

Excmo. Sr. Presidente,  
Excmos. Sres. Académicos,  
Señoras y señores:

Gracias a la generosidad de que han hecho gala los miembros de esta Corporación, vengo a ocupar la plaza de académico que dejó vacante con su fallecimiento un caballero ejemplar, modelo de nuestras mejores y más entrañables virtudes castrenses, el inspector farmacéutico del Ejército del Aire, Excmo. Sr. D. Arturo Eyries Rupérez.

Orientada desde el primer momento su inquebrantable vocación en el campo de la farmacia militar, consagró a esta faceta profesional toda su ilusionada actividad, prestando en ella los más destacados servicios en los que siempre brilló su firme voluntad y su sacrificada entrega, hermanadas con una sólida formación científica y humana. En una trayectoria rectilínea, con fe, ilusión y firmeza, llegó a alcanzar el más alto puesto en su categoría profesional creado en función de una tenaz gestión personal en la que resultaba su mejor valedor el ejemplo que brindaba una limpia ejecutoria de consagración desinteresada, austeridad y resultados fructíferos en todas las misiones que le fueron encomendadas.

Miembro de número de la Real Academia de Farmacia desde 1930, se llevó consigo cuarenta años de servicios y amor a esta Corporación, a la que prestó una colaboración asidua, formando parte de su Sección de Historia, Bibliografía y Dentología, y una ayuda inestimable, consecuencia de su sólida preparación en todos los terrenos.

Descanse en paz un gran general y académico, cuyo nombre quedará siempre inscrito en la lista de honor de la profesión farmacéutica.

## INTRODUCCIÓN

Al iniciar la preparación del discurso preceptivo para el ingreso en esta Academia me planteaba un problema que, al principio, creó en mi ánimo una honda inquietud. Su resolución dependía de que acertase la respuesta exacta a esta simple pregunta: ¿qué significado adquiere la Química inorgánica en el ámbito de la ciencia farmacéutica, y qué papel puede desempeñar en los quehaceres científicos de una Academia de Farmacia? Una respuesta satisfactoria devolvería la tranquilidad a mi espíritu al adquirir este acto el grado de despersonalización necesario para conseguir un sentido más trascendente. Perdería con ello un posible significado de reconocimiento a unos méritos personales, que todavía son muy escasos en comparación con el alto honor que representa pertenecer como miembro de número a esta Corporación, transformándose en un reconocimiento objetivo y más justo a una determinada rama de la ciencia química, íntimamente ligada, en tiempos pretéritos, al floreciente desarrollo científico de la Farmacia. Un recordatorio de glorias pasadas no constituye, sin embargo, motivo de satisfacción convincente para aquellos que, inmersos en una investigación dinámica o en una docencia actualizada, son observadores directos de los avances espectaculares que se han producido en cualquier rama de la ciencia química. La respuesta tranquilizadora sólo podría surgir con una visión de lo que ha de constituir el campo de actuación del labor científico farmacéutico en un futuro próximo previsible, sin mirar hacia atrás, sin siquiera considerar el momento presente que mañana será pasado, y de la ayuda que en aquél puede prestar los conceptos de la Química inorgánica.

Pero hay momentos en que resulta difícil, ante los numerosos conocimientos químicos y biológicos que engloban, apreciar con claridad lo que constituye el objetivo final de las denominadas ciencias

farmacéuticas, a las que se designa, con frecuencia, en plural, lo que implica unas miras muy ambiciosas, pero al mismo tiempo una dispersión que puede resultar inoperante. Este horizonte aparentemente oscuro se hace más diáfano cuando se adquiere el convencimiento que el objetivo final de la ciencia farmacéutica, en singular sin el plural desorientador, ha sido, es y será siempre el medicamento, y se piensa al mismo tiempo en el cúmulo de conocimientos que se entrecruzan y se integran en él.

Definido el medicamento como la esencia última del quehacer científico farmacéutico, el alma de la farmacia, como diría no hace mucho nuestro querido compañero el profesor Selles, parece, en una primera visión superficial, que la misión del químico inorgánico en la consecución de este objetivo es trivial y desprovista de alicientes investigadores, ya que la evolución que ha experimentado el medicamento, desde el empleo de drogas naturales a la utilización masiva de productos de síntesis, ha estado en todo momento más íntimamente ligada con las técnicas de trabajo propias de la Química orgánica. Pero si importante es extraer el principio activo de un producto natural, sintetizar una nueva molécula orgánica, deducir su actividad biológica por ensayos en animales de experimentación, montar los procesos industriales para su fabricación, transformar las sustancias activas en las apropiadas formas farmacéuticas y realizar los ensayos clínicos previos, no se puede perder de vista que el objetivo primordial de todo medicamento es la intervención en un proceso biológico, modificándole adecuadamente para el fin que se persigue, o devolviéndolo a sus condiciones normales si se encontraba alterado. Es el momento de intervención de la química de las reacciones biológicas interpretadas hasta su último extremo, es decir, a nivel molecular. Este aspecto de la Química biológica, una de las facetas más fascinantes de la química actual, polo de atracción para investigadores de muy diversos orígenes y formación muy diferente, constituye el porvenir más brillante para la química del medicamento, la cual alcanzará su pleno desarrollo el día en que pueda abandonar su semiempirismo actual para asentarse en una base científica más rigurosa que, indudablemente, ha de proporcionársela la Química biológica molecular.

Con estas consideraciones adquiere un mayor significado el papel del químico inorgánico en la ciencia farmacéutica, ya que en el

conocimiento e interpretación de numerosas reacciones biológicas interviene, y a veces de forma decisiva, la Química inorgánica como tal ciencia pura, cada día más cuantitativa, más rigurosamente exacta, menos descriptiva, con toda su carga de conceptos teóricos y, precisamente, por intermedio de uno de sus capítulos más importantes, que comenzó a escribirlo a finales del siglo pasado el mayor propulsor que ha existido de la Química inorgánica, Alfred Werner, y que en estas tres últimas décadas constituye la fuente más fértil de investigaciones inorgánicas: la Química de coordinación. Este discurso de recepción como académico trata de llevar al ánimo de mis oyentes el convencimiento de la importancia que ha adquirido en el momento presente los conceptos teóricos de la Química de coordinación en ese mundo fascinante de las reacciones biológicas a nivel molecular, creador de una vorágine de atracción investigadora porque en él la humanidad quiere encontrar respuestas a incógnitas planteadas de siempre.

Antes de entrar de lleno en el tema, quiero terminar esta introducción expresando mi más sincero agradecimiento a todos los miembros de esta Corporación por el cariño que me han demostrado al elegirme como académico de número, pues sólo a simpatía y comprensión benévola puedo atribuir el honor que me han concedido y, lo que es tan importante para mí, por la inmensa alegría que me han proporcionado con el ingreso en esta casa a la que me unen tantos recuerdos desde aquel día, ya muy lejano, en que como estudiante atravesaba por primera vez sus umbrales. Este recuerdo me trae insensiblemente otro, el de mi querido maestro, director de esta Academia, D. Ricardo Montequi, al que me unen cerca de veinte años de íntima colaboración, con todo el conjunto de lazos afectivos que se establecen entre discípulo y maestro cuando éste no se limita a enseñar unos determinados conocimientos científicos, sino que además contribuye a la formación integral del discípulo, poniendo su espíritu en la empresa. Aquel antiguo laboratorio de Química inorgánica que radicaba en este edificio fue para mí, además de una escuela científica a la que debo mi formación química, una escuela de recia moral. En ella aprendí porque se practicaban, las virtudes de serenidad y objetividad en el juicio, humildad en el fracaso y perseverancia para volver a comenzar, insatisfacción personal por inquietud creadora, sobriedad y honestidad en los resultados sin concesión

a especulaciones, meditación profunda del tema antes de su exposición evitando cómodas ligerezas, equilibrio ponderado entre imaginación e intuición con comprobación cuidadosa de los hechos experimentales y entrega total a la obra emprendida con el afán del buscador de ilusiones. Todo ello se enseñaba con alegría que trata de ocultar hondas inquietudes, con la libertad desenfadada de quien no hipoteca su espíritu ni doblega su voluntad a concesiones vinculantes y con esa difícil sencillez que sólo se consigue cuando se adquiere una visión certera y profunda de los problemas y de la vida misma.

Permitirme que en estos momentos, trascendentales para mí, vengan también a mi memoria otros recuerdos más antiguos, pero aún indelebles, de aquellos que en mi infancia y juventud me enseñaron con su ejemplo, en la escuela íntima del hogar, el difícil camino del amor, la hondad y el sacrificio.

Gracias a todos.

## LA QUÍMICA DE COORDINACIÓN EN LA INTERPRETACIÓN DE REACCIONES BIOLÓGICAS

El afirmar que los conceptos proporcionados por la Química inorgánica pueden ofrecer gran interés en la interpretación de las reacciones biológicas exige unas consideraciones previas, ya que, a simple vista, parecen más perceptibles las relaciones de la Bioquímica con la Química orgánica y, por otra parte, se venía estableciendo tradicionalmente una manifiesta separación entre Química inorgánica y orgánica, tanto en conceptos teóricos como en técnicas de trabajo. En el momento actual la separación entre estas dos grandes ramas de la Química es más aparente que real y son innumerables los lazos de unión entre ambas. A ello ha contribuido, en gran medida, el desarrollo que ha experimentado la Química estructural en el contexto de ambas disciplinas con empleo de técnicas instrumentales comunes, tales como espectroscopía infrarroja, espectros electrónicos, resonancia nuclear magnética, espectrometría de masas, difracción de rayos X, etc., etc., e interpretaciones idénticas de estructuras y enlaces con cálculos matemáticos análogos (1, 2, 3, 4, 5). Pudiera decirse que al irse desprendiendo paulatinamente tanto el químico inorgánico como el orgánico de su condición de simples operadores de laboratorio, que dejaban la interpretación final de los fenómenos observados a los fisicoquímicos, para transformarse en los propios intérpretes teóricos de sus observaciones, se han ido aproximando más y más en un acontecer lógico, ya que la razón última de los procesos químicos es la misma, aunque difieran en las técnicas de trabajo con que se producen o se observan.

La obtención de numerosos compuestos cíclicos inorgánicos, tales como borazinas, fosfonitrilos, boranos, etc. (6), o en largas cadenas; silanos, oligofosfatos, etc., con formación de polímeros (7)

ha arrebatado a la Química orgánica su exclusiva en ciclos y cadenas y ha exigido técnicas y métodos de estudio típicamente orgánicos, como, por ejemplo, el análisis conformacional.

Pero ha sido la Química de coordinación y la, íntimamente relacionada con ella, de organometálicos, las que han desempeñado el papel decisivo en esta aproximación y han permitido establecer a su vez el nexo de unión con la química de los procesos biológicos, enriqueciendo a la Química inorgánica con un aporte de conceptos, ideas y técnicas de trabajo de tal magnitud que ya nadie se atrevería a calificar a esta disciplina como la química del mundo mineral, la de silicatos, óxidos y sulfuros, ni siquiera la de los compuestos iónicos, las sales, los cuales son ahora una pequeña minoría en el conjunto de compuestos inorgánicos predominantemente covalentes, con la rica problemática que éstos plantean en estructuras y enlaces frente al estatismo conceptual de las redes iónicas.

Son innumerables los compuestos de coordinación constituidos por iones metálicos, en general de elementos de transición, unidos a átomos dadores de oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo y, en algunos casos, al propio átomo de carbono de moléculas orgánicas, e inclusive a la densidad electrónica  $\pi$  de dobles y triples enlaces localizados (complejos olefinicos, acetilénicos, ciclopentadienilos, complejos arenos, etc.) (8). La posibilidad de que el metal se coordine simultáneamente a dos o más átomos dadores del ligando orgánico, formando un anillo, da lugar al tipo de compuestos denominados quelatos, los cuales han creado un nuevo y sugestivo capítulo de química heterocíclica inorgánica de amplitud casi ilimitada.

Los espectros infrarrojos de estos compuestos registran las bandas típicas del ligando orgánico, con desplazamientos a menores frecuencias de las que corresponden a grupos funcionales coordinados al metal y aparición de nuevas bandas en la región de baja frecuencia, de tensión del enlace metal-átomo dador, hechos estos últimos de gran significado para el conocimiento de sus estructuras (9, 10). Cosa análoga puede decirse de sus espectros electrónicos, en los que junto a las bandas del ligando orgánico (transiciones intraligando) y las propias del ion metálico (transiciones d-d) se manifiestan otras de transferencia de carga de ligando a metal o viceversa (11). Se puede aceptar, en principio, que la molécula orgánica mantiene en gran medida sus características individuales en los compuestos.

de coordinación, pero este supuesto requería comprobaciones por métodos químicos que han dado lugar a numerosas investigaciones sobre la reactividad del ligando orgánico coordinado. Este tema ofrece además un interés adicional porque permite conseguir un conocimiento más íntimo de reacciones biológicas en que intervienen iones metálicos y de aquellas síntesis orgánicas en las que actúan como intermediarios compuestos de coordinación u organometálicos, tales como las polimerizaciones estereoespecíficas de  $\alpha$ -olefinas que originan los catalizadores Ziegler-Natta o las síntesis de Reppe. Se han estudiado con atención preferente las reacciones de sustitución electrófila en el anillo ciclopentadieno de ferroceno y análogos, los cuales muestran gran reactividad para la reacción de Friedel-Crafts, sulfonación, alquilación y formilación (12). La escuela de Collman (13) se ha dedicado con preferencia a los acetilacetatos de Cr (III) y Rd (III), en los que se llega a formar un anillo «cuasi aromático» al producirse un enlace  $\pi$  entre el metal y los átomos dadores. Para estos últimos se han efectuado halogenaciones, acilaciones, etc., reacciones que se producen sin destrucción del complejo, como sucede también en el caso del ferroceno. De estos estudios, y de otros análogos sobre efectos catalíticos de iones metálicos en reacciones orgánicas, se deduce que numerosos ligandos orgánicos modifican su reactividad al coordinarse al ion metálico, por efectos electrónicos inductivos y de conjugación de éste, estabilizándose moléculas orgánicas que aisladamente son inestables. Con ello se ha abierto un nuevo camino de investigación de gran importancia en el estudio de reacciones biológicas, utilizando técnicas y conceptos tan sustanciales con la Química orgánica, que le ha permitido decir a Collman: «La química de los ligandos quelatados plantea problemas de gran significado para químicos inorgánicos y orgánicos y constituye un argumento convincente para eliminar la barrera tradicional que separaba Química inorgánica y orgánica» (13).

El mecanismo de las reacciones, prácticamente desconocido para el químico inorgánico cuando ya era un capítulo de gran significado para el orgánico, se introduce en los compuestos de coordinación con técnicas y conceptos análogos, e incluso con la terminología de Ingold, alcanzando en poco tiempo un vigoroso desarrollo gracias a la experiencia que brindaba el mecanismo de reacciones orgánicas (14). La isomería óptica, prácticamente inexistente en la Quí-



mica inorgánica de elementos representativos y la isomería cis-trans, tan poco frecuente en aquélla, que para su explicación en la cátedra hay que acudir a ejemplos tan especiales como el de la difluorodiacina, constituyen hechos habituales en los compuestos de coordinación, utilizándose para la separación de isómeros y su identificación técnicas prestadas por los químicos orgánicos. La formación de heterociclos en los complejos quelatados ha dado lugar a innumerables investigaciones, muy de actualidad en otro tema característico de la Química orgánica: el análisis conformacional y las configuraciones absolutas (15). El motor propulsor para estas investigaciones ha sido la estereoselectividad observada para muchas reacciones biológicas en que intervienen metaloenzimas, y por este motivo se han dirigido aquéllas al estudio de quelatos con ligandos orgánicos naturales ópticamente activos, en especial aminoácidos, empleando técnicas espectroscópicas basadas en el efecto Cotton (dicroísmo circular y dispersión rotatoria óptica), difracción anómala de rayos X y resonancia magnética de protón (16).

Al llegar a este punto conviene hacer un alto en el camino para reflexionar y ponderar algunas conclusiones que surgen a la vista de las consideraciones expuestas, quizá excesivamente prolijas, pero necesarias para situar a la Química inorgánica en su perspectiva actual y desechar viejos prejuicios arraigados en muchas mentes como consecuencia de una visión tradicional. La química de coordinación, que es tanto como decir la Química inorgánica actual más agresiva, con más garra investigadora y conceptual, con futuro más esperanzador por las inmensas posibilidades que ofrece su diversificación operatoria con unidad de conceptos teóricos, representa en el contexto de una química unificada algo más que el simple anecdotario y enumeración complaciente de la existencia en los organismos vivos de unos elementos químicos estudiados por el inorgánico, los oligoelementos; de unos compuestos de coordinación, hemoglobina, clorofila, vitamina B 12, metaloenzimas, etc., que ejercen funciones vitales de gran trascendencia; de que la actividad de ciertos medicamentos se producen por quelación con iones metálicos; así como que sea fundamental la acción catalizadora de elementos o compuestos inorgánicos en numerosas reacciones orgánicas de gran interés industrial o bioquímico, y ni siquiera la consideración de que casi todas las reacciones sensibles y específicas del análisis cuantitativo,

la mayor parte de las determinaciones espectrofotométricas y un buen número de volumetrías que utiliza el analista cuantitativo se fundan en la formación de compuestos de coordinación y, en fin, que las técnicas extractivas de destacado interés industrial o analítico se basan también en la formación de complejos con ligandos orgánicos.

En el ámbito de la Química de coordinación tienen cabida todas las técnicas instrumentales establecidas para la determinación de estructuras con sus correspondientes interpretaciones teóricas, habiendo contribuido sustancialmente al desarrollo de algunas como, por ejemplo, los espectros electrónicos, espectroscopía infrarroja de baja frecuencia y resonancia de spin electrónico; las técnicas para determinación de configuraciones absolutas; los métodos para el estudio del curso y cinética de reacciones rápidas; todos los procedimientos para el estudio de los equilibrios iónicos en disolución y determinación de constantes de formación y de disociación; los conceptos de impedimento estérico, efectos inductivos, de conjugación, etc., y las teorías de enlace a las cuales ha prestado una ayuda fundamental con su teoría del campo de ligandos.

Esto significa que la Química de coordinación puede prestar, y de hecho así lo hace, una valiosa ayuda en la resolución de problemas químicos de índole muy diversa que pertenecen a campos de especialización diferentes. A continuación expondremos algunas ideas acerca de su significado en la Química biológica y Química médica, pero igual podría decirse en procesos industriales extractivos o de síntesis orgánica o en la Química analítica, tema sobre el cual pronuncié una conferencia hace pocos años en la Real Sociedad Española de Física y Química.

### I. *Los iones metálicos y sus complejos en los sistemas biológicos*

En todos los organismos superiores animales o vegetales, e incluso en microorganismos, se ha podido ir detectando la presencia de iones metálicos por técnicas convencionales o por espectroscopía de emisión y absorción atómica. Algunos de ellos, que corresponden a elementos de los grupos IA y IIA, de escasas o nulas propiedades complejantes (Na, K, Ca, Mg), en proporción mucho más

elevada que otros pertenecientes a elementos de transición y, por lo tanto, típicos formadores de complejos (Fe, Mn, Co, Zn, Cu, Mo, V), los cuales se integran en el grupo de los denominados oligoelementos. Unos y otros desempeñan en los organismos funciones bioquímicas de un gran significado, y para los oligoelementos pronto se pudo comprobar que su ausencia en los suelos y medios nutritivos o en el forraje ocasiona la aparición de enfermedades carenciales en plantas y animales.

Por otra parte, es bien conocido que en los organismos vivos existen con gran profusión moléculas orgánicas, constituyentes del propio organismo o formadas en procesos metabólicos (aminoácidos, proteínas, hidroxiácidos, cetoácidos, etc.), con átomos dadores de O, N y S en disposición espacial apropiada para que puedan originar con el metal complejos quelatados con anillos de cinco o seis elementos. Al encontrarse distribuidos los cationes metálicos y los ligandos en un medio acuoso con unas condiciones favorables de pH; no excesivamente ácido ni alcalino, se comprende que se pueden originar en los organismos numerosos compuestos de coordinación, estableciéndose equilibrios competitivos de extrema complejidad, entre un ion metálico y varios ligandos o viceversa, que dependen de factores termodinámicos y cinéticos.

