

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE QUIMICA-FISICA

ESTUDIO TERMODINAMICO Y CINETICO
DE LAS REACCIONES ENTRE ALCALOIDES
DE LA FAMILIA DE LAS RAUWOLFIAS Y
TETRACIANOETILENO.

MEMORIA QUE PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADA EN FARMACIA
PRESENTA DÑA. LAURA CUERVO SANCHEZ.

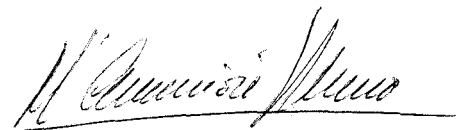
Esta TESINA ha sido realizada en los Laboratorios del
Departamento de Química-Física, de la Facultad de Farmacia
de la Universidad de Sevilla.

En Sevilla, a 17 de Octubre de 1989.

Los directores



Fdo: Prof. Dr. Don
Manuel Balón Almeida
Profesor Titular del Dpto.
de Química-Física de la
Universidad de Sevilla.



Fdo: Prof. Dra Doña
M. Asunción Muñoz Pérez
Profesora Titular del
Dpto. de Química-Física
de la Universidad de
Sevilla.

Don Jose Hidalgo Toledo: Director del Departamento
de Química-Física de la Universidad de Sevilla, certifica que
la realización de la Tesina de Dña. Laura Cuervo Sanchez, se
ha llevado a cabo en los Laboratorios de dicho Departamento.

Hidalgo
J.P.

Sevilla, a 17 de Octubre de 1989.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a los Profesores.

Don Rafael Andreu Fondecabe y Don Domingo Gonzalez Arjona, por su ayuda en la confección de los programas de cálculo.

Dofia Pilar Guardado Villau y Dofia María del Carmen Carmona Guzmán, por su ayuda en las experiencias cinéticas.

A los demás miembros del Departamento por su continuo estímulo y colaboración.

INDICE

pag

1.- Introducción y objetivos..... 7

2.- Características generales de los
Complejos de transferencia de carga..15

 2.1.- Clasificación de los complejos....20

3.- Experimental.....22

 3.1.- Reactivos.....23

 3.2.- Aparatos.....24

 3.3.- Métodos.....26

 3.3.1.- Métodos Termodinámicos.....26

 3.3.2.- Métodos Cinéticos.....31

4.- Resultados.....34

 4.1.- Análisis y caracterización de
 productos.....35

 4.2.- Resultados Termodinámicos.....42

 4.3.- Resultados Cinéticos.....54

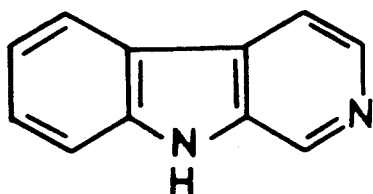
5.- Discusión.....65

6.- Conclusiones.....76

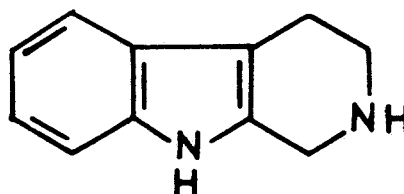
| | |
|---|----|
| 7.- <u>Referencias Bibliográficas</u> | 78 |
| 8.- <u>Anexos</u> | 83 |
| 8.1.- Anexo 1..... | 84 |
| 8.2.- Anexo 2..... | 87 |

1.-INTRODUCCION Y OBJETIVOS

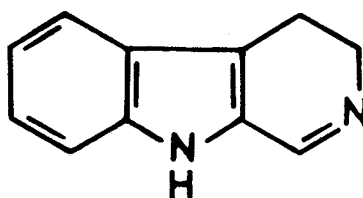
El anillo de β -carbolina (9H-pirido[3,4-b]indol) (I) constituye, en alguno de sus diferentes estados de oxidación (Esquema 1), la unidad estructural de numerosos productos naturales de interés biológico y farmacológico ⁴.



(I) β -carbolina



(III) tetrahidro- β -carbolina



(II) dehidro- β -carbolina

ESQUEMA 1

Aunque los derivados de la β -carbolina han venido recibiendo desde hace varias décadas una gran atención debido, principalmente, a sus efectos alucinógenos (alcaloides de la familia de la Harmala)² o por sus propiedades terapéuticas como agentes sedativos y antihipertensivos, (alcaloides de la familia de las Rauwolfias)³, en épocas más recientes han cobrado un renacido interés por su capacidad de interaccionar con gran variedad de sustancias transmisoras y reguladoras de los sistemas nerviosos central y periférico⁴.

Además, la presencia "in vivo" de algunos de estos derivados β -carbolínicos en varios tejidos y en la orina humana ha llevado a sugerir que las β -carbolinas pueden actuar por sí mismas como neurotransmisores o neuroreguladores. En este sentido cabe destacar que una parte importante de la investigación más reciente sobre este tema ha estado orientada hacia la posible implicación de este tipo de compuestos en el mecanismo de la intoxicación alcohólica⁵. Téngase en cuenta que las tetrahydro- β -carbolinas se pueden formar fácilmente "in vivo" como productos de la condensación de alquilaminas indólicas (por ejemplo triptófano) con aldehídos.

Aunque actualmente se piensa que las β -carbolinas pueden actuar como ligandos endógenos de un gran número de receptores biológicos, sus mecanismos de actuación permanecen aún desconocidos. No obstante, parece fehacientemente comprobado que algunas de sus propiedades pueden tener su origen en la capacidad que presentan, en general, los derivados de la β -carbolina, de inhibir la enzima monoaminoxidasa (MAO),⁶ reguladora del neurotransmisor serotonina, que controla diversas funciones cerebrales y cardiovasculares.

La acción inhibitoria de estas sustancias hacia la MAO parece implicar la participación simultánea de la parte indólica y piridínica del anillo de β -carbolina. La presencia del nitrógeno piridínico es esencial en el proceso inhibitorio, ya que compuestos estrechamente relacionados por su estructura con la β -carbolina, como el carbazol, pero que carecen de este átomo, no presentan la propiedad de inhibir a la MAO. Por otra parte, la acción inhibitoria de las β -carbolinas hacia la MAO depende entre otros factores, del grado de aromaticidad del anillo y de la presencia y posición de distintos tipos de sustituyentes.

Aunque el mecanismo de esta acción inhibitoria permanece todavía desconocido, Beng T. Ho y col. han sugerido la posibilidad de formación de un complejo entre el derivado de la β -carbolina y el enzima a través de una interacción de transferencia de carga, en la que el caracter de dador Π del anillo de β -carbolina favorezca el ataque hacia un locus pobre en electrones del enzima. Esta hipótesis no ha sido corroborada experimentalmente, no obstante, F. Tomás y col han propuesto un modelo teórico basado en este tipo de interacción?

Más recientemente, el interés sobre los derivados de la β -carbolina ha aumentado considerablemente al haberse comprobado que algunos alcaloides β -carbolínicos, de la familia de las Rauwolfias, pueden inhibir la replicación del ADN de ciertos tipos de células cancerosas^o, selectiva y completamente, mientras que otros, de estructura muy similar, o no afectan la proliferación de las células cancerosas^o o ejercen un efecto comutagénico junto a típicos agentes cancerosos como ocurre en el caso de la β -carbolina^o.

Así, Hayashi y col¹⁰ han sugerido que la β -carbolina interacciona con el ADN distorsionándolo, de forma que los mutágenos pueden atacar la molécula más fácilmente, aumentando así la velocidad de mutación del ADN normal.

Aunque la bibliografía existente sobre la interacción entre estas drogas y los ácidos nucleicos es muy reciente, merece destacarse la hipótesis que han formulado algunos autores referente a la formación de complejos moleculares ADN-alcaloide, como base de un mecanismo de intercalación de la droga entre las bases púricas y pirimidínicas de la cadena de ADN¹¹. Esta hipótesis fue formulada anteriormente por Smythies y col¹² para explicar la acción alucinógena de ciertos tipos de alcaloides.

Basándose en esta hipótesis, Duportail y col¹³ han realizado estudios de la inhibición de la fluorescencia de alcaloides de la β -carbolina típicamente alucinógenos, como harmina y harmalina, por parte de ADN, demostrando que esta interacción ocurre y sugiriendo que tiene lugar a través de complejos de transferencia de carga.

A pesar del interés que en relación con estos estudios bioquímicos podría presentar un conocimiento detallado de las propiedades de las β -carbolinas como formadoras de complejos de transferencia de carga, la bibliografía referente a este tema es tan exigua, que puede considerarse como prácticamente inexistente.

La ausencia de este tipo de información resulta cuando menos notable, si se tienen en cuenta las características estructurales de la β -carbolina; un anillo

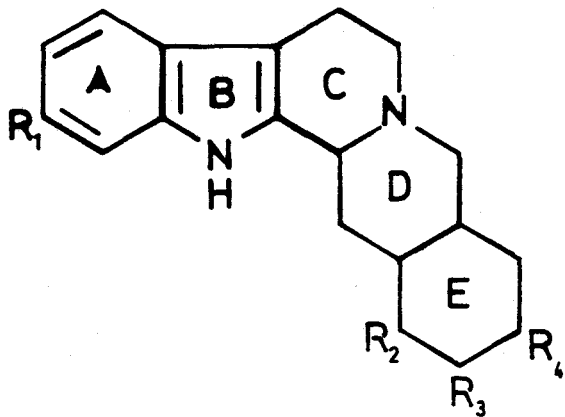
plano que resulta de la condensación de un anillo indólico y otro piridínico, cuyas propiedades individuales como Π -dadores y Π -aceptores son bien conocidas ^{14,15}. Por esta razón parece razonable suponer que, en mayor o menor grado y dependiendo de su aromaticidad, los derivados β -carbolínicos muestren, más ó menos modificadas, propiedades similares a las de los anillos de los que proceden.

Aparte del interés bioquímico que presenta un estudio sistemático de las propiedades de las β -carbolinas como formadoras de complejos moleculares de transferencia de carga, existen otros aspectos de la química de estos compuestos en los que una información detallada de esta naturaleza puede ser también de gran interés. En concreto, las reacciones más características de muchas β -carbolinas suelen transcurrir por mecanismos de sustitución electrofílica ¹⁶. Es práctica bastante habitual suponer que dicho tipo de reacciones involucran, al menos en su etapa inicial, la formación de una especie intermediaria de estructura similar o enteramente igual a las de un complejo de transferencia de carga. Es evidente que la detección y caracterización de tales tipos de intermediatos puede proporcionar una información muy importante sobre las características del estado de transición de dichas reacciones.

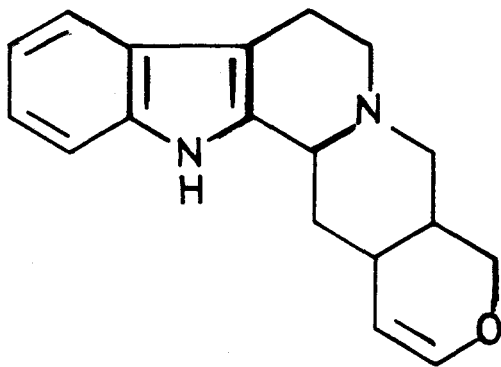
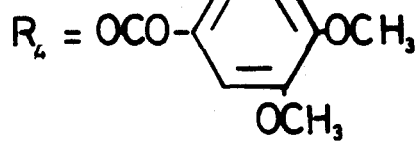
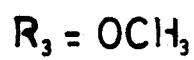
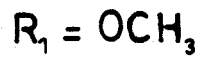
Por esta razón y dentro de un proyecto de investigación más amplio que sobre reactividad de β -carbolinas viene desarrollándose desde hace varios años en nuestro Departamento, hemos creído oportuno iniciar un estudio sistemático de las propiedades de estos compuestos como formadores de complejos moleculares de transferencia de carga.

Como una primera aproximación a este tema, en el presente trabajo se ha llevado a cabo un estudio termodinámico y cinético de las interacciones de los alcaloides de la familia de las Rauwolfias; yohimbina, corinantina, ajmalicina y reserpina con tetracianoetileno (Esquema 2). Esta última sustancia es bien conocida por sus propiedades aceptoras en la formación de complejos de transferencia de carga y existe una abundante bibliografía sobre las características espectrales y termodinámicas de dichos complejos ¹⁷.

Los alcaloides seleccionados en el presente estudio tienen en común un anillo de tetrahydro- β -carbolina pero presentan distintas conformaciones estructurales, con objeto de estudiar detalladamente la influencia de los factores esteroquímicos en las mencionadas interacciones. Además está bien establecido, en estudios que se han realizado previamente en nuestro Departamento, que todos ellos siguen esquemas reaccionales en los procesos de sustitución electrofílica similares ¹⁸⁻²⁰.

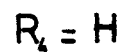
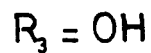
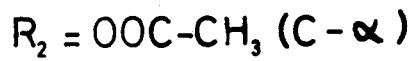
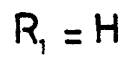


RESERPINA

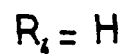
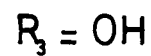
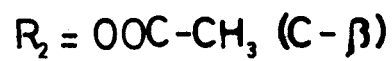
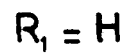


AJMALICINA

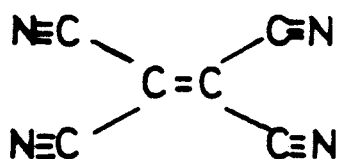
YOHIMBINA



CORINANTINA



TETRACIANOETILENO



2.- CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS
COMPLEJOS DE TRANSFERENCIA DE
CARGA.

Los más clásicos trabajos experimentales realizados sobre este tipo de sustancias se deben a Benesi y Hildebrand ²¹, quienes estudiaron el espectro de absorción de mezclas de diferentes hidrocarburos aromáticos con yoduro; estas mezclas mostraban un máximo de absorción que no estaba presente en los componentes individuales. Estos resultados, interpretados en principio como una interacción ácido-base, llevó a Mulliken ²² en 1950 a dar una explicación aceptable del fenómeno, describiendo el término "Complejo de transferencia de carga" como un cierto tipo de interacción reversible, generalmente débil (entalpías de disociación de unas pocas Kcal/mol), entre una molécula (átomo o ión) que se comporta como dadora de electrones y otra que en relación con la primera, actúa como aceptora.

Aunque este tipo de sustancias presentan características propias que no pueden considerarse como suma de las de los componentes individuales (máximo de absorción propio, aumento de solubilidad, disminución de la susceptibilidad diamagnética y aumento de la paramagnética, etc), no constituye una entidad propia, ya que mantienen otras de las propiedades de sus componentes. Hay que señalar una característica importante de este tipo de mezclas, la capacidad para formar cristales con una simple estequiometría y estructura.

El complejo puede existir en dos estados, un estado fundamental y un estado excitado. En el estado fundamental, las dos moléculas están expuestas a las fuerzas físicas normales que se puede esperar de dos moléculas en estrecha proximidad, ej: fuerzas de Van der Waals etc., pero además una pequeña cantidad de carga es transferida del dador al

aceptor, lo cual aporta una nueva energía de unión al complejo. El estado excitado se alcanza cuando el complejo, en estado fundamental, absorbe luz de energía adecuada; en este estado excitado, el electrón, que estaba solo debilmente desplazado hacia el aceptor, es casi completamente transferido. Esta transferencia durante la absorción de luz da el color característico a estos complejos.

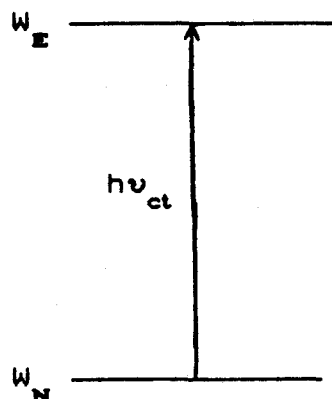
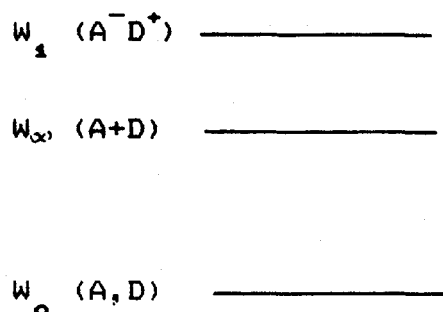
Fue también Mulliken²⁸ quien primero abordó el problema desde un punto de vista teórico. Para ello utilizó un modelo de enlace-valencia. El estado fundamental del complejo se puede describir por una función de onda ψ_N que es un híbrido de dos funciones de onda $\psi(A,D)$ y $\psi(A^-D^+)$. La primera, llamada función de "no enlace", es la función de onda de dos moléculas en estrecha proximidad, cuyas interacciones se originan por fuerzas físicas como interacciones dipolo-dipolo, enlaces de hidrógeno etc. $\psi(A^-D^+)$ se denomina función "dativa" y corresponde a una estructura del complejo donde un electrón ha sido completamente transferido. Así, el estado fundamental del complejo se puede describir como:

$$\psi_N = a \psi(A,D) + b \psi(A^-D^+) \text{ donde } a \gg b$$

Similarmente, para el estado excitado:

$$\psi_E = b^* \psi(A^-D^+) - a^* \psi(A,D) \text{ donde } b^* \gg a^*$$

Los niveles de energía del complejo, W_N y W_E para los estados fundamental y excitado se pueden obtener resolviendo la ecuación de Schrödinger para dichas funciones. La diferencia entre estos estados dá la energía de la transición de transferencia de carga $h\nu_{ct} = W_E - W_N$



Para complejos débiles se puede aproximar:

$$h\nu_{ct} = W_E - W_N = W_1 - W_0$$

Siendo:

W_∞ = energía de las dos moléculas aisladas entre sí.

W_1 = energía de las dos moléculas de la forma dativa.

W_0 = energía de las dos moléculas en la forma no enlace

$W_\infty - W_N$ = energía total de unión del complejo.

$W_1 - W_N$ = energía de unión debida a la interacción de transferencia de carga.

$W_\infty - W_0$ = energía de unión debida a fuerzas de Van der Waals, fuerzas de dispersión etc.

A su vez,

$$W_1 - W_0 = I_D - E_A - \Delta,$$

donde I_D es el potencial de ionización del dador, E_A la afinidad electrónica del aceptor y Δ representa otros términos, siendo el más importante la energía de interacción coulombica entre los iones formados después de la transferencia; también contribuye a este término la energía de solvatación pero para la misma disolución y familias de moléculas relacionadas, ésta puede ser ignorada.

De la relación anterior y para una serie de complejos débiles de dadores relacionados entre sí y un común aceptor, los potenciales de ionización se pueden correlacionar con las posiciones de las bandas de transferencia de carga.

Al tiempo que Mulliken publicó su teoría de la transferencia de carga, se desarrollaron las modernas teorías de la mecánica cuántica, como el tratamiento de orbitales moleculares. Con este método se pudo aproximar Δ por medios más sofisticados. Así, Dewar y Lepley²⁴ propusieron un modelo en el cual la proximidad de las moléculas interaccionantes permite la excitación de un electrón desde un orbital del dador hasta otro del aceptor. Según esta teoría es posible obtener la dependencia de $h\nu$ en I_D y E_A , ya que estos parámetros se corresponden aproximadamente con las energías del HOMO (orbital molecular ocupado de más alta energía) del dador y el LUMO (orbital molecular vacío de más baja energía) del aceptor. De hecho estos autores realizaron correlaciones entre la frecuencia de transferencia de carga y las energías de dichos orbitales.

2.1.- Clasificación de los complejos.

En un concepto amplio, se puede hacer una clasificación de los complejos de transferencia de carga en varios tipos, dependiendo de la naturaleza del electrón que aporte la sustancia dadora y del tipo de orbital del aceptor donde el electrón es transferido.

Así, pueden existir dadores tipo n , Π ó σ . Los n -dadores, tales como aminas alifáticas, éteres, alcoholes ó yoduros suelen interaccionar fuertemente con diversos aceptores; entre los que ceden un electrón de un orbital enlazante, los dadores Π suelen ser compuestos aromáticos, particularmente sistemas policíclicos, siendo los más fuertes aquellos que contienen grupos que ceden electrones. Algunos compuestos tales como las aminas aromáticas pueden comportarse como dadores n con unos aceptores y como dadores Π con otros. Por último los dadores σ , que son los más débiles, están constituidos por hidrocarburos, especialmente pequeños hidrocarburos cíclicos.

