferos. Las *coproporfirinas* y *uroporfirinas* del tipo I y III y la *protoporfirina IX* están presentes en pequeñas cantidades en los fluidos tisulares y en la orina. Su concentración aumenta en los casos patológicos (porfirias). La *protoporfirina IX* y *deuteroporfirina* se encuentran en las heces de los carnívoros, como productos de degradación del hemo ingerido en la dieta. Las heces de herbívoros contienen *filoeritrina* (fig. 15-4), producto del metabolismo de la clorofila.

La *protoporfirina IX* y *coproporfirinas* están presentes en altas concentraciones en los nódulos de la raíz de leguminosas. La *protoporfirina IX* y la *harderoporfirina* se encuentran en la glándula harderiana de muchos roedores. La *protoporfirina IX* confiere la pigmentación rojiza a las cáscaras de los huevos de muchas especies de aves. Las *uroporfirinas* se encuentran en el caparazón de no pocos moluscos.

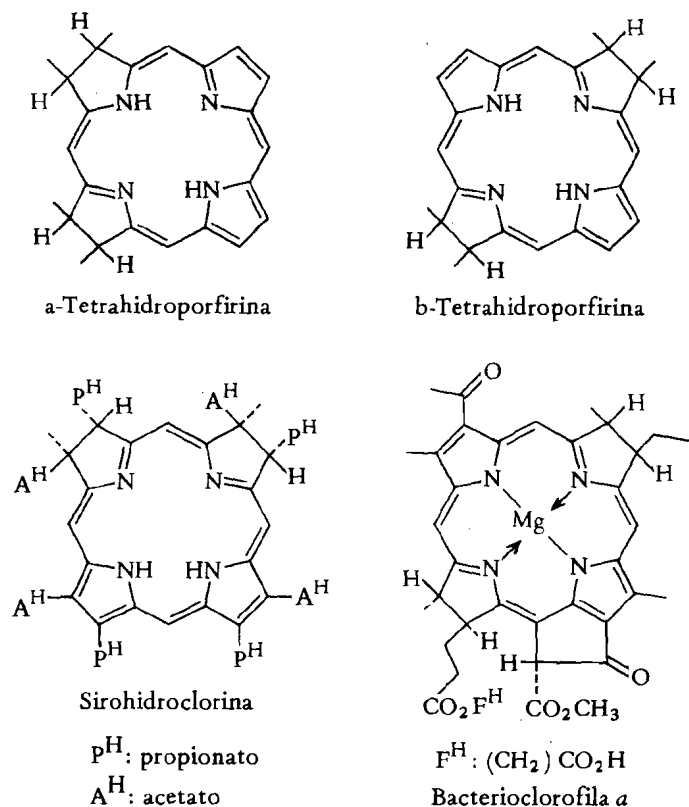


Fig. 15-3. Estructura de las tetrahidroporfirinas.

### Propiedades químicas de las porfirinas

El anillo tetrapirrólico está muy conjugado y permite escribir varias formas de resonancia. Posee 22 electrones  $\pi$ , pero solo 18 de ellos quedan incluidos en la delocalización de acuerdo con el principio de aromaticidad de Huckel ( $4n + 2$ ). Esto también explica la aromaticidad de clorinas y bacterioclorinas. Las porfirinas son compuestos altamente coloreados, y sus principales bandas de absorción tienen coeficientes de extinción muy elevados. La intensa *banda de Soret*, que absorbe alrededor de los 400 nm, es característica de la conjugación del macrociclo, y desaparece con su ruptura. Las investigaciones actuales con rayos X demostraron la sorprendente planaridad del núcleo de las porfirinas; es sabido que esta planaridad es requisito indispensable para el carácter aromático. Las mediciones por resonancia magnética nuclear también indicaron que los protones de los NH penden sobre una cavidad por la cual circula un poderoso campo magnético inducido por la corriente de electrones y que fluye por el macrociclo. La gran estabilidad del ion molecular frente a la fragmentación en los espectros de masa de las porfirinas y sus derivados se debe también a la aromaticidad elevada del núcleo.

Los argumentos teóricos y los estudios con rayos X sugieren la existencia para el núcleo de la porfina 7 (fig. 15-1) de una estructura A (fig. 15-5) de 18 electrones  $\pi$  delocalizados entre los 16 átomos del macrociclo. Sin embargo, mediciones recientes con rayos X indicaron que la estructura más probable es aquella en que los átomos de hidrógeno unidos a los nitrógenos ocupan las posiciones opuestas en la cavidad del macrociclo (estructuras B o D). De esta forma evitan la repulsión las fuerzas de Van der Waals (cap.

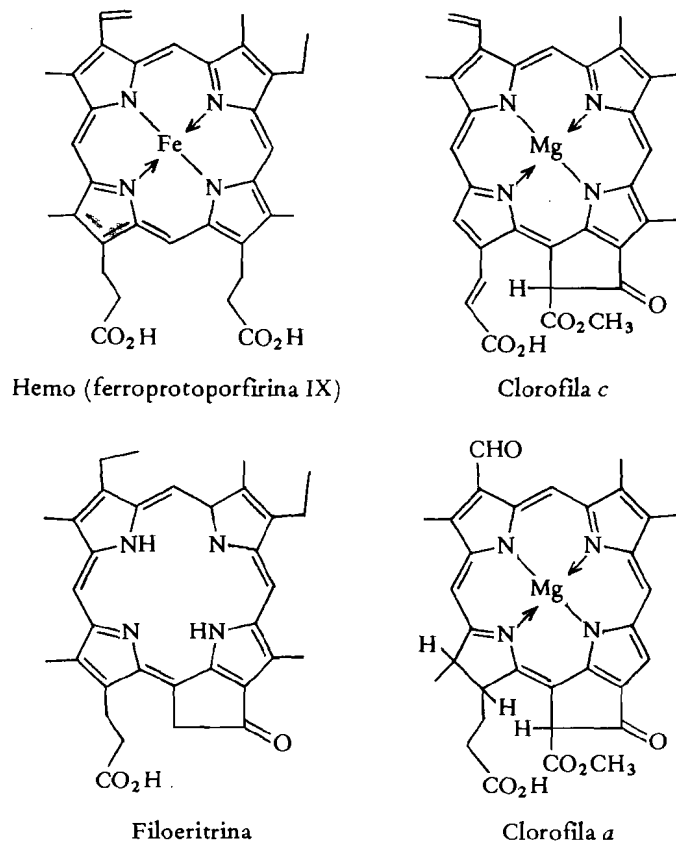


Fig. 15-4. Estructura del hemo y de las clorofilas.

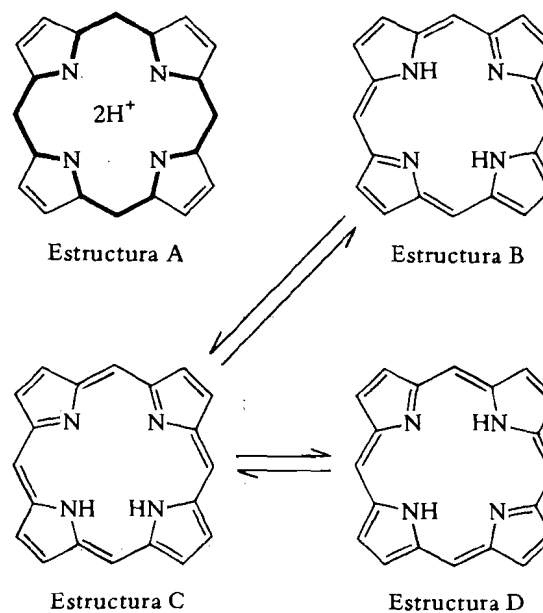


Fig. 15-5. Estructuras más probables del anillo porfirínico.

4), repulsión que ocurriría si ocuparan las posiciones de dos anillos contiguos (estructura C). La interconversión entre las estructuras B y D es un proceso que tiene lugar en dos etapas y que pasaría por el intermediario con estructura C en la figura 15-5.

