



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Laboratorio Bioelectroquímica

**“ESTUDIO ELECTROQUÍMICO DE 4-NITROIMIDAZOLES
N(1) SUSTITUIDOS”**

Memoria para optar al Título Profesional de Químico

MARCIA IRENE BECERRA GUZMÁN

Profesor Patrocinante

Dr. Juan Arturo Squella Serrano

Depto. De Química Orgánica y Físicoquímica

Directora de Memoria

Dra. Claudia Andrea Yáñez Soto

Depto. De Química Orgánica y Físicoquímica

Santiago, Chile

2008

Por fin.....

*“La vida no es eterna, se nos va en cada segundo”
Carlos Elgueta D.*

*Expreso mis más sentidos agradecimientos a todos y cada una de las
personas que a lo largo de estos casi seis años en la
Facultad me han ayudado y apoyado en toda
actividad que he debido realizar.*

*Tanto profesores directores de esta tesis, como académicos en
general, funcionarios, compañeros y futuros colegas.*

Familia, amigos y amigos eternos.

*Sin mencionar a nadie, para todos aquellos que
se sientan identificados con estas “emotivas” palabras,
les dedico mi tesis y les doy las gracias por la
paciencia que han tenido conmigo, y espero la conserven
por siempre*

RESUMEN

En la presente memoria se informa la caracterización electroquímica de 2 derivados nitroimidazolicos 1-alil-2-metil-4-nitroimidazol y 1-etil-2-metil-4-nitroimidazol utilizando técnicas electroquímicas como voltamperometría cíclica, polarografía de pulso diferencial, polarografía TAST, coulombimetría y técnica espectrofotométrica UV-visible. Se estudió el efecto del medio de trabajo (acuoso, no acuoso y mixto), la concentración de la especie electroactiva y pH en solución, el material del electrodo a utilizar y la velocidad de barrido. Los resultados mostraron una variación en el comportamiento de la respuesta electródica correspondiente a la reducción del grupo nitro.

En medio acuoso se observó una señal pH dependiente correspondiente a la reducción vía cuatro electrones y cuatro protones del grupo nitro, la cual se desplaza a potenciales más negativos a medida que el pH en solución es más alcalino. Tanto en medio mixto, a pH básico, como en medio no acuoso, fue posible obtener una respuesta monoelectrónica bien definida correspondiente al par redox RNO_2/RNO_2^- .

En todos los casos, y de acuerdo al tiempo de vida media ($t_{1/2}$), la estabilidad del anión radical nitro se vió incrementada con el aumento del pH y con la proporción de solvente orgánico en el medio.

El comportamiento de las razones de corrientes obtenidas mediante voltametría cíclica, a diferentes velocidades de barrido, indica que existe una reacción química acoplada a la reducción del grupo nitro para ambos compuestos, correspondiente a una reacción química de segundo orden (EC_2) de disproporciónación en medio mixto y de dimerización en medio no acuoso.

Dado que los potenciales de reducción obtenidos, para ambos compuestos, son menores que para el 4-nitroimidazol sin sustituir independiente del carácter electrodonor de los sustituyentes, y por comparación con otros derivados del 4-nitroimidazol, se concluye que el efecto en posición 1 del anillo imidazólico produce un efecto estérico sobre los electrones del N en posición 1,

haciendo que el anillo pierda aromaticidad, lo que disminuye densidad electrónica sobre el grupo nitro, facilitando su reducción.

Electrochemical Study of N(1) substituted 4-Nitroimidazole.

SUMMARY

This thesis work is based in the electrochemical characterization of two nitroimidazole derivatives, 1-allyl-methyl-4-nitroimidazole and 1-ethyl-2-methyl-4-nitroimidazole, using electrochemical techniques as cyclic voltammetric, polarographic differential pulse, TAST polarographic, modifying the work medium (aqueous, non aqueous and mixed), and varying the concentration of the electroactive specie, pH in solution, in addition to the sweep rate and used electrode material, observing variation on the comporting of electrode response.

We obtained a monoelectronic response, a couple $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$, this mean the formation of anion radical in mixed medium at alkaline pHs and non aqueous medium.

In aqueous medium the response is different, only pH-dependent signal corresponding to the reduction via four electrons and four protons from the nitro group, which is moving at more negative potentials as the solution pH is more alkaline.

In all cases the stability of the nitro radical anion was increased whit the rise pH (alkaline) and with the proportion of non-aqueous solvent in the medium.

The behavior of current ratio obtained of cyclic voltammetric to different sweep rate indicates that, there is a chemical reaction coupled with the electrochemical generated radicals for both compounds. This reaction corresponds to a second order chemical reaction (EC2), Disproportionation in medium mixed and Dimerization in non-aqueous medium.

Given that the potential reduction found for both compounds, are lower than for the 4-nitroimidazole without substituents, independent their nature electrodonor, and in comparison with other 4-nitroimidazole derivatives, we conclude that the substituents in position 1 imidazole ring, destabilizes the electrons of N (1), to make easy the reduction of nitro group.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. OBJETIVOS DE LA MEMORIA.....	13
2.1 Objetivo general	
2.2 Objetivos específicos	
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
3.1 Materiales y Equipos.....	14
- Compuestos estudiados	
- Reactivos y solventes	
- Equipos	
3.2 Métodos.....	16
3.2.1 Preparación de soluciones.....	16
3.2.2 Caracterización electroquímica.....	18
- Polarografía de pulso diferencial y TAST	
- Voltamperometría cíclica	
- Culombimetría	
3.3 Caracterización espectroscópica y cromatográfica.....	23
- UV visible	
- GC-MS	
- HPLC con detector UV	
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1 Estudio electroquímico utilizando como electrodo de trabajo	
Gota Colgante de Mercurio (HMDE)	25
4.1.1 Estudio en medio acuoso: 100 % Britton Robinson.....	25
A. Polarografía de pulso diferencial y polarografía TAST	
B. Voltamperometría cíclica	
4.1.2 Estudio en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30)...	28
A. Polarografía de pulso diferencial y polarografía TAST	

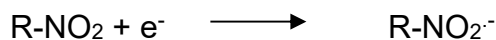
B. Espectroscopia UV visible	
C. Voltamperometría cíclica	
D. Culombimetría	
4.1.3 Estudio en medio mixto DMF / citrato (60/40).....	43
A. Polarografía de pulso diferencial y polarografía TAST	
B. Espectroscopia UV visible	
C. Voltamperometría cíclica	
4.1.4 Estudio en medio mixto DMF / citrato (40/60).....	47
A. Polarografía de pulso diferencial y polarografía TAST	
B. Voltamperometría cíclica	
4.1.5 Estudio en medio no acuoso:	
100 % DMF y 100 % DMSO (PTBA).....	50
A. Polarografía de pulso diferencial y polarografía TAST	
B. Voltamperometría cíclica	
4.2 Estudio electroquímico utilizando como electrodo de trabajo	
Carbón vítreo.....	57
4.2.1 Estudio en medio no acuoso: 100 % DMF (PTBA).....	57
A. Voltamperometría de pulso diferencial	
B. Voltamperometría cíclica	
4.3 Estudio electroquímico utilizando como electrodo de trabajo	
Carbón vítreo modificado con nanotubos de carbón.....	60
4.3.1 Estudio en medio no acuoso: 100 % DMF (PTBA).....	60
A. Voltamperometría de pulso diferencial	
B. Voltamperometría cíclica	
5. CONCLUSIONES.....	63
6. REFERENCIAS.....	65