Algunos de los compuestos de coordinación presentes en los organismos vivos son muy estables y han podido ser aislados en suficiente grado de pureza como para poder determinar con exactitud sus estructuras y sus características espectroscópicas y magnéticas, con lo cual se ha conseguido asentar el mecanismo de sus funciones fisiológicas en una base rigurosamente científica (hemoglobina, vitamina B 12 y, en general, gran número de metaloenzimas). Sin embargo, muchos de los complejos que se forman son poco estables o muy lábiles y no se han podido aislar, aunque su existencia es demostrable por métodos indirectos, tales como la activación de un proceso biológico específico por iones metálicos o su inhibición por sustracción del metal. Especialmente fructífero se ha mostrado el estudio de reacciones biológicas con modelos moleculares que tratan de imitar en el laboratorio el proceso bioquímico, como los ya clásicos trabajos de Calvin y su escuela sobre quelatos de Co (II) de histidina y saliciladimina que se comportan como transportadores de oxígeno, realizando funciones análogas a las que ejerce la hemoglo-

bina en la respiración de los seres superiores (17). La gran complejidad estructural de los compuestos de coordinación biológicos, ya que en muchos casos intervienen proteínas como ligandos, hace que estos estudios se realicen con moléculas orgánicas sencillas, pero capaces de formar con el metal un complejo cuyo centro activo, es decir, su «microsimetría local» sea análoga al del producto natural, procedimiento que recuerda a la variación estructural disyuntiva de los medicamentos que mencionaba el Dr. Madroñero en su discurso de ingreso en esta Academia (18). Se complementan estos estudios con otros llevados a cabo para un mejor conocimiento de la Química de coordinación de ligandos orgánicos que ofrecen interés biológico, o con sus modelos moleculares más sencillos, y de aquellos oligoelementos de características complejantes menos conocidas, como son, por ejemplo, molibdeno y vanadio.

Son muy variadas las funciones bioquímicas que se pueden atribuir a los oligoelementos y a sus compuestos de coordinación con la rigurosa certeza de hechos experimentalmente comprobados, y por ello vamos a limitarnos a unos cuantos ejemplos en sus aspectos más importantes, como catalizadores de reacciones biológicas, transportadores de oxígeno, activadores y fijadores del nitrógeno atmosférico y transportadores electrónicos.

## II. *Acciones catalíticas de los iones metálicos en reacciones biológicas*

Son bastante numerosas y de índole muy diversa las reacciones orgánicas que requieren para su iniciación y propagación la presencia de iones metálicos o de sus complejos, pero en líneas generales se pueden agrupar en tres apartados: reacciones ácido-basé, de transferencia electrónica y de polimerización. Las dos primeras poseen gran significado biológico por corresponder a reacciones que se verifican en los organismos vivos, mientras que la acción catalítica que ejercen los complejos de metales de transición en bajo estado de oxidación, los denominados «ácidos blandos» en polimerizaciones de olefinas y acetileno, adquieren importancia en procesos industriales de síntesis orgánicas (19).

Las intensas investigaciones llevadas a cabo en estos últimos años

han permitido adquirir un cierto conocimiento de las funciones que realizan los iones metálicos en los procesos catalíticos y de su intervención en el mecanismo de la reacción.

La característica más obvia de un catión metálico es su carga positiva, que le confiere carácter de ácido de Lewis, y por eso se pensó en un principio que su acción catalítica en las reacciones ácido-base debería corresponder al tipo general de catálisis ácida. Sin que haya que desechar en todos los casos esta versión tan simple, la verdad es que la analogía entre un ion metálico de transición y el protón no va mucho más lejos de que ambos poseen carga positiva con elevada densidad de carga, lo que condiciona su solvolisis por el disolvente, mientras que sus diferencias son múltiples. En primer lugar, para los cationes metálicos hay que considerar una carga nuclear efectiva en función del apantallamiento que ejercen sus electrones, pero además, si son cationes de transición pueden presentar varios estados de oxidación y, lo que es más importante, se pueden unir simultáneamente a varios ligandos, sean reactantes o moléculas del disolvente, formando un complejo que hace disminuir la energía de activación en los procesos de catálisis homogénea (20).

Un aspecto importante a considerar en el mecanismo de la acción catalítica de los iones metálicos en las reacciones de hidrólisis es su posible unión al sustrato formando un compuesto de coordinación, pues en este caso, el más frecuente por cierto, la carga positiva del ion se distribuye por todo el complejo, de acuerdo con el principio de electronutralidad de Pauling, en función de la electronegatividad de los átomos que integran el ligando. Al mismo tiempo se puede producir un flujo de electrones del ligando hacia los orbitales *d* vacíos del metal de transición en un enlace *pi* de «donación por retroceso». Si los ligando son moléculas orgánicas, la conjunción de ambos efectos trae por consecuencia que se puede hacer más positivo un átomo de carbono, facilitando el ataque de un reactivo nucleófilo.

La acción catalítica de los oligoelementos metálicos en procesos biológicos se manifiesta en ese terreno plantado de incógnitas de las reacciones enzimáticas, que de especulativo en un principio se ha ido transformando en más riguroso conforme se han podido ir aislando enzimas y determinado sus estructuras.

Una gran número de reacciones biológicas se producen por la acción catalítica que ejercen enzimas que son de por sí compuestos

de coordinación estables de un metal de transición y de composición definida, por lo que se han podido aislar y establecer sus características estructurales, espectroscópicas y magnéticas. Son las denominadas metaloenzimas. Otras reacciones se verifican por mediación de unas enzimas en cuya composición no intervienen iones metálicos, pero que requieren la presencia de éstos para alcanzar su máxima actividad catalítica. También para este caso se acepta que la enzima se coordina al metal, pero dado que los complejos así formados son lábiles desde el punto de vista cinético o poco estables termodinámicamente no se pueden aislar y hay que deducir su formación por métodos indirectos, tales como la inhibición o activación del proceso enzimático por sustracción o adición, respectivamente del ion metálico y por alguno más directo, como la resonancia de spin electrónico.

En cualquier caso el metal constituye el centro activo del enzima, y buena prueba de ello es que su eliminación, por dialisis, o secuestración con reactivos complejantes, disminuye e incluso anula la actividad enzimática. Problema ya más arduo es obtener una información del modo de acción del enzima, del mecanismo de la reacción y del papel que juega el ion metálico. Una ayuda muy poderosa se ha encontrado en los estudios cinéticos llevados a cabo en reacciones no enzimáticas, catalizadas por iones metálicos, sobre sustratos biológicos o con sus modelos moleculares más sencillos. Como veremos más adelante, en casi todos los casos se ha podido comprobar que se forma un complejo del metal con el sustrato que favorece el ataque del reactivo. Otras veces es un producto intermediario o final de la reacción el que se coordina al metal desplazando los equilibrios. No obstante, constituye muchas veces una hipótesis muy aventurada el tratar de hacer extensivo al proceso biológico los mecanismos de reacción encontrados en las reacciones no enzimáticas. Un motivo perceptible es que en estas últimas el catión metálico se encuentra en forma de acuó complejo lábil, en el que es fácil sustituir el agua por ligandos del sustrato, mientras que en las reacciones enzimáticas el metal se une, y a veces muy firmemente, a átomos dadores del enzima, aunque esto no excluye que el metal se pueda unir también al sustrato, si en el complejo metal-enzima no están ocupadas las posiciones de coordinación máxima del metal, o si uno

de los ligandos de la metaloenzima se puede reemplazar por otros del sustrato.

La diferencia más acusada entre reacciones enzimáticas y no enzimáticas proviene de la intervención en el proceso, aunque sea de una forma indirecta, de la parte proteica de la metaloenzima, la cual da lugar a una disposición espacial del centro activo que gobierna su especificidad para un número limitado de sustratos, y si bien es verdad que es el metal quien impone su estereoquímica, ésta se modifica por la influencia de la conformación de la proteína, resultando que en la mayor parte de las metaloenzimas la simetría del centro activo no es regular. Pero además, Valle y Williams (21) opinan que en las reacciones hidrolíticas intervienen directamente algunos grupos de la fracción proteica desempeñando un papel importante en la distribución electrónica del estado de transición. Dado que los iones metálicos se enlazan a grupos básicos de las proteínas, en el sitio activo de la metaloenzima se encuentran muy próximos grupos nucleófilos y electrófilos, produciéndose simultáneamente un ataque básico y ácido del sustrato, respectivamente, en lo que han denominado «mecanismo de acción concertada». Esto exige que la unión del metal sea muy intensa con algunos grupos de la enzima y débil con otros, por cuyo motivo los iones metálicos que forman complejos de gran estabilidad, como el ion  $\text{Cu (II)}$ , anulan la actividad enzimática.

En el contexto de las ideas expuestas parecía lógico considerar, y sobre todo para las reacciones no enzimáticas, que cuanto más intensa fuese la unión del metal al sustrato, con más facilidad se produciría la rotura de enlaces en éste facilitando la reacción. Para muchas reacciones, enzimáticas y no enzimáticas, se ha podido comprobar, efectivamente, que el orden de actividad catalítica de los iones metálicos es el mismo que el de estabilidad de sus complejos, de acuerdo con la serie de Irving-Williams. Por este motivo la determinación de constantes de estabilidad de complejos formados con ligandos fisiológicos, o sus modelos moleculares, y metales de transición constituyó durante cierto tiempo la temática más frecuente de investigaciones en el campo de la química de coordinación biológica.

Sobresapasadas las fases termodinámicas y cinéticas y encontrándose en plena era estructural, las investigaciones más recientes se han centrado en el conocimiento de las estructuras de metaloenzimas ais-

lables y en las conformaciones y configuraciones absolutas de complejos con ligandos biológicos o de modelos moleculares más sencillos (16, 23). Se trata de resolver con ello uno de los problemas más interesantes para la química de coordinación biológica: la estereoselectividad específica de algunas enzimas para determinados sus tratos.

Aunque estamos aún lejos de conseguir estos objetivos, ya se puede afirmar que un factor determinante en la especificidad observada para muchas reacciones enzimáticas es la estructura en la esfera de coordinación, es decir, en el conjunto formado por el átomo metálico y los átomos dadores, así como en la disposición espacial y conformación que adquieren los ligandos de la enzima o del sustrato al coordinarse al metal.

En principio, se puede considerar que la difracción con rayos X es la técnica más apropiada para obtener esta información estructural, aunque presenta dificultades no sólo de estado físico apropiado, purificación e inestabilidad *in vitro* del producto, sino además aquellas otras que provienen de la gran complejidad molecular de la parte proteica de la metaloenzima, lo que impide una resolución eficaz del centro activo. Se han conseguido resultados muy notables empleando métodos de diagnóstico estructural basados en conceptos típicos de la química de coordinación y entre ellos la variación de las constantes de estabilidad del complejo apoenzima-metal y las modificaciones en las velocidades de reacción del apoenzima, con el conjunto de iones divalentes que integran la serie de Irvin-Williams.

Pero quizás los resultados más espectaculares se han conseguido estudiando las propiedades espectroscópicas y magnéticas de las metaloenzimas que contienen un ion de transición, como por ejemplo, la hemoglobina, y comparando estos resultados con los obtenidos en complejos bien definidos de este ion con ligandos que posee diferentes átomos dadores y que dan origen a estructuras moleculares diversas. En especial han sido los espectros electrónicos en zona visible, bien sean de transferencia de carga o transiciones *d-d*, los que han permitido adquirir una valiosa información de la geometría del sitio activo y del tipo de átomo dador que se une al ion metálico.

Para aquellos casos en que el metal de la enzima no sea de transición (Ca, Mg, etc.) o posea orbitales *d* llenos (Zn, etc.) ha resul-



tado de una gran utilidad el estudio de las propiedades espectroscópicas y magnéticas de metaloenzimas sintéticas en las que se han sustituido sus iones metálicos propios por otros de transición con orbitales *d* incompletamente ocupados y sometidos, por lo tanto, al desdoblamiento energético del campo de ligandos. Destaca por su interés la sustitución del metal de la enzima por el ion Co (II), ya que la disposición e intensidad de las bandas de absorción en zona visible que producen los complejos cobaltosos permiten predecir su estructura. El ion Co (II) puede formar complejos de estructuras octaédrica y tetraédrica regulares, o con distorsiones tetragonal y pseudotetraédrica y, con menos frecuencia, de coordinación cinco y estereoquímica de bipirámide trigonal. En campo octaédrico y tetraédrico, los complejos cobaltosos originan dos transiciones *d-d*, que dan lugar a la aparición de dos bandas, una en zona visible y otra en infrarrojo, pero la primera más desplazada hacia mayores longitudes de onda en los complejos tetraédricos al ser menor el desdoblamiento energético de los orbitales *d* y además desdoblada como consecuencia del acoplamiento spin-órbita. Las distorsiones de la simetría regular provocan el desdoblamiento de la banda en zona visible e igual fenómeno se aprecia en los complejos de coordinación cinco y en ambos casos por pasar a una menor simetría. El aspecto más importante, sin embargo, es que la intensidad de la banda depende de la geometría del complejo, disminuyendo aquella con el aumento de simetría, y así sucede que para los complejos octaédricos el valor del coeficiente de absorción molar no sobrepasa de 50, mientras que para los tetraédricos puede alcanzar un valor de 1.000. Como, por otra parte, la posición de las bandas del espectro dependen también de los ligandos, desplazándose de acuerdo con la serie espectro-química, se comprende que el estudio espectroscópico de los complejos de Co (II) permita establecer con cierta seguridad su estructura y el tipo de ligandos que se unen al metal. Como veremos en seguida, la sustitución del Zn por el Co (II) en los enzimas carboxipeptidasa y carbónicoanhidrasa y el estudio espectroscópico posterior de las enzimas cobaltosas permitió deducir las características y estructuras del sitio activo en las enzimas naturales, antes de que se estableciese de una forma definitiva por difracción con rayos X.

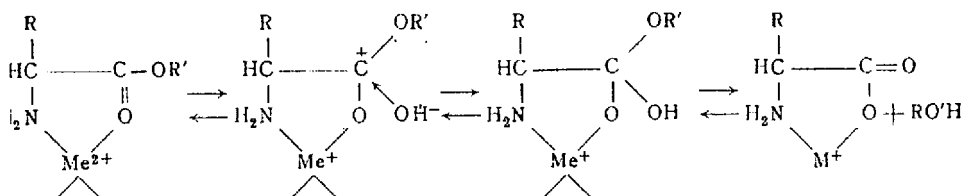
Como aclaración a los conceptos expuestos, mencionamos a

continuación algunos ejemplos característicos de reacciones de hidrólisis catalizadas por iones metálicos desde el doble punto de vista de considerar los sustratos y las metaloenzimas causantes de la reacción.

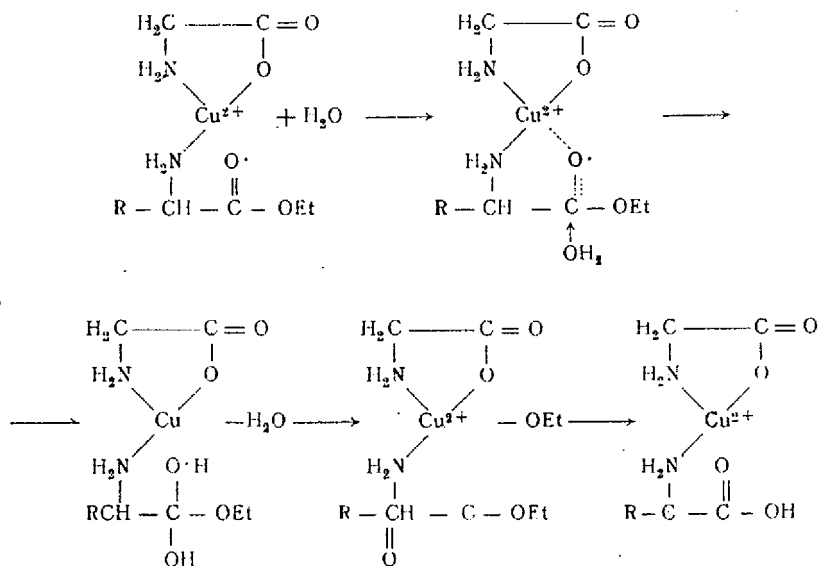
### II.1. Hidrólisis de ésteres y amidas de aminoácidos.

Son muy numerosos los estudios cinéticos realizados en reacciones enzimáticas con el fin de dilucidar el efecto catalítico de los iones metálicos en la hidrólisis de ésteres y amidas de aminoácidos y el mecanismo de la reacción.

En la hidrólisis de ésteres metílicos y etílicos de glicola y fenilalanina se ha podido apreciar que el orden de actividad catalítica de los iones metálicos ensayados es el mismo que el de su tendencia complejante. Se observa también que la velocidad de hidrólisis es máxima con relación 1:1 de metal a sustrato y entre pH 7, 5 a 8,5, zona en la cual se desprotona el éster y queda apto para coordinarse al metal. Comparados en otros ensayos la actividad catalítica del ion Cu (II) con la que ejercen los iones OH y H, extrapolados a pH 7, resulta superior en un factor de  $10^6$ . Estos hechos han llevado a postular un mecanismo de reacción en el que se forma un complejo intermediario con el ion metálico que favorece el ataque directo de un ion hidróxilo al átomo de carbono del grupo carbonílico (23, 24, 25):



Para la hidrólisis del éster etílico de la fenilalanina marcado con oxígeno-18, en reacción no enzimática catalizada con Cu (II), se ha propuesto (26) un mecanismo de reacción en el que una molécula de  $\text{H}_2\text{O}$  ataca a un átomo de carbono que se ha hecho más positivo a causa de la formación de un complejo cúprico intermedio:



En las reacciones no enzimáticas de hidrólisis de amidas de aminoácidos se observa también un aumento de la actividad catalítica de los iones metálicos en el mismo orden de estabilidad de sus complejos, pero para este caso el efecto catalítico es poco manifiesto y la velocidad de reacción es mucho menor que en presencia de un enzima.

La rotura del enlace peptídico ofrece un gran interés para una mejor comprensión de la intervención de los metales en las reacciones enzimáticas, ya que constituye un buen ejemplo del diferente comportamiento de los iones metálicos para un mismo tipo de reacción e idéntico sustrato en presencia o en ausencia de enzimas. En las reacciones no enzimáticas practicadas sobre sustratos muy sencillos, como la glicil-glicocola, apenas se aprecia una acción catalítica de los iones metálicos. La causa pudiera ser que el sustrato actúa como ligando tridentado por un grupo  $-\text{NH}_2$ , otro  $-\text{COOH}$  y un  $\text{NH}$ , o bien el  $\text{C}=\text{O}$  formando un complejo con dos anillos quelato de una gran estabilidad.

Entre las enzimas que provocan la rotura de la unión peptídica merecen mencionarse las carboxipeptidasas A y B, que lo hacen en el enlace más próximo al carbono terminal. Son metaloenzimas com-

puestas de una simple cadena proteica de peso molecular 34.000 y con un átomo de cinc por molécula. La carboxipeptidasa A ataca preferentemente a sustratos con una cadena lateral aromática o alifática hidrofóbica en el carbono terminal, como la carboxipeptidasa B prefiere una cadena lateral cargada positivamente, tal como la hipuril-l-arginina. Como la composición de ambas enzimas es muy análoga, con pequeñas diferencias en la parte proteica, se destaca con este ejemplo el hecho que la especificidad de ciertas metaloenzimas para determinados sustratos radica fundamentalmente en el conjunto estructural de toda la macromolécula.