El macrociclo tetrapirrólico (estructura B y D) puede ser considerado como un anfólitico con dos nitrógenos pirrolicínicos básicos capaces de aceptar protones, y dos grupos NH capaces de perderlos. Para asignar los valores de pK al núcleo de las porfirinas se pueden usar las siguientes formas de la ecuación de Henderson y Hasselbalch:

$$\begin{aligned} \text{pK}_1 &= \text{pH} - \log (\text{P}^{2-}) / (\text{PH}^-) \\ \text{pK}_2 &= \text{pH} - \log (\text{PH}^-) / (\text{PH}_2) \\ \text{pK}_3 &= \text{pH} - \log (\text{PH}_2) / (\text{PH}_3^+) \\ \text{pK}_4 &= \text{pH} - \log (\text{PH}_3^+) / (\text{PH}_4^{2+}) \end{aligned}$$

donde  $\text{P}^{2-}$  es el dianión formado por la pérdida de los dos protones de los NH;  $\text{PH}_4^{2+}$  es el dicatión formado por la protonación total de los cuatro anillos, y  $\text{PH}_2$  es una de las estructuras B o D. Las porfirinas son ácidos muy débiles, y para obtener  $\text{P}^{2-}$  hacen falta bases fuertes (alcóxidos). Tanto  $\text{pK}_1$  como  $\text{pK}_2$  son del orden de +16. Las porfirinas son bastante básicas y se disuelven en ácidos minerales diluidos. Los valores de  $\text{pK}_3$  y  $\text{pK}_4$  de las porfirinas naturales dependen de los sustituyentes periféricos, ya que éstos poseen cadenas laterales de ácidos carboxílicos (acéticos y propiónicos; tabla 15-1), que se ionizan simultáneamente con los átomos de nitrógeno nucleares. El campo electrostático que crean los grupos carboxílicos ionizados produce un aumento aparente en la basicidad de las porfirinas. Si se mide el  $\text{pK}_3$  (formación del monocatión) de los ésteres de las porfirinas (para eliminar la contribución de las cadenas acídicas), se obtienen valores que oscilan entre 4,8 y 5,8 para las porfirinas naturales. Los valores para el  $\text{pK}_4$  son similares, lo que dificulta la obtención del monocatión y facilita la obtención del dicatión. La simetría de este último favorece su estabilización por resonancia. Para las porfirinas naturales no esterificadas la situación es diferente por las razones ya referidas, y el  $\text{pK}_3$  de la coproporfirina en solución acuosa es de 7,2. Por lo tanto, en el medio biológico, un 50% de esta porfirina está en la forma de monocatión.

Se suele utilizar para las porfirinas un número HCl o número ácido (llamado también número de Willstätter), que se define como la concentración en porcentaje (P/V) de ácido clorhídrico que extrae las dos terceras partes de una porfirina de un volumen igual de éter. Es un valor que depende de la disociación de protones de la porfirina para dar una base y de su coeficiente de partición entre éter y agua. Los números HCl son de gran valor para la separación de porfirinas por métodos de contracorriente.

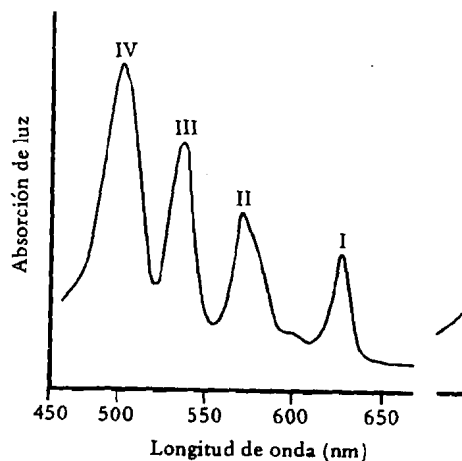
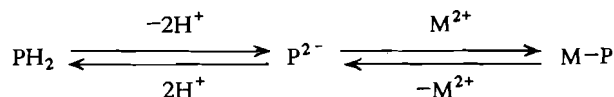


Fig. 15-6. Espectro tipo "etio" de las porfirinas en la escala de 450 a 650 nm.

Ya se ha mencionado que el espectro visible de absorción de las porfirinas presenta una banda (llamada banda de Soret) muy intensa alrededor de los 400 nm, con coeficientes de extinción que pueden llegar hasta los 400.000. Las porfirinas naturales presentan además en su espectro cuatro bandas satélites que se numeran del IV al I (fig. 15-6). Por lo general la absorción es  $IV > III > II > I$ , a lo que se denomina *espectro del tipo "etio"*. La relación entre la banda de Soret y la banda I es de alrededor de 50:1.

### Formación y estructura de las metaloporfirinas

Las metaloporfirinas son derivados de las *porfinas* en las que por lo menos un par de electrones de uno de los átomos de nitrógeno centrales de la porfina ( $\text{PH}_2$ ) es compartido con un metal que actúa como un *ácido de Lewis*. Pero, por lo general, el ion metálico no solo se coordina con los pares de electrones de los nitrógenos pirrolenínicos (los de los anillos *B* y *D* en la porfina I, fig. 15-1), sino que también reemplaza a los dos átomos de hidrógeno de los nitrógenos de los pirroles (los de los anillos *A* y *C* en la porfina I). De esta manera el ion metálico (M) ocupa el centro de la cavidad de la porfina (fig. 15-7). Mirando la molécula de la metaloporfirina de costado a lo largo de una línea que penetra por C- $\delta$ , M y C- $\beta$ , se obtiene de ella una representación esquemática (fig. 15-7). La formación de la metaloporfirina MP da, por tanto, la combinación de un anión de porfina dinegativo ( $\text{P}^{2-}$ ) con un metal dipositivo, en la que el complejo (o quelato) adopta lo que se denomina una geometría planar cuadrada (también llamada tetragonal).



El proceso de *metalización* es reversible y la *desmetalización* se logra en determinadas condiciones en medio ácido. El sistema  $\text{P}^{2-}$  es un *ligando quelante dinegativo tetradentado macrocíclico, cerrado y rígido*.

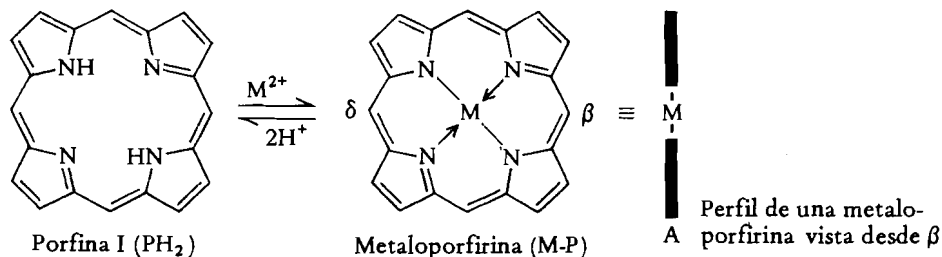


Fig. 15-7. Estructura de las metaloporfirinas. En A, se ejemplifica una estructura tetracoordinada planar cuadrada.

La geometría tetracoordinada planar cuadrada ejemplificada en A (fig. 15-7) solo se obtiene con pocos metales (Ni, Pd y Pt). Son éstos los que prefieren un *número de coordinación* de 4 en la geometría mencionada. La mayor parte de los metales de interés biológico (Fe, Mg, Co) poseen números de coordinación de 5 o 6 y dan lugar a geometrías más complejas. Al saturar estos números de coordinación, las metaloporfirinas adoptan geometrías que se denominan cuadrado-piramidales (B) y octaédrico-distorsionadas (C) (fig. 15-8). En estas geometrías se definen dos planos; el plano ecuatorial, formado por el metal y los cuatro nitrógenos de porfinato ( $\text{MN}_4$ ), y el ligando axial, formado por las otras moléculas neutras y donantes de electrones que completan la saturación del número de coordinación.