1. INTRODUCCIÓN

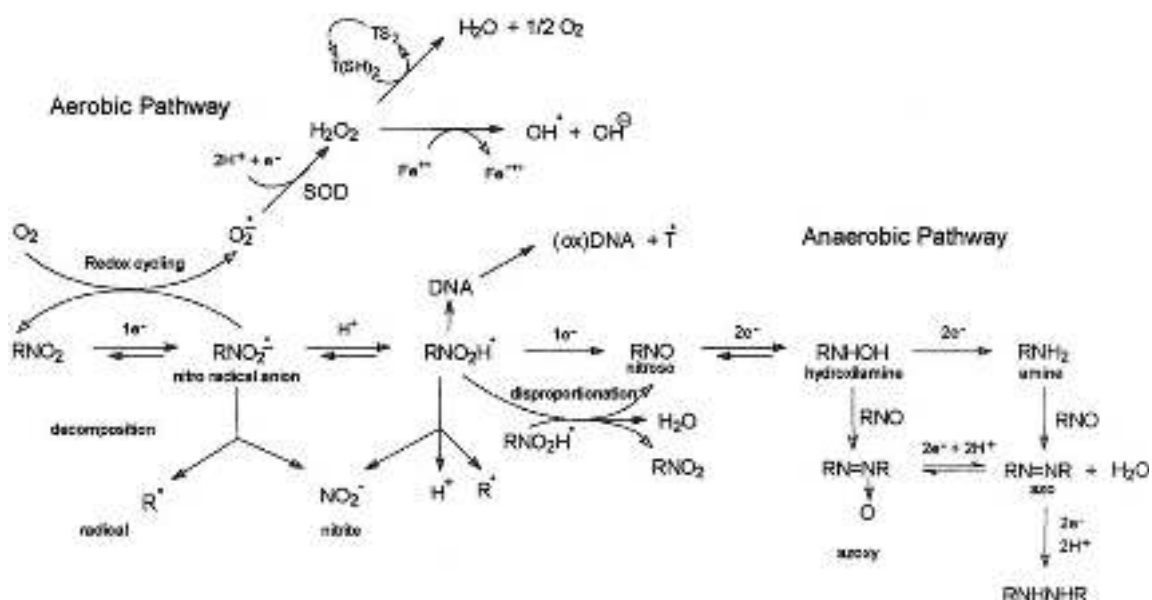
Los nitroimidazoles son utilizados como fármacos en enfermedades infecciosas, como en la enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis americana), producida por un parásito llamado *Trypanozoma cruzi*, donde los tratamientos farmacológicos actuales se basan en compuestos como el nitrofurano (Nifurtimox) y nitroimidazol (Benzonidazol), fármacos que no han aportado con un tratamiento farmacológico satisfactorio [1-3], debido a que su eficacia es limitada en la etapa crónica de la enfermedad y presentan efectos tóxicos adversos. Es por ello, que los nitrocompuestos en general han sido producto de investigación [4-7].

A pesar de que los nitroimidazoles tienen propiedades mutagénicas y cancerígenas, los 4-nitroimidazoles (estudio de esta memoria) son reconocidos como menos mutagénicos que sus homólogos 2 y 5 nitroimidazoles [10].

Los nitroimidazoles difieren en su mecanismo de reducción dependiendo del medio en que se encuentren (aeróbico o anaeróbico), figura 1 [8], no obstante, comparten la primera etapa de reducción, formando una especie radicalaria RNO_2^- , la cual, es biológicamente activa.



Bajo condiciones anaeróbicas, el anión radical formado se continúa reduciendo, logrando generar hasta derivados amínicos, mientras que bajo condiciones aeróbicas el anión radical se reoxida provocando el llamado ciclo fútil, formando especies radicalarias del oxígeno (ROS).



Es por esto que, las propiedades del par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^{\cdot-}$, como afirma Wardman [9] prácticamente definen todas las propiedades biológicas de estos compuestos. Así, el objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento electroquímico de dos derivados del 4-nitroimidazol con diferentes sustituyentes en la posición 1 del anillo imidazólico variando algunas condiciones que afectarían el mecanismo de reducción como, pH y medio de trabajo, haciendo uso de técnicas electroquímicas como voltametría cíclica, polarografía de pulso diferencial, polarografía TAST y espectrofotometría UV-Visible. Estas técnicas han sido utilizadas para el estudio del comportamiento redox de diferentes compuestos [10-13]. Específicamente se pretende dilucidar los mecanismos de reducción de estos compuestos, sabiendo la importancia que tiene la química radicalaria en el área de la medicina y determinar el efecto de los sustituyentes a la reducción del grupo nitro.

Es de gran importancia, por lo demás, reconocer el mecanismo por el cual del anión radical es desactivado tanto en medio prótico como aprótico, específicamente, en esta memoria se identificará cual es el mecanismo de

decaimiento del anión radical nitro formado electroquímicamente. Se evaluará además el efecto de la superficie del electrodo en la formación y posterior desactivación del anión radical. Para ello se trabajará sobre electrodo de gota colgante de mercurio, superficie ampliamente utilizada para reducciones electroquímicas por su reproducibilidad y alto sobrepotencial al hidrogeno, electrodo de carbón vítreo, útil tanto para reducciones como para oxidaciones y electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono, recientemente utilizados para la reducción de nitrocompuestos [20], los que tienen la ventaja de aumentar la sensibilidad del método utilizado.

Los resultados voltamétricos obtenidos pueden, en un futuro, ser utilizados para establecer indicadores de algunos parámetros de significancia biológica como E_{7}^{1} [14] tal y como otros autores han relacionado sus propios resultados [15] utilizando este tipo de técnicas electroquímicas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Caracterizar electroquímicamente el comportamiento de dos compuestos nitroimidazolicos, con especial énfasis en el estudio del efecto de los sustituyentes sobre la reducción del grupo nitro del anillo imidazólico y la formación de especies radicalarias del tipo anión radical nitro.

2.2 Objetivos específicos

A- Dilucidación de procesos electródicos

Estudiar la respuesta electroquímica de los compuestos frente a distintos solventes haciendo uso de técnicas polarográficas y de voltametría cíclica sobre electrodo de gota colgante de mercurio. Analizar el comportamiento de la corriente y potencial de pico u onda respecto a cambios de pH. Determinar el número de electrones transferidos mediante coulombimetría e identificar producto(s) de electrolisis.

B- Generación electroquímica y caracterización de intermediarios redox

Estudiar el efecto del medio, del material del electrodo a utilizar, la concentración de la especie electroactiva y la velocidad de barrido en la formación del anión radical nitro. Obtener valores de la constante de decaimiento natural (k_2) y tiempo de vida media ($t_{1/2}$) del radical formado.

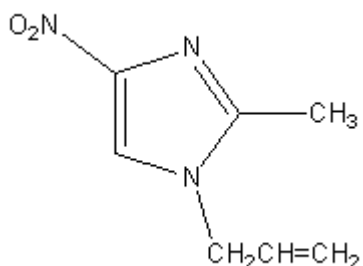
C- Obtener información acerca de la química en solución

Estudiar la respuesta espectroscópica de cada compuesto frente al pH en medio acuoso y mixto, analizando el comportamiento de las bandas de absorción respecto a cambios de pH.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

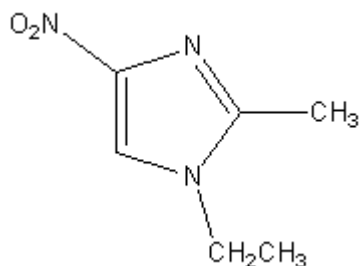
3.1 Materiales y Equipos

3.1.1 Compuestos estudiados



1-alil-2-metil-4-nitro-imidazol

Sigma-Aldrich PM 167,169 g/mol-g



1-etil-2-metil-4-nitro-imidazol

Sigma-Aldrich PM 155,158 g/mol-g

3.1.2 Reactivos y solventes

Ácido bórico p. a., Merck

Ácido acético glacial, Backer

Ácido ortofosfórico p. a., Merck

Etanol p. a., Merck

Metanol, Merck grado HPLC

Acetonitrilo, Merck grado HPLC

Ácido cítrico anhidro p.a., Fluka

Cloruro de potasio p.a., Merck

Ácido bórico p.a., Merck

N-N-Dimetilformamida p. a., Merck

Dimetilsulfoxido, Merck < 0,05% agua

Perclorato de tetrabutil amonio (PTBA), Fluka \geq 98% pureza

Hidróxido de sodio p.a., Merck

Ácido clorhídrico 37%, Merck

Agua desionizada pureza milli-Q

Nitrógeno extra puro 99,995%, AGA

Helio, AGA

Mercurio, Merck

Hiamina, Sigma Aldrich

Nanotubos cortos de carbono, Nanolab, USA

Electrodos de carbón vítreo, CH Instruments, CHI 104

3.1.3 Equipos

Agitador magnético, LAB TECH

Balanza Precisa, 40SM-200A

Medidor de pH, WTW

Sistema purificador de agua milli-Q plus

Sonicador, Branson 2210

Espectrofotómetro UV – Visible, UNICAM

Analizador electroquímico, BAS 100B

HPLC Waters 600 controlled, con detector UV Water 996 equipado con software Millennium 3.2.