Igualmente, pueden existir diferentes tipos de aceptores, los σ y Π aceptores, distinguiéndose entre los primeros los compuestos halogenados como I_2 , Br_2 , ICl etc y entre los segundos los sistemas aromáticos que contienen grupos que retiran electrones, como nitrociano, anhídridos de ácido ó grupos quinonas. De ellos, los Π -aceptores son los aceptores orgánicos más comunes, como los nitrobenzenos, p-benzoquinonas, o-cloranilo y tetracianoetileno, que son los más conocidos como agentes acomplejantes.

Asimismo, existen evidencias sobre complejos formados entre zonas "localizadas" de moléculas adyacentes con cargas opuestas más que por la donación de un electrón Π de un sistema conjugado. Presumiblemente, la diferencia entre este tipo de interacción y la clásica atracción electrostática, es que hay algún movimiento de la carga desde una región a otra. Tal interacción se ha sugerido para los complejos de purina²⁵ y flavinas²⁶ con indol.

3.- EXPERIMENTAL

3.1 - Reactivos

Los alcaloides yohimbina, corinantina, ajmalicina y reserpina fueron proporcionados por la casa Boehringer and Son. Los derivados indólicos; 2,3 —dimetilindol y tetrahydrocarbazol fueron productos comerciales Aldrich Chemie ó Sigma. Tanto los alcaloides como los derivados indólicos fueron de una riqueza superior al 99% y se utilizaron directamente sin ningún tipo de purificación previa.

El aceptor tetracianoetileno (Aldrich ó Sigma) se purificó mediante repetidas recristalizaciones en diclorometano.

Las distintas disoluciones de estos reactivos se prepararon en diclorometano (Merck ó Panreac), momentos antes de su utilización y se conservaron en matraces topacio y en la oscuridad para evitar posibles procesos de fotodescomposición.

3.2 - Aparatos.

Los espectros uv-visible de los distintos productos de interacción entre el tetracianoetileno y los alcaloides, así como las medidas de absorbancia necesarias para los estudios termodinámicos, se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo Lambda 5. Este aparato es de doble haz y tiene un rango de longitud de onda de 190-900 nm. La precisión en la selección de esta es de ± 0.3 nm y la fotométrica de ± 0.003 unidades de absorbancia para 1 A. Además, este aparato dispone de un Printer/Plotter para la recogida de datos y representación de espectros.

En el caso de los complejos de muy baja estabilidad (fracciones de segundo), los espectros y su variación con el tiempo se registraron en un sistema espectrofotométrico Hewlett Packard 8452 A, dotado de un sistema de detección del tipo DIODE ARRAY. Este aparato es de haz simple y está controlado por un microprocesador. Su resolución es de 2 nm en un rango de longitudes de onda de 190-820nm y la reproducibilidad en λ de ± 0.05 nm. Su principal ventaja es la rapidez de respuesta, pudiendo realizar un espectro completo en décimas de segundo.

Los espectros de fluorescencia de los productos finales de reacción se realizaron en un espectrofluorímetro Perkin-Elmer modelo 650-40, equipado con una lámpara de xenón de 150 w. Los monocromadores de emisión y excitación poseen un paso de banda desde 1.5 a 20 nm y seleccionan la radiación desde 200 hasta 830 nm. Este aparato está provisto de un registrador Hitachi modelo 057 XY, para la representación de los espectros.

Los estudios cinéticos se han llevado a cabo en un espectrofotómetro LKB-Ultrospec Plus, dotado de sistema de termostatación Peltier, al cual se adaptó un sistema de mezclado rápido (Quimisur modelo Córdoba). Este aparato permite el mezclado de los reactivos en la cámara del espectrofotómetro en un tiempo del orden de milisegundos. El control del espectrofotómetro, toma de datos y su procesamiento se realizó mediante un ordenador Multitech Acer 500, conectado en línea con el sistema espectrofotométrico.

En los distintos tipos de experiencias en las que se requirió un control preciso de la temperatura se empleó un termostato auxiliar Julabo HC-20, provisto de sonda externa para el control de la temperatura en la célula de medida. La precisión estimada con este sistema de termostatación fue de $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

3.3.- Métodos.

En el presente trabajo se han realizado fundamentalmente dos tipos de experiencias: las primeras estáticas ó termodinámicas, y las segundas dinámicas ó cinéticas. En ambos la base fundamental de la metodología experimental fué la espectrofotometría uv-visible.

3.3.1. - Métodos Termodinámicos.

El objetivo de estos métodos fué básicamente la determinación de las constantes de equilibrio de formación de complejos moleculares entre tetracianoetileno y los alcaloides o compuestos modelo.

La formación de este tipo de compuestos da lugar, generalmente, a la aparición de una nueva banda en el espectro de absorción diferente de las de los reactivos iniciales. La intensidad de esta banda es una medida de la concentración del complejo formado.

Dado el equilibrio;



en el que A y D representan el reactivo aceptor y dador, respectivamente, cuyas concentraciones iniciales son C_A^0 y C_D^0 y AD representa el complejo molecular formado por la interacción de los reactivos, cuya concentración es C_{AD} .

La constante aparente del equilibrio (1) puede

definirse como:

$$K = \frac{C_{AD}}{(C_A^0 - C_{AD}) (C_D^0 - C_{AD})} \quad (2)$$

en el supuesto que el complejo sea de estequiometría (1:1).

La absorbancia total de la mezcla una vez alcanzado el equilibrio, A_T , viene dada por

$$A_T = \epsilon_A (C_A^0 - C_{AD}) + \epsilon_D (C_D^0 - C_{AD}) + \epsilon_{AD} C_{AD} \quad (3)$$

en la que ϵ_A , ϵ_D y ϵ_{AD} representan los coeficientes de absorbancia molar de A, D y AD, respectivamente, a la longitud de onda a la que se realiza la medida. Si suponemos que ϵ_A y ϵ_D pueden determinarse independientemente a partir de disoluciones individuales de cada uno de los reactivos, la ecuación anterior contiene únicamente dos incógnitas, ϵ_{AD} y C_{AD} . Reordenando la ecuación (2);

$$C_{AD} = 1/2 [(C_A^0 + C_D^0 + K^{-1}) - \sqrt{(C_A^0 + C_D^0 + K^{-1})^2 - 4 C_A^0 C_D^0}] \quad (4)$$

de forma que C_{AD} puede obtenerse en función de C_A^0 , C_D^0 y K. A partir de los valores de ϵ_A , ϵ_D y ternas $(A_T, C_A^0, C_D^0)_1, \dots, (A_T, C_A^0, C_D^0)_n$ se determinan los valores de ϵ_{AD} y K que proporcionan un mejor ajuste de los resultados experimentales a las ecuaciones (3) y (4).

El método de cálculo empleado está basado en el método de Hooke y Jeeves²⁷ para la localización del mínimo de la función Y definida por;

$$Y = \sum_{i=1}^n [(A_{T i}^m) - (A_{T i}^c)]^2$$

donde $(A_{T i}^m)$ es la absorbancia determinada experimentalmente para la mezcla i -ésima y $(A_{T i}^c) = f(\epsilon_{AD} K)$, representa la absorbancia calculada para dicha mezcla a partir de unos valores dados de ϵ_{AD} y K .

En el procedimiento de cálculo se parte de unos valores iniciales aproximados para ϵ_{AD} y K y se van modificando progresivamente con intervalos $\Delta\epsilon_{AD}$ y ΔK cada vez menores hasta que alcanzan un límite de tolerancia (10^{-8}) dentro del cual se halla el mínimo de la función. El programa de cálculo utilizado se encuentra recogido al final de la memoria como Anexo 1.

En el método experimental seguido para este tipo de cálculos se prepararon distintas disoluciones conteniendo uno de los reactivos en gran exceso con relación al otro para forzar el equilibrio (1) hacia la derecha, determinándose, a la longitud de onda correspondiente al máximo del complejo, las absorbancias de las mezclas. Un ejemplo de este tipo de experiencias y de los resultados proporcionados por el método de cálculo se recoge en la tabla 1 y Fig 1.

Es interesante señalar que para que el procedimiento de cálculo proporcione valores satisfactorios de K y ϵ_{AD} , se requiere una apreciable formación de complejo, esto es, que los datos de A_T frente a la concentración del reactivo en exceso muestre una porción curva. En el caso contrario, solo pueden determinarse con precisión los valores del producto $\epsilon_{AD} \cdot K$.

TABLA 1

Ejemplo de los resultados obtenidos por el método de cálculo para el complejo Tetrahidrocarbazol-Tetracianoetileno.

t = 19.5 °C.

[TCE] = 4.10^{-4} M.

$\epsilon_{TCE}^{560} = 0.970 \text{ l.mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

$\epsilon_{THC}^{560} = 0.869 \text{ l.mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

| <u>[THC]</u> | <u>ABS medida</u> | <u>ABS calculada</u> | <u>% Dif.</u> |
|--------------|-------------------|----------------------|---------------|
| 0.014 | 0.156 | 0.149 | 4.67 |
| 0.028 | 0.248 | 0.252 | - 1.51 |
| 0.042 | 0.331 | 0.329 | 0.66 |
| 0.056 | 0.390 | 0.390 | 0.09 |
| 0.070 | 0.443 | 0.440 | 0.76 |
| 0.084 | 0.483 | 0.482 | 0.19 |
| 0.098 | 0.500 | 0.519 | - 3.79 |
| 0.112 | 0.546 | 0.552 | - 1.05 |
| 0.126 | 0.593 | 0.581 | 1.97 |
| 0.140 | 0.614 | 0.608 | 0.91 |

Coefficiente de extinción molar del complejo = 1700 ± 51

Constante de asociación del complejo = 18 ± 1.3

Error típico del ajuste: 0.009

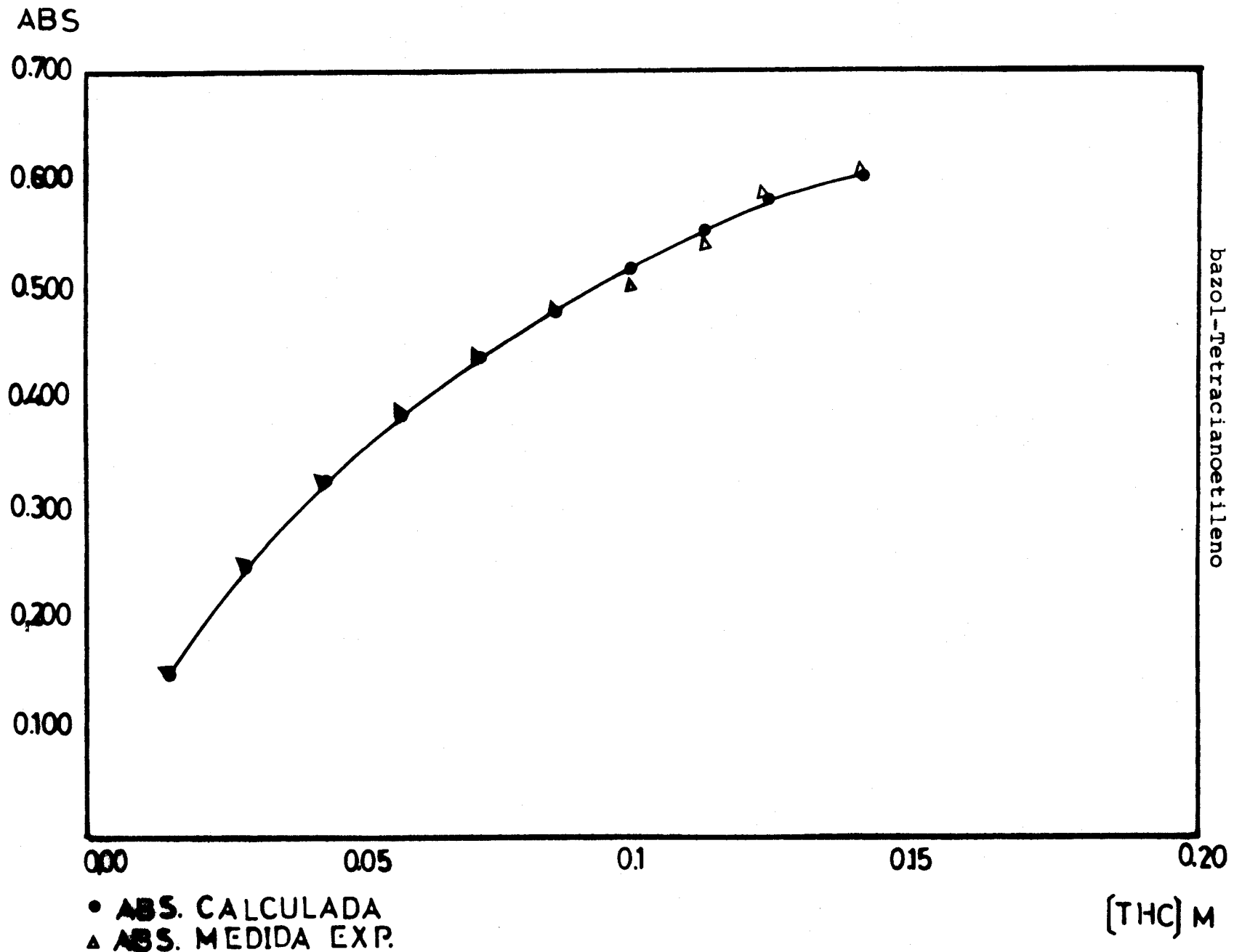


FIGURA 1.- Representación de la absorbancia medida y calculada frente a la concentración del reactivo en exceso del complejo Tetrahidrocarbazol-Tetracianoetileno

• ABS. CALCULADA
▲ ABS. MEDIDA EXP.

[THC] M

3.3.2.-. Métodos Cinéticos.

Los estudios cinéticos de las reacciones entre tetracianoetileno y los alcaloides ajmalicina, corinantina y reserpina, se realizaron siguiendo espectrofotométricamente la evolución de la absorbancia de las mezclas reaccionantes a las longitudes de onda correspondientes a los máximos de absorción de los productos de reacción.

En todos los casos las reacciones se siguieron en condiciones de pseudo-primer orden, manteniendo para ello la concentración de tetracianoetileno en exceso con respecto a la del alcaloide. Previamente se comprobó que en estas condiciones las constantes de velocidad obtenidas fueron independientes de la concentración del alcaloide ó reactivo limitante.

Los valores de las constantes de velocidad se obtuvieron mediante un procedimiento de ajuste no lineal de los datos experimentales de absorbancia-tiempo, basado en el algoritmo matemático de Range-Kuta, (Anexo 2), a la ecuación;

$$A = A_{\infty} + (A_0 - A_{\infty}) \exp k_{obs} t. \quad (5)$$

en la que A , A_0 y A_{∞} , representan las absorbancias de las mezclas de reacción a tiempos t , cero e infinito (varias vidas medias de reacción), respectivamente.

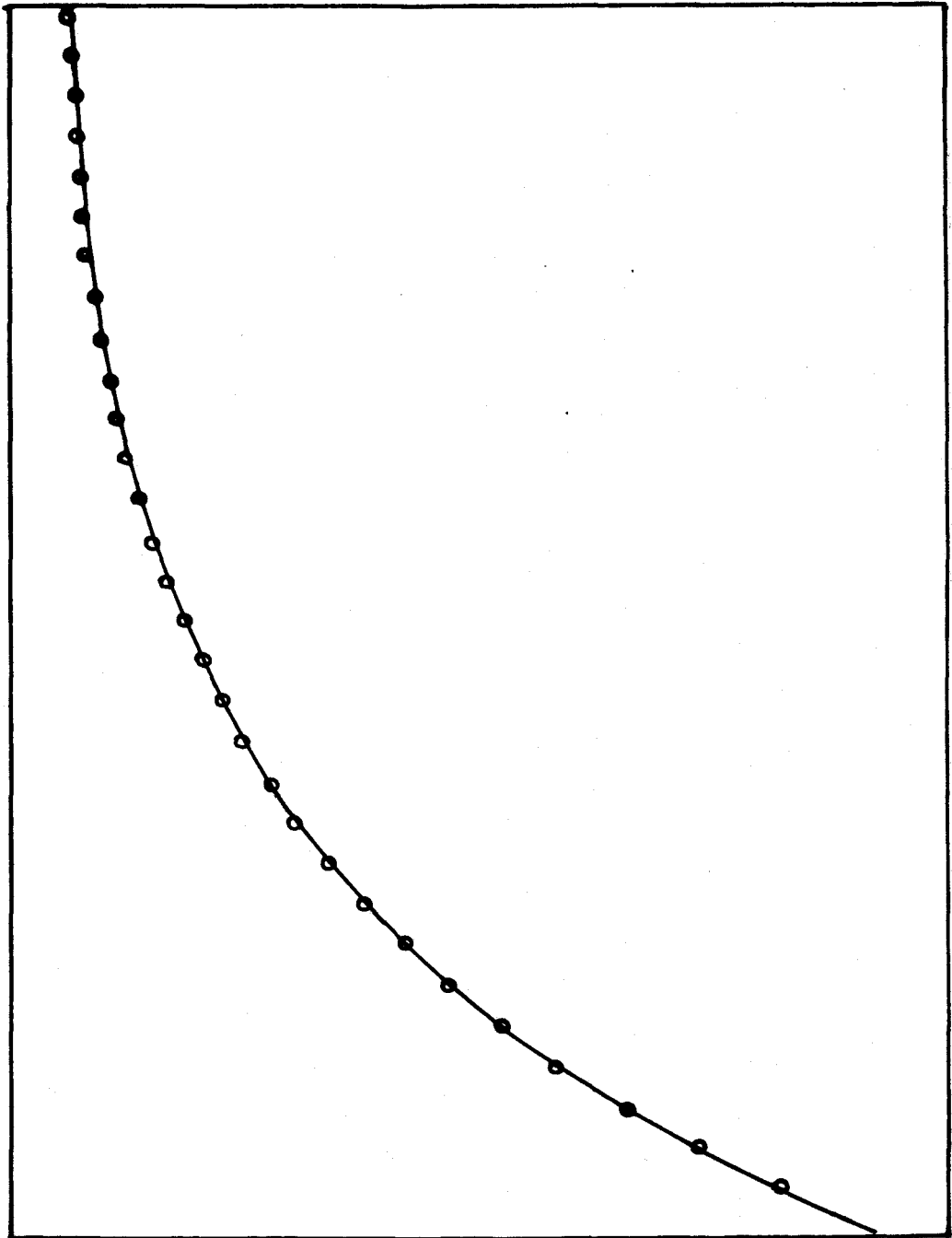
El procedimiento de cálculo proporciona los valores de A_0 , A_{∞} y k_{obs} que mejor se adaptan a los resultados experimentales de absorbancia-tiempo.

La concordancia obtenida mediante este procedimiento entre los valores experimentales y teóricos de absorbancia a diferentes tiempos fué plenamente satisfactorio (desviación

estandar del ajuste menor de $\pm 2 \cdot 10^{-6}$ como puede apreciarse en el ejemplo que se muestra en la Fig 2. La reproducibilidad en los valores de k_{Obs} obtenidos en experiencias independientes fué superior al 10%.

FIGURA 2.- Ajuste no lineal de Absorbancia-tiempo

$$A = A_{\infty} + (A_0 - A_{\infty}) \exp (k_{\text{obs}} \cdot t)$$



A

4. - RESULTADOS

4.1.- Análisis y caracterización de productos.

Cuando se mezclan en proporciones adecuadas disoluciones de los alcaloides y tetracianoetileno, preparadas ambas en diclorometano, se forma instantáneamente un nuevo producto de coloración azul brillante. Esta coloración, conocida frecuentemente como " azul real ", es característica de los complejos de transferencia de carga que forman algunos derivados indólicos con tetracianoetileno²⁹.

Aunque, en general, estos compuestos azules son inestables, transformándose con el tiempo en productos de color amarillo, la rapidez de esta transformación depende marcadamente de la naturaleza del alcaloide y especialmente de la existencia o no de una carga positiva sobre el nitrógeno piperidínico del anillo C de la estructura de tetrahidro- β -carbolina.