Además de su actividad peptidasa estas enzimas catalizan la hidrólisis de los ésteres. En las numerosas reacciones enzimáticas practicadas con ellas ha quedado bien patente que para ejercer su acción peptidasa o esterasa requieren la presencia de un ion metálico. Si se compleja el cinc de la enzima nativa con o-fenantrolina pierde su actividad, que la vuelve a recuperar al incorporar de nuevo iones cinc (27). También se consigue su activación con Co(II); Ni(II), Mn(II) y Fe(II) y en especial el primero mostrando la enzima cobaltosa unas características muy semejantes al enzima natural e incluso superior actividad peptidasa. Es interesante consignar que la sustitución del cinc por Cu(II) inactiva al enzima tanto en su acción peptidasa como esterasa, mientras que la incorporación de iones Hg(II), Cd(II), Pb(II) a la enzima inactiva la hace recuperar su actividad esterasa, pero no la peptidasa. Algunos de estos hechos son comprensibles si se tienen en cuenta conceptos de la química de coordinación. Las analogías cinéticas entre la enzima natural cincica y la cobaltosa encuentran paralelismo en una semejanza estructural para los complejos de ambos elementos (con preferencia tetraédricos u octaédricos) y en idéntica afinidad para los átomos dadores (oxígeno y nitrógeno) al ser ambos aceptores *a*, con todo el significado que actualmente se confiere al carácter aceptor *a*, «duro», o *b*, «blando», en la termodinámica de formación de los complejos y en la cinética de los desplazamientos nucleófilos (28, 29, 30, 31). Las marcadas diferencias que se acusan al sustituir el cinc por Cu(II), Hg(II) y Pb(II) se comprenden al considerar el carácter aceptor *b* de estos últimos y su diferente estereoquímica.

Más difícil de justificar parece el caso del Cd(II), dadas las ana-

logías en muchos aspectos, incluso estructurales, que presentan las combinaciones de cinc y cadmio, pero hay que tener en cuenta el mayor carácter aceptor *b* de este último (polarizabilidad del Cd (II) 1,8 Å<sup>3</sup>, mientras que la del Zn (II) es 0,8 Å<sup>3</sup>) y que en una proteína como la que compone la carboxipeptidasa existen átomos dadores duros (oxígeno y nitrógeno) y blandos (azufre), por lo cual pueden coordinarse a distintos ligandos de la proteína.

La estructura del sitio activo del enzima se estableció en un principio por métodos indirectos, comparando las constantes de estabilidad de los complejos de la carboxipeptidasa con los iones Mn (II), Co (II), Cu (II), Zn (II) y Hg (II) con las que corresponden a complejos de estos mismos iones con ligandos bidentados que contienen como átomos dadores N-N (etilenodiamina), N-O (glicocola) y N-S (2-mercaptoetilamina). El análisis de estos datos permitió a Vallee y Williams (32) establecer la hipótesis que el Zn se une al enzima por átomos dadores de N y S, correspondiendo el primero a grupos imidazólicos. El color azul de la carboxipeptidasa cobaltosa y su espectro electrónico indujo a suponer que el sitio activo presenta estructura tetraédrica distorsionada.

En fecha más reciente se ha conseguido establecer el mapa de densidades electrónicas de la carboxipeptidasa A con resolución de 2, 0 Å (33). Se aprecian en él tres contactos del átomo de cinc con la proteína, identificándose los ligandos como restos de histidina-69, ácido glutámico-72 e histidina-196 (\*), con lo cual se descarta la supuesta coordinación a un átomo de azufre. El sitio activo del enzima, el centro catalítico, corresponde a una cavidad en la estructura de la proteína en la cual se sitúa el átomo de cinc, coordinado a los tres ligandos mencionados, con una estructura tetraédrica irregular ocupando la cuarta posición una molécula de agua fácilmente reemplazable por el sustrato. La coordinación del metal al grupo carbonilo del enlace peptídico facilita la rotura de este enlace por los reactivos nucleófilos, la cual viene favorecida por una interacciones secundarias del sustrato con el ácido glutámico-270 y tirosina-248 de la proteína. Queda como hecho indiscutible que son las características coordinativas y estructurales del átomo metálico la causa de-

---

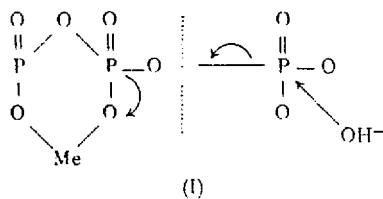
(\*) La numeración se refiere a la posición que ocupan en la secuencia de la cadena proteica, contada desde el nitrógeno terminal.

terminante principal en la acción catalítica de esta metaloenzima, interviniendo como factores que contribuyen a su especificidad la conformación del resto proteico y del propio sustrato.

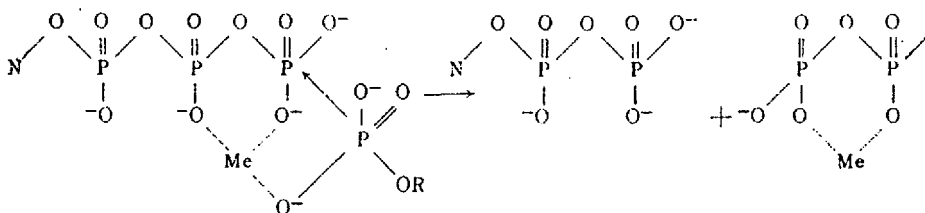
La carbónico anhidrasa es otro enzima que muestra actividad esterasa, aunque su principal acción catalítica se manifiesta en la hidratación del anhídrido carbónico,  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ , desempeñando un papel importante en el ajuste del balance ácido-base y en la función respiratoria. Se compone de una fracción proteica de peso molecular 30.000 conteniendo un átomo de Zn por molécula. La eliminación del átomo metálico por diálisis tiene por consecuencia la pérdida de su actividad, que vuelve a recuperar al sustituir el Zn por otros iones divalentes y en especial por el ion  $\text{Co}(\text{II})$ . Las características espectrales de la enzima cobaltosa permitieron predecir que la estructura del sitio activo es de baja simetría, pudiendo corresponder a un tetraedro distorsionado o una estructura pentacoordinada. Por difracción de rayos X se ha podido comprobar esta predicción, estando situado el centro activo de la enzima en el fondo de una profunda cavidad que forma la estructura proteica.

## II.2. Hidrólisis de ésteres fosfóricos.

Es un hecho conocido de antiguo que los fosfatos condensados, oligofosfatos y metafosfatos, forman complejos con los iones calcio y magnesio, habiéndose propuesto por ello para desendurecer las aguas. La hidrólisis y despolimerización consiguiente de estos compuestos, que tiene lugar a un pH adecuado, viene favorecida por la presencia de iones calcio y magnesio. El motivo es que, al formarse el complejo indicado (I), el metal provoca un desplazamiento electrónico que hace más positivo a un átomo de fósforo, facilitando el ataque del reactivo nucleófilo, el cual origina la escisión del enlace  $\text{P}-\text{O}-\text{P}$  más próximo al anillo quelato:



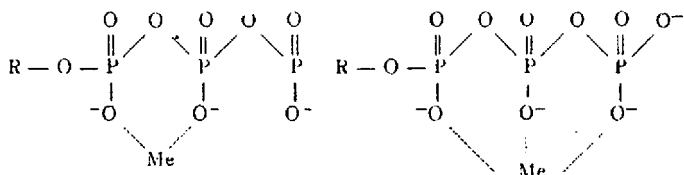
De una forma análoga, se puede conseguir la hidrólisis de ésteres fosfóricos y haluros de ácidos fosfóricos y fosfónicos en reacciones no enzimáticas y en presencia de iones calcio y magnesio. En el grupo de reacciones hidrolíticas de ésteres fosfóricos destaca por su importancia la escisión del ATP, ya que provee la energía necesaria para muchos procesos biológicos. Se ha conseguido efectuar por vía química esta hidrólisis, o transfosforilación, empleando como reactivo nucleófilo ion ortofosfato, o un ortofosfato monoéster, en presencia de iones calcio o magnesio (25). En el mecanismo propuesto se acepta como causa determinante de la reacción la formación de un quelato, al coordinarse simultáneamente el metal con átomos dadores de oxígeno del ATP y del reactivo atacante, lo que facilita la rotura del enlace P—O—P más próximo al anillo quelato:



El proceso enzimático de hidrólisis y transfosforilación del ATP requiere también la presencia de iones calcio magnesio o manganeso, sirviendo el átomo metálico como puente de unión de enzima y sustrato, ya que se coordina simultáneamente con átomos dadores de ambos, formando una especie de complejo mixto. El proceso enzimático es más específico que si se efectúa por vía química, puesto que en el primer caso el ATP no se coordina a un ion metálico libre, sino al complejo, previamente formado, metal-enzima, obligando con ello a que el nucleótido adopte una orientación espacial determinada.

Un aspecto interesante es que tanto la reacción enzimática como la no enzimática viene favorecida preferentemente por aquellos iones metálicos divalentes con escasa tendencia a la formación de complejos. Se ha supuesto, y de ello hay cierta confirmación experimental por resonancia nuclear magnética, que el ATP actúa como ligando bidentado frente a Ca (II) o Mn (II), mientras que con los iones de transición fuertemente complejantes se comporta como ligando tri-

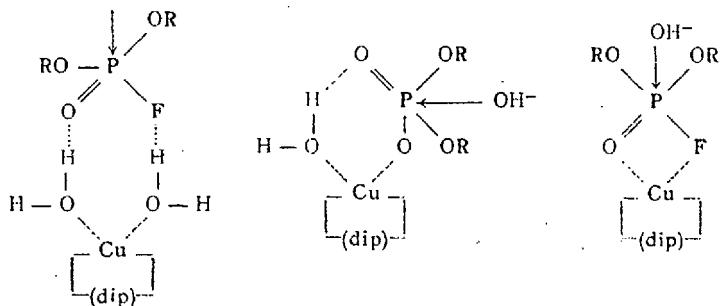
dentado y forma un quelato con dos anillos que estabiliza a todos los enlaces P—O—P porque son parte integrante del anillo quelato:



Dentro del tipo de reacciones que venimos comentando son de gran interés las hidrólisis del di-isopropilfluorofosfato (DFFP) y del isopropilmetilfosfonofluridato (Sarin). Ambos productos se emplean en la agricultura como pesticidas y ejercen una acción inhibitoria del enzima acetilcolinesterasa, que al provocar una acumulación anormal de acetilcolina llega a ocasionar efectos muy graves en el organismo humano.

Las investigaciones de Wagner-Jauregg, Courtney y Martell, entre otras (34), demuestran que la hidrólisis de estos ésteres fosfóricos se acelera notablemente en presencia de quelatos cúpricos y de algún otro metal de transición que cumplan las condiciones de poseer carga positiva y ser de estequiometría 1:1, lo que implica la existencia de posiciones de coordinación vacantes u ocupadas con moléculas de agua fácilmente reemplazables. Por el contrario, los quelatos neutros de relación 2:1 no ejercen ninguna acción catalítica. Como es habitual, se acepta la formación de un complejo mixto entre el quelato cúprico y el sustrato que favorece el ataque del reactivo nucleófilo.

En el caso del DFP se han propuesto tres estructuras diferentes para el complejo mixto que forma con el quelato cúprico de dipiridilo, pero en cualquier caso el grupo hidroxilo ataca directamente a un átomo de fósforo con carga positiva inducida:







compuesto orgánico fosforado por la influencia de un grupo nucleófilo que en el caso de la piridin-2-aldoxima es el grupo oxima. Se requiere, sin embargo, que el grupo nucleófilo posea una orientación espacial adecuada con respecto al centro esterásico del enzima para que pueda actuar directamente sobre el éster fosfórico localizado en esa posición. Por este motivo hemos realizado varios trabajos en el laboratorio de la cátedra sobre quelatos cúpricos de piridin-2-aldoxima y 6-metil-piridin-2-aldoxima, obteniendo diversos productos no descritos en la bibliografía, en los que se han determinado sus estructuras (37, 38). El impedimento estérico del grupo metilo hace que todos los complejos obtenidos con 6-metil-piridin-2-aldoxima sea de relación 1:1, de estructura cuadrada plana y con carga positiva, condiciones adecuadas como presuntos reactivadores de la acetilcolinesterasa inhibida. Posteriormente hemos efectuado estudios en disolución de los quelatos formados entre los iones Ni (II) y Co (II) con piridin-2-aldoxima y 6-metil-piridin-2-aldoxima (39), demostrando que en este caso se forman también complejos de estequiometría 1:1 con el metilderivado y catiónicos, que en la actualidad hemos conseguido aislar operando en medios no acuosos, los cuales han de ser más reactivos biológicamente que los quelatos de piridin-2-aldoxima, ya que éstos son de relación 2:1.

### III. *Activación del nitrógeno molecular*

En cualquier tratado elemental de Biología se describe, sin conceder una excesiva importancia, que ciertos microorganismos, aisladamente o en simbiosis con leguminosas, son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico transformándole en compuestos nitrogenados vitales para las células, y sin embargo creo que este hecho es el que más puede asombrar a un químico de entre todas las maravillas que le ofrece la biología. Acostumbrado a utilizar el nitrógeno como atmósfera inerte para operaciones que realiza en el laboratorio, por ser el elemento menos reactivo después de los gases inertes, y conociendo las condiciones drásticas de presión y temperatura con las que hay que operar para conseguir que reaccione con otros elementos, no puede dejar de admirarse que un microorganismo sea capaz de sintetizar amoníaco, y otros compuestos nitrogenados a presión

y temperatura ambiente. ¿Qué fuerzas operan en la naturaleza, se preguntaría, que permiten a un organismo no perceptible a simple vista realizar la misma función que una fábrica de abonos nitrogenados con todas las costosas instalaciones que requiere? Como tal químico empezaría a vislumbrar una contestación a esta interrogante cuando en 1965 Allen y Senoff (40) describen, por primera vez, la preparación de un complejo mixto de rutenio que contiene nitrógeno molecular como ligando  $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{N}_2)^{2+}$ , por reacción de  $\text{RuCl}_3$  con hidrato de hidrazina, y llegaría a adquirir una visión más clara al conseguir, años más tarde, Hoffman y Taube (41) obtener el mismo compuesto al hacer reaccionar un complejo de rutenio  $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{H}_2\text{O}))^{2+}$  con nitrógeno gas a presión atmosférica y observar que en su hidrólisis produce amoníaco. No debe extrañar que ante estos hechos experimentales llegase a la conclusión que en el proceso de fijación biológica del  $\text{N}_2$  la química de coordinación debe jugar un papel preponderante. Nuestro propósito al abordar este tema es tratar de demostrar que la conclusión del químico no era desacertada y que para la resolución de muchos problemas biológicos resulta muy útil una confirmación por vía exclusivamente química de unos supuestos químico-biológicos.

Entre los organismos que fijan y asimilan el nitrógeno atmosférico se incluyen bacterias aerobias, anaerobias y fotosintéticas, algas verdes, actinomices, levaduras y asociaciones simbióticas *Rhizobium*-leguminosas que forman nódulos en las raíces de estas plantas.

La mayor parte de las investigaciones que se han llevado a cabo para dilucidar el mecanismo de este proceso se han efectuado en extractos enzimáticos, desprovistos de células, aislados de la bacteria aerobia *Azobacter vinelandii* o de la anaerobia *Clostridium pasteurianum* y en algunos casos con extractos de nódulos de raíces de leguminosas. La actividad fijadora de nitrógeno se determina exponiendo estos extractos a la acción de un gas enriquecido en el isótopo N-15, siguiendo el curso del proceso por espectrometría de masas. Los resultados obtenidos hasta el momento han permitido establecer unas hipótesis razonables sobre el mecanismo de este proceso, basadas en hechos experimentales concluyentes, pero aún quedan algunas lagunas sin cubrir en especial respecto a las estructuras de las metaloenzimas que intervienen.

Para cada microorganismo se aprecian algunas diferencias en los

sistemas enzimáticos que participan en la fijación biológica del nitrógeno, pero como norma general todos ellos contienen una metaloenzima con un «sitio activo» que fijan el nitrógeno por coordinación al metal, una fuente de energía que activa el nitrógeno retenido y un sistema reductor y productor de hidrógeno que permita la transformación del nitrógeno en amoníaco. Teniendo en cuenta el objeto primordial del presente trabajo, consideramos suficiente concretar estos puntos a base de los resultados obtenidos con extractos enzimáticos de *Clostridium*, en los cuales se ha comprobado que son requisitos necesarios para la fijación del nitrógeno la presencia de piruvato, ferredoxina, ATP o ADP, adenosín trifosfatasa (ATP asa), fosfatos inorgánicos (pi), coenzima A (CoA), tiamina pirofosfato (TPP) y los iones metálicos magnesio, hierro y molibdeno.

La fuente de energía endógena se ha identificado, en todos los casos, con el ATP, el cual requiere ion magnesio y el enzima correspondiente para su consumo con producción de energía. La síntesis de este compuesto se efectúa a partir del anión piruvato por una serie de reacciones en que intervienen tiamina, pirofosfato, coenzima A, fosfatos inorgánicos y ADP (fig. 1).

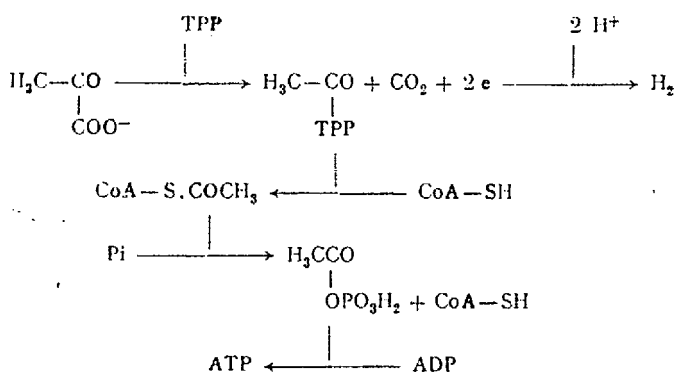
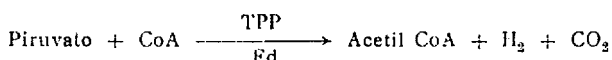


Fig. 1.

El sistema reductor y productor de hidrógeno se atribuye a la descarboxilación oxidante del piruvato (fig. 1), reacción que se acopla a la reducción y oxidación de una proteína no hema de hierro y azufre aislada por Mortensen (42) de extractos de *Clostridium* y a

la que se denomina ferredoxina. Esta proteína tiene un potencial redox muy próximo al del electrodo de hidrógeno y se puede reducir con los electrones cedidos por el anión piruvato. Actúa como intermediaria en la transferencia de los electrones cedidos por el anión piruvato a los hidrogeniones, pero para que se produzca el desprendimiento de hidrógeno se requiere además el concurso de una dehidrogenasa específica que acople la oxidación del piruvato a la reducción de la ferredoxina. La reacción global de producción de hidrógeno se puede formular en la forma siguiente:



Identificadas con su margen de seguridad suficiente la fuente de energía y el sistema productor de hidrógeno, sólo restaba conocer la metaloenzima que fija y activa el nitrógeno. La situación actual en este aspecto es muy especulativa y desprovista de una base experimental consistente. Se conoce con certeza la necesidad de hierro y molibdeno para el crecimiento de los microorganismos fijadores de nitrógeno molecular y la presencia de ambos elementos metálicos en estos organismos ha sido comprobada por Nicholas (43) empleando la técnica de resonancia de spin electrónico en virtud de la señal  $g$  1,94 para el hierro y  $g$  1,97 para el molibdeno. Por otra parte, tanto de los extractos de *Clostridium* (44) como de los de *Azotobacter* (45) se ha podido aislar una fracción proteica no hema de hierro (ferredoxina y análogos) y otra que contiene hierro, molibdeno y azufre. De esta última no se dispone de datos experimentales suficientes que permitan formarse una idea de su estructura, mientras que de la ferredoxina se conoce su peso molecular, la secuencia de aminoácidos y la estructura del sitio activo que lo integran siete átomos de hierro unidos por puentes de azufre de cisteína y de azufre inorgánico alternativamente (fig. 2):

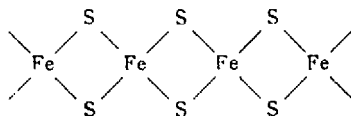


Fig. 2.

De las asociaciones simbióticas presentes en los nódulos de leguminosas se ha aislado, en atmósfera de hidrógeno, una hemoproteína de hierro, denominada ferrolegoglobina, que es capaz de retener el nitrógeno molecular. Este compuesto se oxida al aire y la ferrolegoglobina así formada da lugar preferentemente a complejos con el oxígeno molecular.