Columna, Phenomenex C-8 de 30 cm y precolumna

Jeringa Hamilton de 50 μ L

3.2 Métodos

3.2.1 Preparación de soluciones

- Buffer Britton Robinson 0,1 M: Se preparan 500 mL del buffer agregando 3,09 g de ácido bórico, 2,86 mL de ácido acético y 2,07 mL de ácido ortofosfórico. Aforando con agua milli Q.

- Buffer Citrato: Acido cítrico 0,15 M, cloruro de potasio 0,3 M y ácido bórico 0,03 M. Para 500 mL de solución se agregan 1,443 g de ácido cítrico, 11,183 g de KCl y 0,927 g de H₃BO₄ en agua milli Q.

- Solución stock: Se pesa la masa suficiente para preparar 1 mL de solución del nitrocompuesto $2,5 \times 10^{-2}$ M aproximadamente en el solvente orgánico a utilizar (DMSO, DMF ó etanol). La solución se mantiene refrigerada para su conservación por un periodo máximo de tres días.

- Solución de trabajo: Para voltamperometría cícica se preparan soluciones 1×10^{-3} M y para polarografía 2×10^{-4} M del nitrocompuesto.

- Medio 100 % Britton Robinson: en un matraz de 10 mL se agrega la alícuota de solución stock preparada en buffer Britton Robinson y se afora con el mismo buffer.
- Medio Britton Robinson / etanol (70/30): Se toma la alícuota necesaria de la solución stock preparada en etanol para preparar 10 mL de solución y se agrega el volumen necesario para completar 3 mL de etanol en solución, se afora con buffer Britton Robinson.

- Medio DMF / buffer citrato (60/40): se agregan $0,342 \pm 0,001$ g de perclorato de tetrabutil amonio (PTBA) a un matraz de 10 mL, la alícuota de solución stock en DMF y 4 mL de buffer citrato, se afora con DMF sonicando si es necesario.
- Medio DMF / buffer citrato (40/60): se agrega la alícuota de solución stock en DMF y el DMF necesario para completar 4 mL, luego se afora con buffer citrato.
- Medio 100 % DMF: se agrega la alícuota de solución stock en DMF a un matraz de 10 mL que contiene $0,342 \pm 0,001$ g de PTBA y se afora con DMF.
- Medio 100% DMSO: se preparan 10 mL de solución de concentración necesaria para cada experimento, adicionando la alícuota de solución stock en DMSO, $0,342 \pm 0,001$ g de PTBA y aforando con DMSO.

A las soluciones de trabajo que fuese necesario ajustar pH se agrega HCl concentrado y/o NaOH concentrado.

- Modificación de electrodos: se prepara una solución de hiamina 10 mM, agregando 22,41 mg de hiamina en un matraz de 5 mL y aforando con buffer Britton Robinson pH 8,4 - 8,6. Con esta solución de hiamina se realiza una dispersión de nanotubos cortos oxidados de 4 mg/mL sonicándola por 15 minutos, donde la dispersión es agitada manualmente cada 5 minutos.

Para modificar los electrodos de carbón vítreo, éstos primero son pulidos en un paño con alúmina de 0,3 y 0,05 μm , lavados con agua milli Q, una vez secos se modifican agregando 5 μL de dispersión de NTC sobre el electrodo y se llevan a

secar en estufa a 50°C por 15 minutos. Las mediciones se realizan con tiempo de acumulación de 2 minutos.

3.2.2 Caracterización electroquímica

Polarografía de Pulso Diferencial

Se realizó un estudio de pH desde 2 a 12. Estudiando la variación de corriente de pico i_p y potencial de pico E_p en función del pH. Las condiciones de pulso son: amplitud 50 mV, ancho 50 mseg, tiempo de goteo 1 seg.

Polarografía TAST

Se estudió la variación de la corriente límite (i_{lim}) y el potencial de media onda ($E_{1/2}$) con el pH de la solución, variando el pH en una unidad a la vez, desde pH 2 a 12. El tiempo de goteo fue de 1seg, velocidad de barrido de 4 mV/seg.

Voltamperometría Cíclica

Con esta técnica se estudió la variación de la respuesta de la onda voltamperométrica al modificar la velocidad de barrido, pH de la solución, el medio de trabajo y el material del electrodo de trabajo. En cada caso, el potencial de inversión fué seleccionado para estudiar un par redox reversible.

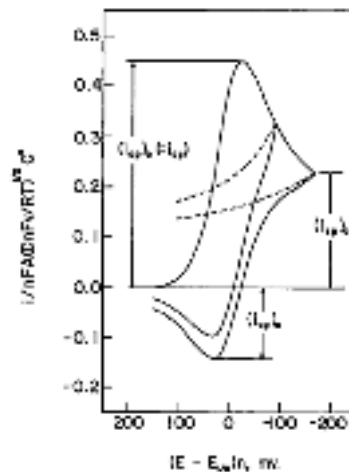
De estos voltamperogramas se determina:

a) Razón de corrientes

El valor de corriente de pico anódica (i_{pa}) y la corriente de pico anódica (i_{pc}), se obtienen de los voltamperogramas según Nicholson y Shain [16], (esquema 2), tomando como base el cero de potencial. Con estos valores de corrientes y haciendo uso de la ecuación 1 se determina la razón de corrientes:

$$\frac{i_{pa}}{i_{pc}} = \frac{(i_{pa})_0}{(i_{pc})_0} + \frac{(0,485)(i_{\lambda})}{(i_{pc})_0} + 0,086 \quad [\text{ec.1}]$$

El valor de la razón de corriente determina la reversibilidad de la onda voltamperométrica [17].



Esquema 2: Voltamperograma cíclico que indica las corrientes de pico según Nicholson y Shain

b) Reacción química acoplada

Para definir el tipo de reacción química acoplada, se determina la razón de corriente desde los voltamperogramas cíclicos experimentales (ec. 1), estos

valores son interpolándolos en las curvas teóricas descritas por Olmstead y col. (figura 3.1) [18-19] obteniendo los valores del parámetro cinético ω .

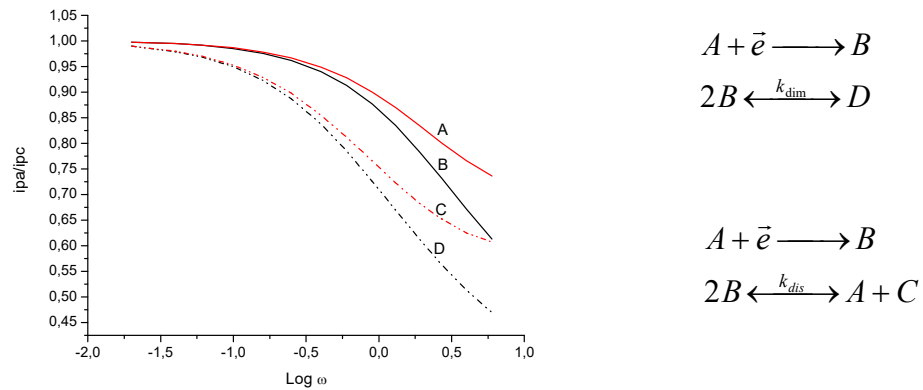


FIGURA 3.1 Variación de la razón de corrientes con el parámetro cinético ω para reacción química acoplada descrito por Olmstead y col. (A) Disproporción en electrodo esférico, (B) Disproporción en electrodo plano, (C) Dimerización en electrodo esférico, (D) Dimerización en electrodo plano.