La hemina (cloruro de  $\text{Fe}^{3+}$ -protoporfirina IX) es un sistema (B), mientras que el llamado piridina-hemocromo ( $\text{Fe}^{2+}$ -protoporfirina IX-(piridina) $_2$ ) es un sistema (C). Los



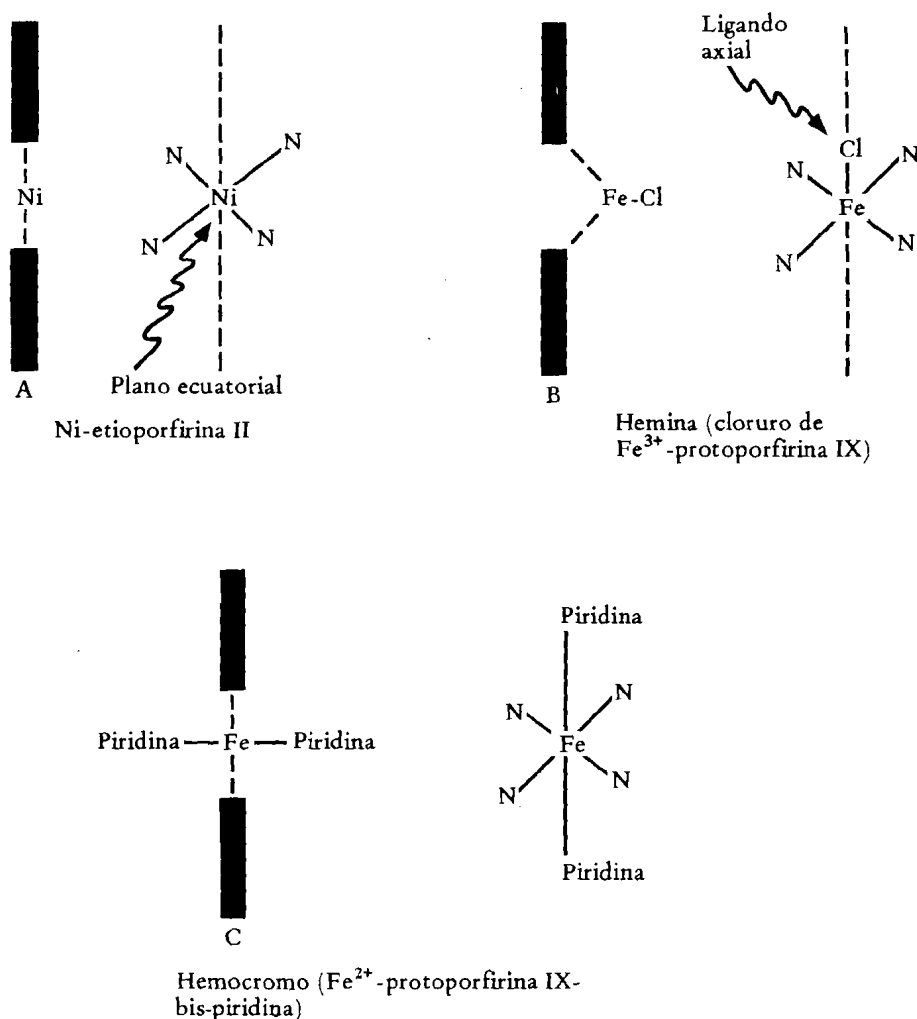


Fig. 15-8. Estructura espacial de las metaloporfirinas. A, Estructura tetracoordinada planar cuadrada; B, estructura cuadrado-piramidal; C, estructura octaédrica distorsionada.

ligandos axiales son siempre bases de Lewis, es decir, compuestos que pueden donar un par de electrones. Entre los dadores naturales, los más comunes son el agua ( $H_2O$ ), el  $N_1$  ( $=N:$ ) del resto imidazol de la histidina y el oxígeno. Entre los dadores sintéticos, los más comunes son el anión  $CN^-$ , la piridina, el imidazol y el 2-metilimidazol, el anión  $Cl^-$ , el dimetil-sulfóxido, el dioxano y el acetato.

El estado de oxidación del ion metálico en una metaloporfirina no se corresponde con el estado de oxidación del metal en el momento de ser insertado. El estado de oxidación que el metal adopte como "estable" en el porfinato va a depender de su radio iónico en ese estado de oxidación y de la influencia que sobre dicho radio tengan los ligandos axiales. Estos parámetros son de importancia fundamental para comprender la función biológica de las hemoproteínas. Ya mencionamos que el anillo de la porfina es un macrociclo totalmente rígido y planar, y por lo tanto, su cavidad interna tiene dimensiones invariables. Si consideramos al metal como una esfera sostenida en el centro de la cavidad por fuerzas electrostáticas, la distancia entre el centro de la esfera metálica y un átomo de nitrógeno es de 0,2 nm. En consecuencia, todo metal cuyo radio iónico

( $r_i$ ) exceda o sea igual a 0,064 nm (es decir, de una circunferencia superior a los  $0,4 \text{ nm} - 2 \pi r$ ), no podrá acomodarse en la cavidad. Si el radio iónico es demasiado pequeño (por ejemplo:  $\text{Ti}^{4+}$ ,  $r_i = 0,053 \text{ nm}$ ), el metal se ubicará en la cavidad en el plano del macrociclo (geometría (A), fig. 15-8), pero quedará demasiado flojo y producirá una vibración en el porfinato (efecto de "sonajero"). Este efecto es evitado por los ligandos axiales que aumentan (o "inflan") el  $r_i$  hasta lograr un "ajuste" óptimo en la cavidad de la porfirina (es el caso del  $\text{Os}^{4+} - \text{O}_2$  -octaetilporfirina, donde el ligando gaseoso confiere al  $\text{Os}^{4+}$  un  $r_i = 0,063 \text{ nm}$ ). Estos parámetros determinan que en las metaloporfirinas el vanadio sea  $\text{V}^{4+}$  ( $r_i = 0,050 \text{ nm}$ ), y no  $\text{V}^{3+}$  ( $r_i = 0,064 \text{ nm}$ ) o  $\text{V}^{2+}$  ( $r_i = 0,08 \text{ nm}$ ), que el cromo sea  $\text{Cr}^{3+}$  ( $r_i = 0,062 \text{ nm}$ ) y no  $\text{Cr}^{2+}$  ( $r_i = 0,082 \text{ nm}$ ), y así sucesivamente. Los únicos metales cuyo  $r_i$  es compatible con varios estados de oxidación son el hierro y el cobalto, y de ahí su gran importancia biológica. En el apéndice de este capítulo analizaremos en detalle el caso de la Fe-protoporfirina IX por su trascendencia metabólica.

### Estructura y función de las clorofilas

Las metaloporfirinas son los derivados por medio de los cuales las porfirinas intervienen en los procesos biológicos. Las metaloporfirinas, sin embargo, poseen una propiedad fisicoquímica que conspira contra este propósito; es la de formar autoagregados de elevado peso molecular. Esta capacidad de agregación da origen, en el caso del hemo (fig. 15-4), a la formación de los llamados "complejos  $\pi$ ", de pesos moleculares del orden de  $10^4 - 10^5$ . Para evitar esta autoagregación, la evolución biológica ha insertado a las hierro-porfirinas monómeras como grupos prostéticos en una estructura proteica, dando lugar a la formación de hemoproteínas. Esta inserción en "cavidades" o "sitios" hidrofóbicos de las proteínas impide la autopolimerización de la metaloporfirina y permite así su función biológica.