Con el fin de explicar el mecanismo de fijación del nitrógeno en la metaloenzima y su reducción posterior con el hidrógeno se han formulado varias teorías; precisamente por la falta de un conocimiento estructural más detallado del sitio activo del enzima a consecuencia de las dificultades que se presentan para su purificación. Todas las teorías coinciden en aceptar una coordinación previa del nitrógeno al metal ante el hecho de que ciertos compuestos gaseosos fuertemente complejantes como el monóxido de carbono y el óxido nítrico o los aniones cianuro y azida inhiben la fijación y asimilación posterior del nitrógeno. Difieren, sin embargo, en el tipo de enlace coordinado que une el nitrógeno al metal y en los compuestos intermediarios que se originan antes de alcanzar la fase de amoníaco (46). Así, por ejemplo, Abel (47) considera, para las asociaciones simbióticas, que se produce una coordinación del nitrógeno a

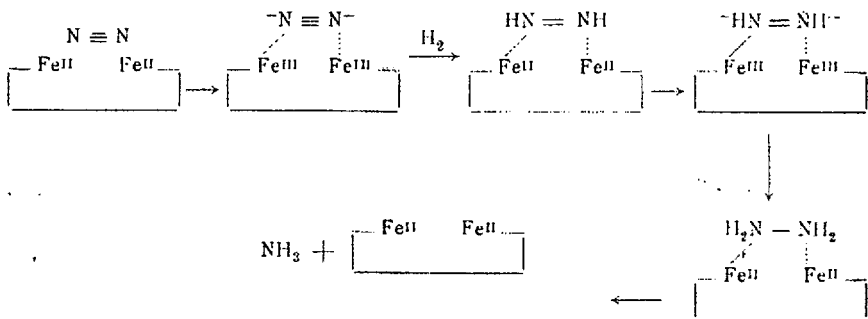


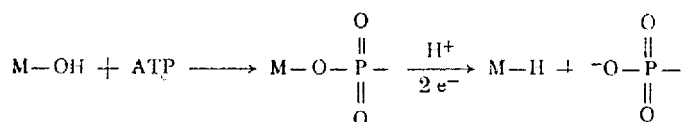
Fig. 3.

un sitio activo de la ferrolegoglobina que contiene dos átomos de hierro, seguida de unas hidrogenaciones que darían lugar a complejos de diimida e hidrazina antes de la reducción definitiva a amoníaco. La formación de estos compuestos intermediarios implican la transformación del triple enlace del nitrógeno en un enlace sencillo y a ello sería atribuible el aumento observado en la longitud de en-

lace de 1,09 Å en el nitrógeno molecular, a 1,47 Å para el complejo con la enzima (fig. 3).

En la hipótesis de Buler (48) se considera también una coordinación del nitrógeno a un sitio activo dinuclear del enzima, pero la diferencia estriba en que, además de los dos átomos de hierro, este sitio activo tendría un átomo de molibdeno que ejercería una transferencia electrónica, en analogía con lo que sucede en otras molibdoenzimas, provocando oxidaciones y reducciones reversibles de Fe (II) a Fe (III) y viceversa. Como compuestos intermediarios acepta, como también lo hace Abel, la formación de un complejo con el anión molecular  $N_2^-$ , el cual presenta una estabilidad moderada en presencia de iones metálicos (49), que se transformarían en otros de diimida e hidrazina y finalmente en amoníaco.

En el esquema más reciente propuesto por Hary (50) se supone que el sistema enzimático dispone de dos sitios activos que contienen hierro o molibdeno. Uno de ellos es un centro activador electrónico en el cual el hidrógeno producido, vía hidrogenasa y ferredoxina, es activado por intermedio del ATP y su enzima correspondiente, provocando la formación de un hidruro del metal:



El otro sitio activo tiene por objeto fijar el nitrógeno antes de su reducción por el hidruro metálico (fig. 4). Estos supuestos se

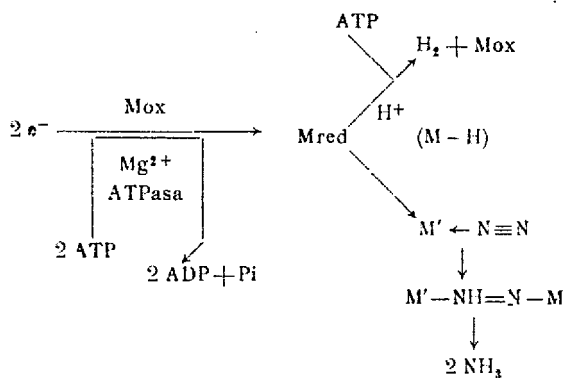


Fig. 4.

apoyan en el hecho observado que la presencia de agentes complejantes como  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{N}_3^-$  inhiben la fijación del nitrógeno, pero sigue actuando la cadena de transferencia electrónica con producción de hidrógeno.

Planteado, a grandes rasgos, el aspecto biológico de la fijación del nitrógeno molecular y su reducción a amoníaco, resulta interesante establecer una comparación con los recientes resultados obtenidos por vía química en la reacción del nitrógeno con organometálicos y en la formación de complejos con elementos de transición.

Volpin y Shur (51) describen por primera vez en 1964 la obtención de una serie de combinaciones de nitrógeno con haluros de metales de transición ( $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{CrCl}_3$ ,  $\text{MoCl}_5$ ,  $\text{WCl}_6$ ,  $\text{FeCl}_3$ ) u organometálicos ( $\text{V}(\text{aca})_2$ ,  $\text{Mn}(\text{acac})_3$ , etc.) que en su hidrólisis dan lugar a la producción de amoníaco. Para formar estas combinaciones es necesario operar con presiones de  $\text{N}_2$  de 90 a 150 atmósferas y en presencia de un sistema reductor ( $\text{AlR}_3$ ,  $\text{LiAlH}_4$ , etc.). Desde aquella fecha se han publicado numerosos trabajos en los que se modifica el método de obtención, se estudian las estructuras de los compuestos formados y el mecanismo de producción de amoníaco. Entre ellos destaca el de Tamelen y colaboradores (52), ya que abre nuevas rutas para una posible producción catalítica de amoníaco, al obtener este producto sin recurrir a la hidrólisis en un proceso cíclico redox de las especies  $\text{K}/\text{K}^-$ ;  $\text{Ti}(\text{II})/\text{Ti}(\text{IV})$  y  $\text{N}^{3-}/\text{N}_2$  (fig. 5):

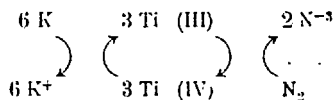


Fig. 5.

La fijación del nitrógeno a un hidruro de organometálico ha permitido establecer un modelo molecular semejante al sistema biológico de la nitrógeno reductasa (53). La producción de amoníaco se verifica por reacción de una sal de diazonio, que equivale al nitrógeno molecular coordinado a un sitio activo del enzima, con un hidruro metálico que representa el centro productor y activador de hidrógeno del sistema enzimático en el esquema propuesto por Hardy (fig. 6).



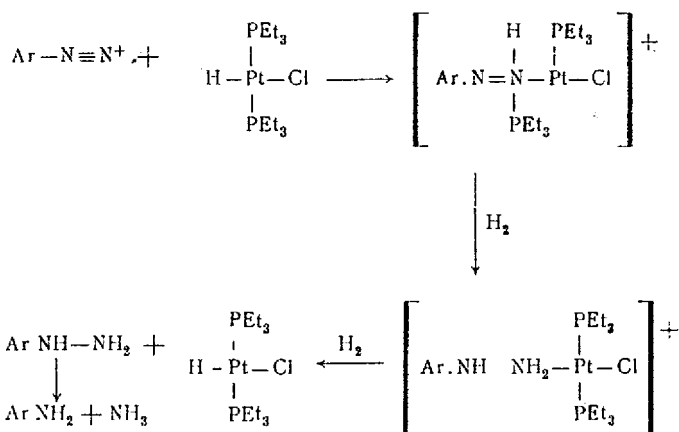


Fig. 6.

La reactividad del nitrógeno manifestada frente a organometálicos produce un impacto en los medios científicos, semejante al que provocaría por esas mismas fechas la obtención del hexafluoroplatinato de xenón, ante unos hechos experimentales que destruyen un dogma químico tradicional: la escasa o nula reactividad del nitrógeno molecular y de los gases inertes. Con relación a ambos temas se ha producido, en un corto plazo, una aportación masiva de trabajos procedentes de aquellos laboratorios de investigación que por disponer de medios instrumentales de actualidad y de personal entrenado les permite abordar inmediatamente, sin dilaciones de adquisición, montaje y preparación, otro tema de investigación que no forme parte de su línea habitual de actuación.

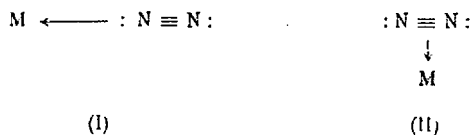
Al año siguiente de publicado el trabajo de Volpin y Shur se inicia un nuevo campo de actuación en los trabajos sobre reactividad del nitrógeno al obtener Allen y Senoff (40) el primer compuesto de coordinación  $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{N}_2)^{2+}$ , con nitrógeno molecular como ligando. El tema ofrece gran interés, ya que el monóxido de carbono, aunque es isoelectrónico con el nitrógeno molecular, presenta, por el contrario, una gran reactividad y da lugar a numerosos complejos simples, conocidos ya de antiguo, los carbonilos, y a otros mixtos, de obtención más reciente, como los hidruro-carbonilos, ciclo-pentadienos-carbonilos, etc. Aunque la configuración electrónica de

las moléculas de  $N_2$  y CO sea idéntica y se puedan describir ambas por una hibridación  $sp$  o con el mismo esquema de niveles energéticos en la teoría de orbitales moleculares ( $\pi^2 \pi^2 \sigma^2$ ), la polaridad del enlace de la molécula CO ( $:C \equiv O:$ ) ocasiona que el par de electrones no compartidos sobre el átomo de carbono se pueda ceder con más facilidad a orbitales  $d$  vacíos de un metal de transición que el correspondiente par electrónico sobre el átomo de nitrógeno del  $N_2$  ( $:N \equiv N:$ ) (54, 55, 56).

Al ser menor dador electrónico, la molécula de  $N_2$  será también más débil aceptor de electrones y, en consecuencia, la unión al metal en sus complejos ha de ser mucho menos intensa que en los carbonilos. Sin embargo, también puede recibir electrones del metal en sus orbitales moleculares  $\pi$  antienlazantes vacíos, lo que trae por consecuencia una menor estabilidad de la molécula del  $N_2$  al ser menor el orden de enlace. Este hecho permite explicar la mayor reactividad de la molécula de  $N_2$  cuando se coordina a un metal y su posible transformación en amoníaco, por acción de agentes reductores. La confirmación experimental de este supuesto se funda en que al ser menor el orden de enlace del  $N_2$  coordinado en comparación con la molécula libre, será menor la longitud de enlace N-N y la frecuencia de tensión  $\nu$  (N-N). La difracción con rayos X del complejo  $(Ru(N_3H)_3N_2)^{2+}$  da un valor para la longitud de enlace N-N de 1,12 Å (57) cuando para la molécula de nitrógeno es de 1,09 Å y en el espectro infrarrojo se registra una banda a  $2.100\text{ cm}^{-1}$  de la tensión del enlace  $\nu$  ( $N \equiv N$ ) que para el nitrógeno molecular se presenta a  $2.331\text{ cm}^{-1}$ .

La unión más débil del  $N_2$  al metal en comparación con el CO se manifiesta en una mayor longitud de enlace metal-átomo dador para los complejos de nitrógeno molecular respecto a los carbonilos. Así, por ejemplo, en un estudio estructural con difracción de rayos X (58) realizado en los complejos clorodinitrogen tetrakis (dimetilfenil fosfina) renio (I)  $(ReClN_2(P(CH_3)_2C_6H_5)_4)$  obtenido por Chatt (59), la distancia Re-N es de 1,97 Å cuando en el carbonilo correspondiente  $(ReClCO(P(CH_3)_2C_6H_5)_4)$  la longitud de enlace Re-C es de 1,66 Å. Los datos proporcionados por los espectros infrarrojos y difracción de rayos X en los complejos de nitrógeno conocidos indican que la molécula de  $N_2$  se une al metal en una disposición lineal (I), en lugar de enlazarse simétricamente (II) por su densidad

electrónica pi tal como lo hacen los complejos olefinicos y acetilénicos:



Los complejos con nitrógeno molecular obtenidos hasta la fecha corresponden a metales de transición en bajos estados de oxidación y con elevada densidad en los orbitales *d*, lo que permite que tenga lugar la donación por retroceso que hemos comentado. Entre ellos, los más interesantes son los complejos catiónicos mixtos con amoníaco y nitrógeno de Ru (II),  $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{N}_2)^{2+}$ , y Os (II),  $(\text{Os}(\text{NH}_3)_5\text{N}_2)^{2+}$ , y otros sin carga de fosfinas y nitrógeno con Ir (I),  $(\text{Ir}(\text{PPh}_3)_2\text{N}_2\text{Cl})$ ; Rh (I),  $(\text{Rh}(\text{PPh}_3)_2\text{N}_2\text{Cl})$ ; Re (I),  $(\text{Re}(\text{P}(\text{CH}_3)_2\text{Ph}_4\text{N}_2\text{Cl}))$  y Co (0),  $(\text{Co}(\text{PPh}_3)_3\text{N}_2)$ ,  $(\text{Co}(\text{PPh}_3)_2\text{N}_2\text{H})$ . Se han obtenido también complejos de Os con dos moléculas de  $\text{N}_2$  como ligandos  $(\text{Os}(\text{NH}_3)_4(\text{N}_2)_2)\text{X}_2$  (61) y algunos que contienen una molécula de  $\text{N}_2$  como ligando puente entre dos átomos de rutenio  $((\text{NH}_3)_5\text{Ru}(\text{N}_2)\text{Ru}(\text{NH}_3)_5)^{+1}$  (62) o de níquel  $((\text{C}_6\text{H}_{11})_3\text{Ni}(\text{N}_2)\text{Ni}(\text{C}_6\text{H}_{11})_3)_2$  (63).

Los métodos de preparación utilizados en un principio por Allen partían de hidrato de hidrazina o de ázida sódica como fuente productora de nitrógeno. Posteriormente Chatt y Ferguson (60) modifican el método consiguiendo los mismos complejos por reducción con cinc en medio amoniacal anhidro y al final se han podido preparar varios complejos por reacción con nitrógeno molecular a presión atmosférica (40, 62, 63, 64, 65).

La mayor reactividad del nitrógeno coordinado en relación con el nitrógeno molecular gaseoso se ha podido comprobar por vía química, ya que en la hidrólisis o en la reducción con borohidruro de estos complejos se desprende amoníaco, hecho que, aparte de las posibilidades que ofrece para interpretar el mecanismo de fijación biológica del nitrógeno, despierta interés en el terreno industrial, junto con el tema análogo de adsorción en superficies metálicas (46), para la posible obtención catalítica del amoníaco (66, 67).

IV. *Activación y transporte del oxígeno molecular*

En analogía a lo que acabamos de indicar para el caso del nitrógeno, se han podido identificar metaloenzimas que coordinan como ligando al oxígeno molecular. Un grupo de estas enzimas, denominadas oxigenasas, contienen como átomo central Cu (I) o Fe (II) y catalizan el ataque directo del sustrato por el oxígeno molecular coordinado, el cual presenta mayor reactividad que la molécula de  $O_2$  en estado gaseoso como consecuencia del cambio de configuración que provoca su unión al átomo metálico. Aunque la estructura de esta enzima y su mecanismo de acción no se conoce con detalle (68), se ha podido comprobar por experiencias con el isótopo  $^{18}O$ , que en presencia de ellas se verifica una incorporación al sustrato del oxígeno molecular (fig. 7):

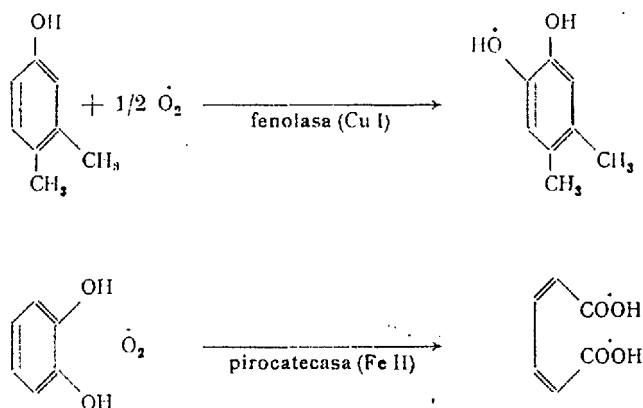


Fig. 7.

En fecha muy reciente se ha estudiado un modelo molecular que permite deducir, por los espectros infrarrojos, la mayor reactividad del oxígeno molecular coordinado frente al  $SO_2$  que el oxígeno gaseoso (69). Al hacer reaccionar con  $SO_2$  los complejos oxigenados  $(Pt(PPh_3)_2O_2)$  y  $(Ir(PPh_3)_2CO(O_2)X)$  ( $X = Cl^-, Br, I$ ) se transforman, a temperatura ambiente, en complejos con sulfato coordi-

nado, lo que detecta fácilmente el espectro infrarrojo por la aparición de las bandas características de este anión (fig. 8):

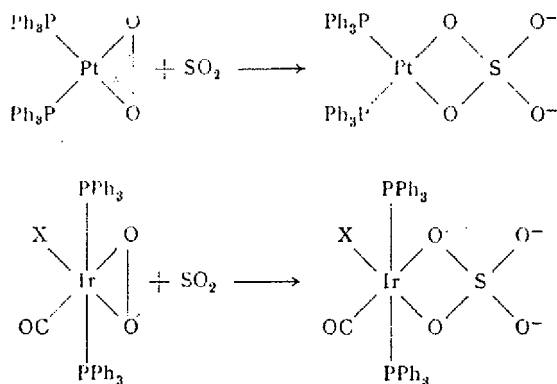


Fig. 8.

El aspecto más importante de los compuestos de coordinación con oxígeno molecular como ligando es que algunos de ellos desempeñan en los organismos vivos el importante papel de transportadores de oxígeno en la función respiratoria, lo que implica que son capaces de ceder con facilidad la molécula de oxígeno coordinada aceptándola el compuesto desoxigenado. Esta fijación reversible de  $\text{O}_2$  no produce cambios en el estado de oxidación del átomo metálico, a pesar de ser éste un elemento de transición de valencia variable, ni oxidaciones del sustrato que se deben a una reactividad exaltada del oxígeno coordinado, indicando con ello que el proceso es muy diferente al que hemos descrito de fijación y activación para el nitrógeno molecular.

El grupo más importante de transportadores de oxígeno biológicos lo integran hemoproteínas, tales como la hemoglobina, pigmento respiratorio de la sangre; la mioglobina, que fija y almacena el oxígeno en los músculos, y la clorocruína, presente en algunos gusanos. En los seres inferiores son frecuentes pigmentos respiratorios no hemas, constituidos por una proteína unida directamente a un metal, y así en algunos gusanos y branquiópodos la función transportadora de  $\text{O}_2$  se realiza con una proteína de  $\text{Fe}(\text{II})$ ; la hemeritrina, en moluscos, artrópodos y crustáceos con la hemociani-

na, proteína de Cu(I), y en los tunicatos una proteína de vanadio denominada hemovanadina.