Para obtener el valor de la constante del mecanismo de reacción de desactivación radicalario (k_2), se grafica ω versus τ . De acuerdo a la ecuación 2.

$$\omega = k_2 * C_0 * \tau \quad [\text{ec. 2}]$$

Donde ω = parámetro cinético

τ = parámetro de tiempo

C_0 = concentración de la especie electroactiva

k_2 = valor de la constante de la etapa química

$t_{1/2}$ = tiempo de vida media

Sabiendo que el parámetro de tiempo τ corresponde a:

$$\tau = \frac{E_{1/2} - E_{\lambda}}{v} \quad [\text{ec. 3}] \quad E_{1/2} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad [\text{ec. 4}]$$

Donde v = velocidad de barrido

E_{λ} = potencial de inversión o switching

$E_{1/2}$ = semisuma de potenciales, ec. 4.

Si la concentración de la especie electroactiva es conocida, se obtiene el valor de k_2 de la relación lineal existente entre los valores de ω versus τ .

De esta gráfica, es posible obtener a su vez el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) del radical, de acuerdo a la ecuación 5.

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 * C_0} \quad [\text{ec. 5}]$$

c) Orden de reacción química acoplada

Para mecanismos electroquímicos seguidos por una reacción química irreversible, EC_i , el orden de reacción es determinado con la ecuación:

$$\frac{dE_p}{d \ln C_0} = (m-1)/(m+1) * (RT/nF) \quad [\text{ec.6}]$$

Donde el valor de "m" obtenido corresponde al orden de reacción.

d) Identificación del tipo de proceso

El proceso de transporte de partículas puede estar gobernado por adsorción o por difusión. Para el caso de difusión, rige la ecuación:

$$i_p = 2,69 \times 10^5 * n^{3/2} * A * D_0^{1/2} * C * v^{1/2} \quad [\text{ec. 7}]$$

Aplicando logaritmo obtenemos:

$$\text{Log}(i_p) = \text{Log}(k) + \frac{1}{2} * \text{Log}(v) \quad [\text{ec. 8}]$$

$$\frac{\partial \text{Log}(i_p)}{\partial \text{Log}(v)} = 0,5 \quad [\text{ec. 9}]$$

Y por lo tanto, para procesos catódicos controlados por difusión, la pendiente de la gráfica $\text{Log}(i_p)$ versus $\text{Log}(v)$ es 0,5.

Culombimetría

Se realizó electrólisis a potencial controlado. La celda electrolítica utilizada contiene 1×10^{-5} moles del nitrocompuesto y consta de una poza de mercurio como electrodo de trabajo, malla de platino como electrodo auxiliar y electrodo Ag/AgCl como referencia, como muestra el esquema 3.

Antes y durante la electrólisis se burbujea la solución del nitrocompuesto con nitrógeno. Se realizan mediciones de la carga consumida en intervalos de tiempo de 10 minutos.

El número de electrones transferidos se calcula haciendo uso de la ecuación 10:

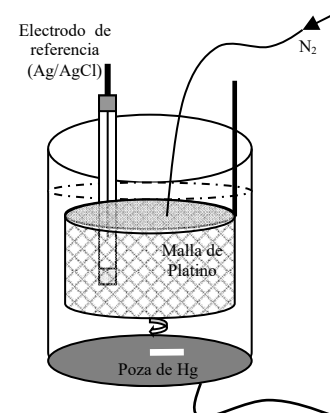
$$Q = n * F * e \quad [\text{ec. 10}]$$

Donde Q = carga total (Coulomb)

n = numero de moles en la celda

F = constante de Faraday (C/mol)

e = numero de electrones transferidos



Esquema 3: Sistema de celda para culombimetría

3.2.3 Caracterización espectroscópica y cromatográfica

UV visible

Se realizó estudio de la señal con cada unidad de pH, desde 2 a 12, a soluciones de concentración $1,5 \times 10^{-4}$ M del nitrocompuesto, en medio mixto. El barrido se realiza entre 200 a 600 nm, trabajando en celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, ajustando pH de las soluciones con HCl_{con} y/o NaOH_{con} según requerimiento.

Se evaluarán curvas absorbancia versus pH, equilibrios ácido-base, pK_a .

Cromatografía de Gases GC-MS

Utilizada para identificar productos de electrolisis.

La derivatización de los productos de electrolisis se realizó con TMS a 70°C por 15 minutos en baño seco, luego se inyectó en cromatógrafo de gases con detector de masas para su identificación según su m/z.. La inyección de los reactivos a electrolizar fue directa, sin derivatizar.

Cromatografía Líquida HPLC

La cromatografía es utilizada para separar componentes en una mezcla, en este caso, para separar reactivo y producto(s) de electrolisis. El seguimiento de la electrolisis por HLPC con detector UV-visible es llevado a cabo en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30) a pH neutro y haciendo uso de las variables experimentales mostradas en la tabla 1. La electrolisis fue seguida, inyectando muestra de la solución inicial a electrolizar, blanco y cada 10 minutos de electrolisis hasta agotamiento del reactivo.

Tabla 1		
Compuesto	1-alil-2-metil-4-Nim	1-etil-2-metil-4-Nim
Fase móvil	Agua / metanol (70/30)	Agua / metanol (85/15)
Flujo fase móvil	1 mL/min	1 mL/min
Desgasificante	Helio	Helio
Flujo desgasificante	30 mL/min	30 mL/min
Rango UV	200 – 500 nm	200 – 500 nm
Columna	C-8	C-8
Temperatura columna	25 °C	25 °C
Volumen inyección	20 µL	20 µL
Tiempo medición	10 min.	10 min.
Modo	Isocrático	Isocrático
Potencial electrólisis	-800 mV	-850 mV

Tabla1 condiciones experimentales para el seguimiento de la electrolisis de nitrocompuestos en HPLC con detector UV.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Estudio Electroquímico Utilizando Electrodo de Gota Colgante de Mercurio (HMDE)

La reducción electroquímica de los nitrocompuestos se estudió mediante PPD, PTAST y VC utilizando mercurio como electrodo de trabajo, Ag/AgCl (3M) como electrodo de referencia y alambre de platino como electrodo auxiliar o contra electrodo.

El estudio se lleva a cabo utilizando distintos solventes y variando el pH de la solución. Los resultados obtenidos en relación a los diferentes medios se muestran a continuación.

4.1.1 Estudio en medio acuoso: 100 % buffer Britton Robinson

A. Polarografía de Pulso Diferencial y Polarografía TAST

Se observa en polarografía de pulso diferencial y polarografía TAST el mismo comportamiento para ambos compuestos en estudio.

En la figura 4.1 se muestran los polarogramas PPD (A) y TAST (B) a los diferentes pHs de la solución, observando una única señal de reducción del compuesto 1-alil-2-metil-4-NIm. Tanto el potencial de pico como el de media onda, se desplazan a valores más negativos a medida que aumenta el pH, indicando que la reducción del compuesto se ve dificultada a pHs básicos.

La adsorción de la especie electroactiva sobre el electrodo de mercurio se ve reflejada en el máximo polarográfico obtenido en Polarografía TAST, el cual se va debilitando a medida que el pH es más básico.