La única excepción a esta regla son las clorofilas *a* y *b* (fig. 15-2) que permanecen "libres", es decir, no insertadas en un envoltorio de proteínas. Es precisamente por eso que funcionan al estado de agregados moleculares. Pero la función de las clorofilas difiere de la función de las hemoproteínas. Las clorofilas, gracias a sus propiedades ópticas y magnéticas, absorben la energía electromagnética solar para producir la fotólisis del agua en el proceso de fotosíntesis. La fotólisis del agua, a su vez, libera los electrones necesarios para la formación del ATP y del NADPH, y es un proceso único en el metabolismo (cap. 29).

La clorofila, *in vivo*, consta de una pequeña proporción (0,1% del total) de *clorofila fotoactiva* que, al absorber la energía luminosa, se excita y el resto que funciona como *clorofila-antena*, es decir, que recoge y dirige la energía hacia la clorofila *a* fotoactiva. Esta última, llamada también *pigmento P<sub>700</sub>* (por su banda de absorción en el espectro visible) o *centro de fotorreacción*, es la que en intervalos de picosegundos ( $10^{-12} \text{ seg}$ ) absorbe los fotones de luz y produce una capacidad reductora (un electrón) y una capacidad oxidante (una cavidad positiva) que son usadas para poner en marcha gran cantidad de reacciones redox, que de por sí no ocurren espontáneamente. Dicho en otros términos, los fotones de la luz solar concentrados por la clorofila-antena expelen un electrón del estado excitado de la clorofila *a* fotoactiva.

La arquitectura de la clorofila *a* que posibilita este fenómeno (fig. 15-2) está determinada por el hecho de que el átomo de Mg no está saturado en su coordinación, a menos que tenga uno o dos ligandos donantes de electrones en su posición axial. En la coordinación tetragonal de la estructura de la clorofila *a* el Mg no está saturado y, por lo tanto, la forma de monómero tetragonal de la clorofila *a* no tiene existencia real. En ausencia de otros ligandos donantes de electrones, el Mg adopta un número de coordinación de 5, y el grupo carbonilo de la ciclopentanona ( $\text{C}_9 = \text{O}$ ) se coordina con el Mg formando dímeros (fig. 15-9) y luego polímeros. La figura 15-9 esquematiza el ángulo promedio del ligando axial en el dímero, tal como se desprende de los estudios de resonancia magnética nuclear. En solventes hidrofóbicos no básicos (tetracloruro de carbono o benceno), la clorofila *a* anhídrica es un dímero, mientras que en hidrocarburos (n-octano, decano) forma oligómeros de 20 dímeros.

Estos oligómeros absorben a 662 y 678 nm y representan la estructura de la clorofila-antena. Su solución en hidrocarburos es intensamente azul y no fluoresce. Añadiendo

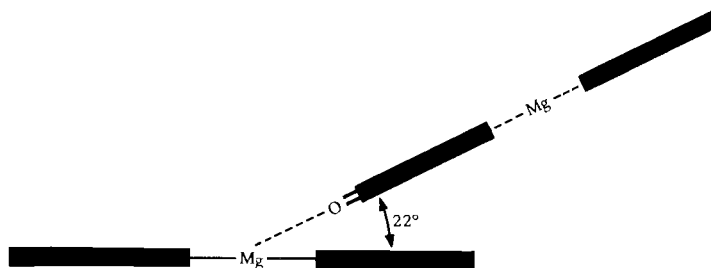


Fig. 15-9. Dimerización de la clorofila *a* por coordinación del Mg de una molécula con el grupo carbonilo del carbono 9 de la ciclopentanona (véase fig. 15-2).

agua, el color azul vira al verde (740 nm) al formarse el compuesto de coordinación clorofila-agua, que puede llegar a tomar dimensiones de un coloide si la solución del hidrocarburo se satura con agua (el *n*-octano disuelve  $2/100$  de agua). Con un simple agregado mayor de agua, la estructura del oligómero se desarma y es remplazada por el monómero ligado axialmente a uno o dos moléculas de agua. La clorofila pentacoordinada o hexacoordinada es fluorescente como una porfirina.

La clorofila *a* se encuentra *in vivo* embebida en una matriz hidrofóbica de la membrana llamada *tilacoide* (cap. 29) y, por lo tanto, no se llega a formar el coloide clorofila-agua. Solo una pequeña proporción de la clorofila *a* forma el llamado "par especial", que es un dímero en el que intervienen solo dos moléculas de agua axialmente unidas a los Mg y formando puente hidrógeno con los  $C_9=O$ . Esta estructura mantiene en forma coplanar a los dos monómeros (fig. 15-10).

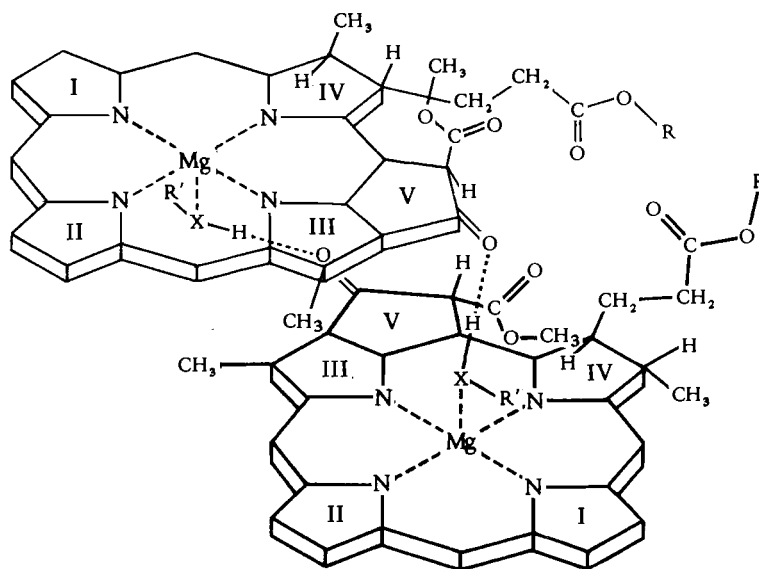


Fig. 15-10. Estructura coplanar del par espacial de la clorofila *a*.

Esta sería la estructura más probable de la clorofila fotoactiva o pigmento  $P_{700}$ . Los modelos sintéticos del "par especial" tienen las mismas propiedades ópticas, magnéticas y redox que la clorofila fotoactiva natural. Es una supermolécula en la que los planos de los tetrapirroles se encuentran a una distancia de 0,36 nm, distancia que obliga a los elec-

trones  $\pi$  de cada plano a entrar en contacto con sus similares del otro plano, ya que esa distancia es menor que los respectivos radios de Van der Waals de los electrones  $\pi$ . Se produce así una superposición adecuada de estos últimos, lo cual se traduce en una mayor tendencia a la oxidación.

### Estructura y función de las hemoproteínas

**Hemoglobina y mioglobina.** Estas globinas son hemoproteínas a las que se une el oxígeno para ser transportado o almacenado. La hemoglobina, hemoproteína roja de los eritrocitos de la sangre, es única en su capacidad de unirse al oxígeno molecular en los capilares pulmonares y transportarlo a los capilares de los tejidos, donde lo descarga para que sea utilizado en la respiración tisular. La mioglobina ayuda a la difusión del oxígeno en los tejidos, así como a su almacenamiento en el músculo.

Se conoce la secuencia de aminoácidos de unas 100 globinas. Las estructuras tridimensionales determinadas por rayos X para las globinas de distintos orígenes son muy semejantes entre sí. Solo la *eritrocrarina* del díptero *Chiromonas thummi* difiere de la cadena de globina humana en más del 80% de la secuencia de aminoácidos. El grupo prostético de la hemoglobina y la mioglobina es la hierroprotoporfirina IX (fig. 15-4) en la que el hierro se mantiene al estado ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Esta forma se denomina *hemo* y no es estable una vez separada de la globina, a menos que se estabilice con dos ligandos, como es el caso del *hemocromo* (fig. 15-8). De lo contrario, se oxida a la forma  $\text{Fe}^{3+}$ , que se puede aislar como su cloruro o *hemina* (fig. 15-8). Esta forma no puede desmetalizarse excepto que se reduzca con agentes químicos a la forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ), la cual libera el metal en medio ácido dando protoporfirina IX.