La hemoglobina y mioglobina constituyen una de las macromoléculas biológicas que han sido mejor estudiadas, empleando para ello las técnicas instrumentales de espectros electrónicos, medidas de susceptibilidades magnéticas, resonancia de spin electrónico, espectroscopía Mosbauer y difracción de rayos X, habiéndose publicado cientos de trabajos sobre el tema, aunque sólo vamos a dar cuenta de aquellos resultados más relacionados con los conceptos de la química de coordinación que hacen ver la importancia de estos últimos en la resolución de la serie de problemas que plantean los enlaces y estructuras de estas moléculas. Uno de los más fundamentales, entre ellos, es el tipo de enlace que une el átomo metálico a la molécula de O<sub>2</sub>, con pérdida del paramagnetismo de esta última y la disposición estructural del centro activo, ya que su solución permitiría establecer esa tan buscada relación estructura-función que persigue la química biológica molecular porque sólo en ella se pueden encontrar las soluciones convincentes a las incógnitas planteadas que para este caso es fundamentalmente la donación y aceptación reversible de oxígeno. La dificultad estriba en que el centro activo de la mioglobina y hemoglobina, la protohema IX, es un complejo porfirínico de Fe(II) de estructura cuadrado plana, el cual se une a una fracción proteica que lo transforma en una molécula gigante y oculta en parte al centro activo, por cuyo motivo no se pueden resolver algunos detalles estructurales en la difracción de rayos X y entre ellos la disposición espacial de la molécula de oxígeno íntimamente relacionada con el tipo de enlace. Para darse cuenta de la magnitud del problema, basta mencionar que la cadena polipeptídica de la mioglobina, de peso molecular 17.000, se compone de 153 aminoácidos y que la hemoglobina con peso molecular de 68.000 contiene cuatro grupos de protohema IX y cuatro cadenas polipeptídicas (dos  $\alpha$  y dos  $\beta$ ) con un total de 574 residuos de aminoácidos y cerca de 10.000 átomos. Sin embargo, las refinadas técnicas estructurales de que se dispone en la actualidad han permitido proporcionar un conocimiento de la secuencia de aminoácido y la disposición espacial de la parte proteica tanto de la mioglobina (70, 71, 72), como de la hemoglobina (73, 74, 75).

Dado que la estructura cuadrado plana que impone la rigidez del

anillo porfirínico al átomo de Fe (II), no es posible para este elemento, el cual forma preferentemente complejos hexacoordinados octaédricos y con menos frecuencia de coordinación cinco, la protohema IX se une a otro ligando, pasando a adquirir una estructura de pirámide cuadrada, o a dos ligandos en la posición axial transformándose en un completo octaédrico. El quinto ligando para ambas hemoproteínas es el grupo imidazol de un resto de histidina y con él se establece la ligazón entre la protohema IX y la cadena polipeptídica, independiente de que además se establezcan entre ambas otros tipos de uniones más débiles por puentes de hidrógeno o fuerzas de Van der Waals.

La sexta posición de coordinación del Fe (II) la ocupa precisamente la molécula de  $O_2$  en la oxihemoglobina y oximioglobina (figura 9), la cual se puede sustituir por algún ligando pi como el CO, provocando la conocida intoxicación de este gas. El proceso de oxigenación reversible de las hemoproteínas lleva aparejada, por lo tanto, un cambio de estructura del centro activo que pasa de pirámide cuadrada en el compuesto desoxigenado a octaédrico cuando fija el oxígeno. En medios de alta constante dieléctrica se produce una oxidación irreversible del Fe (II) a Fe (III) sustituyéndose la molécula de  $O_2$  por otra de  $H_2O$  o por la de otro agente complejante que se incorpore, como  $CN^-$ ,  $NH_3^-$ , etc., formándose complejos octaédricos incapaces de efectuar una oxigenación reversible. Gran parte de los estudios estructurales se han efectuado en hemoproteínas férricas y por el motivo que acabamos de indicar no se pueden obtener de ellos conclusiones respecto al enlace del hierro con la molécula de oxígeno que, en definitiva, es el punto más importante a dilucidar para conocer el mecanismo de acción de las hemoproteínas.

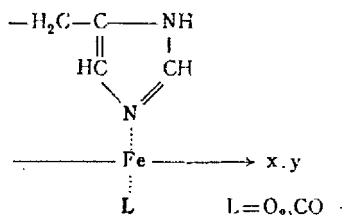


Fig. 9.

El tipo de enlace que se establece entre la molécula de  $O_2$  y el Fe (II) debe explicar el hecho observado experimentalmente que el complejo desoxigenado es para-magnético y al unirse al oxígeno pasa a diamagnético, con pérdida incluso del paramagnetismo propio del oxígeno molecular. Son varias las posibilidades de unión del oxígeno al átomo metálico en los complejos mononucleares (ifg. 10),

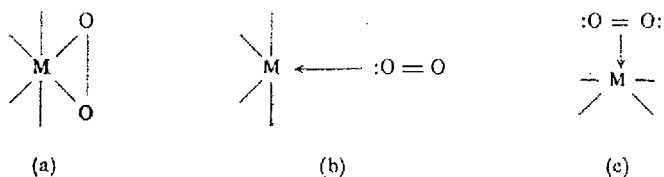


Fig. 10.

pero según Griffith (76) explica mejor los hechos experimentales la que considera que la molécula de oxígeno actúa como dador por su densidad electrónica  $\pi$  en analogía a los complejos olefinicos. La molécula debe ocupar en ese caso una posición simétrica con respecto al átomo metálico, lo que no se ha podido comprobar experimentalmente por difracción de rayos X en las hemoproteínas por las dificultades que plantea el tamaño gigante de esta molécula, pero sí en un complejo de iridio ( $Ir(O_2)ClCo(PPh_3)_2$ ) que produce también una oxigenación reversible (fig. 11).

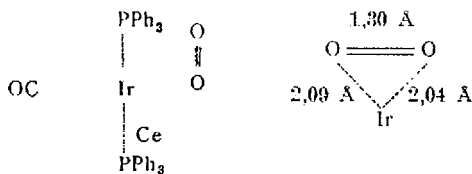


Fig. 11.

Completando la analogía con los complejos olefinicos, se supone que una vez unido el oxígeno al metal por el enlace sigma se establece además un enlace  $\pi$  en una donación por retroceso de orbitales  $t_{2g}$  llenos del metal hacia orbitales moleculares antienlazantes  $\pi$  de la molécula de oxígeno. Esta aceptación de densidad electrónica



se ha podido comprobar en el complejo de iridio indicado por el aumento que experimenta la distancia O-O de 1,2,074 Å para el oxígeno molecular gaseoso a 1,30 Å cuando se coordina el metal.

Este tipo de enlace oxígeno-metal permite explicar el cambio en las propiedades magnéticas de las hemoproteínas dentro del marco de la teoría del campo de ligando. El Fe (II) presenta una configuración externa  $d^6$ , pero a consecuencia del desdoblamiento energético de los orbitales  $d$  por acción del campo de ligando adquiere la configuración  $t_{2g}^4 e_g^2$  en las hemoproteínas desoxigenadas, que resultan así complejos de altos spin y, por lo tanto, paramagnéticos. Al coordinarse el  $O_2$  a la hemoproteína, y por tratarse de un ligando pi de campo fuerte, aumenta la energía de desdoblamiento del campo cristalino pasando a complejo de bajo spin de configuración  $t_{2g}^6$  y diamagnético.

La pérdida de paramagnetismo en la molécula de  $O_2$  cuando se une a las hemoproteínas puede atribuirse a que por efecto del campo electrostático que crean los ligandos se produce un desdoblamiento energético en los orbitales moleculares antienlazantes pi de la molécula de  $O_2$ , ocupados cada uno de ellos con un solo electrón aparejándose ambos en el orbital de inferior energía con transformación de la configuración  ${}^1\pi_x^1 {}^1\pi_y^1$  en  ${}^1\pi_x^2 {}^1\pi_y^2$  (77).

De las consideraciones anteriores no se puede extraer una conclusión definitiva que permita explicar la labilidad de la unión entre el  $O_2$  y el átomo de hierro, causa última de la oxigenación reversible, y máxime cuando en este proceso no se produce el desplazamiento de un ligando por la molécula de oxígeno, que haría intervenir un conjunto de factores cinéticos, sino un cambio en la estructura del centro activo que condiciona a otro en la conformación de la proteína.

La realidad es que en moléculas tan complejas como las de hemoproteínas no se puede considerar un enlace aislado que permita deducir sus propiedades características, ya que éstas van a depender de todo el conjunto estructural. Se ha comprobado que la unión del Fe (II) al anillo imidazólico del resto histidil F-8, con el cual se liga la protohema IX a la proteína, resulta indispensable para el proceso de oxigenación reversible. La causa es que al ser el imidazol un fuerte dador electrónico, destruye la degeneración de los orbitales

$d_{xz}$  y  $d_{yz}$  del Fe (II), aumentando las propiedades dadoras  $\pi$  de este átomo en la posición trans con relación al imidazol, que es la ocupada por la molécula de  $O_2$ . Este hecho se aprecia en la resonancia de spin electrónico, ya que el valor  $g_x$  es distinto al  $g_y$  ( $g_x = 1,72$ ;  $g_y = 2,22$ ) (78), y ocasiona el que disminuya la fuerza del enlace sigma entre hierro y oxígeno al no poderse aproximar suficientemente ambos átomos. A este efecto se suma la formación de un enlace por puente de hidrógeno entre la molécula de  $O_2$  coordinada y el anillo imidazol del resto histidil E-7. El conjunto de todos estos factores estructurales contribuyen a que la unión entre el oxígeno molecular y el hierro sea débil, como se requiere para el proceso de oxigenación reversible. No termina ahí la conexión entre los distintos enlaces de la molécula de las hemoproteínas, puesto que el anillo porfirínico presenta un sistema  $\pi$  deslocalizado que entra en conjugación con los orbitales  $t_{2g}$  del átomo de hierro, influyendo en este efecto los sustituyentes de la porfirina (79).

Aunque sólo hemos expuesto un resumen muy breve de los supuestos estructurales implicados en el transporte de oxígeno, resulta suficiente para poder apreciar la gran complejidad de este proceso biológico que, como es norma general en el transcurso de una investigación científica continuada sobre el mismo tema, ha ido presentando nuevas facetas conforme se iba profundizando en su estudio con el empleo de técnicas instrumentales más perfeccionadas y nuevas concepciones teóricas en consonancia con los resultados experimentales, ya que de nada valen éstos si no van acompañados de una interpretación teórica.

El estudio de las hemoproteínas puede servir como ejemplo de la evolución que han experimentado con el tiempo las investigaciones que se llevan a cabo en la química biológica molecular para dilucidar el mecanismo íntimo de los procesos biológicos sobre una base estructural. En una primera fase de tanteos previos, y ante la complejidad de las macromoléculas que intervienen y las dificultades inherentes al aislamiento de los procesos naturales en suficiente estado de pureza, se acude a la ayuda de modelos moleculares más sencillos, que para este caso han sido complejos de Co (II) con histidina, péptidos sencillos, diaminas y bases de Schiff o el complejo de iridio ya mencionado (80). La representación resulta demasiado simplista y se empiezan a realizar estudios espectroscópicos y mag-

néticos con los grupos prostéticos separados de la fracción proteica, pero pronto se aprecia la importancia de esta última que no es, ni mucho menos, una parte inerte de la molécula, siendo suficiente un cambio de conformación en la proteína para que tengan lugar modificaciones ostensibles. El progreso en los métodos de aislamiento y purificación de macromoléculas biológicas y en las determinaciones estructurales de proteínas permite abordar el estudio total del conjunto de la hemoproteína, pero a su esclarecimiento definitivo se opone la complejidad del edificio molecular que oculta en parte el centro activo y la modificación oxidativa que experimenta *in vitro* el producto natural. Esta es la situación actual que se trata de resolver por otro camino con el estudio de modelos moleculares lo más semejante posible al producto natural, como son una serie de derivados de ferrihemo proteínas.

#### V. *Quelación de medicamentos con iones metálicos*

Existen pruebas suficientes para poder afirmar que la acción biológica de algunos medicamentos se verifica vía quelación con oligoelementos presentes en los organismos vivos. Aunque el tema ya es conocido en esta Academia gracias a la magistral lección del profesor Santo Ruiz, pronunciada en la sesión inaugural del curso 1958-59 (61), el tiempo transcurrido desde esta fecha y mi experiencia personal en este terreno justifican su inclusión en el presente curso.

El empleo de agentes queladores como medicamentos ha seguido distintas líneas de aplicación, entre las cuales se pueden considerar como más importantes: a) eliminar del organismo metales tóxicos e isótopos radiactivos; b) proporcionar elementos traza; c) inactivar bacterias al suministrar un metal tóxico para el microorganismo, o bien secuestrar un oligoelemento o hacer perder la actividad biológica de una metaloenzima, esenciales para el microorganismo; d) ejercer una acción biológica específica al inactivar una metaloenzima por complejación con ella.

En general, se ha operado estudiando *a posteriori* la acción queladora de medicamentos que fueron sintetizados sin tener en cuenta este posible mecanismo de acción biológica, salvo para el caso de

aquellos que se utilizan con el fin de eliminar metales tóxicos del organismo, pero últimamente se han diseñado algunos medicamentos introduciendo modificaciones en su estructura molecular que favorezcan el proceso de quelación, y buen ejemplo de ello lo constituye el Ethambutol.

La introducción en el organismo de un medicamento capaz de actuar como agente quelador interfiere en los equilibrios que se establecen entre oligoelementos y agentes queladores naturales, efecto que va a depender, en primer lugar, de la relación entre el valor de la constante de formación del quelato que origina el medicamento y los que corresponden a los complejos formados con los agentes queladores naturales. Un valor comparativamente elevado de la constante de formación del complejo formado por el medicamento asegura su existencia *in vivo* y por este motivo el primer estudio que se realiza en un medicamento para juzgar si su acción biológica puede atribuirse a un fenómeno de quelación, es la determinación de constantes de formación con iones divalentes de las series de transición.

La labilidad o inercia cinética de los complejos que forma el medicamento con oligoelementos y las estructuras moleculares de aquéllos son otros factores a tener en cuenta en el mecanismo de su acción biológica. Se consideran, como norma general, más activos a los quelatos metálicos de elevada estabilidad termodinámica, labilidad cinética y cuyas estructuras permitan una coordinación posterior a otro ligando (por ejemplo, cuadrado plana con paso posterior a pirámide tetragonal u octaédrica), pudiendo unirse de esta manera a proteínas u otros agentes queladores naturales.

La aplicación de los conceptos de la química de coordinación a la biología o al medicamento, difieren sobre todo en que para el primer caso la mayor dificultad con que se tropieza es la identificación del supuesto complejo formado, al no poderse éste aislar en suficiente estado de pureza o en virtud de su complejidad molecular, mientras que para los medicamentos se pueden estudiar sin mayores inconvenientes las estructuras y características fisicoquímicas de los complejos que originan con oligoelementos metálicos. El problema estriba en conseguir una confirmación experimental de que en la acción biológica del medicamento interviene la quelación como factor fundamental y aún presenta mayores dificultades obtener una infor-

mación del mecanismo de actuación del quelato metálico. Sólo en un número reducido de casos se ha podido demostrar de una forma directa que la actividad biológica de un medicamento se deba a su unión con un ion metálico libre o que forma parte de una metaloenzima. Un buen ejemplo de esto último lo constituye el grupo de sulfonamidas aromáticas o heterocíclicas, y entre ellas la clorotiazida, que actúan como diuréticos al inactivar a la carbónico anhidrasa. El estudio por difracción con rayos X del compuesto aislado metaloenzima-sulfonamida demuestra la formación de un complejo del grupo  $\text{SO}_2\text{-NH}_2$  con el átomo de Zn de la carbónica anhidrasa, impidiéndolo con ello que el metal se una al  $\text{CO}_2$  o al anión  $\text{CO}_3\text{H}^-$ .

En la mayor parte de los casos la supuesta actividad del medicamento vía quelación se ha deducido por métodos indirectos, entre los que destacan como modelo en su género los llevados a cabo por Albert y colaboradores (35), en el período 1947-1956, sobre la acción bactericida y fungida de la oxina y sus derivados. Comprobaron, en primer lugar, que los isómeros de la oxina que no poseen grupos funcionales queladores están desprovistos de actividad bactericida, así como también la propia oxina cuando se bloquea por metilación el grupo fenólico o el nitrógeno piridínico. Las experiencias realizadas en cultivos microbianos con oxina e iones férrico demostraron que tanto la acción bacteriostática como bactericida se debe a un efecto tóxico del propio quelato y concretamente de los de relación estequiométrica 1:1 ó 2:1, estando desprovisto de actividad el quelato de estequiometría 3:1. Posteriormente se comprobó la necesidad de iones cúpricos para la plena actividad bactericida de la oxina, encontrando también que ésta es máxima con aquellos derivados de la oxina que presentan mayor liposolubilidad, careciendo de actividad los complejos de la oxina-5-sulfónica al ser solubles en agua. Se supone por ello que son los quelatos férricos de estequiometría 3:1 o cúpricos 2:1, los que efectúan el transporte de la oxina al interior de la célula, atravesando las membranas celulares en razón de su menor polaridad, y una vez dentro de ella se transformarían en los quelatos de relación 1:1 de elevada toxicidad. Resulta interesante el hecho de que trazas de ion Co (II) eliminan la actividad bactericida de los quelatos cúpricos o férricos de la oxina, y dado que el ion Co (II) inhibe las oxidaciones de mercaptanos catalizadas por iones férricos o cúpricos, se ha supuesto que los que-

latos de oxina catalizarían la oxidación de grupos sulfhidrilo de nucleoproteidos.

El grupo de medicamentos antituberculosos constituye quizás el ejemplo más sugestivo de la influencia que parece ejercer la quelación en la actividad biológica. A partir de la experiencia realizada por Carl y Manquard en 1949, que relacionaban acción antituberculosa con capacidad queladora, se multiplican los estudios en esa dirección y en la actualidad todo este grupo de medicamentos ha sido estudiado con respecto a sus propiedades queladoras, habiéndose comprobado que, en su mayor parte, la actividad biológica depende de la presencia de iones metálicos.

Los trabajos de Erlennmeyer y colaboradores (81) demuestran que la acción tuberculostática de la isoniazida se potencializa en presencia de ion cúprico, con el cual forma un quelato de estequiometría 1:1, y Cimmerman-Craig (82) afirman que este quelato es la forma activa *in vivo* del medicamento, habida cuenta de las experiencias que realizan con animales de laboratorio. Los estudios posteriores de Foye (83) confirman estos resultados operando también con quelatos aislados de isonicotilhidrazida de estequiometría 1:1 y 2:1.

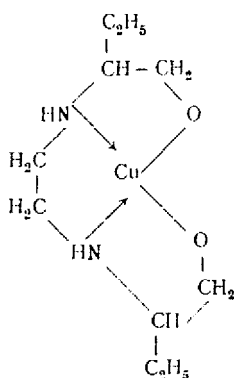
En los trabajos citados se aíslan unos quelatos de isoniazida cuya composición se establece en función del análisis del producto. Por ello consideramos de interés realizar unos estudios más detenidos, tanto en disolución como en estado sólido, de los complejos que forman la isoniazida y sus derivados, isopropiliden- y etiliden-isonicotilhidrazida, con los iones metálicos Cu (II), Co (II), Mn (II), Zn (II), Fe (II) y con las especies aniónicas del V (V). Con la isonicotilhidrazida hemos podido aislar varios quelatos cúpricos de relación 1:1, con carga positiva, al operar en medios ácidos (pH 4,5-5,5). Los espectros infrarrojos de estos productos demuestran que son derivados del anión de la isoniazida y de estructura cuadrado plana y en los que el metal se une a un átomo de oxígeno y otro de nitrógeno del ligando, ocupándose las otras dos posiciones de coordinación con las moléculas de agua de cristalización o con el propio anión en algún caso. El quelato neutro de relación 2:1 no se pudo aislar, pues requiere unas condiciones de alcalinidad con las cuales el ion cúprico actúa como oxidante. Por el contrario, con isopropiliden o etiliden isonicotilhidrazida se obtienen exclusivamente complejos de relación 2:1, neutros o con carga po-

sitiva, derivados, respectivamente, del anión o de la forma carbonílica de la isoniazida, hechos estos últimos que hemos podido comprobar por espectroscopía infrarroja (84, 85).

Teniendo en cuenta las experiencias de Costello y Hedgecock (86), según las cuales los iones vanadato producen una inhibición en el crecimiento del bacilo tuberculoso y en los ensayos *in vivo* disminuyen las lesiones pulmonares de animales de experimentación, pensamos asociar en una misma molécula la actividad antituberculosa de la isoniazida y de los iones vanadato. Para ello hemos preparado quelatos de isoniazida con las especies aniónicas de vanadio (85, 87) siguiendo la pauta previamente establecida por el profesor Montequi (88), y con la cual había conseguido aislar, por primera vez, numerosos quelatos de vanadio pentavalente. Por nuestra parte, hemos obtenido complejos de isoniazida y de su isopropilidén derivado, tanto de relación 2:1 como 1:1, con iones vanadato que responden a las fórmulas generales  $(INH)_2VO_2H$  y  $(INH)VO_3H_2$ , respectivamente, deduciendo que sus estructuras por espectroscopía infrarroja y espectros electrónicos...