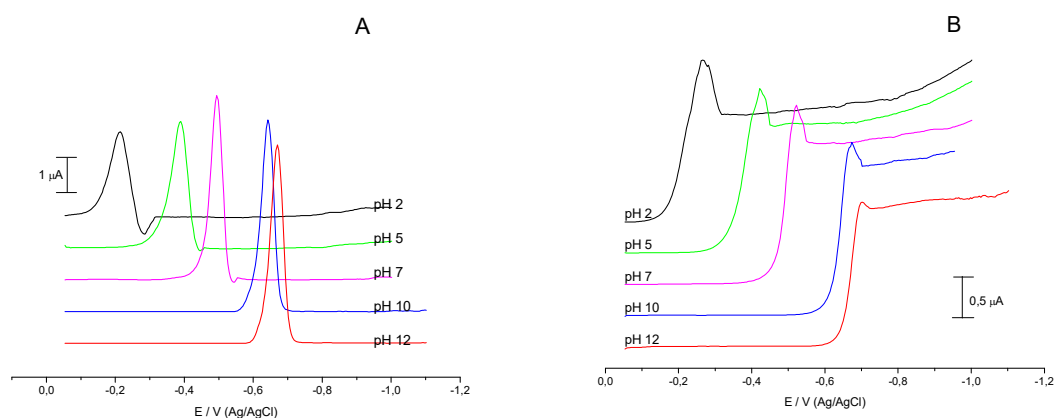


FIGURA 4.1 Polarogramas de pulso diferencial (A) y polarogramas TAST (B) de 1-alil-2-metil-4-NIm $2 \times 10^{-4} \text{M}$ en medio 100% Britton Robinson 0,1 M a distintos pHs.

Para ambos compuestos la dependencia de i_{Lim} y de E_p con el pH es similar. La figura 4.2 (A) muestra que el potencial de pico varía linealmente con el pH, hasta pH 10, por lo que no existiría un pK_a en este rango de pH, desde allí el potencial de pico es independiente del pH de la solución. La determinación de pK_a de estos compuestos en un simulador computacional Marvin, Calculador Plugin and Chemical Terms Demo [21], en agua otorga un valor de pK_a de 0,21 para 1-alil-2-metil-4-NIm y de 0,25 para 1-etil-2-metil-4-NIm, perteneciente al nitrógeno tres del anillo imidazólico. Dado que el estudio de pH comienza en pH 2, es lógico no identificar el quiebre a pH ácido.

En la figura 4.2 (B) se observa que la corriente límite es prácticamente constante en todo el rango de pH estudiado indicando que el número de electrones transferidos no depende del pH en solución.

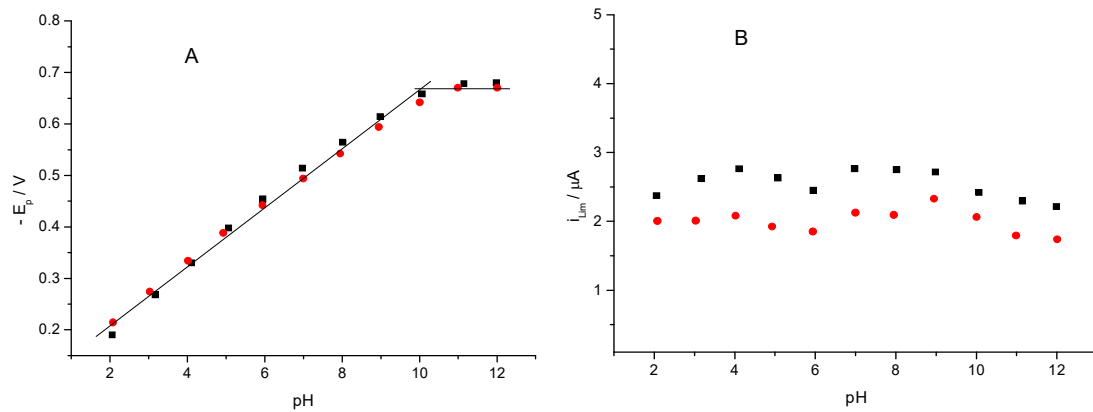


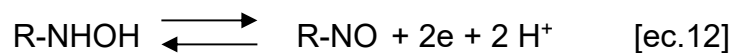
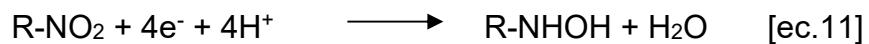
FIGURA 4.2 Dependencia del potencial de pico (E_p) con el pH (A). Dependencia de la corriente límite (i_{Lim}) con el pH (B), para (■) 1-etil-2-metil-4-NIm y para (●) 1-alil-2-metil-4-NIm $2 \times 10^{-4} M$ en medio 100% Britton Robinson 0,1M.

B. Voltamperometría cíclica

Se realizó estudio de velocidad de barrido desde 0,2 a 20 V/s en solución $1 \times 10^{-3} M$ del nitro compuesto en medio 100 % Buffer Britton Robinson a pH ácido, neutro y alcalino, 4, 7 y 11 respectivamente.

En todos los casos, se observa solo una señal catódica, indicando que no existe un cambio en el mecanismo de transferencia electrónica de reducción.

La figura 4.3 muestra que, el potencial de pico catódico se desplaza a valores más negativos con el aumento del pH. En medio neutro y básico se observa la señal de oxidación del derivado hidroxilamínico para formar el derivado nitroso, señal II (ec.12).



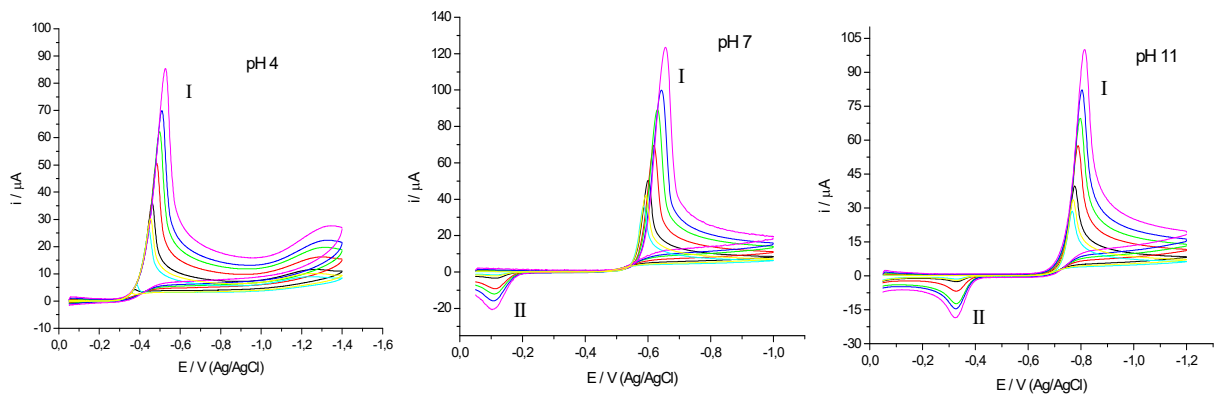


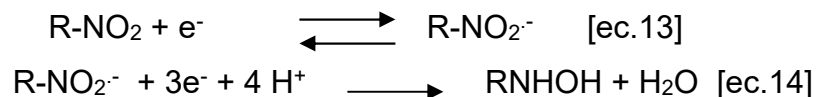
FIGURA 4.3 Voltamperogramas cíclicos de 1×10^{-3} M de 1-alil-2-metil-4-NIm en medio 100% Britton Robinson 0,1 M a pHs 4, 7 y 11 a diferentes velocidades de barrido (0,2 a 20 V/s).

4.1.2 Estudio en medio mixto: Britton Robinson / etanol (70/30)

A. Polarografía de Pulso Diferencial y Polarografía TAST

En este medio se observó para ambos compuestos 1-alil-2-metil-4-NIm y 1-etil-2-metil-4-NIm la misma dependencia del potencial con el pH.