El hemo está estabilizado en las globinas en su forma de *alto spin* (véase Apéndice) por un ligando imidazólico que es parte de una histidina (la histidina F-8 en la hemoglobina). Estas desoxihemoglobinas (desoxi  $\text{Hb}^{\text{II}}$ ) o desoximioglobinas (desoxi  $\text{Mb}^{\text{II}}$ ) aceptan un sexto ligando de carácter gaseoso ( $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}$  o  $\text{NO}$ ) y pasan a la forma  $\text{Fe}^{2+}$  de *bajo spin* y de geometría tetragonal octaédrica (fig. 15-11).

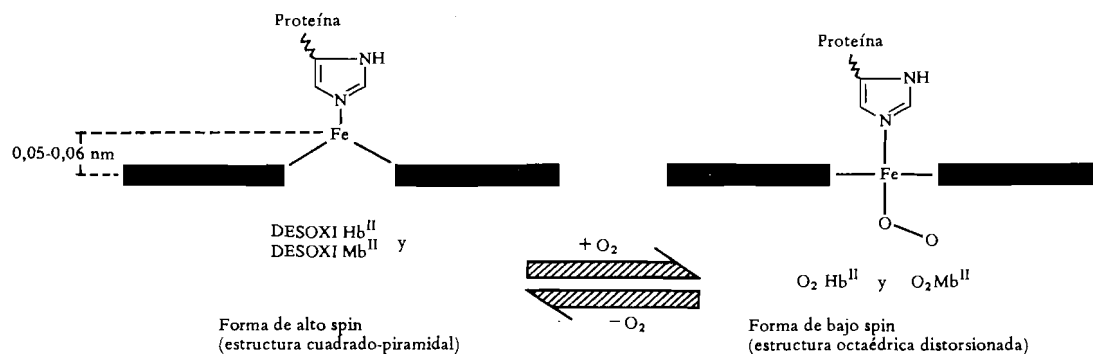
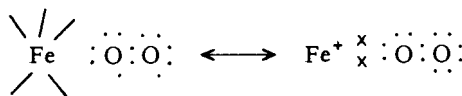


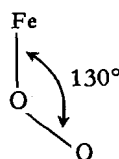
Fig. 15-11. Variación de la estructura del grupo hemo por unión de  $\text{O}_2$ .

Este segundo ligando gaseoso se estabiliza por un efecto que en inglés se denomina *backbonding*, por el cual un par de d-electrones del  $\text{Fe}^{2+}$  forma una unión con el ligando. En el caso del oxígeno el esquema sería:



El esquema presupone que un par de electrones no compartidos del oxígeno (que no posee doble enlace, pero sí electrones no apareados) forma la unión inicial con el metal,

que se transforma en un enlace  $\pi$  típico de un ligando. El complejo adopta un ángulo de aproximadamente  $130^\circ$ , según el siguiente esquema:



En ausencia del primer ligando (histidina), esta sexta coordinación con el oxígeno no tiene lugar. El efecto del *backbonding* se describe con mayor precisión en el Apéndice.

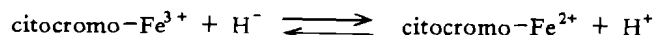
La interacción de la hemoglobina con oxígeno produce secundariamente una oxidación química del  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ , dando lugar a la formación de *metahemoglobina* (se estima que 3% de la hemoglobina humana se oxida a *metahemoglobina* diariamente). La metahemoglobina posee la forma  $\text{Fe}^{3+}$  de alto spin y puede aceptar como segundo ligando un anión dador de electrones ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{N}_3^-$ ,  $\text{F}^-$ ) para pasar entonces a la forma de bajo spin. Este segundo ligando no puede ser un gas, por ausencia del efecto estabilizante de *backbonding* del  $\text{Fe}^{3+}$ , y por lo tanto, la metahemoglobina no puede funcionar como transportador de oxígeno. Una enzima denominada *metahemoglobina-reductasa* dependiente de NADH se encarga de reducir la metahemoglobina a hemoglobina. La acumulación de metahemoglobina en la sangre es una patología grave, y la sangre toma color oscuro a causa del estado  $\text{Fe}^{3+}$  de alto spin. Por el contrario, los estados  $\text{Fe}^{2+}$  de bajo spin hexacoordinados (ya sean naturales o sintéticos) tienen el típico color rojo de la sangre arterial. El monóxido de carbono (CO) presenta una afinidad por la desoxihemoglobina ferrosa 200 veces superior al oxígeno, y forma carboxihemoglobina en la que el CO se une al  $\text{Fe}^{2+}$  dando el complejo hexacoordinado. El ángulo Fe-C-O es de aproximadamente  $135^\circ$  y el complejo no se disocia. Es por eso que el CO es un potente inhibidor de la respiración y que la sangre de las personas intoxicadas con CO presenta un color rojo cereza pronunciado.

La molécula de hemoglobina consta de cuatro subunidades, dos cadenas  $\alpha$  y dos cadenas  $\beta$ ; cada subunidad lleva un hemo en una cavidad hidrofóbica de la globina, con los restos de ácido propiónico expuestos al medio circundante. La unión al oxígeno está modulada por las *interacciones cooperativas* de las cuatro subunidades de la molécula, la clásica interacción "hemo-hemo". Los cambios conformacionales (traslación y rotación de grupos) en la estructura de la globina que dan lugar a la interacción cooperativa están gobernados por el cambio del estado de spin del hierro ferroso. Al ligarse el oxígeno al hemo, éste pasa de una geometría piramidal que lo mantiene por encima del plano de la porfirina, al estado de bajo spin que lo ubica en el plano de la porfirina (fig. 15-11). Este desplazamiento de 0,05 a 0,06 nm influye sobre la unión Fe-histidina y causa una oscilación del plano del hemo. Esta oscilación, a su vez, afloja la red de puentes H de la proteína y permite los cambios conformacionales que llevan al efecto cooperativo. No existe en el fenómeno cooperativo ninguna interacción directa hemo-hemo ya que estos grupos están separados en la molécula por distancias superiores a los 2,5 nm.

La mioglobina es una hemoproteína globular de pequeño peso molecular (16.700), que consta de una sola cadena proteica unida a un hemo. Su estructura es similar a las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de la hemoglobina; pero, como es de suponer, no presenta ningún efecto cooperativo al unirse al oxígeno. El hemo de la mioglobina también está insertado en una cavidad hidrofóbica.

**Citocromo  $b_5$ .** Se trata de una de las hemoproteínas mejor estudiadas en lo que concierne a su arquitectura. Es uno de los tres componentes de un sistema enzimático y transportador de electrones del retículo endoplásmico que funciona desaturando ácidos grasos. Los otros dos componentes son la *citocromo  $b_5$  - reductasa* (dependiente del NADH) y la *desaturasa*. Las principales funciones del citocromo  $b_5$  parecen ser: activar el oxígeno molecular y mantener un medio reductor. El grupo prostético del citocromo  $b_5$  es un hierro-protoporfirina IX igual al de la hemoglobina y la mioglobina. Lo mismo que en estas últimas, el hemo no está unido covalentemente a la proteína sino solo a través de sus ligandos axiales. Esta unión, sin embargo, es diferente a la de las globinas. El hierro está

hexacoordinado a través de dos ligandos axiales que corresponden a los restos imidazoles de las histidinas 39 y 63. Por lo tanto, está siempre en la geometría octahédrica tetragonal (o cuadrada) de bajo spin. Durante el funcionamiento del citocromo  $b_5$ , el hierro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) pasa a hierro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), también de bajo spin ( $S = 1/2$ ), y nunca pierde su planaridad:



Las uniones Fe-N-(histidina) no son desplazadas por  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}$  o  $\text{CN}^-$  en la proteína nativa. El grupo prostético puede separarse únicamente por tratamiento con acetona ácida.