De acuerdo con las ideas aceptadas respecto a quelación y acción antituberculosa, el grupo de investigadores de los laboratorios Lederle ha sintetizado una etilendiimina-di-butanol de elevada actividad antituberculosa que se comporta como agente quelante frente a diversos iones metálicos. Partiendo de un quelador típico, como es la etilenodiamina, se estudiaron numerosas sustituciones en su molécula con grupos funcionales que contengan átomos dadores en posición espacial adecuada para que puedan coordinarse, a su vez, con el catión metálico unido a la etilenodiamina, lográndose una mayor estabilidad del complejo en virtud del efecto quelato. El Ethambutol resultó ser el producto más activo de todos los obtenidos y se comporta como ligando tetradentado, en forma análoga al EDTA, formando complejos con tres anillos quelatados. Este medicamento presenta dos átomos de carbono asimétricos y la forma dextro es doce veces más activa que la meso y ésta doscientas veces más que el isómero levo. Esto indica que la capacidad para formar un quelato metálico, que la presentan todos los isómeros, no es requisito suficiente para justificar su actividad, presentándose una selectividad estereoespecífica que se supone relacionada con la acomodación del propio quelato a una enzima determinada.

Dado que el catión cúprico es el más significativo en la posible influencia que ejerce la quelación en la actividad antituberculosa, hemos realizado un detallado estudio sobre el comportamiento del Ethambutol como agente complejante del ion  $\text{Cu (II)}$ , presentado hace pocos años en esta Academia (89), y que nos llevó a establecer un nuevo método espectrofotométrico para la determinación de este medicamento. En ese trabajo se demuestra que el Ethambutol forma un quelato cúprico de estequiometría 1:1 y catiónico a pH 5,5, el cual se transforma en un quelato neutro al alcanzar un pH próximo a 10, desprendiéndose dos protones del ligando por átomo de cobre, que corresponden a la ionización de los grupos OH del isobutanol. La estructura que asignamos al quelato neutro es la siguiente:



En el grupo de los antibióticos no se muestran tan definidas las relaciones entre quelación y actividad biológica, pero es indudable que en su mayor parte son capaces de formar complejos con iones metálicos, los cuales ejercen efectos de interés y entre ellos la de favorecer la degradación del antibiótico por apertura del anillo lactama en los que contienen esta estructura. Los escasos trabajos publicados sobre la capacidad complejante de antibióticos se refieren a estudios cinéticos realizados en presencia de iones metálicos. Nosotros estamos llevando a cabo en estos momentos un estudio de los complejos que forman antibióticos que contienen anilla lactama, del cual adelantamos en una sesión de esta Academia (90) los resultados obtenidos con la ampicilina y el ion cúprico. En aquel trabajo de-



mostramos que la ampicilina origina con el ion  $\text{Cu (II)}$ , en una primera fase, un complejo de estequiometría 1:1 que absorbe a 315  $\mu\mu$ , al cual se transforma en un corto período de tiempo en otro de igual estequiometría, pero cuya banda de absorción se localiza a 325  $\mu\mu$ . El primero se forma con la molécula intacta de la ampicilina, interviniendo el grupo amino de la cadena lateral y el grupo ceto del anillo lactama, mientras que el segundo complejo se produce con rotura del anillo lactama coordinándose el ion cúprico a un grupo carbonílico y a otro amínico. Ambos complejos son bastante estables y para su constante de deformación, determinada por un método espectrofotométrico, hemos obtenido un valor de  $0,6737 \cdot 10^4$ .

Un comportamiento muy semejante a la ampicilina lo presenta la metampicilina, cuya cadena lateral permite también una coordinación idéntica, mientras que la penicilina G y la cloxacilina forman complejos muy poco estables que favorecen la degradación del antibiótico con apertura del anillo lactama, por lo cual hace muy difícil su estudio.

#### VI. *Papel biológico y química de coordinación de molibdeno y vanadio*

El papel biológico que desempeñan molibdeno y vanadio se ha descubierto en fecha relativamente reciente, comparada con la que corresponde para los restantes oligoelementos metálicos, y es menos conocido que para estos últimos, lo que se debe fundamentalmente a que son también más escasos los conocimientos que se poseen de la química de coordinación de ambos elementos. También ha influido en ello el hecho de que molibdeno y vanadio originan en disolución especies aniónicas polímeras y no se pueden efectuar sustituciones isomórficas análogas, por ejemplo a las que hemos indicado para el caso del cinc con el cobalto que han conducido a resultados tan fructíferos para el conocimiento de las estructuras y mecanismo de acción de ciertas metaloenzimas.

A lo largo de este trabajo se ha venido insistiendo en la importancia que adquiere el conocimiento de la química de coordinación de un elemento para una mejor comprensión de su mecanismo de acción biológica. Por este motivo se ha tratado de profundizar en

el estudio de los complejos que forman molibdeno y vanadio, en especial de aquellos estados de oxidación más factibles en medios biológicos que son VI y V para el primero, y V o IV para el vanadio. Sin embargo, el estudio de la química de coordinación de ambos elementos tropieza con serias dificultades que proceden, en su mayor parte, de la formación en disolución acuosa de especies polímeras muy estables que presentan poca tendencia a reaccionar con los ligandos. Se ha tratado de obviar este inconveniente obteniendo complejos en medios no acuosos, partiendo de haluros y oxihaluros, pero la realidad es que este enfoque no resulta muy apropiado desde un punto de vista biológico, ya que el agua constituye el medio en el que se desenvuelve la vida. Otro inconveniente es la tendencia a oxidarse que presentan los complejos de vanadio IV y de molibdeno V y además para estos últimos la formación de dímeros o polímeros con grupos oxo puente.

A pesar de estas dificultades son ya bastante numerosos los estudios que se han realizado en complejos de estos dos elementos, destacando los de Specen (92), Mitchell, Larson, Cotton (93) para complejos de molibdeno, los de Selbin (94) para vanadio tetravalente y los del profesor Montequí y su escuela en complejos de vanadio pentavalente (88).

De momento, el papel biológico más conocido para el vanadio es el de formar parte de una metal proteína no hema, denominada hemovanadina, que efectúa una oxigenación reversible y realiza en los tunicados una función análoga a la que desempeña la hemoglobina en los seres superiores (95, 96). No puede descartarse su posible intervención en procesos biológicos redox análogos a los que lleva a cabo el molibdeno, y por ello interesa sobre todo el estudio de complejos de vanadio en sus estados de oxidación V y IV.

La química de coordinación del vanadio tetravalente no difiere de la que corresponde a los elementos de transición que integran la serie de Irving Williams y no presenta dificultades especiales, ya que en disolución acuosa origina exclusivamente un catión divalente, el catión vanadilo  $VO^{2+}$ , motivo por el cual se han conseguido obtener muy numerosos complejos de este estado de oxidación (94). Por el contrario, el aislamiento de complejos de vanadio pentavalente de una disolución acuosa presenta grandes inconvenientes, ya que el único catión que forma, el catión pervanadilo  $VO_2^+$ , lo hace

en un medio de una acidez tan elevada que no es posible el desprendimiento de protones del ligando y, en consecuencia, no se forma el complejo, mientras que en la zona de pH apropiada para esto último se producen aniones decavanadatos que no reaccionan con el ligando. No obstante, el profesor Montequí ha conseguido obtener, por primera vez, complejos de vanadio pentavalente con oxina (97, 98, 99), 2-metil y 5-metiloxina (100), dicloro-dibromo y diyodo-oxina (101), oxina sulfónica y ferrón (102) y, posteriormente, de benzoilfenilhidroxilamina (103) y nitrosufenilhidroxilamina (104). Todos estos complejos son de estequiometría 2:1 y de fórmula general  $L_2VOOH$ , y dado que el grupo V-OH manifiesta carácter ácido, ha podido preparar además sales y ésteres de los complejos citados. La idea que le ha permitido obtener resultados positivos, donde los demás no lo habían conseguido, es la de considerar que los complejos de vanadio pentavalente se forman en un proceso de condensación entre el ligando y una especie monómera de vanadio, por lo cual se practica la reacción del vanadio y el ligando en medio alcalino, a fin de conseguir la despolimerización de los decavanadatos, acidificando posteriormente. En un estudio detenido que hemos realizado en fecha muy reciente en colaboración con la doctora Díaz (105), hemos podido comprobar la certeza de ese mecanismo de reacción para los complejos que forma el vanadio con el naranja de xilenol y piridin-azo-resorcinal, ya que es el anión metavanadato  $VO_3^-$  o su producto de hidratación  $H_2VO_4^-$  el que reacciona con los ligandos, sin que se produzca desprendimiento de protones, para originar una especie aniónica del complejo, soluble en agua, que al acidificar pasa a la forma neutra insoluble.

Posteriormente hemos obtenido complejos de vanadio pentavalente con salicialdoxima (106) y con las  $\beta$ -dicetonas, acetilacetona (107), benzoilacetona y tenoiltrifluoracetona (108), consiguiendo para estos casos complejos de estequiometría 2:1 y también 1:1. La facilidad con que los complejos de vanadio forman ésteres con alcoholes primarios nos ha llevado a realizar varios estudios sobre el efecto sinérgico que ejercen los alcoholes en la extracción del vanadio con disolventes orgánicos, habiendo conseguido extracciones cuantitativas de este elemento con unas condiciones operatorias muy sencillas (109, 110). En fecha muy reciente, hemos podido aclarar las características de los enlaces que se establecen entre el átomo de va-

vanadio y los átomos dadores de los ligandos en varios de sus complejos por sus espectros electrónicos y por el desplazamiento en el espectro infrarrojo de la frecuencia de tensión  $\nu$  ( $V = 0$ ) en relación con los efectos inductivos que provocan las sustituciones en el ligando, demostrando que se establece un enlace  $\pi$  entre el orbital  $d_{xy}$  del vanadio y orbitales  $p$  del ligando (111, 112).

Se considera al molibdeno como un elemento traza que participa en numerosas reacciones biológicas redox y entre ellas, como más importantes, la oxidación de xantina y purinas y la reducción de nitratos y nitrógeno molecular. Se ha demostrado que es necesaria su presencia para la actuación de las enzimas xantino oxidasa, aldehído oxidasa, nitrato reductasa y molibdoferredoxina, las cuales generalmente van asociadas a la coenzima flavina adenina dinucleótido (FAD) y a hierro en sus dos estados de valencia. En estas metaloenzimas se supone que el molibdeno se encuentra presente en los estados de oxidación VI y V, lo cual se ha comprobado por vía química mediante reacción con oxina o por resonancia de spin electrónico.

Muy poco es lo que se conoce con respecto a las estructuras de las molibdoenzimas, pues ni siquiera existe evidencia de cuáles son los átomos dadores de la fracción proteica que se unen al metal, aunque se suponen como más probables los grupos hidroxilo de la serina o los sulfhídricos de la cisteína. Por este motivo se ha abordado en estos últimos años el estudio de complejos de molibdeno que puedan servir como modelos moleculares de los compuestos biológicos. En primer lugar, se han considerado del mayor interés los complejos de molibdeno VI y V con tioles y entre ellos con cisteína o sus ésteres metílico y etílico, habiéndose realizado estudios en disolución (113) y en estado sólido (114, 115). Los complejos de cisteína con molibdeno pentavalente son dímeros con grupos oxo puente y se han considerado como modelos apropiados para la xantino oxidasa (116). Siguiendo esta línea de trabajo se han preparado también complejos con ácido tioglicólico, ditiolatos (117, 118) y ditioldicetonas (119).

Teniendo en cuenta que se ha considerado a la histidina como un posible grupo de unión de iones metálicos en diversas enzimas, se han estudiado los complejos de molibdeno con este ligando (120), habiéndose logrado aislar el producto sólido del estado de oxidación

V (121), que es también un dímero con grupos dioxo puente. La presencia de flavinas como coenzimas de las molibdoenzimas estimula el estudio de complejos con este ligando (122) y también con oxina y oxina sulfónica, ya que los grupos queladores de esta última son semejantes a los de la flavina (123). Por nuestra parte, hemos estudiado también los complejos de molibdeno VI con oxina, 2-metil oxina, dicloro-dibromo-diiodo oxina y ferrón (112), habiendo conseguido aislar quelatos de estequiometría 2:1 y 1:1, siendo estos últimos polímeros con grupos oxo puentes, según se puede comprobar en el espectro infrarrojo por la aparición de bandas en la región de  $700-850\text{ cm}^{-1}$ .

Como puede deducirse de lo que acabamos de indicar, quedan aún muchas incógnitas por resolver para conseguir un conocimiento completo del papel biológico de molibdeno y vanadio, pero es indudable que los estudios que se realizan con respecto a su química de coordinación ha de favorecer los que se llevan a cabo en un terreno más estrictamente biológico.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) C. J. BALHAUSEN y H. B. GRAY: *Molecular Orbital Theory*. Ed. W. A. Benjamin. New York (1965).
- (2) H. B. GRAY: *Electrons and Chemical Bonding*. Ed. A. Benjamin. New York (1965).
- (3) J. D. ROBERTS: *Molecular Orbital Calculations*. Ed. W. A. Benjamin. New York (1962).
- (4) J. A. KETALAR: *Chemical Constitution*. Ed. Elsevier Pub. (1958).
- (5) W. KLYNE: *Progress in Stereochemistry*. Ed. Butterworths Scint. Pub.
- (6) IONEL HAIDUC: *Inorganic Ring Systems*. Ed. Wiley-Interscience. New York (1970).
- (7) F. A. STONE y W. A. G. CRAHAM: *Inorganic Polymers*. Ed. Scademic Press. (1962).
- (8) E. A. FISCHER y H. WERNER: *Metal-n-Complexes*. Ed Elsevier (1966).
- (9) KAZUO NAKAMOTO: *Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. Ed. John Wiley (1963).
- (10) D. M. ADAMS: *Metal-Ligand and Related Vibrations*. Ed. Edward Arnold. London (1967).
- (11) D. SUTTON: *Electronic Spectra of Transitions Metal Complexes*. Ed. Mc Graw Hill. London (1968).
- (12) M. D. RAUSCH: *Reactions of Coordinated Ligands*. «Advances in Chemistry Series», núm. 37, pág. 56 (1963).
- (13) J. P. COLLEMAN: *Idem*, pág. 78.
- (14) F. BASOLO y R. G. PEARSON: *Mechanisms of Inorganic Reactions*. Ed. John Wiley. New York, 2.<sup>a</sup> ed. (1967).
- (15) L. L. N. FERGUSON: *The Modern Structural Theory of Organic Chemistry*. Ed. Prentice Hall Inc., pág. 217 (1963).
- (16) C. J. HAWKINS: *Absolute Configuration of Metal Complexes*. Ed. Wiley-Interscience. New York (1971).
- (17) A. E. MARTELL y M. CALVIN: *Chemistry of the Chelate Compounds*. Ed. Prentice Hall. New York (1952).
- (18) R. MADROÑERO: *La variación estructural en la selección de nuevos fármacos*. Real Academia de Farmacia (1971).
- (19) EL. OCHIAT: «Coord. Chem.», 3, 49 (1968).
- (20) W. STROHMEIER: *Structure and Bonding*. Vol. 5, pág. 96 (1968). Springer Verlag.
- (21) A. E. DENNARD y R. J. P. WILLIAMS: *Transition Metal Chemistry*. Ed. Marcel Dekker Inc., vol. 2, pág. 116 (1966).
- (22) R. D. GILLARD y P. R. MITCHELL: *Structure and Bonding*, vol. 7, pág. 46 (1970).
- (23) M. I. WENDER: *Reactions of Coordinated Ligands*. «Advances in Chemistry Series», núm. 37, pág. 19 (1963).

- (24) J. BAILAR y D. H. BUSCH: *The Chemistry of the Coordinate Compounds*. Ed. Reinhold Publ. New York (1956).
- (25) J. P. CANDIAN, K. A. TAYLOR y D. H. THOMPSON: *Reactions of Transitions Metal Complexes*. Ed. Elsevier Publ. New York (1968).
- (26) M. L. BANDER: «Chem. Rev.», 60, 53 (1960).
- (27) G. L. ETCHHORN: *Reactions of Coordinated Ligands*, pág. 37 (1963).
- (28) S. AHRLAND: *Structure and Bonding*. Springer Verlag, vol. 1, pág. 207 (1966).
- (29) R. J. P. WILLIAMS y J. P. DALE: Idem, vol. 1, pág. 249 (1966).
- (30) R. F. HUDSON: Idem, vol. 1, pág. 221 (1966).
- (31) C. K. JORGENSEN: Idem, vol. 1, pág. 3 (1966).
- (32) B. L. VALLE, R. J. P. WILLIAMS y J. COLEMAN: «Nature», 190, 633 (1961).
- (33) W. N. LIMPSCOB y otros: «Brookhaven Symposium in Biology», 21, 24 (1968).
- (34) A. E. MARTELL: *Reactions of Coordinated Ligands*. «Advances in Chemistry Series», vol. 37, pág. 161 (1963).
- (35) A. ALBERT: *Selective Toxicity*. John Wiley. New York (1965).
- (36) S. BOLTON y A. BECKETT: «J. Pharm. Sc.», 53, 155 (1964).
- (37) A. DOADRIO y M. ARROYO: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 61, 971 (1965).
- (38) — — y — — «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 62, 317 (1966).
- (39) — — FANNY SALAS y A. PÉREZ: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 66, 19 (1970).
- (40) A. D. ALLEN y C. V. SENOFF: «Chem. Comm.», 621 (1965).
- (41) D. E. HARRISON y H. TAUBE: «J. amer. chem. soc.», 89, 5706 (1967).
- (42) L. E. MARTENSEN y R. C. VALENTINE: «Biochem. Biophys. Res. Comm.», 7, 448 (1962).
- (43) D. J. NICHOLAS: «Biol. Rev.», 38, 530 (1963).
- (44) L. E. MORTENSEN, H. F. MOYER y E. CARNAHAM: «Bacteriol. Rev.», 26, 42 (1962).
- (45) R. F. KEELER, W. A. BULEN y J. E. VARNER: «J. Bacteriol.», 72, 394 (1968).
- (46) R. MURRAY y D. C. SMITH: «Coord. Chem. rev.», 4, 429 (1968).
- (47) K. ABEL: «Phytochemistry», 2, 429 (1963).
- (48) W. A. BULER, J. R. LECOMTE y R. C. BURNS: *Non-haem Iron Protins*. Ed. San Pietro, Ohio (1965).
- (49) B. BAUER: «J. Phys. chem.», 64, 833 (1960).
- (50) R. W. F. HARDY y E. KNIGHT: «Biochem. Biophys. Acta», 122, 520 (1966).
- (51) M. E. VOLPIN y V. B. SHUR: «Nature», 209, 1236 (1966).
- (52) E. E. VAN TEMELEN y G. BOCHE: «J. amer. chem. soc.», 89, 5707 (1967).
- (53) G. W. PARSHALL: «J. amer. chem. soc.», 87, 2133 (1965); 89, 1822 (1967).
- (54) F. A. COTTON y G. WILKINSON: *Advanced Inorganic Chemistry*. Inters. Publ., 2.ª ed. (1966).
- (55) R. B. HESLOP y P. L. ROBINSON: *Inorganic Chemistry*. Ed Elsevier Publ., 3.ª ed. (1967).
- (56) L. E. ORGEL: *Transition Metal Chemistry* (1962).
- (57) F. BOTTOMLEY y C. S. NYBERG: «Chem. Comm.», 897 (1966).
- (58) B. R. DAVIS y J. A. IBERS: «Inorg Chem.», 10, 578 (1971).
- (59) J. CHATT y J. R. DILLIVORTH: «Chem. Comm.», 687 (1969).
- (60) — — y J. E. FERGUSON: «Chem. Comm.», 126 (1968).