En la figura 4.4 se observa que a medida que el pH de la solución es más alcalino, el potencial se desplaza hacia valores más negativos. En PPD, a partir de pH 10, aparece una segunda señal en el polarograma, a potencial más negativo y muy cercana a la señal principal. Dicha variación en la respuesta polarográfica indica que, a partir de pH 10, el mecanismo de reducción cambia formándose el anión radical nitro en una primera etapa y posteriormente el derivado hidroxilamínico (ec. 13 y 14), mientras que a pH mas bajos (ácidos) el derivado hidroxilamínico se forma en una sola etapa [ec.11].



En polarografía TAST, figura 4.4 (B), no se aprecian claramente estas señales, debido a que están muy cercanas entre sí.

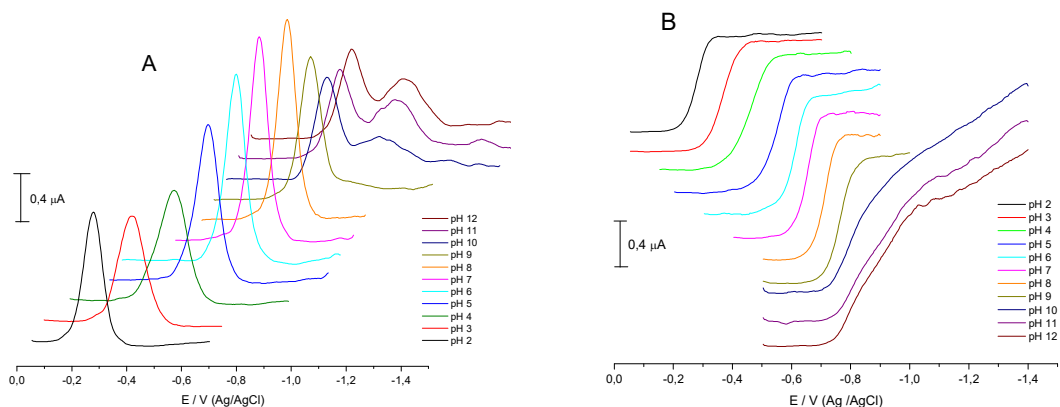


FIGURA 4.4 Polarogramas de pulso diferencial (A) y polarogramas TAST (B) de 1-etil-2-metil-4-NIm $2 \times 10^{-4} \text{M}$ en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30) a distintos pHs.

De las curvas polarográficas obtenidas experimentalmente se evaluó el efecto del pH en la solución. La figura 4.5 muestra que a partir de pH 10 ambos compuestos presentan un segundo pico polarográfico. Se observa, además, que el potencial de pico (E_p) aumenta con el aumento de pH (más básico), presentando dos quiebres aparentes a pH 4 y pH 10, aproximadamente. El potencial de media onda, por su parte, se comporta de manera similar al potencial de pico (no mostrado). El quiebre a pH 4 no fue observado en medio 100% acuoso por lo que se infiere que el cosolvente en este caso desplazaría el pKa voltamétrico a un valor aproximado de 4, siendo en medio acuoso, simulado en Malvin, de 0,2.

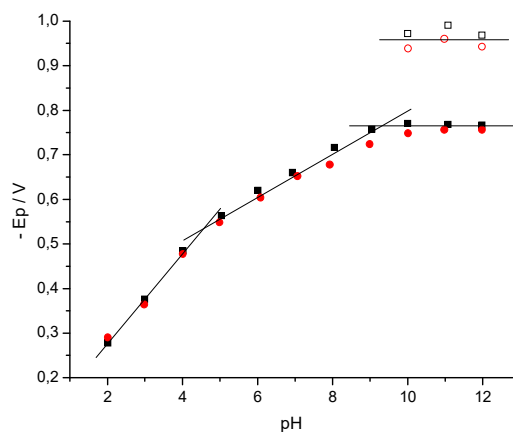


FIGURA 4.5 Dependencia de potencial de pico Ep con el pH para 1-alil-2-metil-4-NIm (●) y 1-etil-2-metil-4-NIm (■) y para su segunda señal (○), (□), respectivamente. De solución $2 \times 10^{-4} \text{M}$ en medio mixto Britton Robinson/etanol (70/30).

En la tabla 1 se resumen los valores de Ep a cuatro pHs distintos y se compara con otros nitroimidazoles que han sido estudiados en condiciones similares.

Compuesto	- Ep / mV			
	pH 2	pH 5	pH 7	pH 10
1-etil-2-metil-4-NIm	278	563	660	770
1-alil-2-metil-4-NIm	290	548	652	748
1-metil-2-OH-4-MNIm ¹	328	600	696	756
1-metil-2-CHO-4-MNIm ¹	272	572	680	744
1-metil-2-DHP-4-MNIm ¹	284	524	640	756
1-metil-2-MeOH-4-NIm ²	320	604	694	772
1-H-2-MeOH-4-NIm ²	344	636	740	824
4-NIm ¹	474	615	728	850

TABLA 1 Primer potencial de pico catódico del 4-nitroimidazol y algunos de sus derivados a distintos pH de solución en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30).

¹ Tesis para optar al título de Químico, Universidad de Chile, Marcelo Rodríguez pagina 50.

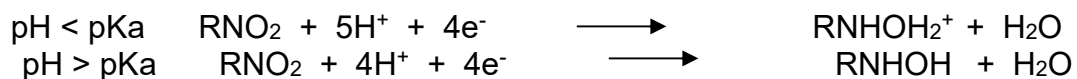
² Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico, Universidad de Chile, Eduardo Cutiño pagina 22.

Dado que en todo el rango de pH en estudio, los potenciales de reducción de los compuestos estudiados, 1-alil-2-metil-4-NIm y 1-etil-2-metil-4-NIm, son menores que para el patrón de comparación 4-nitroimidazol, tabla 1, se infiere que las sustituciones en el anillo facilitan la reducción del grupo nitro.

La tabla 1 muestra nitrocompuestos de similares características, 4-nitroimidazoles sustituidos en posición 1 y 2, en la cual, observamos que el compuesto con un hidrogeno en la posición 1 presenta los potenciales de reducción mas cercanos al 4-NIm sin sustituir, sobrepasando su potencial en algunos pHs a pesar de tener un alcohol en posición dos, aceptor de electrones. Cuando tenemos un sustituyente en posición 1, el potencial disminuye sin ser altamente afectado por el tipo de sustituyente en posición 2, por lo tanto, de esto se desprende que la sustitución en posición 1 produce un efecto estérico sobre el par de electrones del N en posición 1, haciendo que el anillo pierda aromaticidad al no conjugarse éstos en el sistema π , lo que disminuye densidad electrónica sobre el grupo nitro, facilitando su reducción independientemente del carácter electrodonor de los sustituyentes. Ya que, el potencial no presenta una variación importante al tener sustituyentes en ambas posiciones.

B. Espectroscopia UV visible

La absorbancia máxima medida a una longitud de onda fija, 312 nm para 1-alil-2-metil-4-NIm y 314 nm para 1-etil-2-metil-4-NIm en función del pH es mostrada en la figura 4.6. En dicha figura se aprecia que la absorbancia permanece prácticamente constante con el aumento del pH. De esta manera, y utilizando esta técnica no es posible obtener un valor de pKa. El quiebre en la curva Ep-pH (figura 4.5) corresponde al equilibrio de protonación-desprotonación de del derivado hidroxilaminico formado.



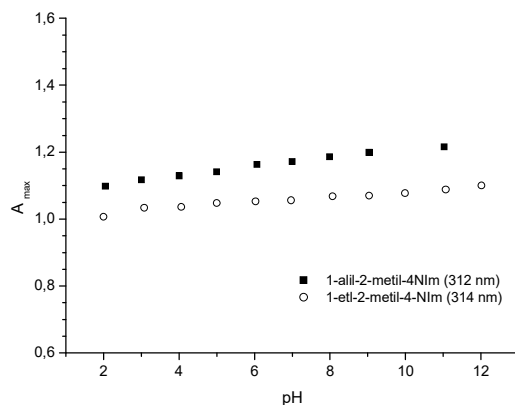


FIGURA 4.6 Variación de la absorbancia con el pH para ambos compuestos $1,5 \times 10^{-4}$ M, medida a una longitud de onda fija en medio mixto Britton Robinson/etanol (70/30).