La importancia de este último factor ha sido estudiada con detalle en el caso de la yohimbina. Cuando se emplea clorhidrato de yohimbina, el complejo azul que se forma con tetracianoetileno es lo suficientemente estable para poder registrar sus espectros con espectrofotómetros convencionales (Fig 3), por el contrario, cuando se emplea yohimbina neutra, el producto azul que se forma es estable durante tan solo algunos segundos, requiriéndose para su caracterización espectral sistemas espectrofotométricos de barrido rápido. Un comportamiento similar al comentado para la yohimbina se observa con el resto de los alcaloides.

A modo de ejemplo del último tipo de experiencias, descomposición rápida del complejo azul, en la figura 4 se recoge un análisis espectrofotométrico de la evolución de una mezcla de ajmalicina con tetracianoetileno, realizado en un espectrofotómetro dotado de un sistema de detección del tipo Diode-Array.

Los distintos barridos espectrales que se muestran en esta figura se realizaron en intervalos de tiempo de 0.1 seg. Puede apreciarse la disminución progresiva de la absorbancia de la banda a 526 nm, característica del producto azul, y la formación simultánea de otra nueva banda a 360 nm, correspondiente al producto final de coloración amarilla. Es interesante destacar la existencia en estos espectros de un punto isobóístico a 475 nm, que viene a indicar que la transformación del producto azul en amarillo es directa, sin que participe en ella ninguna otra especie intermediaria detectable espectrofotométricamente.

Las características espectrales de los productos amarillos que se forman en estas reacciones (Fig 5 y 6) muestran una gran semejanza con las de los dehidroderivados de los correspondientes alcaloides. Como, además, estos últimos compuestos suelen formarse fácilmente en muchas reacciones de sustitución electrofílica de las tetrahydro- β -carbolinas, se realizó una comparación más minuciosa de dichos espectros.

Para ello se prepararon disoluciones de los dehidroderivados en diclorometano, haciendo reaccionar el alcaloide con nitrito sódico en medio ácido acuoso, reacción característica de estos alcaloides y que conduce a la formación de dehidroderivados^{30,31}; posteriormente se extrajeron los productos con diclorometano.

Las posiciones de las bandas de absorción y de emisión de fluorescencia de ambos tipos de productos mostraron en todos los casos una concordancia plenamente satisfactoria^{31,32}.

FIGURA 3.- Espectro de absorción UV-Vis del Complejo Yohimbina protonada-Tetracianoetileno.

$|YOH| = 1 \times 10^{-3} M$; $|TCE| = 0.1 M$; 10% MeOH

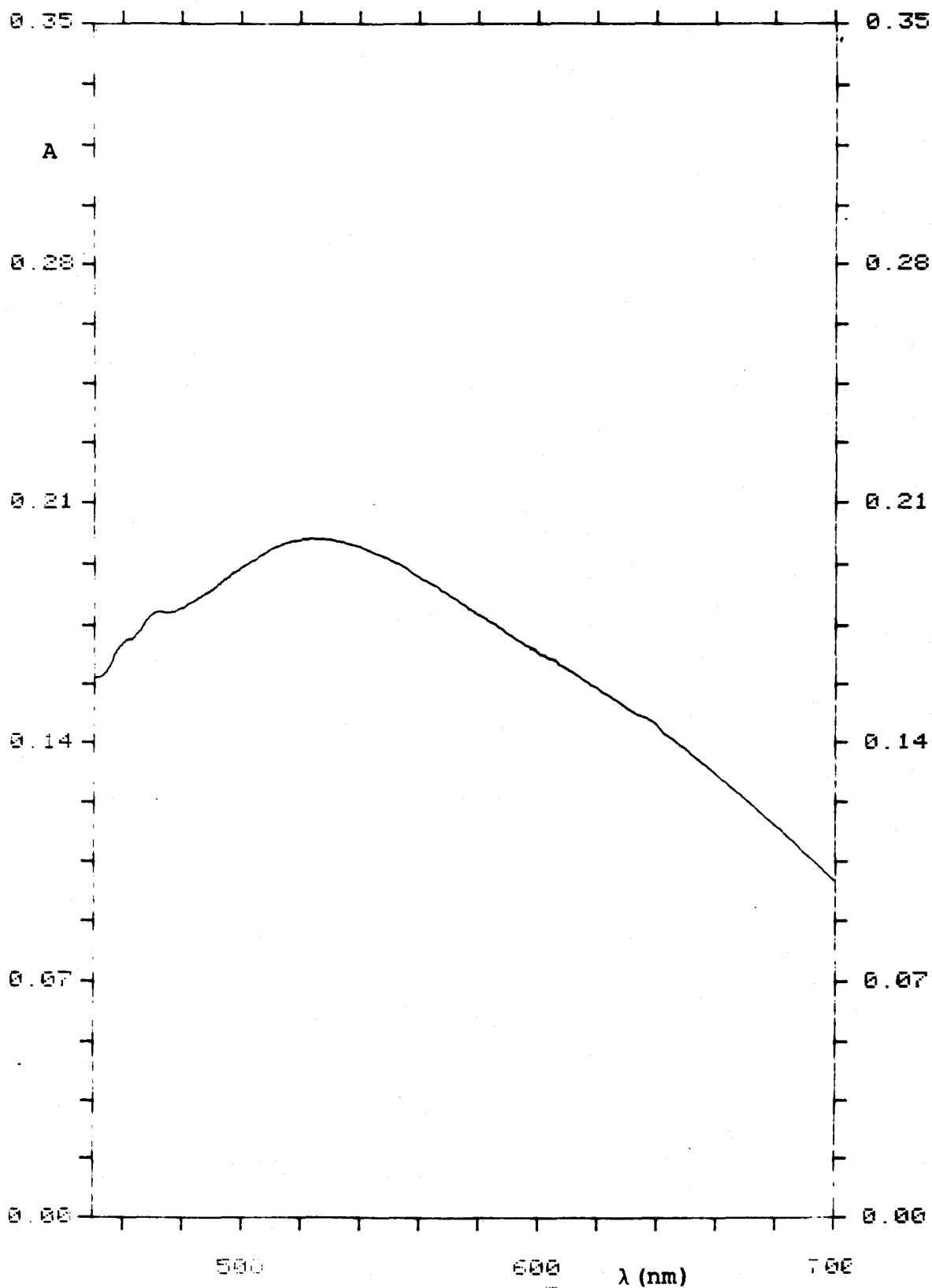


FIGURA 4.- Espectro de absorción UV-Vis del Complejo
Ajmalicina-Tetracianoetileno.

$|AJM| = 3 \times 10^{-3} M$; $|TCE| = 0.05 M$

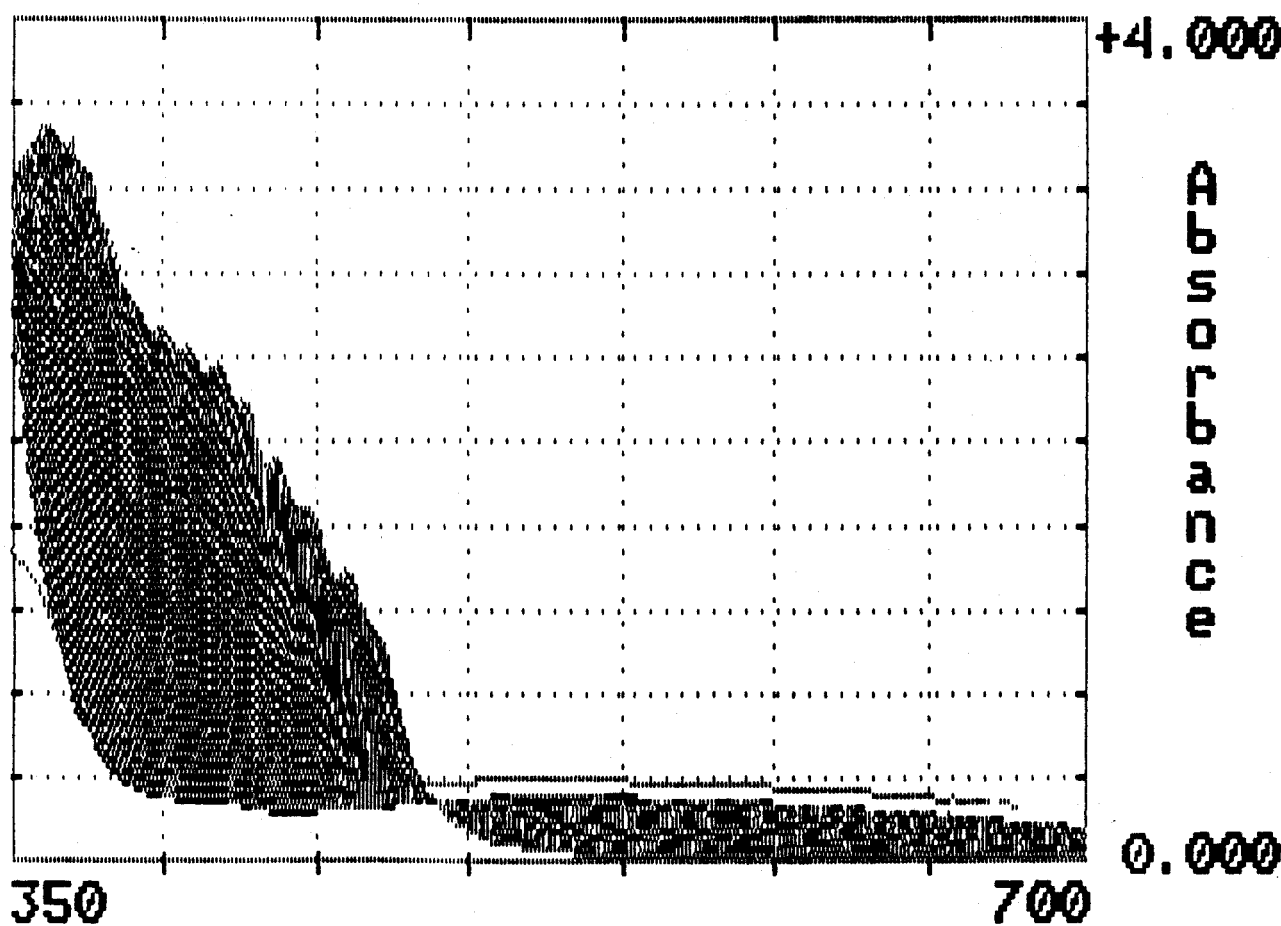
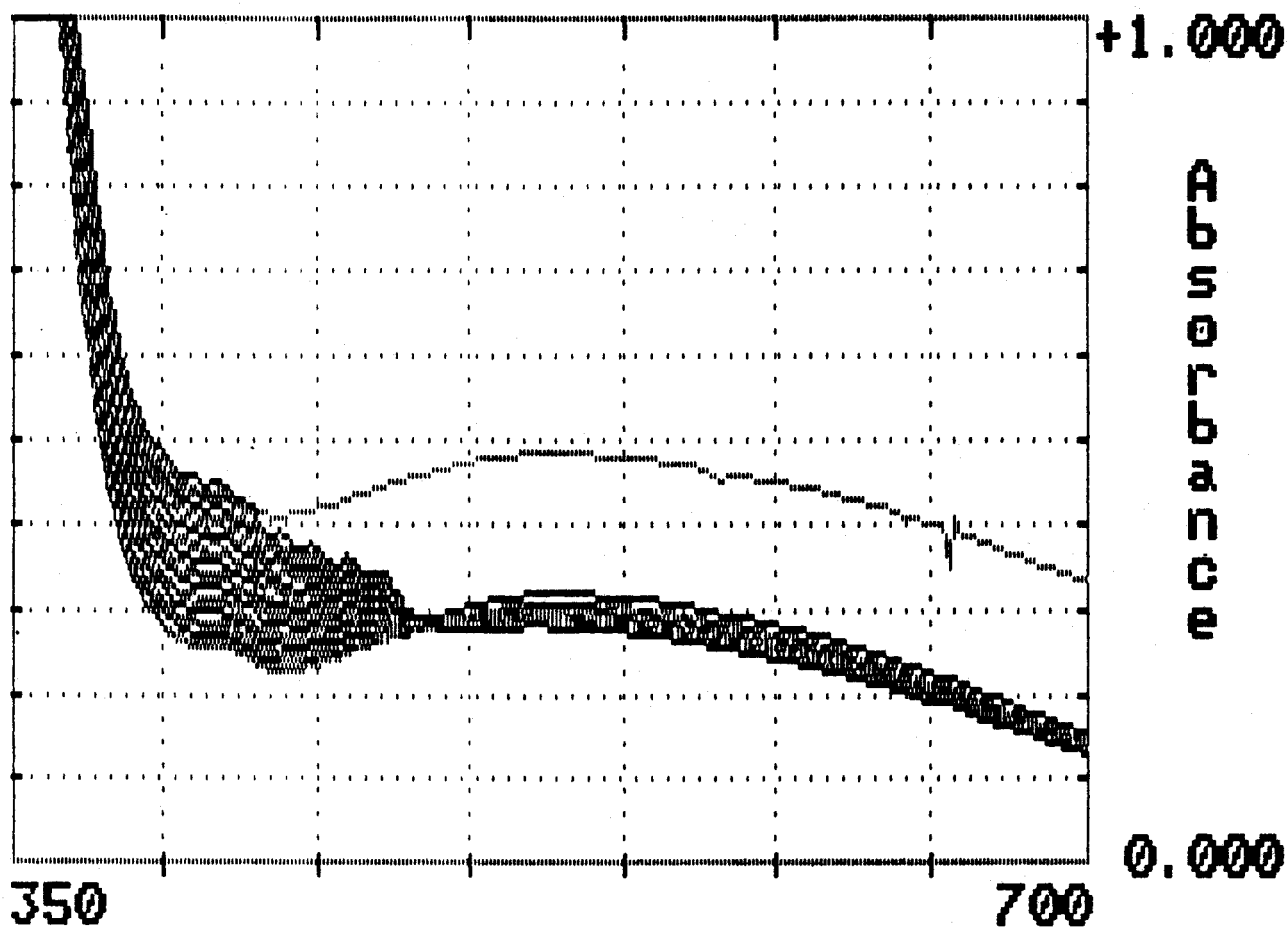


FIGURA 5.- Espectro de Absorción UV-Vis del producto de reacción Corinantina-Tetracianoetileno.

$$|\text{COR}| = 1.4 \times 10^{-3} \text{M}; |\text{TCE}| = 4.5 \times 10^{-3} \text{M}$$

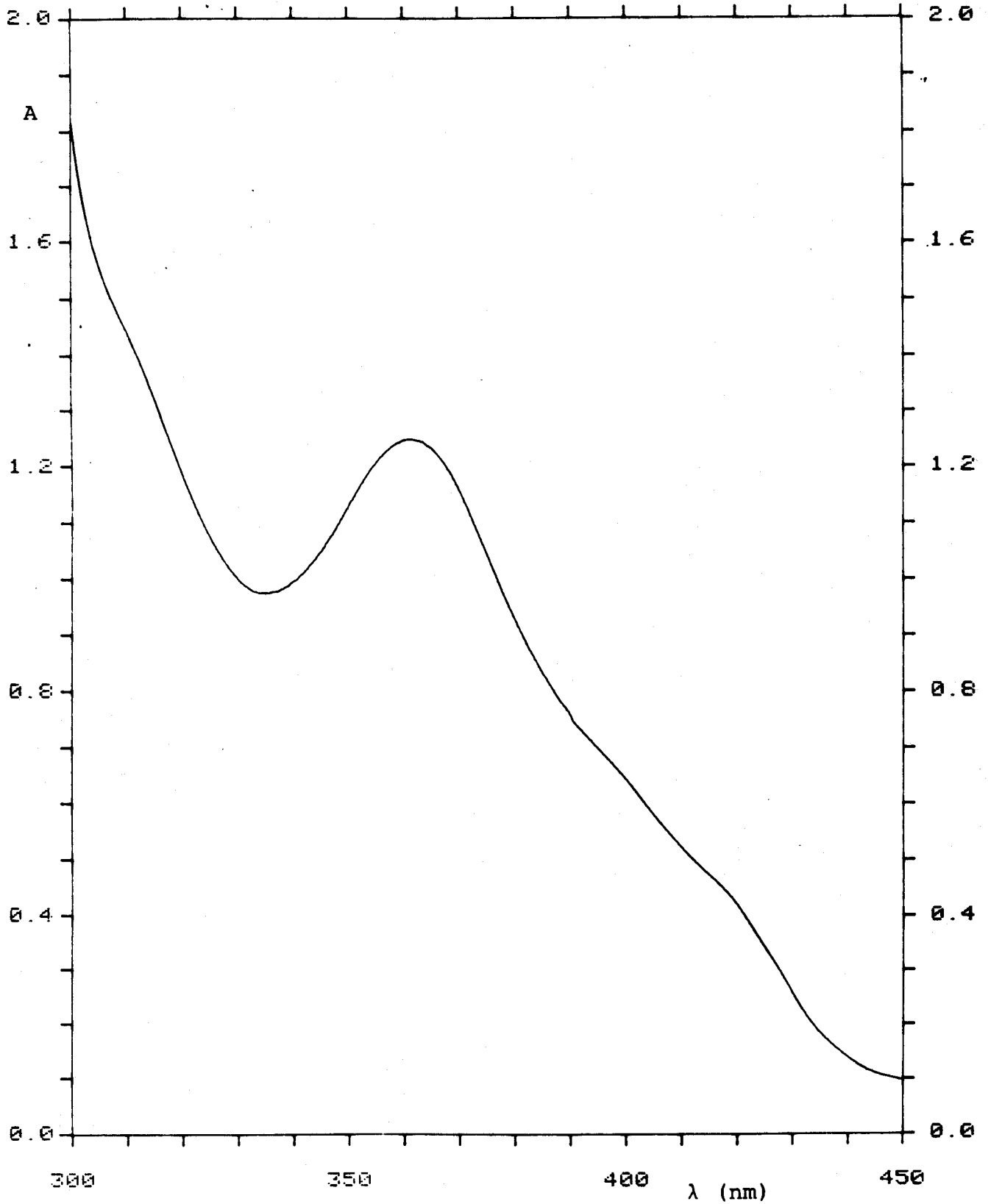
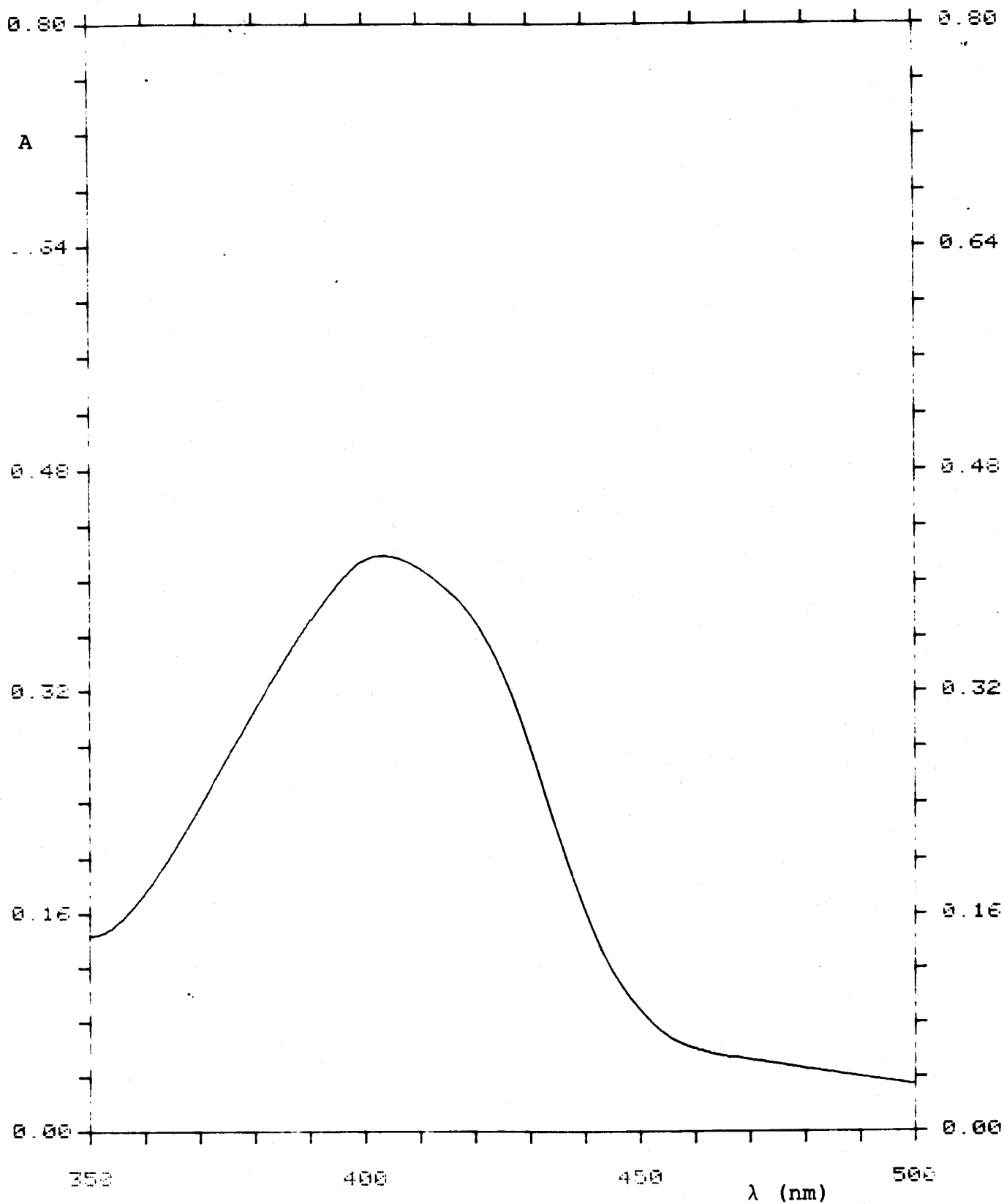


FIGURA 6.- Espectro de Absorción UV-Vis del producto de reacción Reserpina-Tetracianoetileno.