- (61) H. A. SCHEIDEGGER, J. N. ARMOR y H. TAUBE: «J. amer. chem. soc.», *90*, 3263 (1968).
- (62) D. F. HARRISON, E. WEISBERGER y H. TAUBE: «Science», *159*, 320 (1968).
- (63) P. W. JOLLY y K. JONAS: «Angew. chem.», *80*, 705 (1968).
- (64) A. YAMAMOTO, S. KITAZUME y S. IKEDA: «J. amer. chem. soc.», *90*, 1089 (1968).
- (65) — — — — —, L. S. PU y S. IKEDA: «Chem. Comm.», 79 (1967).
- (66) «Nach. Chem. Techn.», *16*, 413 (1968).
- (67) E. E. TEMELEN, R. B. VAN FECHTER y G. BOCHÉ: «J. amer. chem. soc.», *91*, 1551 (1969).
- (68) R. O. C. NORMAN y R. L. SMITH: *Oxidases and Related Redox Systems*, col. 1. Ed. Wiley Sons. New York (1965).
- (69) J. VALENTINE, D. VALENTINE y J. P. COLLMAN: «Inorg. Chem.», *10*, 2191 (1971).
- (70) J. C. KENDREW: «Sci. Am.», *205* (6), 96 (1961).
- (71) — — «Science», *139*, 1259 (1963).
- (72) — — — — —, H. C. WATSON y V. C. SHURE: «Nature», *190*, 666 (1961).
- (73) M. F. PERUTZ: «J. Mol. Biol.», *13*, 646 (1965).
- (74) — — — — —, H. MURINHEAD, J. M. COX y L. C. GOAMA: «Nature», *219*, 131 (1968).
- (75) — — — — —, L. MAZZARELLA, R. A. CROWTHER y J. CREEN: «Nature», *222*, 1249 (1969).
- (76) J. S. GRIFFITH: «Proc. Roy. soc.», *235*, 35 (1956).
- (77) K. WUTHRICH: *Structure and Bonding*, Springer Verlag, vol. 8, pág. 53 (1970).
- (78) D. W. SMITH y R. J. P. WILLIAMS: *Structure and Bonding*, vol. 7, pág. 1 (1970).
- (79) W. WEISSBLUTH: *Structure and Bonding*, vol. 2, pág. 1 (1967).
- (80) E. BAYER y P. SCHRETZMANN: *Structure and Bonding*, vol. 2, pág. 181 (1967).
- (81) E. SORKIN, W. ROTH y H. ERLÉNMEYER: «Helv. chim. Acta», *35*, 1736 (1952).
- (82) J. CYMMERMANN-CRIAG, D. WILLIS y J. EDGAR: «Nature», *176*, 341 (1955).
- (83) W. C. FOYE y R. N. DUVAL: «J. amer. Pharm. Assoc.», *47*, 285 (1958).
- (84) A. DOADRIO y A. GARCÍA CARRO: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», *62* 329 (1966).
- (85) — — «An. Acad. Farmacia», *34*, 261 (1968).
- (86) M. STEVEN y L. A. JOHNSON: *Metal Binding in Medicine*. Ed. Lippincott Co. Philadelphia (1960).
- (87) A. GARCÍA CARRO: Tesis doctoral en Farmacia, Madrid (1967).
- (88) R. MONTEQUI: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», *60*, 277 (1964).
- (89) A. DOADRIO y A. GARCÍA CARRO: «An. Academia Farmacia», *34*, 291 (1968).
- (90) — — — — — y M. GARCÍA MIRASIERRA: «An. Acad. Farmacia», *35*, 115 (1969).
- (91) A. SANTOS RUIZ: *El fenómeno de quelación en la bioquímica de los oligoclementos*. Academia de Farmacia (1978).
- (92) J. T. SPENCE: «Coord. Chem. Rev.», *4*, 475 (1969).
- (93) P. C. MYTTCHELL: «Coord. Chem. Rev.», *3*, 315 (1966).
- (94) J. SELBIN: «Coord. Chem. Rev.», *3*, 293 (1966).
- (95) J. D. BURTON: «Nature», *212*, 976 (1966).
- (96) T. KADEN: «Helv. Chim. Acta», *39*, 1915 (1966).



- (97) R. MONTEQUI y M. GALLEGRO: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 32, 134 (1934).
- (98) — —, A. DOADRIO y J. SERRANO: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 57, 69 (1961).
- (99) — —, — — y — — «Inform. Quím. Aanal.», 16 (2), 31 (1962).
- (101) — —, — — y — — «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 59, 123 (1963).
- (100) — —, — — y — — «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 59, 31 (1963).
- (102) — —, — — y — — «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 59, 37 (1963).
- (103) — — «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 60, 325 (1964).
- (104) — — y J. SERRANO: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 61, 795 (1965).
- (105) G. DÍAZ: Tesis doctoral en Farmacia. Madrid (1971).
- (106) A. DOADRIO: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 61, 795 (1965).
- (107) — — y A. GARCÍA CARRO: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 60, 495 (1964).
- (108) — — y C. MOLINA: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 66, 253 (1970).
- (109) — — y C. B. MARONE: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 65, 273 (1969).
- (110) F. LORENZO: Tesis doctoral en Farmacia. Madrid (1971).
- (111) A. DOADRIO y J. MARTÍNEZ: «An. Soc. Esp. Fis. y Quím.», 66, 325 (1970).
- (112) J. MARTÍNEZ: Tesis doctoral en Farmacia. Madrid (1971).
- (113) J. T. SPENCE y H. CHENG: «Inorg. Chem.», 2, 319 (1963).
- (114) J. R. KNOX y K. PROUT: «Chem. Comm.», 1227 (1968).
- (115) L. R. MELBY: «Inorg. Chem.», 8, 349 (1969).
- (116) A. KAY y P. C. MITCHELL: «Nature», 219, 267 (1968).
- (117) H. DAVIDSON, N. EDELSTEIN y R. H. HOLM: «J. amer. chem. soc.», 86, 2799 (1964).
- (118) A. BUTCHER y P. C. MITCHELL: «Chem. Comm.», 176 (1967).
- (119) G. N. SCHRANZER y V. D. MAYWEGH: «J. amer. chem. soc.», 88, 5174 (1966).
- (120) J. T. SPENCE y J. L. LEE: «Inorg. Chem.», 4, 385 (1965).
- (121) L. R. MELBY: «Inorg. Chem.», 8, 1539 (1969).
- (122) J. T. SPENCE y J. TOCATLEN: «J. amer. chem. soc.», 83, 816 (1961).
- (123) P. C. H. MITCHELL: «Quart. Rev. (London)», 20, 103 (1966).

DISCURSO  
DE  
CONTESTACION

Señores Académicos:

Señoras y señores:

El día 26 de junio de 1886 ocurrió en el mundo químico un importante acontecimiento, registrado para siempre, con todos los honores, en los fastos de su historia. La Comisión nombrada al efecto por la Academia de Ciencias de París reconoció categóricamente que el elemento fluor se había aislado por Moissan electrolizando fluoruro potásico disuelto en ácido fluorhídrico, en aparato de platino. Antes de su aislamiento, poco se ignoraba ya de tal cuerpo simple. Si hacia 1870 Mendelejeff había profetizado con certeza las propiedades de los ekaelementos, calcúlese lo que podía saberse del componente de las fluoritas, incluso que sólo podría ser liberado por electrolisis de su anión. Pero en la empresa habían fracasado numerosos investigadores, dejando tras de sí una dramática estela de envenenamientos. Uno de los que intentó separar el agresivo elemento, y sin duda tuvo entre sus manos algunas burbujas, fue Edmond Fremy (1814-1894). Era tal el prestigio de este químico, que en 1872 Henry Moissan, entonces muy joven, abandonó su puesto de aprendizaje en la farmacia de Baudry (París) para estudiar con Fremy en el Museo de Historia Natural, haciendo muy rápidos progresos en Química y Farmacia y llegando a ser uno de los más logrados discípulos de aquel gran maestro. Este, con Berthelot y Debray, integraron la Comisión investigadora que la Academia nombró para confirmar la veracidad de lo que Moissan afirmaba. Entonces Fremy, que había estado a punto de hacer el descubrimiento que ahora glorificaba a su discípulo, pronunció esta noble frase que ha adquirido justa celebridad: «Un Profesor es siempre dichoso cuando ve a uno de sus discípulos llegar más lejos y a mayor altura que él».

Quienes nos conocen, saben que no traigo a cuento esta anécdota para establecer un parangón prematuro entre la obra de Doádrío y la propia, ni mucho menos para querernos comparar con los altos

ejemplos citados. Es simplemente porque la frase del ilustre químico francés constituye para mí paradigma insuperable de la moral que debe reinar en el alma del maestro frente a los progresos y legítimos triunfos de sus discípulos. Refiriéndome a nuestro caso concreto, no puedo por menos de experimentar un sano regocijo al percibir los constantes logros de Doadrio en el campo docente, en su función investigadora y en toda la compleja vida universitaria. En esta brillante trayectoria recojo ahora con la mayor alegría el verle remontar, con méritos indiscutibles, el escalón que conduce a un puesto de numerario en la Real Academia de Farmacia. Nuestros paternales sentimientos están de sobra compensados por la corriente contraria, la que va del discípulo al maestro. Una de las más satisfactorias verdades de nuestra lábil existencia es, sin duda, que «supervivimos en el recuerdo de los que nos aman». En este terreno, pocas profesiones pueden superar a la de Catedrático de Universidad. Se dirige siempre a jóvenes espíritus, atentos a recoger cuanto de noble, elevado o eficaz pueda brotar de nuestros labios o de las enseñanzas de nuestra conducta. Con legítima alegría advertimos después tal cual reflejo de un acierto, más o menos fugaz, que hizo mella en el alma de nuestros discípulos. Comprendereis pues mi satisfacción y gratitud al escuchar las generosas, y sin duda hiperbólicas frases, con que Doadrio diseña el ambiente que encontró en mi Catedra de Química Inorgánica, y por el que se declara influido.

Doadrio estudió Inorgánica en nuestra Facultad el curso 1939-40, es decir, el primero profesado en la postguerra, y por esa razón integrado por numerosísimos estudiantes. Estos eran abiertos y alegres, por vivir el contraste de la lograda paz, pero al mismo tiempo ávidos de saber; por la retención mental de los años de guerra. Existía un grupo importante de alumnos distinguidos, para satisfacción nuestra y aliento de nuestras enseñanzas. En él estaba incluido Doadrio, que no sería discreto decir que era el primero, pero sí que acaso ningún otro superó su nivel. Estudioso perfectamente equilibrado, dominó por igual todas las disciplinas de la Carrera, alcanzando todos los premios, incluso después los de Licenciatura y Doctorado. Más tarde habría de hacer, lentamente y sin concesiones, la Carrera de Ciencias químicas, logrando así una más sólida y extensa formación científica básica. No sé por qué, pero ya antes de licenciarse mostraba cierta tendencia a adscribirse a nuestro grupo docente.

Vuestra cortesía me permitirá ahora recordar ciertos rasgos de mi persona, solamente en la medida precisa para comprender el clima que Doadrio encontró en mi laboratorio de Inorgánica. Cuantos profesábamos Cátedra de Química en la década anterior a nuestra guerra obedecíamos al dictado de unas ideas claras y elementales. Primero experimentar, experimentar a toda costa y tener opinión directa del mayor número posible de hechos. Después, considerar la investigación como tarea obligatoria del Profesor universitario, sin la cual nunca podría llegar a ser buen maestro. En la docencia, nuestros programas y respuestas de Química Inorgánica se encaminaban a la formación e información de los futuros farmacéuticos. A la investigación, no la poníamos otro límite que huir de lo que el biólogo Carrel denominaba «falsos problemas». Formado yo en el curso intensivo de Síntesis de medicamentos de Fourneau (1917) y en la Escuela analítica del Profesor Dénigés, de Burdeos (1922-1923), la Química era en cierto modo para mí única, sin preocuparme mucho las limitaciones de campos a que obliga la enseñanza. Así había tenido la fortuna durante esa década de realizar algunas publicaciones que fueron bien acogidas por los especialistas y me hicieron ganar su consideración. Trabajé de modo especial en la creación y explicación de nuevas reacciones y métodos de trabajo, así como en el campo de los complejos internos. Llegada la guerra, esta varia preparación me permitió prestar útiles servicios en Química Sanitaria, de los que podrían dar testimonio los Farmacéuticos Militares de aquella época. Terminada la contienda, fui llevado a dirigir el Departamento de Química Aplicada en el Instituto español de Oceanografía, por la mano amiga del Profesor Obdulio Fernández. Por esto, cuando vino después la expansión vigorosa del C. S. I. C. y fuimos incluidos en él, sólo aspiramos a una pequeña ayuda, que nos fue sin reservas concedida.

Afirma Doadrio que hemos colaborado cerca de veinte años. Lo que yo puedo decir es que nuestra primera publicación común es de octubre de 1942. Es posible que él se refiera al período de colaboración ininterrumpida que se inicia unos años más tarde (nuestra segunda publicación es de abril de 1946), cuando ya regresa definitivamente a Madrid, terminado su servicio militar. Hasta 1963 habíamos publicado juntos cerca de 30 trabajos, los primeros referentes a su tesis doctoral sobre nuevos métodos de valoración de ciertos metales en sus minerales. No me es permitido referirme al valor que puedan tener

esas publicaciones en común. Pero me urge decir que el que comenzó siendo discípulo pronto se convirtió en un fraternal consejero para todas las dificultades que surgían en el curso de las investigaciones. Se adscribe definitivamente a la Cátedra, primero como ayudante de Química Inorgánica Aplicada, después como ayudante y al fin como auxiliar de Química Inorgánica analítica, cuando se establece este nuevo curso. Desde que el C. S. I. C. crea en nuestro laboratorio la Sección de Química Analítica Aplicada, Doadrio es Ayudante de ella, con una pequeña retribución que se mantiene hasta que la Sección desaparece. Su colaboración se hace necesaria en todos los trabajos y en cuantas tesis doctorales fueron dirigidas en aquel tiempo. Entre tanto, una personalidad netamente propia de Doadrio se va robusteciendo, al margen de los contactos con nuestro Laboratorio. Podíamos recordar su publicación con García Carro acerca de «Investigación y determinación de sulfonamidas»; en 1946; con María Antonia de Lamo sobre «Crítica de algunos semimicrométodos para la determinación volumétrica de sulfatos» (1948); «La determinación volumétrica del estaño en sus minerales» (1952); con Fernández Marzol acerca de «Observaciones a la determinación del índice de yodo catalizando con sal mercúrica» (1954), y con su sola firma «Control analítico de la contaminación atmosférica» (Congreso luso-español de la Sociedad para el Progreso de las Ciencias, 1964). En 1958 la Fundación March le otorga una beca, de la que es resultado una importante publicación sobre «Aplicaciones de las volumetrías complejométricas en los análisis de minerales y productos metalúrgicos» (1959). Ya entonces formaba parte del «Consejo ordenador de los minerales estratégicos»; donde lleva a cabo una destacada labor. En 1952 fue nombrado, por oposición, Profesor del Laboratorio Municipal de Madrid, al que aporta todo su prestigio y toda su varia experiencia. A este respecto sólo voy a mencionar un hecho revelador. Cuando hace cosa de un par de años le fue planteada al Ayuntamiento madrileño la necesidad de organizar los servicios que habían de permitir un adecuado control de la contaminación atmosférica, fue Doadrio la persona encargada de llevarlo a cabo, y así lo hizo. Pero al final, se declaró la Dirección de este servicio incompatible con el ejercicio de la Cátedra Universitaria, y no vaciló en decidirse por esta última. Triunfó la vocación, que nunca engaña. Después de todo, una de las formas más reales de alcanzar en nuestro mundo un reflejo duradero

de eso que llamamos felicidad está en ejercer cualquier profesión u oficio con fuerte y arraigada vocación, tenazmente sostenida a lo largo de la existencia. He aquí por qué Doadrio, al elegir, fue movido por sentimientos incommovibles de vocación universitaria, que encuentran no pocas veces legítima e inesperada compensación. Al terminar su Carrera, Doadrio, como otros buenos estudiantes, tenía asentadas en su alma dos inclinaciones distintas, que hemos analizado con detalle en otra ocasión. Una que le mueve a utilizar sus conocimientos para ganarse la vida (la de la necesidad) y otra que le lleva irresistiblemente a participar en aventuras científicas, que empieza a admirar de todo corazón (vertiente de la generosidad). A esta última tendencia, de la más elevada alcurnia, hemos de atribuir que permaneciera tantos años a nuestro lado, dándose por entero a tareas de docencia e investigación que le procuraban retribuciones mínimas.

A medida que se acercaba el término de mi misión universitaria yo contemplaba con silenciosa satisfacción los grandes progresos de Doadrio para resolver por su cuenta problemas planteados por las investigaciones en el campo de la Química inorgánica. Siempre rechacé la idea, por arraigadas convicciones, de realizar ese acto melancólico que se llama la *última lección*. En cambio acepté complacido la tarea que me confió la Real Sociedad Española de Física y Química de pronunciar la conferencia magistral de Química inorgánica el día 2 de diciembre de 1963. La llamaba yo, tratando de engañarme un poco, mi *primera lección*, puesto que ya había cumplido entonces lo que un eufemismo habitual designa como edad reglamentaria. Versó la disertación sobre «Compuestos de coordinación de vanadio pentavalente» y en ella trataba de poner de manifiesto las reglas que condicionan la formación de complejos alcohólicos con los quelatos de vanadio pentavalente, destacando los errores en que incurrieron los investigadores (yo mismo) por desconocer esas reglas. Al hacer lo que podemos llamar estricta justicia bibliográfica queda bien manifiesta la fuerte personalidad adquirida por Doadrio como investigador. He aquí algunos párrafos de aquella conferencia: «Los mismos complejos de salicilaldoxima presentados por Flagg y Furman en 1948, han de esperar los estudios de Doadrio, en nuestros días, para esclarecer su composición». «Doadrio ha estudiado con detenimiento un grupo de tres quelatos: salicil-aldoxima, acetil-acetona y benzoil-acetona. Su estudio ha reservado interesantes sorpresas. La primera al preparar

el quelato negro violeta por el procedimiento habitual, dando por supuesto que la relación quelante a vanadio era 2 a 1. Pues bien, pese a guardar los productos generadores estas proporciones, en la sustancia negra que se separa quedan quelante y vanadio en la relación 1 a 1». Doadrio consigue al fin preparar los quelatos de diversos tipos y explica la confusión de Flagg y Furman. «Los estudios de Doadrio referentes a los espectros infrarrojos de los quelatos negros y de la sal amarilla, confirman plenamente las estructuras que venimos aceptando». «El tener por primera vez entre sus manos el quelato de acetyl-acetona con vanadio pentavalente ha permitido a Doadrio un estudio detallado de su espectro infrarrojo y un cotejo fructuoso con el de vanadio tetravalente». Me referí también en fin, a «los trabajos que ha emprendido el doctor Doadrio relativos a quelatos bidentados. Viendo las dificultades que encontraron en este aspecto Bielig y Bayer con la disalicil-dietilén-diamina las atribuye a la rigidez con que tienen que intervenir en el complejo las dos garras. Pensó entonces en alargar su distancia, operando con la salicilén-1-3-diamino-propano, consiguiendo con ello pleno éxito».

Os pido disculpa por tan larga cita, que está hecha con fines deliberados. Yo podía haber destacado la relevante personalidad de Doadrio como investigador en el campo inorgánico, antes de ser Catedrático, con adjetivos o con citas buscadas expreso para este acto de algunos de sus trabajos posteriores. He preferido hacerlo como queda escrito porque el elogio está más desnudo de oportunismo y destaca mejor cómo había ya cuajado su alta personalidad independiente como investigador apasionado, inteligente y certero.

Con cuanto va dicho, comprendereis sin esfuerzo lo que sucedió al quedar vacante la Cátedra de Química Inorgánica en la Facultad de Farmacia de Madrid. Doadrio la ganó tras brillantísimas oposiciones, ante un Tribunal formado por tres Catedráticos de Farmacia y dos de Ciencias Químicas. Demostró una documentación excepcionalmente elevada y completa, y realizó a la perfección los ejercicios prácticos. Pero sólo hemos hablado hasta ahora del investigador y del docente y hemos dicho poco del hombre. Este puede incluirse entre los de más alta calidad humana. Tiene además la ventaja de que sus más relevantes cualidades se acusan ostentosamente al exterior. Su indulgencia y comprensión en la sonrisa, su inteligencia y nobleza en la mirada, y su distinción natural en los ademanes y maneras.