El citocromo  $b_5$  ha sido cristalizado y su estructura fue establecida por difracción con rayos X. Es un cilindro de una altura aproximada de 3,7 nm y un diámetro de 3,1 nm. El hemo está contenido en una cavidad hidrofóbica en la parte superior de la molécula. Toda la cavidad está tapizada de cadenas proteicas, hidrofóbicas, que aíslan el hemo del medio circundante. Este se halla insertado con los restos vinilos hacia el interior de la cavidad hidrofóbica (como en las globinas) y con las cadenas de ácido propiónico hacia el exterior (fig. 15-12).



Fig. 15-12. Esquematización del citocromo  $b_5$  según datos de difracción de rayos X.  $P$  Indica los extremos de los restos-propionato.

Uno de los residuos propiónicos está en contacto con el solvente, y el otro casi sumergido en la proteína, con la cual forma una estrecha unión hidrógeno. Esta arquitectura define el mecanismo de acción del citocromo  $b_5$  (fig. 15-13).

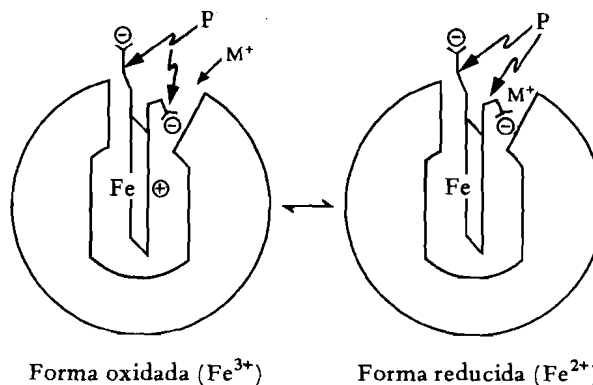
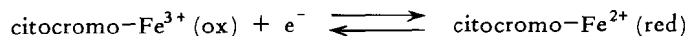


Fig. 15-13. Balanche de cargas a nivel del grupo hemo del citocromo  $b_5$ .  $P$  Indica los restos propiónicos, y  $M^+$ , un catión del medio. A nivel del átomo de hierro se indica su carga formal: +1 en la forma oxidada y cero en la forma reducida.

Los estudios por difracción con rayos X demostraron que un catión (sodio o potasio) se une a la forma reducida de la proteína. Sin embargo, las estructuras cristalinas de las formas oxidada (roja) y reducida (anaranjada) son isomorfas. El esquema de la figura 15-13 interpreta este fenómeno. Cuando el citocromo  $b_5$  está en la forma férrica (oxidada) del átomo de hierro, tiene una carga formal de +1. Las otras dos cargas positivas están neutralizadas por las dos cargas negativas de los propionatos. Conviene señalar de nuevo que el hemo está en un ambiente totalmente hidrofóbico de baja constante dieléctrica, y desprovisto de cargas negativas que puedan neutralizar las cargas +3 de la forma férrica. Esto debería conducir a una forma termodinámicamente muy inestable del citocromo- $\text{Fe}^{3+}$ . Que este no es el caso lo indica el potencial redox de 0,020 V para la forma oxidada. La estabilización la proveen los propionatos mencionados, cuyos oxígenos se encuentran a 0,64 y 0,71 nm del átomo de hierro, formando una débil unión iónica con el  $\text{Fe}^{3+}$ . Esta unión involucra a la cadena peptídica principal y el hidroxilo de la serina-64. Cuando la proteína se reduce ( $\text{Fe}^{2+}$ ), la carga formal del hierro cae a cero y se elimina la unión iónica. Pero la conformación no cambia, ya que la carga negativa de un propionato es neutralizada por un catión del medio (fig. 15-13).

La diferencia en energía libre entre las formas oxidada y reducida del citocromo  $b_5$  va a depender de la diferencia de energía intrínseca entre el hierro férrico y el ferroso en el campo eléctrico producido por los ligandos octaédricos del hierro. Pero también dependerá de la diferencia en energía libre causada por el potencial coulombico y la entropía de ambas formas. El potencial coulombico favorece a la forma reducida, ya que la separación de cargas en el estado oxidado entre el hierro y los oxígenos del propionato ( $\text{CO}_2^-$ ) es más del doble que la distancia entre el hierro y los oxígenos en la forma reducida. Por otro lado, la diferencia en entropía favorecerá a la forma oxidada, ya que la forma reducida se une a un catión que de otra manera permanecería en solución.

**Citocromo c.** Es una de las hemoproteínas mejor estudiadas y de fundamental importancia en la cadena respiratoria (caps. 23 y 24). Su estructura es totalmente conocida, y su mecanismo de acción también fue objeto de numerosos estudios e hipótesis. Constituye una conexión fundamental en la cadena del transporte de electrones mitocondrial, ya que es una proteína potencialmente soluble que transporta los electrones de una *reductasa* inmovilizada en la membrana (el complejo citocromo  $b$  y  $c_1$ ) a una *oxidasa* igualmente inmovilizada (los citocromos  $a$  y  $a_3$ ). El citocromo  $c$  realiza únicamente la reacción.



Su grupo prostético es un hierro-protoporfirina IX, a cuyos restos vinilos se adicionaron dos cisteínas de la cadena proteica para formar tioéteres. A la estructura resultante se denomina *hemo c* (fig. 15-14), que no es un compuesto natural de existencia independiente fuera de la proteína. El hierro del hemo  $c$  alterna entre las formas de  $\text{Fe}^{2+}$  ( $s=0$ ) y  $\text{Fe}^{3+}$  ( $s=1/2$ ). El grupo prostético del hemo es fundamental para la arquitectura del citocromo  $c$ , ya que es la base de su estructura tridimensional.

Si el hemo es extraído de la proteína (por tratamiento con sulfato de plata en medio ácido), la estructura proteica del citocromo  $c$  se desnaturaliza. Esto contrasta con la estructura de las hemoglobinas, en las que el hemo se puede separar y volver a unirse a la apoproteína sin destrucción de la estructura de la hemoproteína.

El hemo está unido covalentemente a la proteína a través de los tioéteres que forman los vinilos con las cisteínas 14 y 17. Los ligandos axiales los proporcionan la histidina 18 y el par de electrones del resto  $-\text{S}-\text{CH}_3$  de la metionina 80 (o la metionina 100 en el caso del citocromo  $c-550$ ).

En la figura 15-15 se presenta un esquema de los plegamientos del citocromo  $c$ .

El rectángulo sólido es el hemo, los cilindros representan segmentos de  $\alpha$ -hélices, y  $\text{NH}_2$  y  $\text{CO}_2\text{H}$  son los restos terminales amino y carboxilo. Como puede verse, ambas "caras" de la hemina están cubiertas por la proteína. Sobresale, sin embargo, al medio externo el llamado *filo del hemo*, formado por el anillo B, el borde entre los anillos B y C y el anillo C (el borde que mira hacia el frente en la fig. 15-15). De los dos ácidos propiónicos, el del anillo D (llamado propiónico posterior) está oculto en el interior hidrofóbico de la proteína, y el del anillo C está parcialmente cubierto por la proteína. Esta disposición de los propionatos es similar a la ya referida para el citocromo  $b_5$ .