$|\text{RES}| = 1 \times 10^{-4} \text{M}$; $|\text{TCE}| = 2 \times 10^{-3} \text{M}$



4.2.- Resultados termodinámicos.

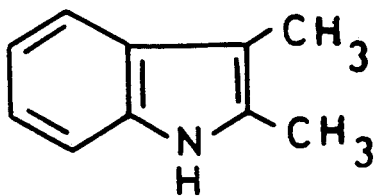
En este apartado se recogen los resultados que se han obtenido en la determinación, por métodos espectrofotométricos estáticos, de las constantes de formación y otros parámetros termodinámicos. Dichos parámetros corresponden a los equilibrios de formación de los productos iniciales, de coloración azul, resultantes de la interacción de los alcaloides de la familia de las Rauwolfias con tetracianoetileno.

Este estudio, por las razones de estabilidad de los complejos de los alcaloides en su forma neutra anteriormente indicadas y debido a problemas de solubilización que se comentarán a continuación, se ha reducido únicamente al complejo formado entre hidrocloreuro de yohimbina y tetracianoetileno.

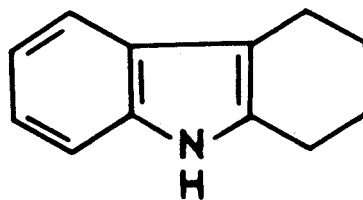
En forma protonada la solubilidad de los alcaloides en diclorometano es muy baja, por lo que se recurrió a la utilización de metanol como codisolvente para facilitar la solubilización. No obstante, dada la propensión del metanol para interaccionar con tetracianoetileno³³, las proporciones usadas de codisolvente han tenido necesariamente que mantenerse por debajo del 30%. Además, tampoco resulta recomendable el empleo de altas proporciones de un disolvente tan polar como el metanol, ya que, como es bien conocido, la estabilidad de muchos tipos de complejos moleculares y en particular los de transferencia de carga, disminuye a medida que aumenta la polaridad del medio¹⁴.

Desafortunadamente, en estas condiciones experimentales, la proporción de complejo que se forma es, en todos los casos, insuficiente para un tratamiento riguroso y completo de los datos experimentales, observándose siempre proporcionalidad entre los valores de absorbancia debidos a la formación de complejo y la concentración de tetracianoetileno. Por esta razón, nuestros datos experimentales solo permiten determinar con suficiente precisión los valores de $K_{AD} \cdot \epsilon_{AD}$, pero no sus valores individuales. (Ver apartado 3.3.1).

A la vista de la limitada utilidad de este parámetro, hemos creído oportuno reducir el estudio en este apartado a un único complejo, yohimbina protonada-tetracianoetileno, principalmente con la intención de efectuar una comparación cualitativa de sus propiedades espectrales y termodinámicas con las de otros complejos derivados de compuestos también de características indólicas. Con este objetivo se han incluido en el presente estudio los complejos de los compuestos modelos 2,3-dimetilindol y tetrahidrocarbazol (Esquema 3), cuyos espectros se recogen en las figuras 7 y 8. Algunas características espectrales y termodinámicas del complejo de transferencia de carga 2,3-dimetilindol-tetracianoetileno se citan en la bibliografía, aunque solo de una forma cualitativa³⁴.



2,3-Dimetilindol



Tetrahydrocarbazol

Las características espectrales y las constantes de formación, a distintas temperaturas, de los complejos estudiados se encuentran recogidos en las tablas 2, 3 y 4. Los valores de K_{AD} y ϵ_{AD} ó $K_{AD} \cdot \epsilon_{AD}$ que en ellas se incluyen corresponden a los valores medios de, al menos, tres determinaciones independientes.

A partir de los valores de K_{AD} a diferentes temperaturas y mediante la ecuación:

$$\frac{d \ln K}{d (1/T)} = - \frac{\Delta H}{R} \quad (6)$$

se obtuvieron los valores de entalpías de formación (ΔH) de los complejos, de las pendientes de $\ln K_{AD}$ frente a $1/T$, cuyas representaciones se recogen en las figuras 9, 10 y 11. Los valores de entropías libres de formación (ΔG) y entropías de formación (ΔS) a 25°C , correspondientes a estos equilibrios, se calcularon a partir de las conocidas ecuaciones termodinámicas:

$$\Delta G = - RT \ln K_{AD} \quad (7)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (8)$$

Los valores de estos parámetros se encuentran tabulados en la Tabla 5. Puesto que en el caso del complejo yohimbina protonada-tetracianoetileno, solo es determinable el valor de $K_{AD} \cdot \epsilon_{AD}$, el único de éstos parámetros que se puede calcular es ΔH .

FIGURA 7.- Espectro de Absorción UV-Vis del Complejo
2,3-Dimetilindol-Tetracianoetileno.

$|2,3\text{-DMI}| = 1 \times 10^{-3} \text{M}$; $|\text{TCE}| = 0.05 \text{M}$

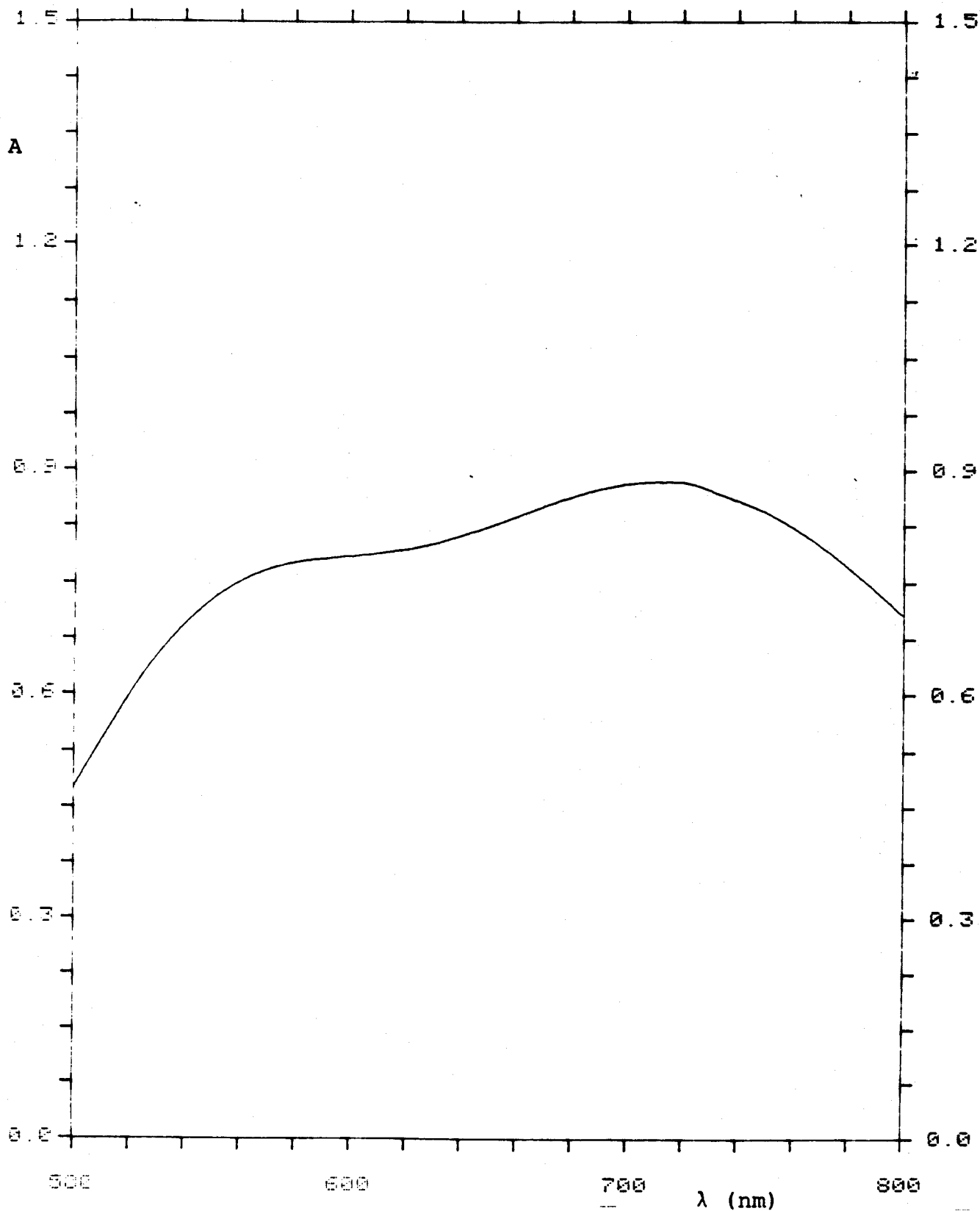


FIGURA 8.- Espectro de Absorción UV-Vis del Complejo
Tetrahydrocarbazol-Tetracianoetileno.

$|\text{THC}| = 0.5 \times 10^{-3} \text{M}$; $|\text{TCE}| = 0.05 \text{M}$

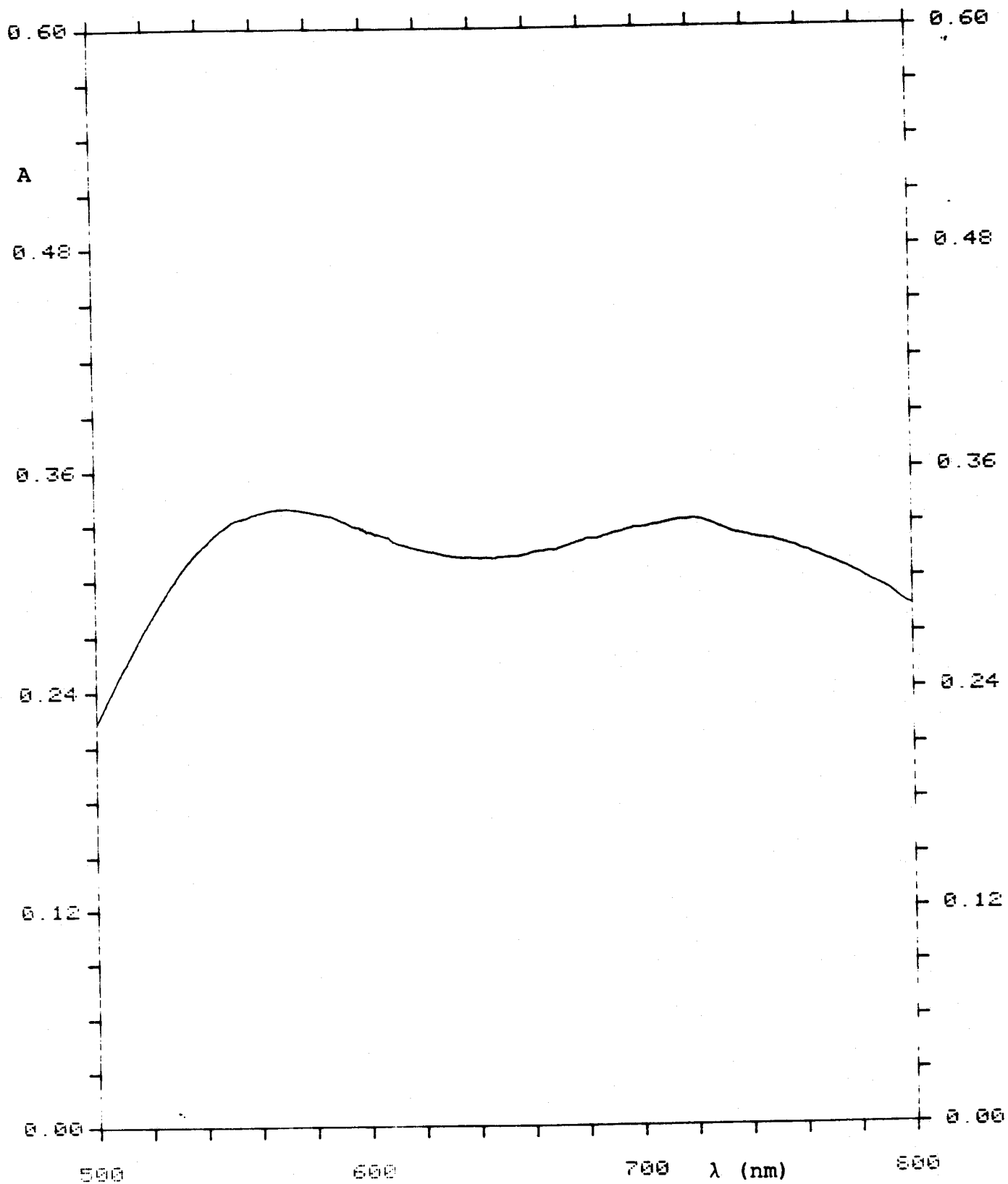


TABLA 2

Características espectrales y constantes termodinámicas aparentes de formación del complejo 2,3-dimetilindol-tetracianoetileno.

$\lambda_{\text{experiencia}} = 700 \text{ nm}$

$[2,3\text{-DMI}] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M.}$

$[TCE] = \text{variable entre } 0.01\text{-}0.1 \text{ M.}$

$\epsilon_{2,3\text{-DMI}}^{700} = 0$

$\epsilon_{TCE}^{700} = 0.575 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

| $t(^{\circ}\text{C})$ | $\epsilon_{AD}^{700} \text{ (l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$ | $K \text{ (M}^{-1}\text{)}$ |
|-----------------------|--|-----------------------------|
| 15.5 | 2160 ± 114 | 18.1 ± 1.8 |
| 20.0 | 2356 ± 116 | 14.2 ± 1.2 |
| 25.0 | 2390 ± 85 | 12.2 ± 0.7 |
| 30.0 | 2500 ± 117 | 9.7 ± 1.0 |

TABLA 3

Características espectrales y constantes termodinámicas aparentes de formación del complejo tetrahydrocarbazol-tetracianoetileno.

$$\lambda_{\text{máx}} = 560 \text{ nm}$$

$$[\text{THC}] = \text{variable entre } 0.01\text{-}0.2 \text{ M}$$

$$[\text{TCE}] = 4.10^{-4} \text{ M}$$

$$\epsilon_{\text{TCE}}^{560} = 0.97 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{\text{THC}}^{560} = 0.869 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}.$$

| <u>t (°C)</u> | <u>$\epsilon_{\text{AD}}^{560}$ (l.mol⁻¹.cm⁻¹)</u> | <u>K (M⁻¹)</u> |
|---------------|---|---------------------------|
| 15.5 | 1890 ± 96 | 22.6 ± 2.0 |
| 19.5 | 1716 ± 63 | 19.4 ± 1.9 |
| 25.0 | 1695 ± 88 | 16.5 ± 1.6 |
| 30.0 | 1820 ± 133 | 13.7 ± 2.1 |

TABLA 4

Características espectrales y constantes termodinámicas aparentes de formación del complejo Yohimbina (hidrocloruro) - tetracianoetileno.

$$\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$$

$$[\text{YOH}] = 1.5 \cdot 10^{-3} \text{ M.}$$

$$[\text{TCE}] = \text{variable entre } 0.04\text{--}0.1 \text{ M.}$$

$$\epsilon_{\text{TCE}}^{525} = 1.02 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}.$$

$$\epsilon_{\text{YOH}}^{525} = 0$$

$$\text{Metanol-Cl}_2\text{CH}_2 = 10\% \text{ v v}$$

| <u>t (°C)</u> | <u>K_{AD} · $\epsilon_{\text{AD}}^{525}$</u> |
|---------------|---|
| 10.0 | 2688 |
| 15.0 | 2394 |
| 20.0 | 2157 |
| 24.0 | 1990 |

FIGURA 9.- Representación de $\ln K$ frente a $1/T$ del complejo 2,3-Dimetilindol-Tetracianoetileno

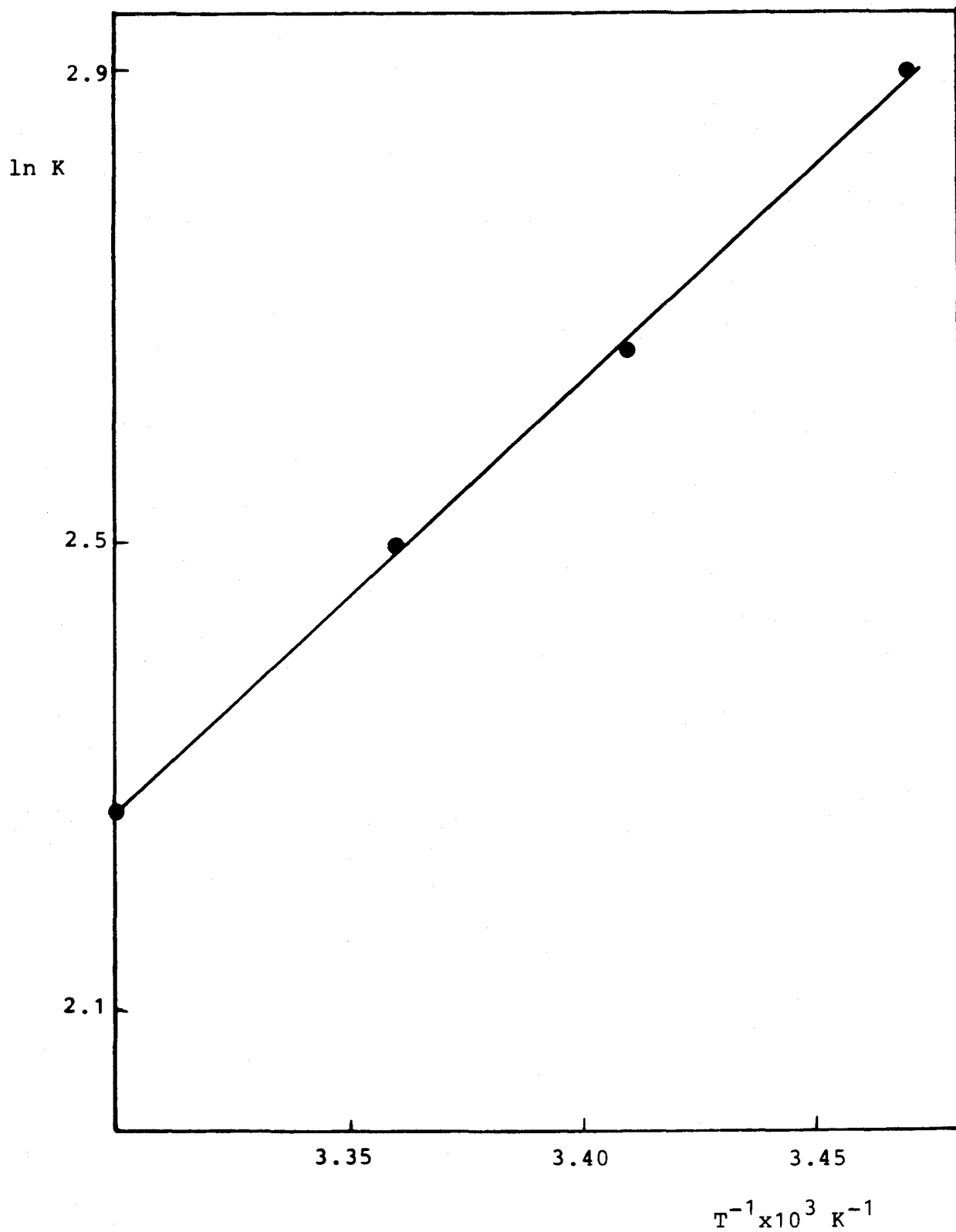


FIGURA 10.- Representación de $\ln K$ frente a $1/T$ del complejo Tetrahydrocarbazol-Tetracianoetileno