Ejerce muy humana fascinación y despierta pronta simpatía entre sus amigos y conocidos. Nada nos extraña verle ascender rápidamente en su Carrera universitaria, siendo ahora Interventor y Secretario General de la Universidad Complutense.

Pero lo que debemos subrayar de manera especial en este momento es que su labor investigadora desde mayo de 1965 ha sido sorprendente. Con su señalada simpatía y su ímpetu juvenil, dota prontamente al laboratorio de aparatos que, al faltar, nos obligaba a recurrir a otros, con la consiguiente pérdida de tiempo y de continuidad en el trabajo. Hoy pueden verse allí instalaciones modernas de cromatografía (especialmente en capa fina), potenciométrías y espectrofotométrías en visible, ultravioleta e infrarrojo con equipos de titulación automáticos y de registro gráfico, y acaso sueña ahora la posibilidad de tener más cerca aparatos para estudios de resonancia magnética nuclear y difracción de rayos X. Así ha podido en unos seis años dar a la publicidad, con sus discípulos, veinte comunicaciones científicas, y dirigir cinco tesis doctorales calificadas de sobresaliente *cum laude*. No hay tiempo ni espacio para analizar estos valiosos trabajos. Los hay de carácter inorgánico analítico, aunque predominan aquellos referentes a la quelación, donde plantea y resuelve difíciles problemas estructurales. Pongamos como ejemplo su publicación con J. Martínez (abril 1970) sobre «Espectros infrarrojos de los complejos de oxovanadio (V) y oxo-vanadio (IV) con oxina y sus derivados». Los ANALES de nuestra Academia se han visto honrados con cinco publicaciones de Doadrio: «Estudio comparativo como agentes complejantes de la isonicotil-hidrazida y de su isopropilenderivado» (trabajo para su ingreso como académico correspondiente); «Determinación espectrofotométrica del etambutol» (con A. García Carro); «Determinación espectrofotométrica de la ampicilina como quelato cúprico» (colaborador M. García-Mirasierra Gómez), con el que mejora una técnica de la Farmacopea Británica, 1968; «Mercurimetrías de compuestos orgánicos» (con C. Molina), y «Valoración de compuestos organomercuriales» (con C. Molina). Registremos con satisfacción el hecho de que el nuevo académico muestre manifiesta inclinación a resolver problemas analíticos de medicamentos.

Su madurez intelectual e investigadora es prontamente reconocida por las Sociedades Científicas, confiándole la Real de Física y Química la lección magistral del año 1966. Tuvo lugar el 6 de diciembre, des-

arrollando el orador este tema: «Estudio de los factores estructurales que condicionan la aplicación de quelatos metálicos en Química analítica». Subrayemos que la Sociedad reserva estas lecciones a personas ya consagradas en sus respectivas especialidades. Doadrio sostiene ahora un numeroso y fecundo intercambio de tiradas aparte con los especialistas de todos los países, conversando así dignamente con ellos. No olvidemos consignar, para honor de nuestro académico, que ya son varios los científicos extranjeros que se han trasladado a España para trabajar con él. Citaré al Profesor argentino C. B. Marone, con quien colaboró largo tiempo, dando juntos a la publicidad diversas comunicaciones; a la señorita Fanny Salas, también argentina; a los Profesores Mladinic, chileno, y Sánchez Cavarga, colombiano; y en fin, al Licenciado Cracianescu, rumano, que aún trabaja en el laboratorio de Inorgánica y del que ya hemos insertado en los ANALES de nuestra Academia alguna publicación.

La notable disertación que acabamos de escuchar acerca de «La química de coordinación en la interpretación de las reacciones biológicas» nos permite completar la fisonomía científica del nuevo académico. Por el perfil hasta ahora diseñado le conocíamos como investigador, docente y organizador. Ahora apreciamos con admiración su capacidad para recorrer casi todos los campos científicos, y recoger hechos bien probados, ideas a veces profundas y difíciles, así como otras todavía en gestación, logrando una admirable síntesis doctrinal que ha de ser estímulo para investigaciones futuras. El título del discurso guarda cierta relación con el inaugural del curso en esta Academia 1958-59, pronunciado por nuestro ilustre compañero Dr. Santos Ruiz y que Doadrio cita en el lugar oportuno («El fenómeno de quelación en la bioquímica de los oligoelementos»). Son, sin embargo, muy diferentes la orientación y el desarrollo de ambas disertaciones. Pero habían de coincidir mucho más las líneas generales y ello no supondría rebajar el mérito de la actual, sino todo lo contrario. Estamos en unos tiempos en que de una ciencia como la Historia que nos parece invariable se ha podido escribir por el prestigioso especialista H. J. Turner: «Cada época escribe de nuevo la Historia con referencia a las condiciones predominantes en su propio tiempo. La Historia, tanto objetiva como subjetiva, está siempre haciéndose, nunca está completa». Entonces, ¿qué podríamos decir de una materia científica que cada año se dicta bajo el orgulloso imperio del dogma

dominante, que acaso pronto será reemplazado y aun menospreciado por otro más moderno y fecundo? La insistencia de un tema sobre quelatos al cabo de trece años sólo significaría la fecundidad del concepto. La conferencia de Doadrio nos demuestra que este concepto aún no ha llegado a su cenit y que le espera un porvenir de brillantes logros. La Ciencia, con luces siempre nuevas, reiterará con frecuencia los grandes temas.

Con argumentos convincentes, y con el apoyo de eminentes figuras de la Ciencia, destaca el conferenciante la identidad cada vez más estrecha entre las llamadas Química Inorgánica y Orgánica, que hoy se valen de los mismos instrumentos exploratorios para lograr constantes progresos. Si esta afirmación es válida en general, no hay que decir con cuanta mayor razón lo es en la zona de los quelatos. Para mis ideas personales, que antes expuse sucintamente, es una satisfacción registrar que los modernos investigadores reconozcan esa hermandad entre las ramas. Como curiosidad bibliográfica voy a citar una frase que escribí en 1941 (es decir, hace exactamente treinta años) en una publicación inserta en la Revista de la Real Academia de Ciencias de Madrid: «Los complejos internos (concepto de menor amplitud que el de quelatos) determinan una fuerte deformación y energía de unión en el enlace que por su origen pudiera creérsele heteropolar. A consecuencia de ello el átomo metálico queda sujeto en un sólido anillo inasequible a las acciones hidrolíticas y a los procesos de escisión. De aquí que esta ciclisación engendre agrupamientos *que tienen grandes analogías con las sustancias orgánicas* y ninguna con las salinas, ya que la esencia de éstas radica en su fácil ruptura dipolar o el poseer iones preformados. Quedan así a cubierto de los ataques por el agua y no muestran el fenómeno corriente en las sales de ácido o base débil: la escisión hidrolítica». «Los complejos internos robustos sólo podrán ser solubles en el agua cuando tengan otros puntos de afinidad ajenos al átomo metálico, por los que engarcen y arrastren al sistema homogéneo todo el complejo». Esto que yo dije hace tanto tiempo, con una fuerte carga de intuición, viene ahora rigurosamente demostrado con el análisis instrumental moderno. Doadrio nos enseña ampliamente que esos quelatos son instrumento precioso de la Naturaleza para enmascarar un ión metálico con toda la rigurosidad deseada, para sustraerle como reserva a cualquier actividad, para dejarle, incorporado a un complejo soluble en agua o micelar, con la libertad

suficiente de algunas valencias que permitan una valiosa actividad específica como metalo-enzima o co-enzima, o, en fin, para dejar el átomo metálico en libertad iónica. Esta flexibilidad preciosa de los quelatos tiene, en general, mucha más importancia en la química de la vida que la que puedan tener los más complicados y extraños productos organo-metálicos verdaderos.

Con mucha frecuencia, movido sin duda por su extrema cortesía, está reiterando disculpas por penetrar en un terreno al que podía considerársele extraño, por su condición de Químico inorgánico. Un jurista hábil podría defenderle diciendo que Doadrio habla en el título de su conferencia de *biológicos* y no de *bioquímicos*, y la Biología, como la Oceanografía, ha dejado de ser una Ciencia para convertirse en una Síntesis científica del más alto rango, a cuyo servicio acuden, o son reclamadas, numerosas Ciencias específicas, una de las cuales pudiera ser la Ciencia de los quelatos. No obstante, muestro mi conformidad con la postura del nuevo académico, que desea entrar en la liza a través de la poderosa y prestigiosa Bioquímica molecular, cuyos gloriosos antecedentes la otorgan un rango de primera línea. El alcance que pueda tener en el futuro una ciencia específica de los quelatos, no tenemos capacidad para señalarlo. El interés universal que suscita la Bioquímica, con sus grandes centros de investigación en equipo ricamente dotados, es una prueba más del carácter antropocéntrico de la Ciencia. Y no sólo la Bioquímica humana directa. Por ejemplo, cuando el hombre indaga ávidamente el quimismo de los virus y de las bacterias está pensando, consciente o inconscientemente, en el suyo propio, en el complejísimo mecanismo del vivir humano, que acaso espera esclarecer en alguna faceta elevándose, con la infinita paciencia de los científicos, desde los escalones elementales de la vida. Con toda razón denomina Doadrio a la Química biológica «polo de atracción para investigadores de muy diversos orígenes y formación muy diferente». El puede estar tranquilo del legítimo derecho de su intervención, por la seria obra que tiene hecho en el terreno de los quelatos, cuyos trabajos podría mostrar al que tuviera la menor sombra de duda, diciendo como Cisneros: «Estos son mis poderes». Su profundo conocimiento de la Química de los quelatos le hace caminar con pie firme en un terreno difícil aunque actualísimo. Hay ya brillantes conquistas, pero muchos hechos oscuros que el conferenciante pone de relieve con singular competencia. De todos modos al extre-

mar sus argumentos en favor del interés que ofrece la quelación en Biología, nos ilustra con una valiosa relación de hechos biológicos importantes donde la quelación cuenta. En fin, bastaría el sesgo que toma hoy la química de los oligoelementos para justificarle.

Como habéis podido escuchar, Doadrio ha establecido una doctrina armoniosa, coherente y convincente de la función y estructuras atribuibles a importantes metalo-enzimas en esa cadena interminable de reacciones enzimáticas que caracterizan la vida. Habló, naturalmente, del fondo energético de estos procesos, regulados por las leyes inflexibles y rigurosas de la termodinámica, pero penetra enseguida en sus imágenes estructurales, que sitúan al químico en su lenguaje propio. Pasamos por un período en que estas fórmulas se cargan de día en día de mayor significado, gracias a la aportación de nuevos aparatos cada vez más perfectos y al enriquecimiento de los campos de exploración. Ello permite al conferenciante caminar derecho a su tarea fundamental; la de señalar con seguridad la estructura más admisible, y la de buscar en ella el «sitio activo» de la metalo-enzima, donde queda aprisionado el átomo metálico, así como la estructura del quelato formado más en armonía con la misión característica encomendada a la metaloenzima. Para esto cuenta con la ayuda fundamental de sus profundos conocimientos sobre los grupos que forman la «garra», bien especializados dentro de una proteína o bien procedentes de algún producto de metabolismo. Los estructuristas físico-químicos acuden después, diciendo muchas veces la última palabra. Así ha podido ofrecernos el más sugestivo panorama acerca de los iones metálicos y sus complejos en los sistemas biológicos. Con una claridad ejemplar, y considerando tanto el sustrato como las metaloenzimas, presentó ejemplos de gran trascendencia, referentes a la hidrólisis de los ésteres y amidas de aminoácidos, a la quelación de medicamentos con iones metálicos, a la hidrólisis de los ésteres fosfóricos y a la activación y transporte del oxígeno molecular. Os recordaré sucintamente un solo ejemplo, que pone de relieve el papel fundamental de los estructuristas. La carbónico-anhidrasa tiene una fracción proteica de peso molecular 30.000, con un átomo de Zn por molécula. Eliminando el metal por diálisis la actividad desaparece. Se hace una investigación, muy clásica, de ver los efectos, reemplazando el cinc por otros iones divalentes. En efecto, vuelve la actividad con varios y muy especialmente con el ion cobaltoso. Las

características especiales de la enzima cobaltosa auguran que «la estructura del sitio activo es de baja simetría, pudiendo corresponder a un tetraedro distorsionado, señala Doadrio, o a una estructura penta-coordinada. Por difracción con rayos X se ha podido comprobar esta predicción, estando situado el centro activo de la enzima en el fondo de una profunda cavidad que forma la estructura proteica». Este breve ejemplo no es más que una llamada de atención sobre las muchas ideas atrayentes que puede encontrar quien relea este discurso, con más o menos calma según su especialización,

Permitidme ahora unos comentarios algo más extensos acerca de uno de los capítulos más sugestivos de esta disertación: el referente a la activación del nitrógeno atmosférico. Con razón recuerda Doadrio el asombro que siempre produjo considerar que ciertos microorganismos, aisladamente o en simbiosis con leguminosas, puedan incorporar directamente el nitrógeno a compuestos vitales a la temperatura ordinaria y en las condiciones ambientales, «una de las mayores maravillas que ofrece la Biología». Aun en todos nuestros libros elementales de Inorgánica, raro es quien no ha expresado su asombro al comparar este hecho con la enorme resistencia del nitrógeno molecular a entrar en reacción. Esta admiración la extienden otros a toda la Biología. Por ejemplo, el bromatólogo belga P. Lechat en un trabajo de 1970 sobre «La biotransformación de los alimentos», escribe: «Los seres vivos constituyen maravillosos laboratorios que realizan el sueño de los viejos alquimistas y hacen palidecer de celos a nuestros actuales ingenieros químicos.» «Son capaces, en efecto, de operar, rápida y gratuitamente, sin ruido, a la presión y temperatura ambientales y con excelente rendimiento, transformaciones que penosamente se logran en los laboratorios mejor equipados a costa de mucha energía, dinero y materia gris.» Lo que no dice Lechat es que este sentimiento que pudo ser un *tabú* como el de la *fuerza vital*, ya está por completo superado. La Bioquímica moderna, frente a la intrincada complejidad de los fenómenos naturales, no se arredra, y con terca insistencia realiza infinidad de análisis, síntesis y pruebas, tratando de hacer retroceder el secreto de la Naturaleza a reductos más lejanos. En este sentido resulta sumamente aleccionador el magistral capítulo sobre la activación del nitrógeno molecular. Nos expone Doadrio, con lúcida claridad, cómo se llega a estimar que la fijación biológica del nitrógeno es obra de metalo-enzimas con un

«sitio activo» que fija el nitrógeno molecular por coordinación al metal, existiendo además una fuente de energía que activa y un sistema productor de hidrógeno. La Bioquímica molecular de nuestros días está empeñada en una dramática lucha para localizar esos centros en la compleja molécula de las enzimas y va desbrozando el camino para algunas posibles localizaciones. Claro, como siempre que la complejidad de un problema se acentúa sin hallar solución aceptable, surgen diversas teorías particulares en la que cada autor o escuela defiende con tesón la suya. Como siempre también, en casos parecidos, tercián en la contienda químicos que operan con productos sintéticos capaces de fijar el nitrógeno. Allí los problemas suscitados pueden tener una solución previa más fácil, que acaso podrían trasladar a productos naturales. Doadrio advierte con melancolía la ventaja que llevan aquellos centros de investigación ricamente dotados de medios y personal. Es alentador pensar que ya en 1968 se han logrado complejos capaces de fijar el nitrógeno atmosférico a la presión ordinaria. Los hallazgos, que se habían iniciado por los motivos que estamos señalando, despiertan ahora interés en el terreno industrial, con la esperanza de encontrar una nueva vía para la obtención catalítica del amoníaco. Un hecho más que habla en favor de la unidad en la investigación química, sin prejuicios de títulos previos, que se viene preconizando en este discurso.

La disertación del doctor Doadrio termina con un apartado, relativamente breve, sobre el papel biológico y química de coordinación de molibdeno y vanadio. Discurre sobre el tema con su habitual fluidez y claridad, y detalla en la bibliografía numerosas referencias relativas a trabajos en los que él ha intervenido y que le acreditan como un investigador y un profundo conocedor de cuanto con los quelatos se relaciona. Para satisfacción del nuevo académico, quiero decirle que los químicos del mar pasan también por un período de honda preocupación relacionada con la química de los quelatos. Van a quedar superados aquellos tiempos en que salinidad, oxígeno, nitritos, nitratos, fosfatos y silicatos eran el único objeto de las campañas químicas en el mar. Bien es verdad que en el ambiente marino los problemas bioquímicos son infinitamente más complicados, por la coexistencia de miles de especies, cada una con su peculiar quimismo, en un espacio reducido. «Los quelatos, dice por ejemplo el especialista Cooper, pueden retener fuertemente con sus pinzas átomos metá-

licos, como el hierro y el cobalto (indispensables para ciertas metaloenzimas) e incluso no liberarlos ante determinados reactivos analíticos; llevando a conclusiones erróneas, hasta dar negativa la presencia de un oligoelemento relativamente abundante.» De todas las metaloenzimas que influyen en la vida de seres marinos, la mejor estudiada es la cobalamina, para cuya determinación reclama Cooper técnicas analíticas de rutina que sea rápidas. El mejor conocimiento de su distribución permitiría acaso explicar por qué ciertas aguas son buenas y otras malas para los organismos marinos vivos: Hoy no sólo interesan a los químicos del mar los complejos de cobalto y hierro, sino también, entre otros, los de cobre, molibdeno y vanadio, e incluso parece que también los de niobio en las ascidias.

Después de tantos, sinceros y merecidos elogios como hice del profesor Doadrio, creo que puedo permitirme una pequeña discrepancia, humanizando así el contenido de este discurso. Dice en la introducción: «La química del medicamento alcanzará su pleno desarrollo el día que pueda abandonar su semiempirismo actual para asentarse en base científica más rigurosa, que indudablemente habrá de proporcionárnosla la química biológica molecular.» Esta profesión de fe honra al que la formula, y está en armonía con su vehemente entrega a la investigación. Pero si lee atentamente los más prestigiosos discursos, incluso pronunciados en esta casa, en los que se enaltecen los grandes progresos químicos de nuestra época, siempre dejan cierto margen para el tanteo y la sorpresa. Yo sigo pensando, como hace años, que en éste y otros campos de la Ciencia, la intuición y la inspiración siguen teniendo vigencia en el logro de nuevos descubrimientos, aunque luego expongamos los resultados con un rigorismo lógico un tanto ficticio. Las fórmulas estructurales, creación humana, no creemos que alcancen nunca perfección definitiva. Nos movemos sí, cada vez, en un terreno de más altura y fecundidad, más próximo a una verdad... que parece inasequible. La Humanidad realiza su noble esfuerzo en el seno mismo de la Creación y de la vida, que por ahora no parecen dispuestas a entregar su último secreto. Si esto puede ser lamentable para nuestro orgullo, es en cambio precioso para nuestras divinas ilusiones de progreso. A éste no se le ven límites. Transcribiré una aguda y consoladora frase de Rius pronunciada en esta misma casa: «Cualquier problema resuelto plantea otros antes insospechados, y la investigación se desarrolla como una cade-



na infinita. Hasta cierto punto puede afirmarse que *los investigadores no adivinan el porvenir, sino que lo crean*. Así la investigación se extiende ininterrumpidamente y no tiene fin.»

Deseo que en mi intervención no falte un emocionado recuerdo para aquel gran caballero que tuvo anteriormente la meralla de la Academia que hoy entregamos: el excelentísimo señor don Arturo Eyriés Rupérez. Conté desde hace mucho tiempo con su amistad y fui un admirador de la grande y patriótica obra que llevó a cabo en el Ejército, en nuestra Corporación y allí donde fue requerido para prestar su competente y siempre leal colaboración.

Al dar ahora la bienvenida más cordial y efusiva y felicitar al doctor Doadrio, es de justicia felicitar también a la Academia, que va a contar en lo sucesivo, entre sus miembros numerarios, con una personalidad científica tan relevante. Invocando los lazos que ya le unen a nosotros, sólo me resta rogarle que continúe poniendo su mejor voluntad de colaboración para acrecentar el prestigio de esta empresa honrosa, generosa y patriótica que es la Real Academia de Farmacia.