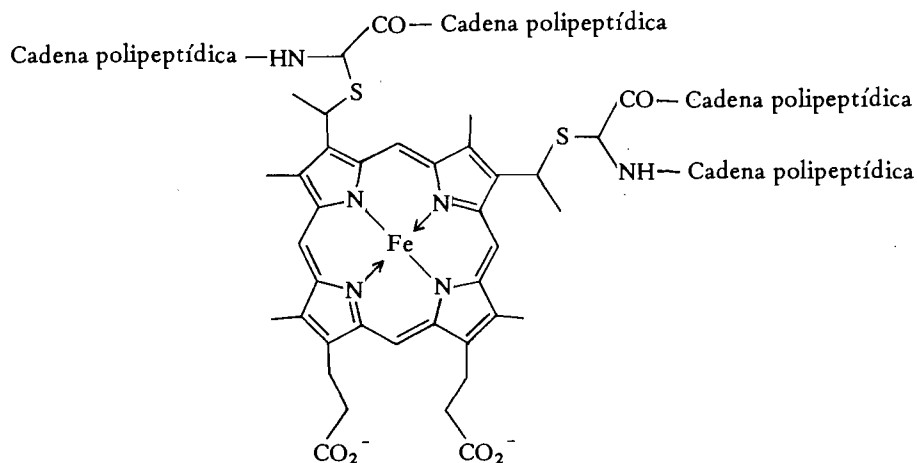


Fig. 15-14. Estructura hemo *c* de la hierro-protoporfirina del citocromo *c*.

Los mecanismos por los cuales el citocromo *c* transporta los electrones han sido objeto de numerosas hipótesis y demostraciones experimentales. Estas se pueden dividir en dos grupos: las que favorecen la intervención directa de las proteínas en el proceso, y las que hacen recaer la acción redox del citocromo solamente en la hierroporfirina. Al primer grupo pertenecen las hipótesis de Winfield y Dickerson, y últimamente de Salemme y Kamen, y fueron las primeras en desarrollarse. Proponen que una cadena de aminoácidos aromáticos (tirosina 74, triptófano 59, tirosina o fenilalanina 67) participa en la transferencia directa de electrones de la reductasa al  $\text{Fe}^{3+}$  a través de una serie de desplazamientos de protones (que producen pequeños cambios estructurales) y que, finalmente, involucran el ligan-

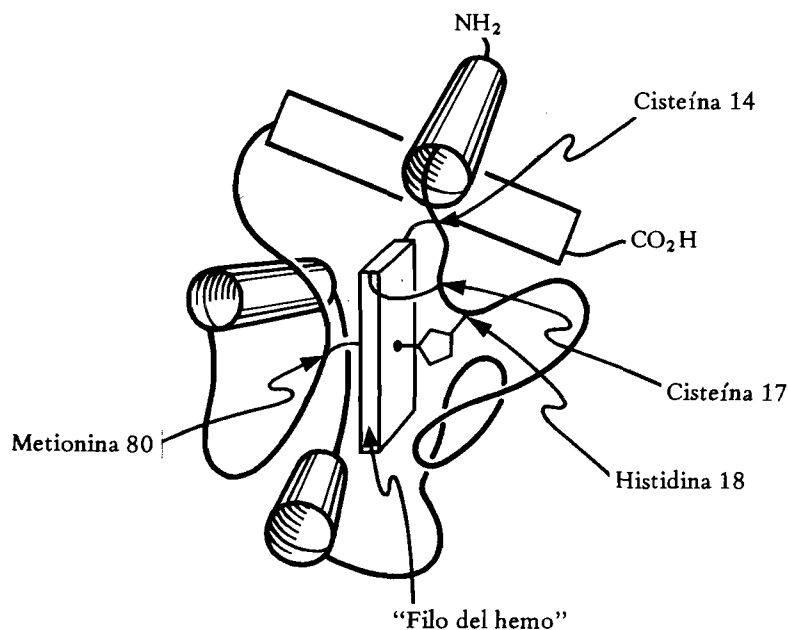


Fig. 15-15. Estructura del citocromo *c*, en donde se indican los aminoácidos que interactúan o están unidos al grupo hemo.



do azufre-hierro. En contra de estas hipótesis estaría el hecho de que se aislaron citocromos *c* que poseen un aminoácido alifático en lugar de un aromático en la tríada 74, 59, 67 (por ejemplo, el citocromo del *M. dentrificans* tiene una leucina 74).

Más terreno están ganando las hipótesis que sugieren que la proteína no desempeña otra función que la de facilitar la transferencia de electrones entre los hemo de los citocromos  $b + c_1$ ,  $c$ , y  $a + a_3$ . Esta idea, que en mecánica cuántica se denomina *túnel electrónico facilitado* (*electron tunneling* en inglés), fue desarrollada por Chance para explicar la causa de que la transferencia de electrones entre los citocromos se realiza aún a bajísimas temperaturas en las que los movimientos moleculares están congelados. Las proteínas disminuirían la barrera de potencial clásicamente impenetrable entre los centros de hierro-proteínas. Las tres hemoproteínas (reductasa, citocromo *c* y oxidasa) formarían un solo complejo, en el cual los electrones pasarían de un centro metálico a otro por una transferencia "adiabática" en la cual los orbitales del metal (o los orbitales moleculares del hemo), dador y aceptor, están ajustados a la misma energía en el estado de transición. La otra posibilidad es que la transferencia de electrones se realice a través de los orbitales  $\pi$  del "filo" del hemo expuesto (anillos B y C). Este sería el sitio activo del citocromo, que luego transferiría los electrones desde los anillos expuestos al átomo de hierro central. Los orbitales del dador y del aceptor de electrones se mezclarían formando un conductor  $\pi$  de metal a metal. Este tipo de transferencia se ha demostrado en la química de las metaloporfirinas.

**Citocromo *c*-oxidasa.** Es una de las primeras hemoproteínas aisladas. Su química permanece aún desconocida. Cumple una función única en los organismos aeróbicos, combinándose con el  $O_2$  (en forma parecida a la hemoglobina) y reduciéndolo a dos moléculas de agua. Para romper la unión O-O y efectuar la reducción hacen falta cuatro electrones. Como contiene dos hemo y dos átomos de  $Cu^{1+}$  por unidad funcional, la reducción de los cuatro proveería los cuatro electrones necesarios para la reducción de una molécula de  $O_2$ . Pero nada se sabe con certeza al respecto. El detalle estructural más característico de la citocromo *c*-oxidasa es que sus hemo tienen la estructura llamada hemo *a* (fig. 15-16). La estructura definitiva terminó por ser establecida solo en 1975 por Caughey. Difiere de la estructura del hemo (fig. 15-4) por poseer un formilo en la posición  $C_8$  y un  $\alpha$ -hidroxifarnesil-etilo en lugar del vinilo de  $C_2$ . Este último resto se forma indudablemente por adición de un farnesil-pirofosfato a un resto vinilo del hemo, y el formilo se debe formar por oxidación del metilo correspondiente en el hemo.

La citocromo *c*-oxidasa está fuertemente unida a la membrana mitocondrial y solo puede solubilizarse con detergentes. Al aislarla, está siempre acompañada de cantidades variables de lípidos; en especial, poliglicerol-fosfátidos (cardiolipina). Es una proteína transmembranosa, en la cual el componente llamado citocromo *a* apunta hacia el lado exter-

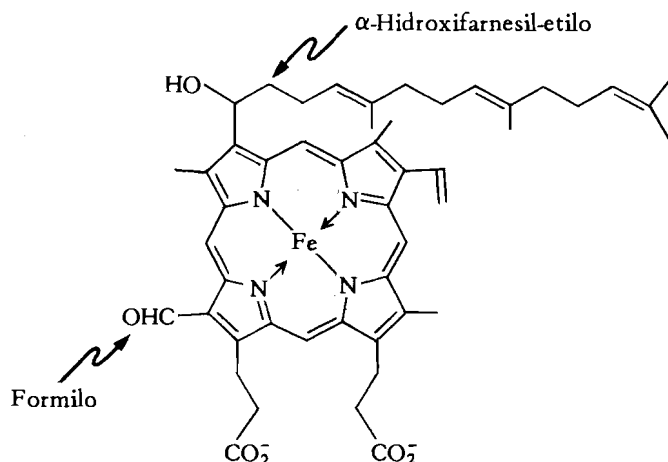


Fig. 15-16. Estructura del hemo *a* de la citocromo-oxidasa.

no de la membrana interna de la mitocondria, y el llamado citocromo  $a_3$  apunta a la cara interna de la membrana. La oxidasa está compuesta de 6 a 7 subunidades desiguales. La subunidad activa sería de 290.000 dalton. Al igual que las globinas, se une al  $O_2$  y al CO (por su parte de citocromo  $a_3$ ), así como también al  $CN^-$ . Una banda de absorción a 830 nm se ha atribuido a la absorción del cromóforo de  $Cu^{1+}$ . Los átomos de  $Cu^{1+}$  no están unidos a los hemo  $a$ , pero podrían facilitar la exocoordinación del hemo con el  $O_2$ . La función de la cadena lipídica del farnesol podría ser simplemente la de anclar el hemo en una posición favorable en la lipoproteína. Hay, sin embargo, hipótesis que atribuyen una función activa a la cadena isoprénica. Esta podría ser la unión del  $Cu^{1+}$  a los enlaces no saturados, o el plegamiento de la cadena en una conformación que produzca el solapamiento de sus electrones  $\pi$  con el orbital molecular del hemo.