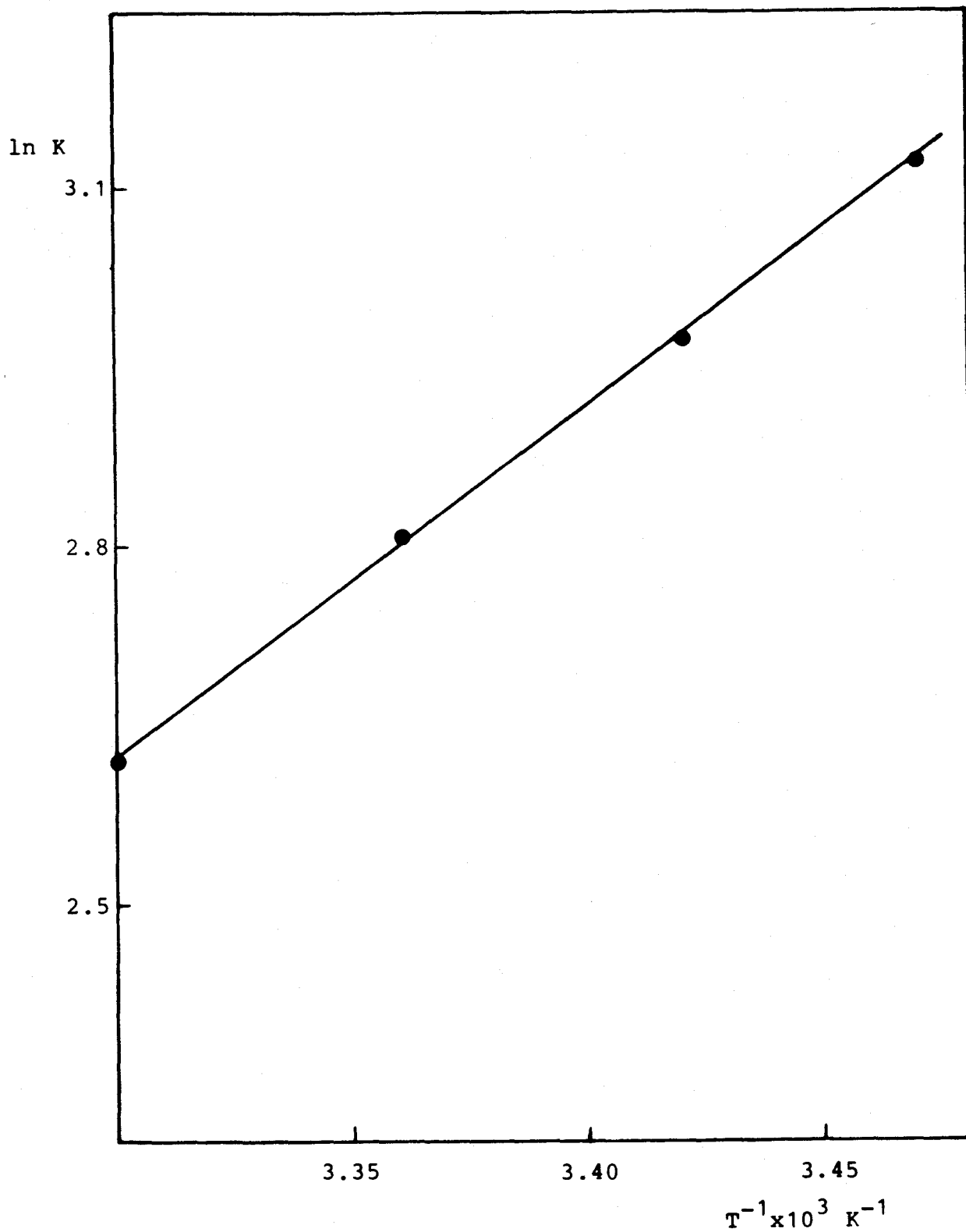


FIGURA 11.- Representación de $\ln K_e$ frente a $1/T$ del complejo Yohimbina-Tetracianoetileno

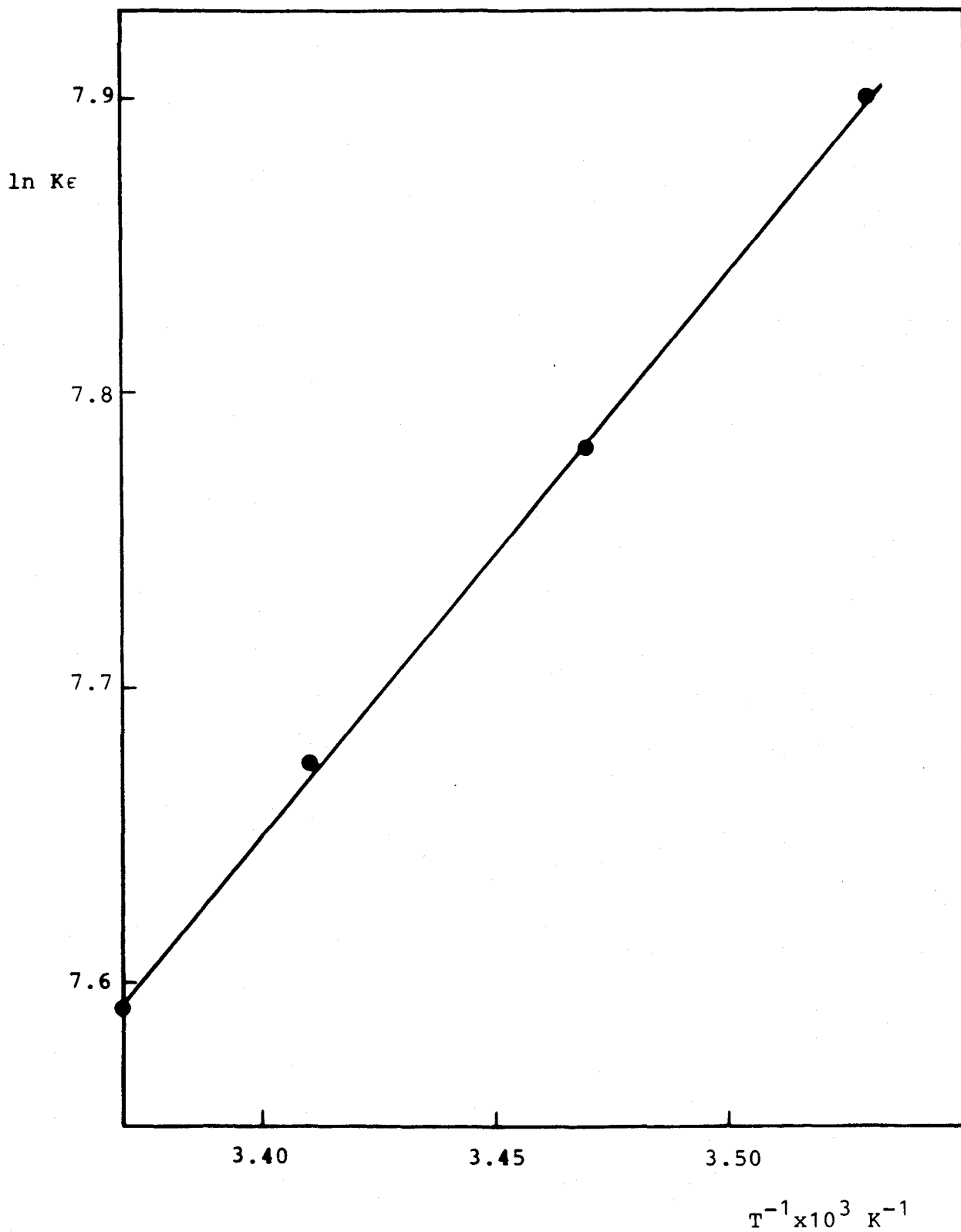


TABLA 5

Parámetros termodinámicos a 25°C de distintos complejos formados entre tetracianoetileno y derivados indólicos.

| Dador | K (M ⁻¹) | ΔG (Kcal.mol ⁻¹) | ΔH | ΔS (u.e) |
|----------------------|-------------------------|---------------------------------|-------|-------------|
| INDOL ⁽¹⁾ | 2.78 | -0.60 | -3.08 | - 8.3 |
| 2,3-DIMETILINDOL | 12.20 | -1.48 | -7.28 | -19.5 |
| TETRAHIDROCARBAZOL | 16.55 | -1.66 | -5.79 | -13.8 |
| YOHIMBINA | 1990 ⁽²⁾ | - | -3.87 | - |

(1) Tomado de Ref 29

(2) $K_{AD} \cdot \epsilon_{AD}$

4.3.-. Resultados Cinéticos.

En aquellos casos en los que la inestabilidad de los complejos impidió su estudio termodinámico, se realizó un estudio cinético de sus reacciones de descomposición.

Las constantes de velocidad obtenidas en condiciones de pseudo-primer orden a 25°C correspondientes a las reacciones entre ajmalicina, corinantina y reserpina con tetracianoetileno se recogen en las tablas 6, 7 y 8. Los valores de k_{obs} que se recogen en estas tablas corresponden al valor medio de, al menos, cuatro determinaciones independientes y el error de que van afectadas no fué en ningún caso superior al 10%.

Por otra parte, y con objeto de obtener una visión global de dichos resultados, las figuras 12, 13 y 14 recogen diferentes representaciones de k_{obs} frente a las concentraciones del reactivo en exceso (tetracianoetileno).

Como puede apreciarse (Fig 12), en el caso de la reacción ajmalicina tetracianoetileno existe una relación lineal entre los valores de k_{obs} y [TCE] cuya ordenada en el origen no difiere significativamente de cero. Para esta reacción puede, por tanto, proponerse la siguiente ecuación empírica de velocidad:

$$k_{obs} = a [TCE] \quad (9)$$

En las reacciones entre corinantina y reserpina con tetracianoetileno, la relación entre k_{obs} y [TCE] es más compleja, desviándose de la linealidad a medida que aumenta

la concentración de tetracianoetileno y tendiendo hacia un valor límite de k_{obs} . Este tipo de comportamiento sugiere la existencia de una ecuación de velocidad del tipo:

$$k_{obs} = \frac{a[TCE]}{1+b[TCE]} \quad (10)$$

Con objeto de verificar la validez de esta ecuación más fácilmente es conveniente reorganizarla tomando sus inversos para dar:

$$\frac{1}{k_{obs}} = \frac{1}{a} \frac{1}{[TCE]} + \frac{b}{a} \quad (11)$$

La existencia de correlaciones lineales, tales como los que se muestran en las figuras 13 y 14, entre los inversos de las constantes de velocidad y los inversos de las concentraciones de tetracianoetileno, sustenta de forma plenamente satisfactoria la dependencia propuesta.

Teniendo en cuenta la similitud de las reacciones propuestas parece razonable suponer que la ecuación (9) que expresa el comportamiento cinético de la reacción ajmalicina-tetracianoetileno sea un caso particular de la ecuación (10), cuando $1 \gg b [TCE]$. Por tanto puede asumirse que esta última ecuación representa el comportamiento cinético general de los alcaloides de la Rauwolfia, de estructura tetrahidro- β -carbolínica, con tetracianoetileno.

Los parámetros cinéticos a y b de esta ecuación se encuentran recogidos en la Tabla 9.

TABLA 6

Constantes de velocidad, k_{obs} , de la reacción aimalicina-tetracianoetileno a 25°C.

$\lambda_{max} = 360 \text{ nm}$

$[AJM] = 3.5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

| <u>$[TCE] \cdot 10^4 \text{ (M)}$</u> | <u>$k_{obs} \text{ (S}^{-1}\text{)} \cdot 10^2$</u> |
|--|--|
| 2 | 0.19 |
| 4 | 0.36 |
| 6 | 0.58 |
| 8 | 0.75 |
| 10 | 0.91 |
| 20 | 1.60 |
| 30 | 2.54 |
| 40 | 3.48 |

TABLA 7

Constantes de velocidad, k_{obs} , de la reacción corinantina-tetracianoetileno a 25°C.

$\lambda_{m\acute{a}x} = 360 \text{ nm}$

$[\text{CORINANTINA}] = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

| <u>$[\text{TCE}] \cdot 10^4 \text{ (M)}$</u> | <u>$k_{obs} \cdot 10^2 \text{ (s}^{-1}\text{)}$</u> |
|---|--|
| 1.0 | 0.40 |
| 2.5 | 0.86 |
| 4.0 | 1.43 |
| 5.0 | 1.85 |
| 7.5 | 2.80 |
| 10.0 | 3.22 |
| 20.0 | 5.34 |
| 30.0 | 6.86 |
| 40.0 | 7.85 |
| 50.0 | 8.74 |

TABLA 8

Constantes de velocidad de la reacción
reserpina-tetracianoetileno a 25°C.

$\lambda_{\text{máx}} = 402 \text{ nm}$

$[\text{RESERPINA}] = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M.}$

| <u>$[\text{TCE}] \cdot 10^4 (\text{M})$</u> | <u>$k_{\text{obs}} \cdot 10^2 (\text{s}^{-1})$</u> |
|--|---|
| 2 | 0.44 |
| 4 | 0.79 |
| 6 | 1.19 |
| 8 | 1.58 |
| 10 | 2.06 |
| 20 | 3.13 |
| 30 | 3.90 |
| 40 | 4.28 |
| 50 | 4.78 |

FIGURA 12.- Representación de k_{obs} frente a la concentración de Tetracianoetileno del complejo Ajmalicina-Tetracianoetileno

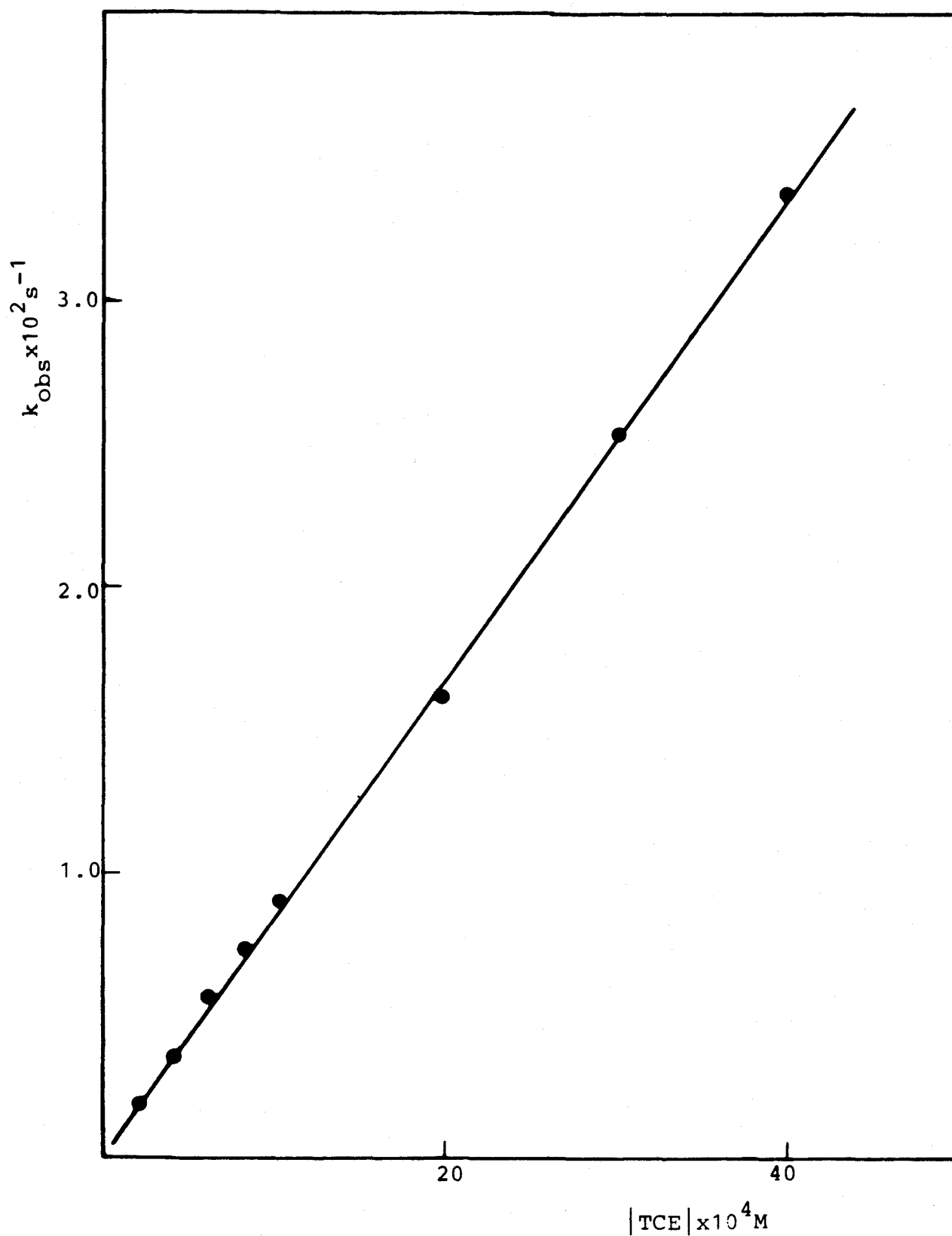


FIGURA 13.- Representación de k_{obs} frente a la concentración de Tetracianoetileno del complejo Corinantina-Tetracianoetileno