C. Voltamperometría cíclica

Se registran voltamperogramas cíclicos a pH 10, 11 y 12 para ambos compuestos. Se estudió la señal reversible perteneciente al par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ a los pHs indicados anteriormente en los cuales fue posible aislar esta señal reversible.

C.1 Identificación de mecanismo de transporte

Se estudió la variación de la intensidad de corriente con la velocidad de barrido para ambos derivados nitroimidazólicos a una concentración de 1×10^{-3} M a pH 12. La figura 4.7 muestra el voltamograma cíclico para el compuesto 1-etil-2-metil-4-NIm a pH 12, donde se observan dos picos de reducción, del nitro compuesto a anión radical nitro (I) y su posterior reducción a derivado hidroxilamínico (II). De color rojo se superpone el ciclo reversible del par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ aislado entre -0,5 y -0,92 V.

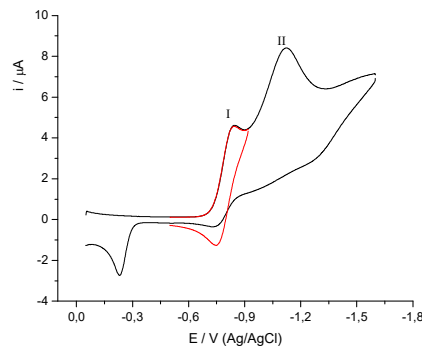


FIGURA 4.7 Voltamperogramas cíclicos a 8 V/s de 1-etil-2-metil-4-NIm 1×10^{-3} M a pH 12. Voltamperograma de barrido completo (—) y voltamperograma para el anión radical aislado (—) en medio mixto Britton Robinson/etanol (70/30).

En la figura 4.8 se muestra el logaritmo de la intensidad de corriente catódica de las señales I y II (figura 4.7) versus el logaritmo de la velocidad de barrido para ambos compuestos, donde el valor de la pendientes para cada una de las graficas es aproximadamente 0,5, lo que indica que, tanto para 1-alil-2-metil-4-NIm como para 1-etil-2-metil-4-NIm el proceso es controlado por difusión.

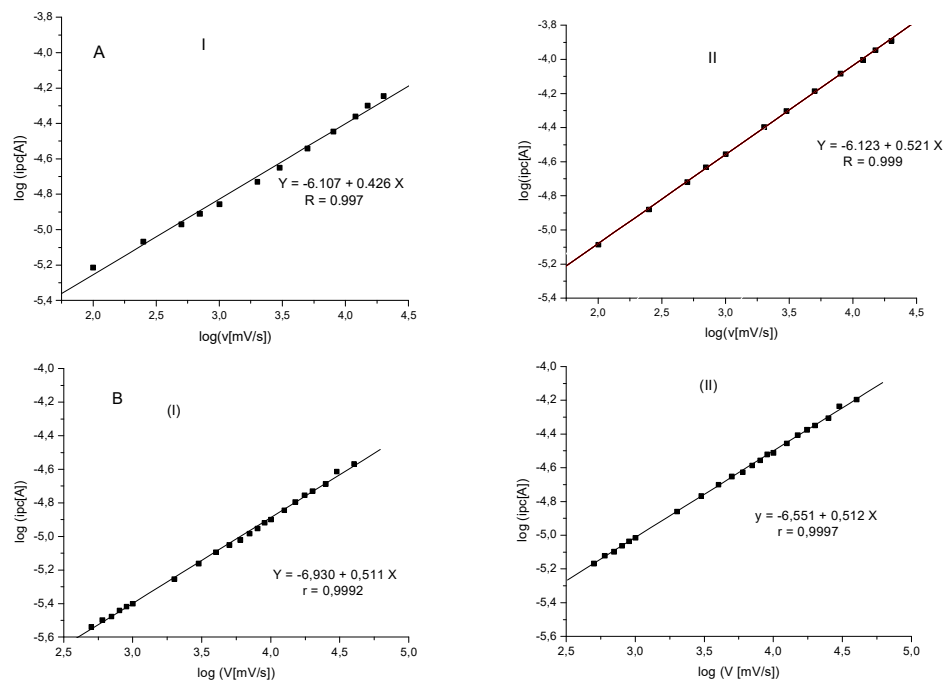


FIGURA 4.8 Gráfico $\log(i_{pc})$ v/s $\log(v)$ para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y para 1-etil-2-metil-4-NIm (B) en medio Britton Robinson/etanol (70/30) a pH 12.

C.2 Dilucidación de procesos electroquímicos por voltamperometría cíclica

En el voltamperograma cíclico de la figura 4.9 (A) se observan los resultados a pHs 11 y 12 para 1-alil-2-metil-4-NIm, donde se aprecia una señal reversible (I/I') correspondiente al par redox RNO_2/RNO_2^- , una segunda señal (II) que corresponde a la formación del derivado hidroxilamínico en la etapa posterior.

Además se observa una señal (III) correspondiente a la oxidación del derivado hidroxilamínico a derivado nitroso.

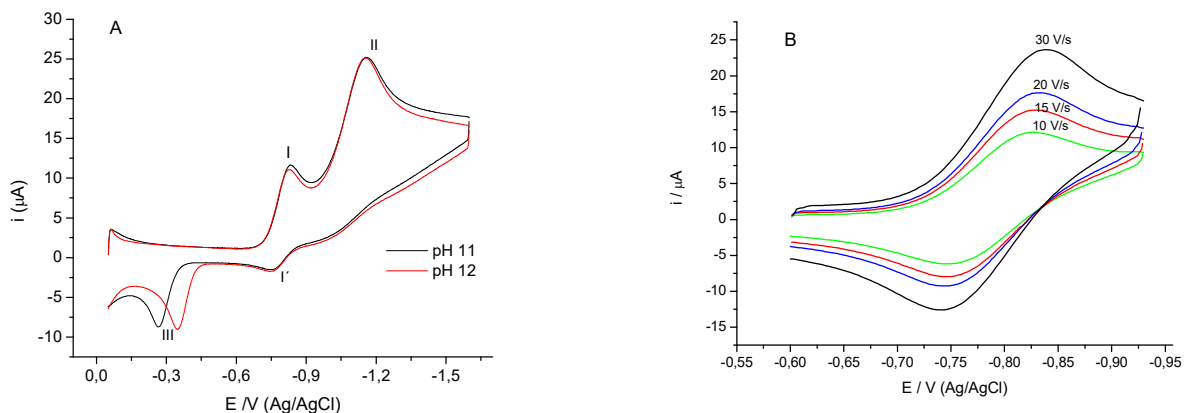


FIGURA 4.9 Voltamperogramas cíclicos para 1-alil-2-metil-4-NIm 1×10^{-3} M en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30). Voltamperograma a 8 V/s de barrido completo a pH 11 y pH 12 (A), voltamperogramas cíclicos del anión radical aislado a pH 11 en diferentes velocidades de barrido (B).

La figura 4.10 muestra voltamperogramas cíclicos a pH 7 medidos a 1V/s, en los cuales se observa que al hacer el segundo barrido catódico (color rojo), aparece una señal, I_c' , que no aparece en el primer barrido. Esta señal es producto de la reducción del derivado nitroso formado en I_a a hidroxilamínico (ec.12).