**Hemoproteínas varias.** Existen en el metabolismo numerosas hemoproteínas que cumplen importantes funciones redox, y cuya química y estructura son aún desconocidas. Mencionaremos a las *peroxidases*, que catalizan reacciones en las que el peróxido de hidrógeno o peróxidos sustituidos oxidan a una gran serie de compuestos que van desde iones inorgánicos hasta moléculas orgánicas de alto peso molecular. La más conocida es la peroxidasa del rábano silvestre (o rústicano), cuyo hemo 12 puede separarse de la apoproteína y volver a recombinarse con ella. El hemo reacciona con gases y aniones para dar ligandos. Elementos estructurales similares posee la *citocromo c-peroxidasa*, que oxida al citocromo  $c-Fe^{2+}$ . La *cloroperoxidasa* es una glicohemoproteína aislada del hongo *Caldariomyces fumago*. Oxida cloruros, yoduros y bromuros (pero no fluoruros), catalizando así reacciones de halogenación. La *lactoperoxidasa* fue aislada de la leche de vaca y parece tener un papel en la yodación de la tirosina. Su hemo no se libera fácilmente, por lo que debe tratarse previamente a la hemoproteína con pronasa. La *mieloperoxidasa* se aisló de los leucocitos de la sangre y de células de médula ósea de cobayo. El hemo parece estar unido a la proteína por una unión amida. Las *catalasas* descomponen el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. A diferencia de las peroxidases son altamente específicas y emplean al peróxido de hidrógeno como oxidante y reductor. La *apocatalasa* no ha podido ser obtenida, y no parece existir en ausencia del grupo prostético de hemo.

## APENDICE

### El estado del hierro en la ferroprotoporfirina IX

La unión entre el metal y la porfina 1 se realiza a través de los orbitales  $d$  del metal. En el caso del  $Fe^{3+}$  existen dos configuraciones para los  $d$ -electrones: una de *alto número de giro* ( $s$ : *spin*, en inglés) con  $s = 5/2$  y una de *bajo spin* con  $s = 1/2$ . Cuando es  $s = 5/2$ , los cinco  $d$ -electrones no están apareados y ocupan cada uno los orbitales  $d_{xy}$ ,  $d_{xz}$ ,  $d_{yz}$ ,  $d_{z^2}$  y  $d_{x^2-y^2}$ . Los orbitales  $d_{xz}$  y  $d_{yz}$  dan lugar a las uniones  $-\pi$ , el  $d_{x^2-y^2}$  (y en parte el  $d_{z^2}$ ) a una unión  $\pi$ , y el  $d_{xy}$  no participa en la formación del quelato (*non-bonding*, en inglés). Este estado de oxidación tiene un  $r_i = 0,064$  nm y no alcanza a ubicarse enteramente en la cavidad de la porfina. Por lo tanto, sobresale del plano de ésta unos 0,05-0,06 nm. Esto, junto con su número de coordinación igual a 5, da lugar a la geometría cuadrado-piramidal (o tetragonal-piramidal) que se observa en la hemina (fig. 15-8B). Todos los derivados de la  $Fe^{3+}$ -protoporfirina IX de *alto spin* tienen esta geometría. Así, la aquometmioglobina y la peroxidasa del rábano silvestre *Armoracia rusticana* tienen esta geometría. La estructura de bajo spin del  $Fe^{3+}$  ( $s = 1/2$ ) tiene cuatro  $d$ -electrones apareados y uno sin aparear: dos en el orbital  $d_{xy}$ , dos en el  $d_{xz}$  y uno en el  $d_{yz}$  (forma la unión  $\pi$ ). Esta estructura es de  $r_i = 0,055$  nm; se acomoda bien en la cavidad de la porfina y, como es de número de coordinación igual a 6, adopta la geometría octaédrica distorsionada (llamada también tetragonal bipiramidal) que se esquematizó para el hemocromo (fig. 15-8 C). Esta  $Fe^{3+}$ -protoporfirina de bajo spin se encuentra en la cianomioglobina- $Fe^{3+}$  (los ligandos son el imidazol de una histidina y el anión  $CN^-$  añadido en la preparación), en la cianohemoglobina- $Fe^{3+}$  y en el citocromo  $c-Fe^{3+}$  (en este último los ligandos son una histidina y una metionina). El  $Fe^{2+}$  también se halla en dos configuraciones, de alto spin ( $s = 2$ ) y de

bajo spin ( $s = 0$ ). Una posible forma intermedia ( $s = 1$ ) no tiene importancia biológica. La configuración electrónica de los 6 electrones de  $\text{Fe}^{2+}$ , cuando  $s = 2$  ( $d_{xz}$ )<sup>2</sup>, ( $d_{xz}$ ,  $d_{yz}$ )<sup>2</sup>, ( $d_z^2$ ,  $d_{x^2-y^2}$ ), le confieren un  $r_i = 0,077$  nm, demasiado grande para formar una metaloporfirina planar. Aunque el  $r_i$  disminuye por efecto del ligando mediante el efecto conocido como *backbonding* (transferencia de carga  $\rightarrow$  de *spin* del metal al ligando, para formar la unión  $\pi$ , en lugar de la habitual del ligando al metal), la geometría resultante es netamente piramidal y el hierro sobresale unos 0,06 nm sobre el plano de la porfirina. Es el caso de la  $\text{Fe}^{2+}$ -protoporfirina que actúa como grupo prostético de la desoximioglobina- $\text{Fe}^{2+}$ . La forma de *bajo spin* del  $\text{Fe}^{2+}$  tiene una configuración totalmente apareada ( $d_{xy}$ )<sup>2</sup>, ( $d_{xz}$ ,  $d_{yz}$ )<sup>4</sup> lo que resulta en su  $s = 0$ , y como posee un número de coordinación igual a 6 y  $r_i = 0,061$  nm, la metaloporfirina que forma tiene una geometría totalmente octahédrica o bipiramidal (fig. 15-8 C). Es el caso de la  $\text{Fe}^{2+}$ -protoporfirina IX, que funciona como grupo prostético de la oximioglobina- $\text{Fe}^{2+}$ , la oxihemoglobina- $\text{Fe}^{2+}$  y la carboxihemoglobina- $\text{Fe}^{2+}$ .

#### BIBLIOGRAFIA

- D. Dolphin, Ed., (1979), *The Porphyrins*, vols. 1-7, Academic Press.
- K.M. Smith, Ed., (1975), *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Elsevier Sci, Publ.,Comp.
- F.R. Longo, Ed., (1979), *Porphyrin Chemistry Advances*, Ann. Arbor Science.
- A.D. Adler, Ed., (1973), *The Chemical and Physical Behaviour of Porphyrin Compounds and Related Structures*, Annals N.Y. Academy of Sciences, vol. 206.