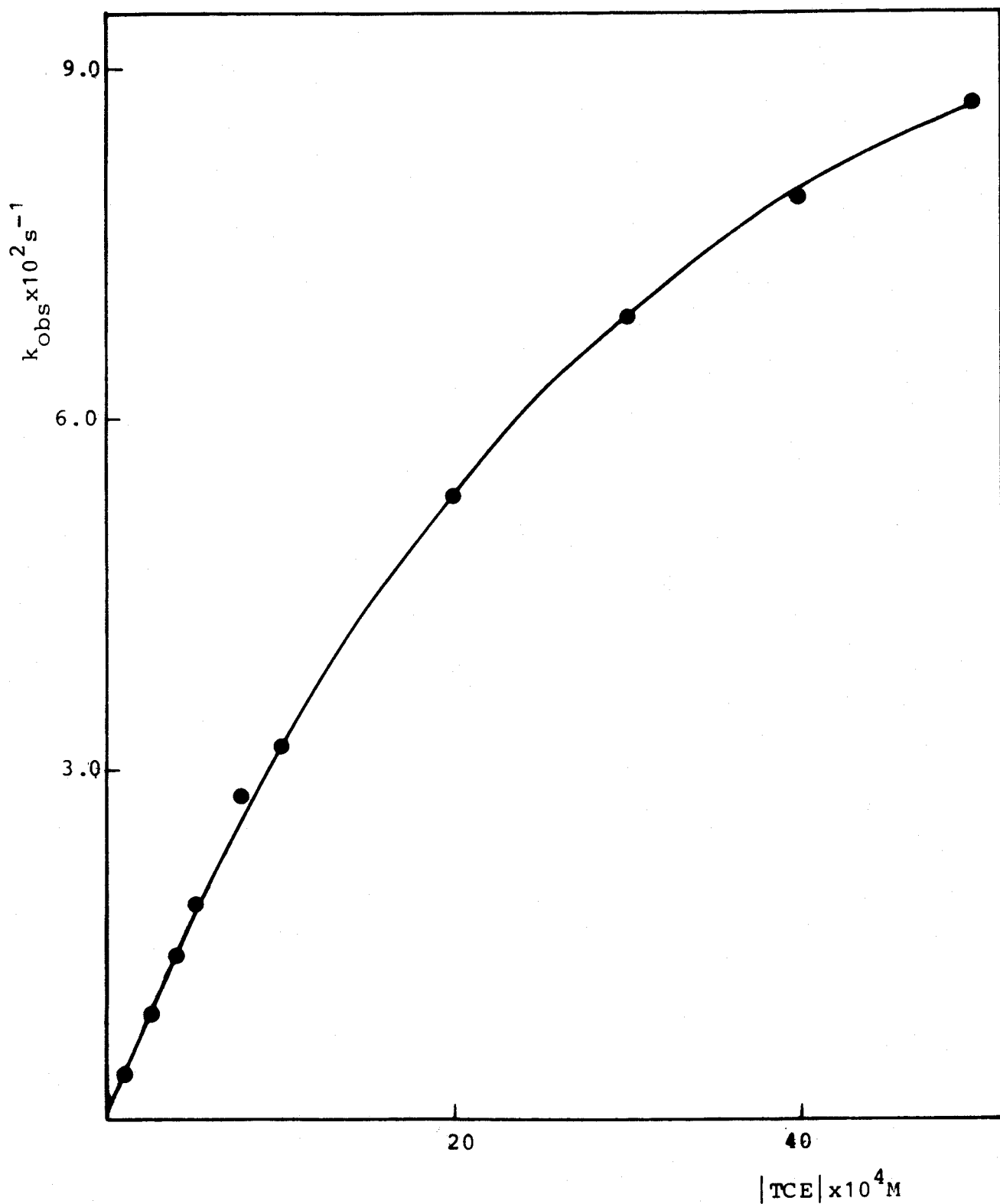


FIGURA 14.- Representación de k_{obs} frente a la concentración de Tetracianoetileno del complejo Reserpina-Tetracianoetileno

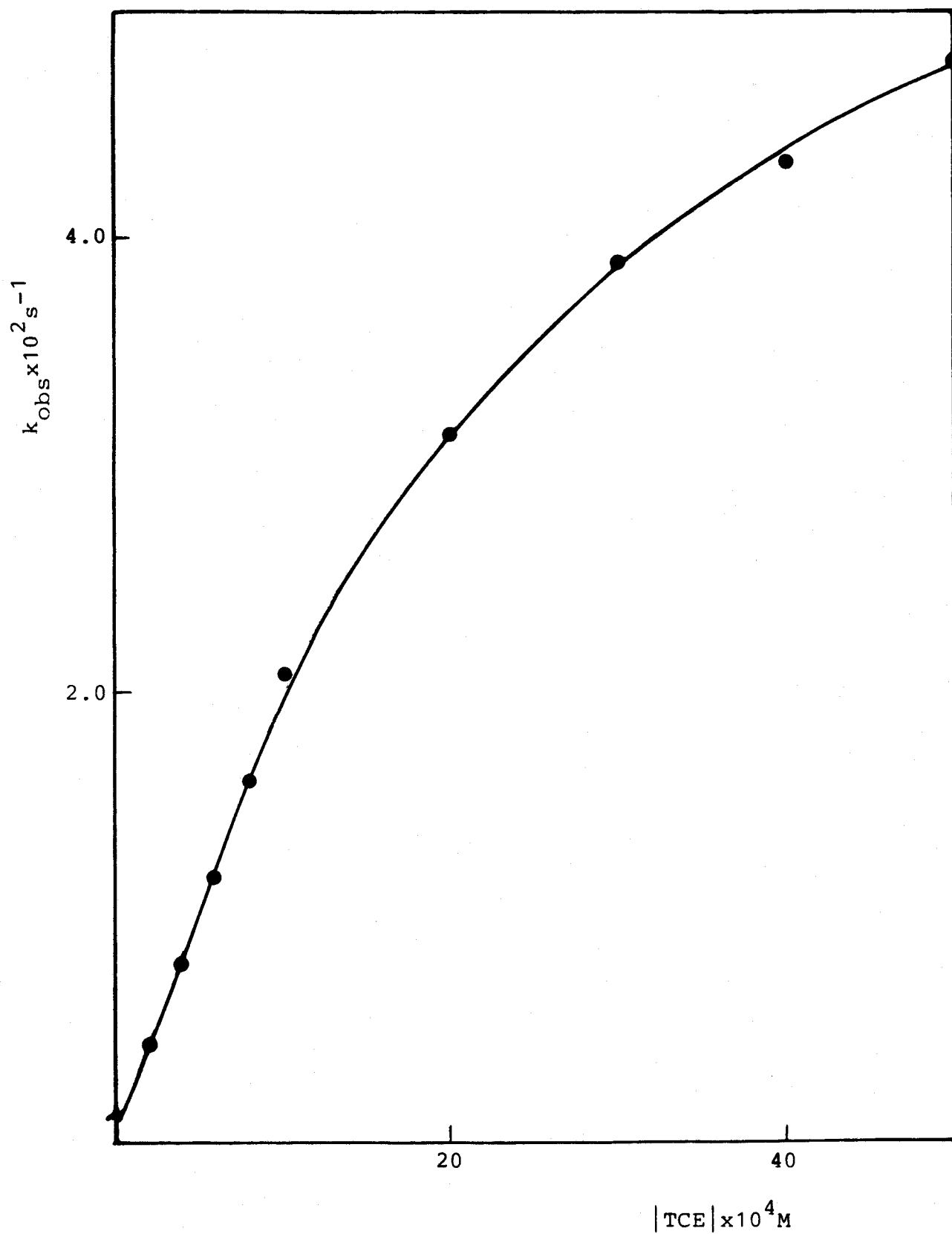


FIGURA 15.- Representación de $1/k_{obs}$ frente a $1/|TCE|$ del complejo Corinantina-Tetracianoetileno

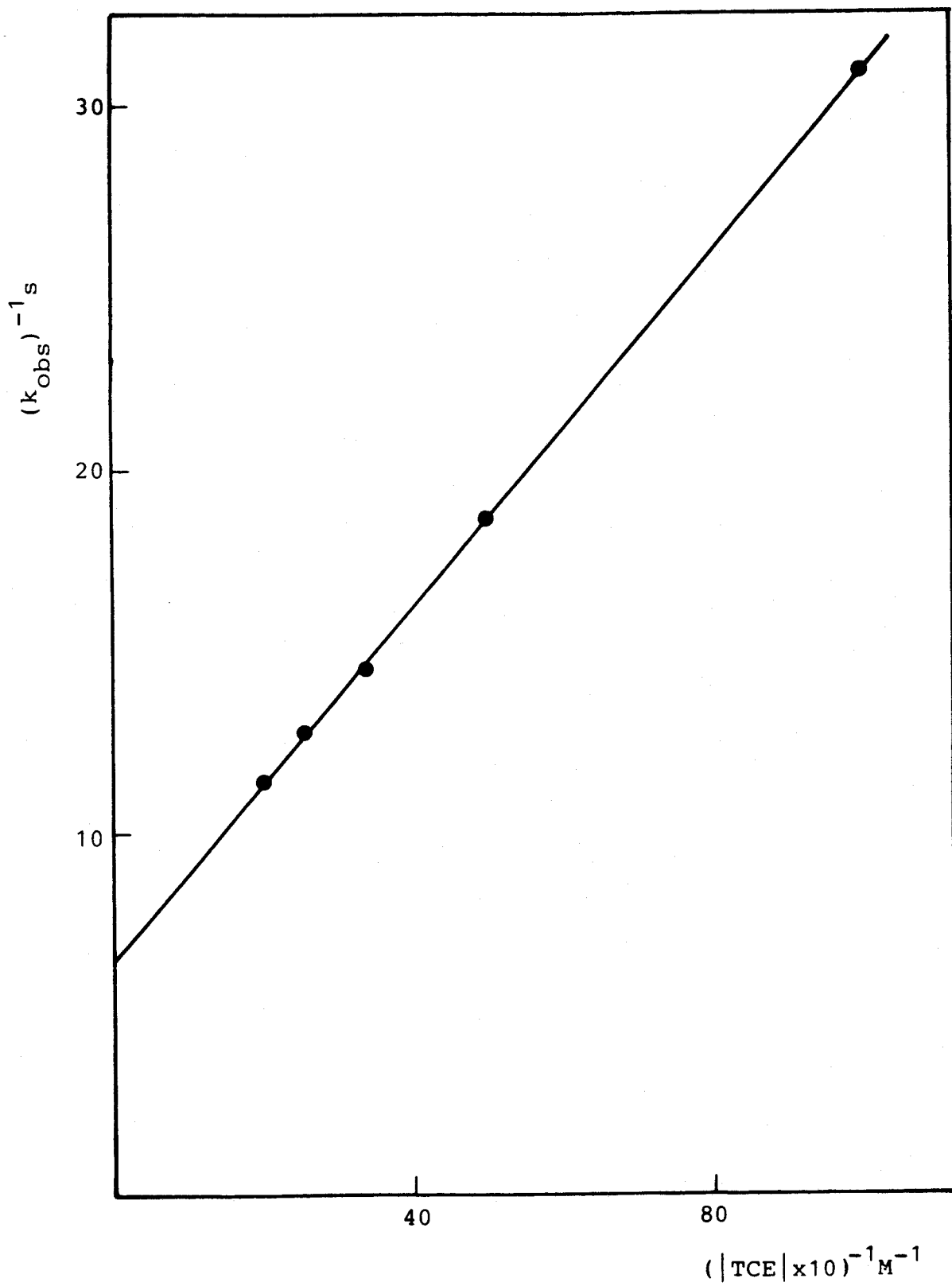


FIGURA 16.- Representación de $1/k_{obs}$ frente a $1/|TCE|$ del complejo Reserpina-Tetracianoetileno

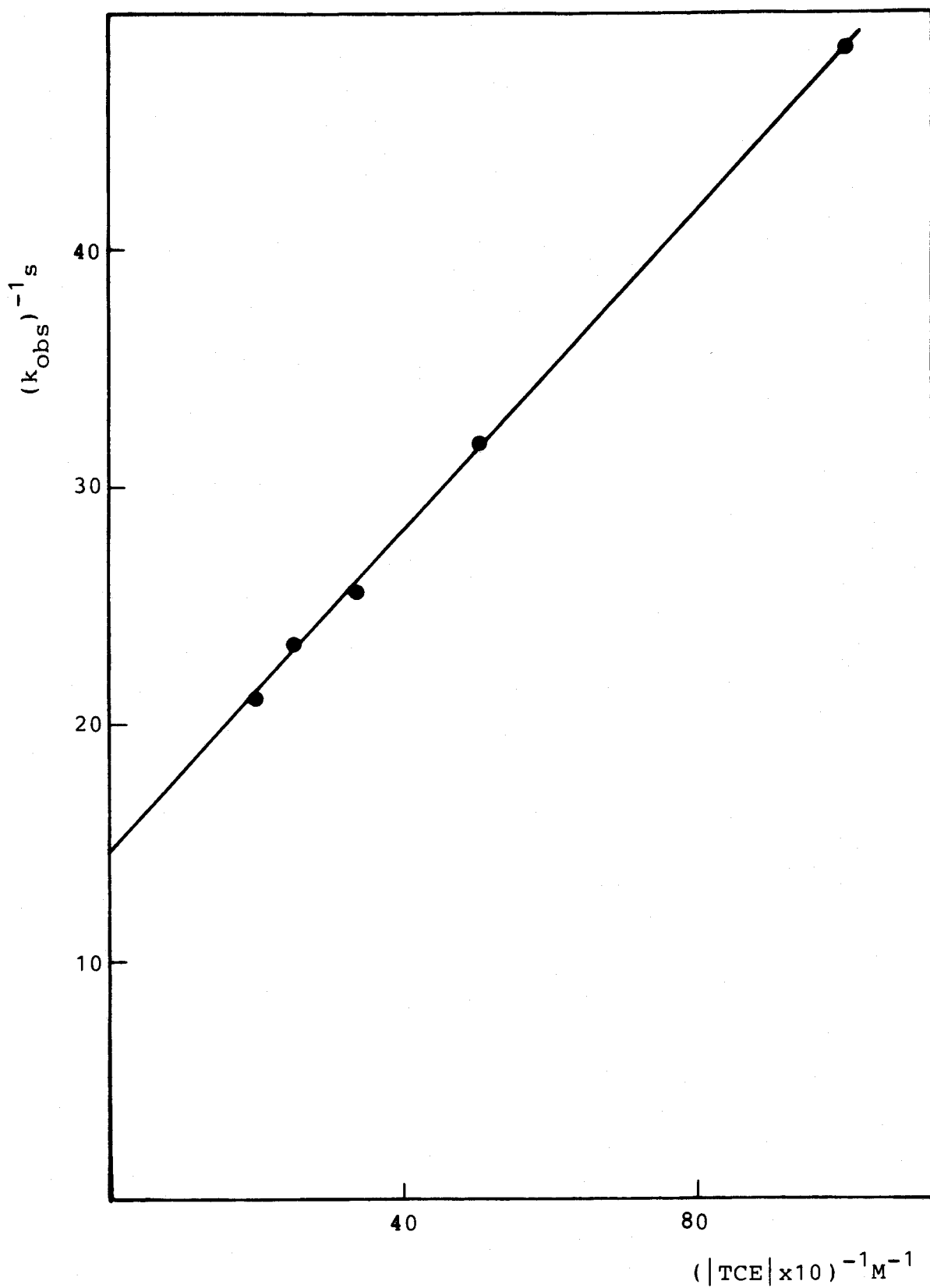


TABLA 9

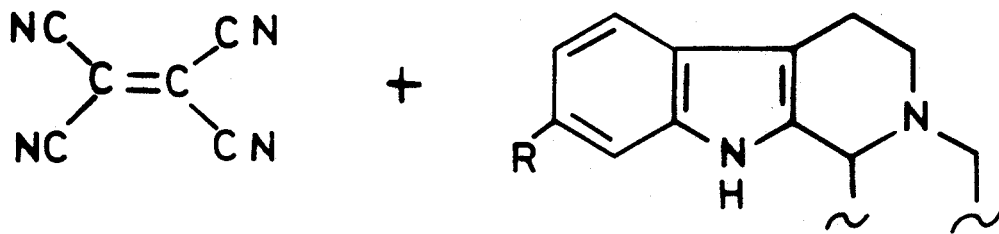
Parámetros cinéticos de las ecuaciones de velocidad de las reacciones de ajmalicina, corinantina y reserpina con tetracianoetileno a 25°C.

| | <u>a (M⁻¹s⁻¹)</u> | <u>b (M⁻¹)</u> |
|-------------|---|-----------------------------|
| Ajmalicina | 8.46 | -- |
| Corinantina | 40.82 | 6.28 |
| Reserpina | 29.24 | 2.02 |

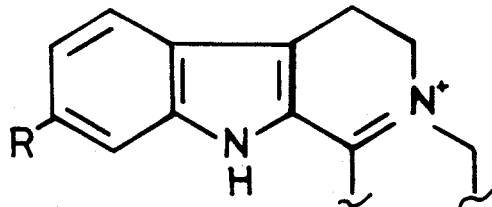
5.- DISCUSSION

Los resultados recogidos en los apartados anteriores proporcionan suficientes evidencias experimentales para considerar que los alcaloides de la familia de las Rauwolfias de estructura tetrahidro- β -carbolínica interaccionan con tetracianoetileno para formar, inicialmente complejos moleculares. Posteriormente, estos complejos evolucionan para dar finalmente los 2,3-dehidroderivados de los alcaloides (Esquema 4).

La velocidad de esta transformación y por tanto la estabilidad cinética de los complejos, depende fundamentalmente de si el átomo de nitrógeno piperidínico del anillo de tetrahidro- β -carbolina se encuentra protonado o no y, en mucha menor medida, de las características estructurales y conformación que presenta dicho anillo en los alcaloides.



COMPLEJO



ESQUEMA 4

Analizaremos, en primer lugar, las características de los complejos iniciales, tomando como referencia el formado entre la yohimbina protonada y tetracianoetileno. Un análisis comparativo de las propiedades espectrales y termodinámicas de este complejo y los formados por los derivados indólicos tomados como modelo (Tabla 5), pone de manifiesto las siguientes similitudes:

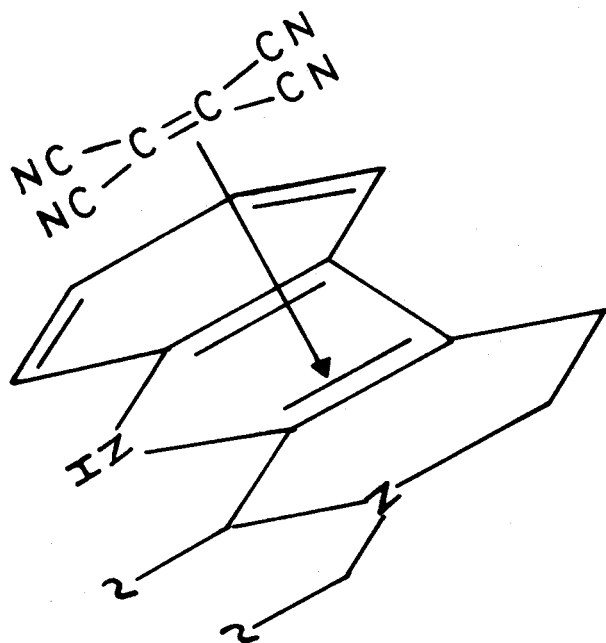
1°. Las características espectrales del complejo yohimbina protonada y tetracianoetileno, son enteramente similares a las de los complejos de transferencia de carga indólicos. De hecho, la posición del máximo del complejo a 526 nm, coincide prácticamente con la de la banda de transferencia de carga del complejo formado por tetrahidrocarbazol y tetracianoetileno.

2°. Aunque no ha podido determinarse la constante de formación K_{AD} del complejo de la yohimbina, los valores de $K_{AD} \cdot \epsilon_{AD}$, son de un orden de magnitud parecido al de los complejos típicamente indólicos. Aparentemente, si se consideran para todos estos complejos un orden de magnitud de ϵ_{AD} similar, la constante de formación del complejo yohimbina protonada y tetracianoetileno (próxima a 0.8 M^{-1} a 25°C) es un poco menor que la de los complejos indólicos. En este sentido la secuencia de K_{AD} ; indol < 2,3-dimetilindol < tetrahidrocarbazol, que aparentemente se correlaciona con el tamaño de estos anillos, parece romperse en el caso de la yohimbina.

3°. La magnitud de ΔH de este complejo es del mismo orden que los de otros complejos. En concreto, la entalpía de formación del complejo yohimbina protonada y tetracianoetileno es intermedia entre las de los complejos del indol y tetrahidrocarbazol.

Todo lo anterior nos lleva a considerar que los alcaloides de las Rauwolfias de estructura tetrahidro- β -carbolínica forman complejos moleculares de transferencia de carga con el tetracianoetileno, de características típicamente indólicas. No obstante, la limitación de los resultados disponibles no permiten diseccionar las posibles influencias de factores estructurales de estos alcaloides en las características de los complejos ni establecer comparaciones mas amplias de caracter cuantitativo.

La anterior conclusión sobre el caracter indólico de los complejos permite, por otra parte, postular el siguiente modelo para las estructuras; el anillo indólico del nucleo de tetrahidro- β -carbolina, actúa como unidad dadora en el complejo y el doble enlace etilénico del tetracianoetileno como mitad aceptora. Esta interacción, de tipo Π , tendría como orientación preferente la zona próxima a los átomos de carbono 2 y 3 del anillo indólico, por ser ésta la de mayor densidad electrónica, tal como se muestra en el esquema 5^{95,96}.



ESQUEMA 5

Otro punto que interesa destacar es el de la estabilidad cinética de los complejos de transferencia de carga. Aunque es conocido que los complejos de derivados indólicos con tetracianoetileno se reorganizan muy lentamente para formar 3-tricianovinilindoles³⁴, dicho proceso de reorganización presenta características específicas en el caso de los complejos de tetrahydro- β -carbolina.

En estos últimos casos, los productos finales de estas reorganizaciones son de naturaleza diferente, (dehidroderivados) y tienen lugar en muy pocos segundos, especialmente, cuando en la formación de estos complejos intervienen los alcaloides en su forma neutra. Aparentemente, el origen de estas diferencias parece estar en la presencia del nitrógeno piperidínico en el anillo de tetrahydro- β -carbolina y en su estado de protonación.

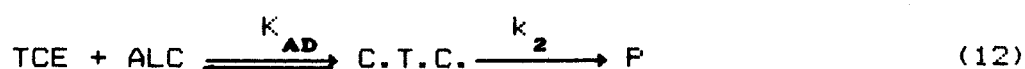
Antes de considerar el posible mecanismo de dicha reorganización, pasaremos a discutir los resultados cinéticos obtenidos para las reacciones entre los alcaloides ajmalicina, corinantina y reserpina con tetracianoetileno. Brevemente, estos resultados pueden resumirse como sigue;

1°.- En cada una de estas reacciones puede detectarse la formación, durante fracciones de segundo, del complejo azul de transferencia de carga.

2°.- La evolución espectral de las mezclas de reacción, indica que dichos complejos son precursores de los productos finales.

3°.- Existe una ecuación general que permite explicar los distintos tipos de comportamiento cinético observados.

Estos resultados apuntan hacia la existencia de un único mecanismo de reacción en el que, tras la formación inicial de un complejo de transferencia de carga, éste se reorganiza para formar finalmente los dehidroderivados de los alcaloides como productos finales. Esquemáticamente este mecanismo puede presentarse como sigue:



cuya ecuación de velocidad deduciremos a continuación.

Si aplicamos la hipótesis de equilibrio al complejo de transferencia de carga

$$[\text{CTC}] = K_{AD} [\text{TCE}] [\text{ALC}] \quad (13)$$

y consideramos el siguiente balance de materia para el reactivo en defecto (alcaloide)

$$[\text{ALC}]_T = [\text{ALC}] + [\text{CTC}] \quad (14)$$

puede obtenerse la siguiente expresión para la concentración del complejo de transferencia de carga en función de $[\text{ALC}]_T$, concentración total del alcaloide.

$$[\text{CTC}] = \frac{K_{AD} [\text{TCE}] [\text{ALC}]_T}{1 + K_{AD} [\text{TCE}]} \quad (15)$$

Sustituyendo esta expresión en la ecuación de velocidad para la formación de producto.

$$v = \frac{d[\text{P}]}{dt} = k_2 [\text{CTC}] \quad (16)$$

se obtiene finalmente la ecuación;

$$v = \frac{k_2 K_{AD} [TCE] [ALC]_T}{1 + K_{AD} [TCE]} \quad (17)$$

cuya k_{obs} para condiciones de pseudo-primer orden, cuando [TCE] está en exceso con respecto a $[ALC]_T$, vendría dada por

$$k_{obs} = \frac{k_2 K_{AD} [TCE]}{1 + K_{AD} [TCE]} \quad (18)$$

que coincide formalmente con la (10) obtenida experimentalmente si se identifica a con $k_2 K_{AD}$ y b con K_{AD} . Los valores así obtenidos para k_2 y K_{AD} se recogen en la tabla 10.

TABLA 10.- Valores de los parámetros cinéticos k_2 y K_{AD} en la ecuación (18) a 25°C para las reacciones de ajmalicina, corinantina y reserpina con tetracianoetileno.

| | k_2 (M ⁻¹ .S ⁻¹) | K (M ⁻¹) |
|-------------|---|------------------------|
| Ajmalicina | (a) | (a) |
| Corinantina | 6.5 | 6.28 |
| Reserpina | 14.5 | 2.02 |

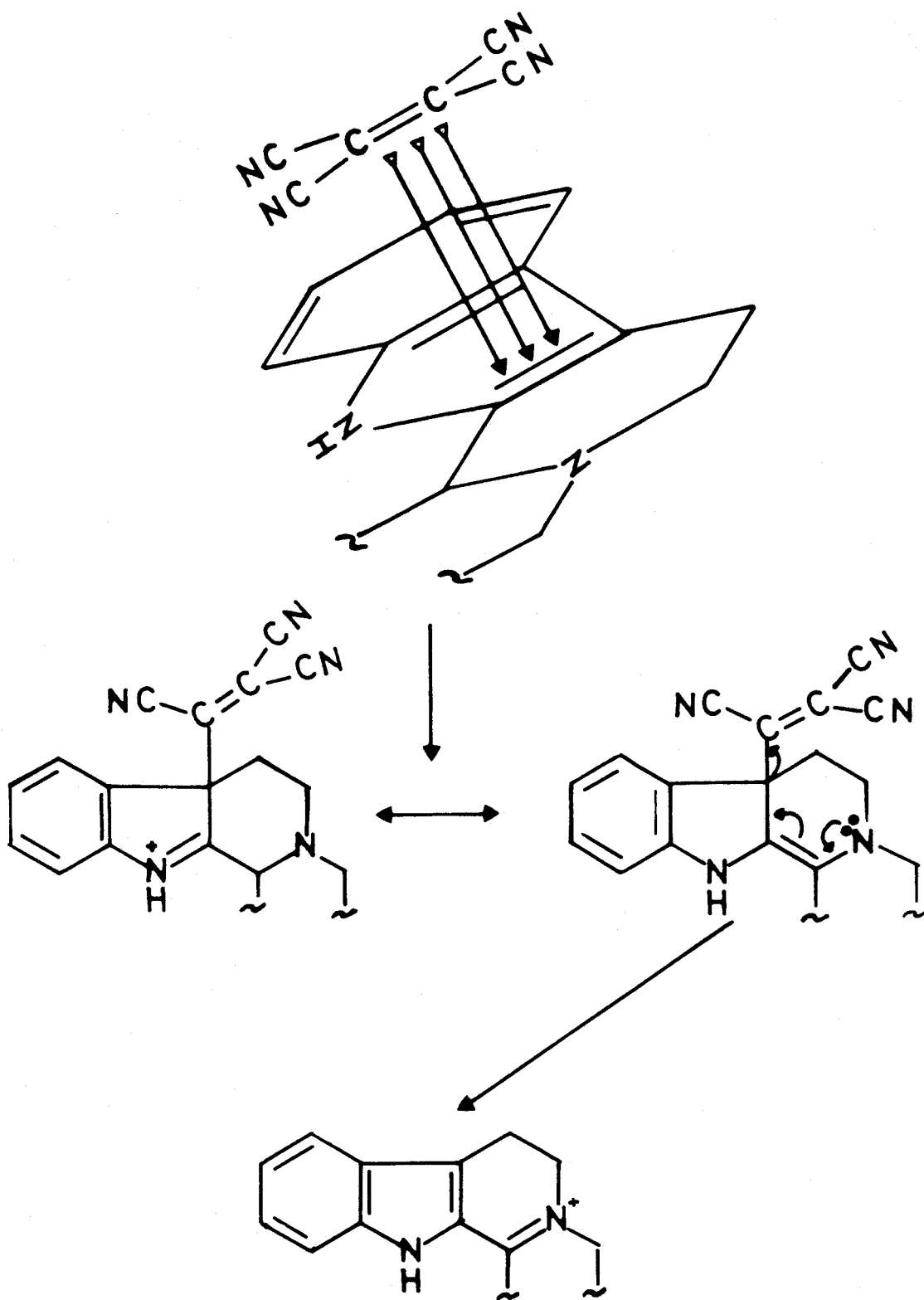
(a) Estas constantes no pueden determinarse independientemente $k_2 K_{AD} = 9.81$

Otro punto a favor del mecanismo propuesto lo proporcionan los valores obtenidos para K_{AD} , que son del orden de magnitud que cabría esperarse de acuerdo con el carácter típicamente indólico de estos complejos (Tabla 5). Por otra parte, si se acepta dicho mecanismo, resulta interesante reseñar que los valores de K_{AD} aparentemente son mayores para los complejos de los alcaloides neutros que para los protonados.

Esta apreciación sobre la influencia de la protonación en la estabilidad termodinámica de los complejos es además bastante razonable, si se tiene en cuenta, por una parte, que la estabilidad termodinámica de los complejos de transferencia de carga entre tetracianoetileno y derivados indólicos se correlaciona satisfactoriamente con la densidad de carga del átomo de carbono de la posición tres del anillo indólico^{34,35} y, por otra parte, que la protonación del nitrógeno piperidínico del anillo de tetrahydro- β -carbolina induce una disminución de la densidad de carga de este centro³⁷.

Finalmente, pasaremos a considerar el proceso de reorganización de estos complejos para dar los correspondientes 2,3-dehidroderivados de los alcaloides. Aunque en nuestro esquema cinético, este proceso se ha representado en una única etapa, es mucho más razonable suponer que su mecanismo sea más complejo, involucrando varias etapas y diferentes especies intermediarias.

En el esquema 6 se recoge un posible mecanismo para la reorganización de carga de los complejos tetrahydro- β -carbolínicos en 2,3-dehidro- β -carbolinas, basado en el modelo general de los procesos de sustitución electrofílica de indoles³⁸ al que parecen adaptarse también muchas reacciones de las tetrahydro- β -carbolinas^{16,18}



ESQUEMA 6

Este mecanismo considera, básicamente, que el complejo Π de transferencia de carga se reorganiza espacial y electrónicamente, posiblemente a través de un complejo de tipo σ , para dar tricianovinilindoleninas. La reorganización interna de la forma enamínica de estas últimas especies intermediarias daría lugar, por último, a los productos finales de la reacción.

La participación del nitrógeno piperidínico en esta última etapa es fundamental, ya que marca las características específicas de esta reacción con respecto a las de otros derivados indólicos y, además, permite racionalizar satisfactoriamente la influencia que ejerce la protonación de este átomo en la estabilidad cinética de los complejos de transferencia de carga.

La reorganización de la enamina requiere un par de electrones del átomo de nitrógeno piperidínico, siendo por tanto este factor determinante en la velocidad de esta reacción. En el caso de los alcaloides protonados, la disponibilidad de dicho par de electrones implica la eliminación previa o simultánea de un protón, proceso que se verá poco favorecido en un disolvente tan apolar como el diclorometano.

6.- CONCLUSIONES

1°.- Los alcaloides de la familia de las Rauwolfias de estructura tetrahidro- β -carbolínica interaccionan con tetracianoetileno para formar complejos moleculares.

2°.- Las características espectrales y termodinámicas de estos complejos son enteramente similares a las de otros derivados indólicos más simples, por lo que puede suponerse los estructuralmente relacionados. Es decir, la parte indólica del anillo de tetrahidro- β -carbolina del alcaloide actúa como mitad dadora del complejo y el doble enlace etilénico como mitad aceptora.

3°.- La estabilidad cinética de estos complejos de transferencia de carga depende fundamentalmente de que el átomo de nitrógeno piperidínico del anillo de tetrahidro- β -carbolina se encuentre protonado o no, siendo mucho mayor en el primero de los casos que en el segundo.

4°.- La descomposición de los complejos de transferencia de carga conduce a la formación de 2,3-dehidroderivados de los alcaloides. Las cinéticas de estos procesos se adaptan a un mecanismo general en dos etapas; equilibrio de formación del complejo de transferencia de carga y reorganización de éste.

5°.- La implicación en dicho mecanismo de un intermediato de naturaleza indolenínica permite explicar satisfactoriamente las características específicas de estas reacciones en relación con las de otros derivados indólicos simples y las diferencias de estabilidad cinética entre los complejos protonados y no protonados.

7.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1.- Para revisiones generales de derivados β -carbolinas ver:
 - (a) D.D. Phillips y M.S. Chadha, *J. Am. Pharm. Sci. Ed.*, 44, 553 (1955).
 - (b) K. Stuart y R. Woo-Ming, *Heterocycles*, 3, 223 (1975).
 - (c) J.R.F. Allen y Bo.R. Holmstedt, *Phytochemistry*, 19, 1573 (1970).
 - (d) H.F. Husson, "*The Alkaloids*", Vol 26 Cap 1 Ed. A. Brossi, Academic Press, 1985.
 - (e) C. Szantay, G. Blaskó, K. Honty y G. Dörnyei, "*The Alkaloids*", Vol 27, Cap 2, Ed. A. Brossi, Academic Press, 1986.
- 2.- H.H. Pennes y P.H. Hoch, *Am. J. Psychiat.*, 113, 887 (1957).
- 3.- E. Schlitter y H. J. Bein, "*Medicinal Chemistry*", Vol 7 Cap V, Ed. E. Schlitter, Academic Press, Nueva York, 1967.
- 4.- N.E. Muller, J.K. Fehske, H.O. Borhe, M. Wollert, C. Nanzand y H. Rommelspacher, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 14, 693 (1981).
- 5.- "*Beta-carbolines and Tetrahydroisoquinolines*" F. Bloom, Alan R. Liss Inc., Nueva York, 1982.
- 6.- (a) B. T. Ho, *J. Pharm. Sci.*, 61, 821 (1972).
(b) N.S. Buckholtz y W.O. Boggan, *Life Sci.*, 20, 2093 (1977).
- 7.- F. Tomás y J.M. Aulló, *J. Pharm. Sci.*, 68, 772 (1979).

- 8.- (a) M. Beljanski y M.S. Beljanski, *Exp. Cell. Biol.*, 50, 79 (1982).
(b) M. Beljanski y M.S. Beljanski, *I.R.C.S. Med. Sci.*, 12, 587 (1984).
- 9.- (a) K. Umezawa, A. Shirai, T. Matsushima y T. Sugimera, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 928 (1978).
(b) R. Bassleer, J. M. Marnette, Ph. Wiliquet, M. De Pauw-Gillet, M. Caprassé et L. Angenot, *Planta Med.*, 49, 158 (1983).
- 10.- K. Hayashi, M. Nagao y T. Sugimura, *Nucleic Acid Res.*, 4, 3679 (1977).
- 11.- M. Caprassé y C. Houssier, *Biochimie*, 65, 157 (1983).
- 12.- J.R. Smythies, F. Benington, y R.D. Morin, *Int. Rev. Neurobiol.*, 12, 207 (1970).
- 13.- G. Duportail y H. Lami, *Biochim. Biophys Acta*, 402, 20 (1975).
- 14.- R. Foster, "*Organic Charge-Transfer Complexes*", Academic Press, (1969).
- 15.- M. Slifkin, "*Charge Transfer Interactions of Biomolecules*", Academic Press, (1971).
- 16.- R. A. Abramovitch y I. D. Spencer, *Adv Heterocycl. Chem.*, 3, 79 (1964).
- 17.- J. E. Frey, *App. Spectroscopy Rev.*, 23, 247 (1987).

- 18.- M. Balón, M. A. Muñoz, M. C. Carmona y M. Sanchez, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, 1683 (1985).
- 19.- M. C. Carmona, M. Balón, D. Gonzalez, J. Maraver y M. Sanchez, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 409 (1986).
- 20.- M. C. Carmona, J. Hidalgo, M. A. Muñoz y M. Balón, *An. Real. Acad. Farm.*, 54, 70 (1988).
- 21.- (a) H. Benesi y J. Hildebrand, *Am. Chem. Soc.*, 70, 3978 (1948)
(b) H. Benesi y J. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.* 71, 2703, (1948).
- 22.- R. S. Mulliken, *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 610 (1950).
- 23.- (a) R. S. Mulliken, *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 811 (1952).
(b) R. S. Mulliken, *J. Phys. Chem.*, 56, 801 (1942).
(c) R. S. Mulliken, *J. Chim. Phys.*, 61, 20 (1964).
- 24.- M. J. Dewar y A. R. Lepley, *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 4560 (1961).
- 25.- G. Karreman, I. Isenberg y A. Szent-Györgyi, *Science*, 130, 1191 (1959).
- 26.- J. C. M. Tsibris, D. B. McCormick y L. D. Wright, *Biochemistry*, 4, 504 (1965).
- 27.- R-Hooke y T. A. Jeeves, *Journal of the ACM*, 8, 212 (1961).
- 28.- K. Jeffrey Johnson, "Numerical Methods in Chemistry", Marcel Dekker, 1980, pp. 278-281.

- 29.- R. Foster y P. Hanson, *Tetrahedron*, 21, 255 (1965).
- 30.- C. R. Szalkowski y W. J. Mader, *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 45, 613 (1956).
- 31.- R. P. Haycock y W. J. Mader, *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 46, 744 (1957).
- 32.- R. P. Haycock, P. B. Sheth y W. J. Mader, *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 48, 479 (1959).
- 33.- Z. Rappoport, *J. Chem. Soc.*, 4498 (1963).
- 34.- R. Foster y P. Hanson, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 60, 2189 (1964).
- 35.- A. Szent-Györyi y I. Isenberg, *Proc. N.A.S.*, 46, 1334 (1960).
- 36.- P. Green y J. P. Malrieu, *Proc N.A.S.*, 54, 659 (1965).
- 37.- J. Hidalgo, M. Balón, C. Carmona, M. Muñoz, R. Pappalardo y E. Sanchez, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, en prensa.
- 38.- A. Cipiani, S. Clementi, G. Giulietti, G. Marino y G. Savelli, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, 523 (1982).

8.- ANEXOS

8.1.- Anexo 1

```
C
C ESTE PROGRAMA CALCULA LA CONSTANTE DE ASOCIACION Y EL COEFICIENTE
C DE EXTINCION MOLAR DE UN COMPLEJO 1:1 A PARTIR DE MEDIDAS ESPEC-
C TROFOTOMETRICAS.
C LEE LOS VALORES DE LA ABSORBANCIA (AB) PARA DISTINTAS CONCENTRA-
C CIONES DE LOS REACTIVOS (CA,CB), ASI COMO SUS COEFICIENTES DE EX-
C TINCION MOLARES (EA,EB) Y UNAS ESTIMACIONES INICIALES DE LA CONS-
C TANTE DE ASOCIACION (CAI) Y DEL COEFICIENTE DE EXTINCION MOLAR
C DEL COMPLEJO (EABI).
C
C
C IMPLICIT DOUBLE PRECISION(A-H,O-Z)
C COMMON CA(50),CB(50),AB(50),PSI(2),NP,ITEL,EABI,CAI,EA,EB
C DIMENSION P(2,2),VP1(50),VP2(50),VP3(50)
C LOGICAL CONV
C EXTERNAL F
C
C
C LECTURA DE DATOS
C
C READ(1,*)EA,EB
C READ(1,*)EABI,CAI
C READ(1,*)NP
C READ(1,*)(CA(I),CB(I),AB(I),I=1,NP)
C
C
C OPTIMIZACION DE EAB Y CAS
C
C ITEL=0
C MAXVAL=2000
C DELTA=.1D-07
C ITEL=0
C M=2
C DEL=0.1
C RHO=0.5
C PSI(1)=1.
C PSI(2)=1.
C CALL OPTD(M,PSI,SPSI,DEL,RHO,DELTA,F,CONV,MAXVAL)
C IF(.NOT.CONV)WRITE(3,500)MAXVAL
500 FORMAT(/6X,' NO CONVERGE EN : ',I5,' ITERACIONES'//)
C CAS=CAI*PSI(1)
C EAB=EABI*PSI(2)
C WRITE(3,501)
501 FORMAT(/10X,' ANALISIS DE ABSORBANCIAS '//)
C WRITE(3,502)CAS,EAB,EA,EB
502 FORMAT(3X,'CONSTANTE DE ASOCIACION : ',D11.3//3X,'COEFICIENTE
* DE EXTINCION MOLAR DEL COMPLEJO : ',D11.3//3X,'COEFICIENTE
* DE EXTINCION MOLAR DEL PRIMER REACTIVO : ',D11.3//3X,
*'COEFICIENTE DE EXTINCION MOLAR DEL SEGUNDO REACTIVO : ',
*D11.3//)
C WRITE(3,503)
503 FORMAT(/5X,'ABMED',5X,'ABCAL',1X,' % DIF. '//)
C SVAR=0.
C DO 10 J=1,NP
C VP1(J)=CA(J)+CB(J)+(1./CAS)
C VP2(J)=DSQRT((VP1(J)*VP1(J))-(4.*CA(J)*CB(J)))
C VP3(J)=0.5*(VP1(J)-VP2(J))
C ABCAL=(EA*(CA(J)-VP3(J)))+(EB*(CB(J)-VP3(J)))+(EAB*VP3(J))
C RES=(1.-ABCAL/AB(J))*100.
C SVAR=SVAR+((AB(J)-ABCAL)*(AB(J)-ABCAL))
10 WRITE(3,504)AB(J),ABCAL,RES
504 FORMAT(3D11.3)
C SVAR=DSQRT(SVAR/(NP-3))
C WRITE(3,505) SVAR
505 FORMAT(/3X,'ERROR TIPICO DEL AJUSTE : ',D11.3)
C
C
C CALCULO DEL ERROR EN CAS Y EAB
C
```

C
C
C

CALCULO DE LOS ELEMENTOS DE LA MATRIZ

```

P(1,1)=0.
P(1,2)=0.
P(2,1)=0.
P(2,2)=0.
DO 20 J=1,NP
D1=VP3(J)
FP1=((VP1(J)/VP2(J))-1.)
FP2=(EAB-EA-EB)/(2.*CAS*CAS)
D2=FP1*FP2
P(1,1)=P(1,1)+(D1*D1)
P(1,2)=P(1,2)+(D1*D2)
P(2,1)=P(2,1)+(D2*D1)
20 P(2,2)=P(2,2)+(D2*D2)
DET=(P(1,1)*P(2,2))-(P(1,2)*P(2,1))
IF (DET.EQ.0.)GO TO 30
EEAB=P(2,2)/DET
EEK=P(1,1)/DET
ERAB=SVAR*DSQRT(EEAB)
ERK=SVAR*DSQRT(EEK)
WRITE(3,506)ERK,ERAB
506 FORMAT(/5X,'ERROR EN LA CONSTANTE : ',D11.3//
*5X,'ERROR EN EL COEFICIENTE DE EXTINCION MOLAR : ',
*D11.3)
30 STOP
END

```

C
C

```

-----
FUNCTION F(ARG)
IMPLICIT DOUBLE PRECISION(A-H,O-Z)
COMMON CA(50),CB(50),AB(50),PSI(2),NP,ITEL,EABI,CAI,EA,EB
DIMENSION ARG(2)
T=0.
V1=CAI*ARG(1)
V2=EABI*ARG(2)
DO 1 J=1,NP
P1=CA(J)+CB(J)+(1./V1)
P2=DSQRT((P1*P1)-(4.*CA(J)*CB(J)))
P3=0.5*(P1-P2)
YC=(EA*(CA(J)-P3)+(EB*(CB(J)-P3)+(V2*P3)
DIF=(AB(J)-YC)*(AB(J)-YC)
1 T=T+DIF
ITEL=ITEL+1
F=T
RETURN
END

```

```
SUBROUTINE OPTD (K, PSI, SPHI, DEL, RHO, DELTA, S, CONV, MAXEVAL,
DIMENSION PSI(1), PHI(10), KS(10)) → IMPLICIT DOUBLE PRECISION (A-H, O-Z)
C THE MAXIMUM NUMBER OF VARIABLES IS 10
INTEGER EVAL
REAL KS
LOGICAL CONV
DO 10 KK=1,K
  KS(KK) = DEL
10 CONTINUE
SPHI = S(PSI)
EVAL = 1
CONV = .TRUE.
20 SS = SPHI
DO 30 KK=1,K
  PHI(KK) = PSI(KK)
30 CONTINUE
ASSIGN 40 TO LSWITCH
GO TO 120
40 IF (SS.GE.SPHI) GO TO 100
50 DO 60 KK=1,K
  IF (PHI(KK).GT.PSI(KK) .AND. KS(KK).LT.0) KB(KK) = -KS(KK)
  THETA = PSI(KK)
  PSI(KK) = PHI(KK)
  PHI(KK) = 2*PHI(KK) - THETA
60 CONTINUE
SPHI = SS
IF (EVAL.LT.MAXEVAL) GO TO 70
CONV = .FALSE.
RETURN
70 EVAL = EVAL + 1
SPHI = S(PHI)
SS = SPHI
ASSIGN 80 TO LSWITCH
GO TO 120
80 IF (SS.GE.SPHI) GO TO 20
DO 90 KK=1,K
  IF (ABS(PHI(KK)-PSI(KK)).GT.0.5*ABS(KS(KK))) GO TO 50
90 CONTINUE
100 IF (DEL.LE.DELTA) RETURN
DEL = RHO*DEL
DO 110 KK=1,K
  KB(KK) = RHO*KS(KK)
110 CONTINUE
GO TO 20
120 DO 140 KK=1,K
  PHI(KK) = PHI(KK) + KB(KK)
  SPHI = S(PHI)
  EVAL = EVAL + 1
  IF (SPHI.LT.SS) GO TO 130
  KS(KK) = -KS(KK)
  PHI(KK) = PHI(KK) + 2*KB(KK)
  SPHI = S(PHI)
  EVAL = EVAL + 1
  IF (SPHI.LE.SS) GO TO 130
  PHI(KK) = PHI(KK) - KB(KK)
  GO TO 140
130 SS = SPHI
140 CONTINUE
GO TO LSWITCH(40, 80)
END
```

8.2.- Anexo 2

UN

LIST

```

1 * Medida y Ajuste de cinéticas de primer orden
2 CLS:KEY OFF:PRINT SPC(25)"*****"
3 PRINT SPC(25)"*Cinéticas Orden 1*"
4 PRINT SPC(25)"*****"
5 PRINT:PRINT"Parámetros a optimizar:";:COLOR 15,0:PRINT " A(0), A(Inf) ";:COLOR
  5,0:PRINT " y";:COLOR 15,0:PRINT " k":COLOR 5,0
6 N=100:M=3:DIM P(2*M,N),Z(M),FC(N),PA(M),DP(M,N),Y(N),X(N),W(N),T(N),A(M),DS(M)
12 LOCATE 10,20:COLOR 15,0:PRINT"M";:COLOR 5,0:PRINT"medida ó ";:COLOR 15,0:PRINT
  "A";:COLOR 5,0:PRINT"juste";:INPUT " ";AW$
13 IF AW$="n" OR AW$="m" THEN GOSUB 10000:GOTO 102
14 IF AW$="a" OR AW$="o" THEN DO
15 BEEP:GOTO 12
30 PRINT:INPUT "Quieres leer datos de fichero (S/N) ",A$:IF A$="s" OR A$="S" THE
  N GOSUB 18000:GOTO 105
50 PRINT:PRINT:PRINT:INPUT"Número de puntos ",N
70 PRINT:PRINT:INPUT "Tiempo inicial ",TI:PRINT:INPUT"Incremento de tiempo ",XT:
  PRINT
80 FOR I=1 TO N
90 PRINT"T = ";TI:X(I)=TI:TI=TI+XT
100 PRINT "A(";I;") = ";:INPUT"", Y(I):PRINT:NEXT
102 PRINT:INPUT "Quieres salvar datos en fichero (S/N) ",A$:IF A$="s" OR A$="S"
  THEN GOSUB 17000
105 PRINT:INPUT "Quieres ver los datos (S/N) ",A$:IF A$="s" OR A$="S" THEN GOSUB
  1000
106 PRINT:INPUT "Quieres eliminar datos (S/N) ",A$:IF A$="s" OR A$="S" THEN GOSU
  B 16000:GOTO 105
108 PRINT:INPUT "Quieres modificar datos (S/N) ",A$:IF A$="s" OR A$="S" THEN GOS
  UB 2000
110 CLS:PRINT SPC(10)"Parámetros iniciales":PRINT
120 INPUT"A(0) = ",PA(1):PRINT:INPUT"A(Inf) = ",PA(2):PRINT:INPUT"k = ",PA(3)
130 PRINT:PRINT SPC(10)"Criterio de convergencia":PRINT
140 INPUT"Límite de convergencia = ";LC
150 INPUT"Límite de divergencia = ";LD
160 IT=0:GOSUB 540
170 IT=IT+1:CLS:PRINT"Iteración ";IT:PRINT:PRINT
180 GOSUB 420
190 FOR I=1 TO M:A(I)=0:FOR J=1 TO M:A(I)=A(I)+P(I,J)*Z(J):NEXT J:NEXT I
200 RE=0:FOR I=1 TO M:RE=RE+A(I)/PA(I):PA(I)=PA(I)+A(I):NEXT I:RE=ABS(RE)
210 IF RE <= LC THEN GOTO 250
220 IF RE >= LD THEN CLS:PRINT"Divergencia":PRINT:PRINT:GOTO 130
230 GOSUB 540
240 GOTO 170
250 VA=0:FOR I=1 TO N:VA=VA+(Y(I)-FC(I))^2:NEXT I
260 VA=VA/(N-M-1):FOR I=1 TO M:DS(I)=SQR(ABS(VA^2*P(I,I))):NEXT I
270 PRINT:PRINT SPC(10)"Parámetros de regresión":PRINT:PRINT
280 PRINT"A(0) = ";PA(1);"+/-";DS(1):PRINT:PRINT"A(Inf) = ";PA(2);"+/-";DS(2):PR
  INT:PRINT"k = ";PA(3);"+/-";DS(3):PRINT
290 PRINT:PRINT SPC(10)"Alteración de convergencia (S/N) ";:INPUT A$:IF A$="s"
  OR A$="S" THEN 140
300 PRINT SPC(10)"Representación gráfica (S/N) ";:INPUT A$:IF A$="n" OR A$="N"
  THEN END
350 CLS:GOTO 3000
420 REM subrutina inversion de matriz
430 FOR I=1+M TO 2*M:FOR J=1 TO M:P(I,J)=0:NEXT J:NEXT I
440 FOR I=1+M TO 2*M:P(I,I-M)=1:NEXT I
450 FOR K=1 TO M:D=P(K,K):IF D=0 THEN CLS:PRINT"No hay inversa":SOUND 100,20:END
460 FOR J=1 TO M:P(K,J)=P(K,J)/D
470 P(K+M,J)=P(K+M,J)/D:NEXT J
480 FOR I=1 TO M:IF I=K THEN 510
490 Q=P(I,K):FOR J=1 TO M:P(I,J)=P(I,J)-P(K,J)*Q
500 P(I+M,J)=P(I+M,J)-P(K+M,J)*Q:NEXT J
510 NEXT I:NEXT K
520 FOR I=1 TO M:FOR J=1 TO M:P(I,J)=P(I+M,J):NEXT J:NEXT I
530 RETURN
540 REM Cálculo de la función
550 FOR I=1 TO M:Z(I)=0:FOR J=1 TO M:P(I,J)=0:NEXT J:NEXT I
560 FOR I=1 TO N:FC(I)=PA(2)+(PA(1)-PA(2))*EXP((-1)*PA(3)*X(I))
570 DP(1,I)= EXP((-1)*PA(3)*X(I))
580 DP(2,I)= 1-EXP((-1)*PA(3)*X(I))
590 DP(3,I)= (PA(1)-PA(2))*EXP((-1)*PA(3)*X(I))*((-1)*X(I):NEXT I
600 FOR K=1 TO N:FOR I=1 TO M: FOR J=1 TO M:P(I,J)=P(I,J)+DP(I,K)*DP(J,K):NEXT J
610 Z(I)=Z(I)+(Y(K)-FC(K))*DP(I,K):NEXT I:NEXT K
620 RETURN

```

```
1000 CLS
1010 PRINT "N"," T"," A"
1020 PRINT "-----"
1030 PRINT:FOR I=1 TO N:PRINT I,X(I),Y(I):IF I=20 THEN GOSUB 1040
1035 NEXT
1040 A$=INKEY$:IF A$="" THEN 1040
1050 RETURN
2000 CLS
2010 PRINT:PRINT:INPUT "Número del punto ",O0
2020 PRINT:PRINT"A(";O0;") = ";:INPUT "",Y(O0)
2030 PRINT:INPUT"Quieres cambiar más datos (S/N) ",A$
2040 IF A$="s" OR A$="S" THEN 2010
2050 CLS
2060 RETURN
3000 REM CLS:INPUT "Representación gráfica (S/N) ";AW$:IF AW$="N" OR AW$="n" THE
N SCREEN 0,0,0:KEY ON:CLS:END
3010 INPUT "Espaciado (1-5) ":TW:IF TW<=0 THEN TW=2
3020 IF TW>20 THEN TW=20
3030 INPUT"Autopescala (S/N) ":AW$:IF AW$="N"OR AW$="n" THEN GOSUB 4000:GOTO 307
0
3040 XN=X(N):YN=0!
3050 XX=0:YN=Y(N):FOR I=1 TO N:IF YX<=Y(I) THEN YX=Y(I)+.1*Y(I)
3052 IF XX<=X(I) THEN XX=X(I)+.1*X(I)
3054 IF XN>=X(I) THEN XN=X(I)-.1*X(I)
3056 IF YN>=Y(I) THEN YN=Y(I)-.1*Y(I)
3060 NEXT
3070 GOSUB 5000
3080 GOSUB 7000
3090 SCREEN 0,0,0:KEY ON:END
4000 REM NO AUTO SCALE
4010 INPUT"X-min :";XN
4020 INPUT"X-max :";XX
4030 INPUT"Y-min :";YN
4040 INPUT"Y-max :";YX
4050 RETURN
5000 REM PLOT POINTS
5010 XPA=639:YPA=199
5020 SCREEN 2,0:LINE (0,0)-(XPA,0):LINE -(XPA,YPA):LINE -(0,YPA):LINE -(0,0)
6000 FOR I=1 TO N:XQ=XPA*(X(I)-XN)/(XX-XN):YQ=YPA-YPA*(Y(I)-YN)/(YX-YN):GOSUB 60
10:NEXT
6010 LINE (XQ-2,YQ-2)-(XQ+2,YQ-2):LINE -(XQ+2,YQ+2):LINE -(XQ-2,YQ+2):LINE -(XQ-
2,YQ-2):RETURN
7000 REM PLOT FUNCTION
7010 FOR I=XN TO XX STEP (XX-XN)*TW/XPA:X=I:GOSUB 8000
7020 IF Y<=0 THEN Y=0
7030 TT=XPA*(I-XN)/(XX-XN):UU=YPA*(Y-YN)/(YX-YN)
7040 IF UU<=0 THEN UU=0
7050 IF UU>=YPA THEN UU=YPA-1
7060 PSET (TT,YPA-UU),3
7070 NEXT
7080 IF INKEY$="" THEN 7080
7090 RETURN
8000 REM cálculo de la función:variable entrada x salida y
8010 Y=PA(2)+(PA(1)-PA(2))*EXP((-1)*PA(3)*X)
8020 RETURN
10000 OPEN "COM1: 600,N,8,2,RS,DS,CD,BIN" AS#1:CLS:KEY OFF
10010 LOCATE 5,10:INPUT "Longitud de onda :",LO%:IF LO%<200 OR LO%>800 THEN SOUN
D 100,18:CLS:LOCATE 10,20:PRINT"Fuera de rango":FOR I=0 TO 5000:NEXT :CLS:GOTO 1
0010
10020 LOCATE 7,10:INPUT "Tiempo entre medidas (s) :",XT:XT%=XT:TI=0
10030 LOCATE 9,10:INPUT "Número de medidas :",N
10040 CLS:LOCATE 5,10:PRINT "Situe la disolución blanco en cubeta número 1 y pul
se ";:COLOR 15,0:PRINT"Enter":COLOR 5,0:GOSUB 15000
10050 A1$="MODE A,SAMPLE 1,WAVE "+STR$(LO%)+":":REFS":PRINT #1,A1$
10060 CLS:LOCATE 5,10:PRINT "Cuando mezcle pulse ";:COLOR 15,0:PRINT "Enter":COL
OR 5,0
10070 LOCATE 9,10:PRINT "Para abortar el proceso pulse ";:COLOR 15,0:PRINT"Esc":
COLOR 5,0:PRINT:PRINT
10080 A2$="SAMPLE 0":PRINT #1,A2$:SUM=TI:II=1
10090 REM
10100 AW$=INKEY$:IF AW$="" THEN 10090
10110 AW1=INKEY$:IF AW1="" THEN 10110
10115 TIMER ON
```



```
10120 ON TIMER (XT%) GOSUB 20000
10130 AW$=INKEY$:IF AW$=CHR$(27) THEN TIMER OFF:END
10140 GOTO 10130
10150 TIMER OFF:CLOSE:RETURN 102
15000 REM
15010 AW$=INKEY$:IF AW$<>" " THEN 15000
15020 AW$=INKEY$:IF AW$="" THEN 15020
15030 RETURN
16000 PRINT:INPUT "Número de datos a eliminar al comienzo:",NE%:IF NE%>N OR NE%<
0 THEN NE%=RUN
16010 FOR I=1 TO N-NE%:X(I)=Y(I+NE%):Y(I)=Y(I+NE%):NEXT I:N=N-NE%:TI=X(1)
16020 PRINT:INPUT "Número de datos a eliminar al final:",NF%:IF NF%>N OR NF%<0 T
HEN NF%=RUN
16030 N=N-NF%:RETURN
17000 REM CREACION DE FICHEROS
17010 CLS
17020 COLOR 15,0
17030 PRINT "Extensión automática: ";COLOR 15,0:PRINT ".OR1":COLOR 7,0:PRINT:PR
INT:PRINT
17040 DEV$="B:":EXT$=".OR1":INPUT"Nombre del fichero ",FILE$:FILE$=DEV$+FILE$+E
XT$
17050 COLOR 7,0:PRINT:PRINT
17060 OPEN FILE$ FOR OUTPUT AS #1
17080 PRINT #1, N,XT%,TI
17090 FOR I=1 TO N: PRINT #1, Y(I):NEXT
17100 CLOSE
17110 RETURN
19000 REM LECTURA DE FICHEROS
19010 CLS:COLOR 7,0:PRINT"Disco de datos ";COLOR 15,0:PRINT"B: ";COLOR 7,0:LOC
ATE ,20
19020 EXT$=".OR1":PRINT "Extensión automática : ";COLOR 15,0:PRINT ".OR1":COLOR
7,0
19040 DEV$="B:": FILES DEV$+"."+EXT$
19050 PRINT:PRINT:PRINT:COLOR 15,0
19060 PRINT"Nombre del fichero : ";COLOR 7,0:INPUT "",FILE$:FILE$=DEV$+FILE$+EX
T$
19070 PRINT
19080 OPEN FILE$ FOR INPUT AS #1
19100 INPUT #1, N,XT%,TI
19110 FOR I=1 TO N: INPUT #1, Y(I):NEXT
19120 CLOSE:CLS:PRINT "Fichero leído del disco":PRINT
19130 SUM=TI:FOR I=1 TO N:SUM=SUM+XT%:X(I)=SUM:NEXT
19170 A$=INKEY$:IF A$="" THEN 19170
19180 RETURN
20000 PRINT #1,":STATUS:":INPUT #1,B$:Y(II)=VAL(MID$(B$,14,5)):SUM=SUM+XT%:X(II)
=SUM:II=II+1
20010 PRINT X(II-1),Y(II-1)
20015 IF II>N THEN RETURN 10150
20020 RETURN
Ok
LOAD"unviskin4
Ok
LIST
1 * Medida y Ajuste de cinéticas de primer orden
2 CLS:KEY OFF:PRINT SPC(25)"*****"
3 PRINT SPC(25)"*Cinéticas Orden 1*"
4 PRINT SPC(25)"*****"
5 PRINT:PRINT"Parámetros a optimizar:":COLOR 15,0:PRINT " A(0), A(Inf) ";COLOR
5,0:PRINT " y":COLOR 15,0:PRINT " k":COLOR 5,0
6 N=100:M=3:DIM P(2*M,N),Z(M),FC(N),PA(M),DP(M,N),Y(N),X(N),W(N),T(N),A(M),DS(M)
,XX(N,5),YY(N,5)
```