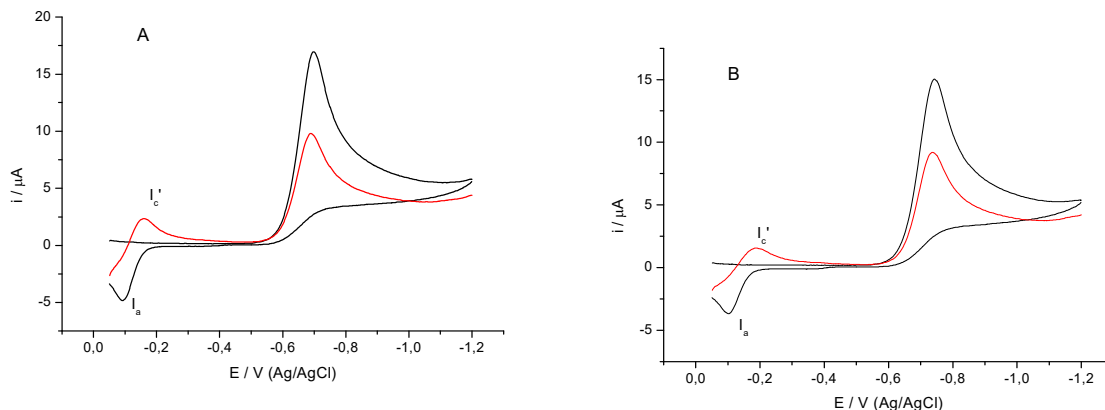


FIGURA 4.10 Voltamperogramas cíclicos para 1-alil-2-metil-4-Nim (A) y para 1-etil-2-metil-4-Nim (B) 1×10^{-3} M en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30) a pH 7, donde la señal en color rojo corresponde al tercer barrido.

Haciendo uso de la ecuación de Nicholson descrita en metodología (ec. 1, punto 3.2.2) se obtienen las razones de corriente I_{pa}/I_{pc} . La figura 4.11 muestra que la razón de corrientes, para ambos compuestos, aumenta tendiendo a uno a medida que aumenta la velocidad de barrido.

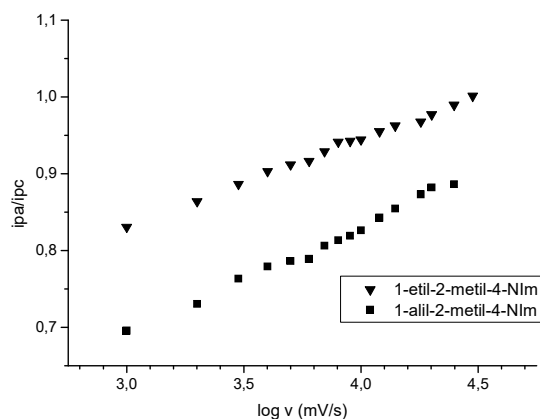


FIGURA 4.11 Razón de corriente para ambos compuestos a pH 10 en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30).

Tanto a pH 11 como a pH 12 el valor de la razón de corriente es constante y cercano a la unidad lo que nos indica que no existe una reacción química acoplada a la etapa electroquímica de reducción del grupo nitro al anión radical nitro. Este estudio se realizó desde 3 V/s, ya que a velocidades

inferiores la corriente de switching es mayor que la corriente de pico catódica, por lo que no es posible aplicar la ecuación de Nicholson para obtener la razón de corrientes.

Los valores de ΔE_p son cercanos a 60 mV (75 mV para 1-alil-2-metil-4-NIm y 70 mV para 1-etil-2-metil-4-NIm), lo que indica que el proceso es reversible para ambos compuestos.

C.3 Orden de reacción química acoplada y valor de su constante

Se estudió la dependencia de la razón de corrientes con la concentración de ambos nitro compuestos en medio mixto Britton Robinson / etanol a pH 10 utilizando como electrodo de trabajo gota colgante de mercurio. Las concentraciones en estudio fueron 0,2 – 0,4 – 0,6 – 0,8 – 1,0 mM.

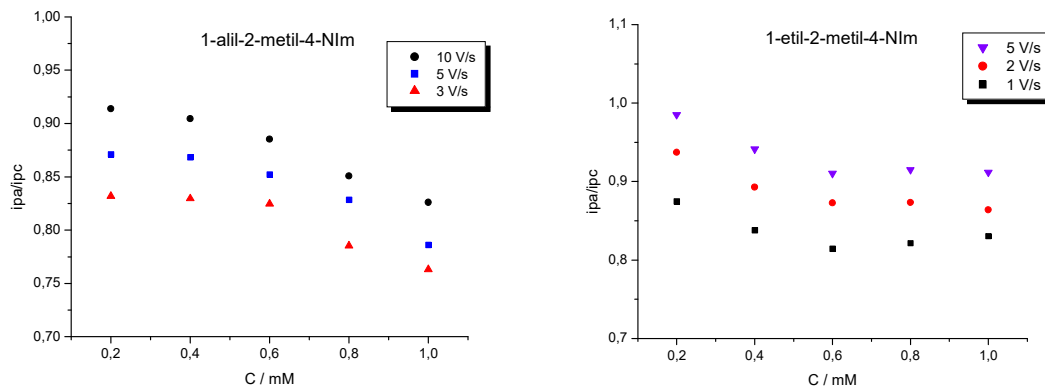


FIGURA 4.12 Razón de corriente para diferentes velocidades de barrido y su dependencia con la concentración de nitrocompuesto en medio mixto Britton Robinson/etanol (70/30) a pH 10.

En la figura 4.12 se observa que al aumentar la concentración de la especie electroactiva en solución, manteniendo constante la velocidad de barrido, la razón de corriente disminuye, indicando que el orden de la reacción química acoplada a este proceso es diferente a 1.

Para determinar el orden de la reacción química acoplada a este proceso, se utiliza la ecuación 6.

La figura 4.13 muestra la relación lineal existente entre el potencial de pico catódico y el logaritmo natural de la concentración. De la pendiente de estas gráficas se obtiene un valor de “m” de 2,38 para 1-alil-2-metil-4-NIm y de 1,97 para 1-etil-2-metil-4-NIm, por lo tanto, la reacción química acoplada al proceso de reducción electroquímico es de segundo orden.

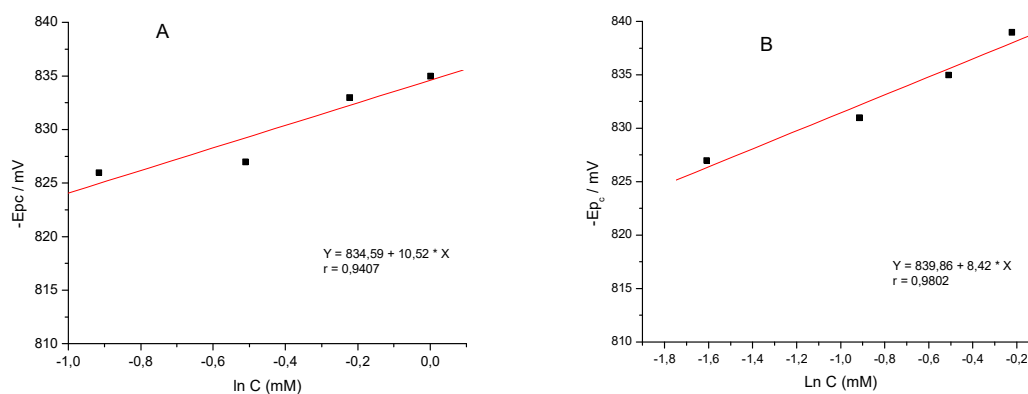


FIGURA 4.13 Gráfico de potencial de pico catódico (E_{pc}) versus $\ln C$ para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y para 1-etil-2-metil-4-NIm (B) a 7 V/s en medio mixto Britton Robinson/etanol (70/30) a pH 10.

Sólo a pH 10 se cumplen las condiciones para poder determinar el valor de la constante de decaimiento del anión radical nitro, obteniendo que el radical decae por disproporción con una constante de $8,45 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para 1-alil-2-metil-4-NIm y $2,00 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para 1-etil-2-metil-4-NIm. Mientras que para 4-NIm es $2,8 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Por lo tanto, los sustituyentes desestabilizan el anión radical nitro.

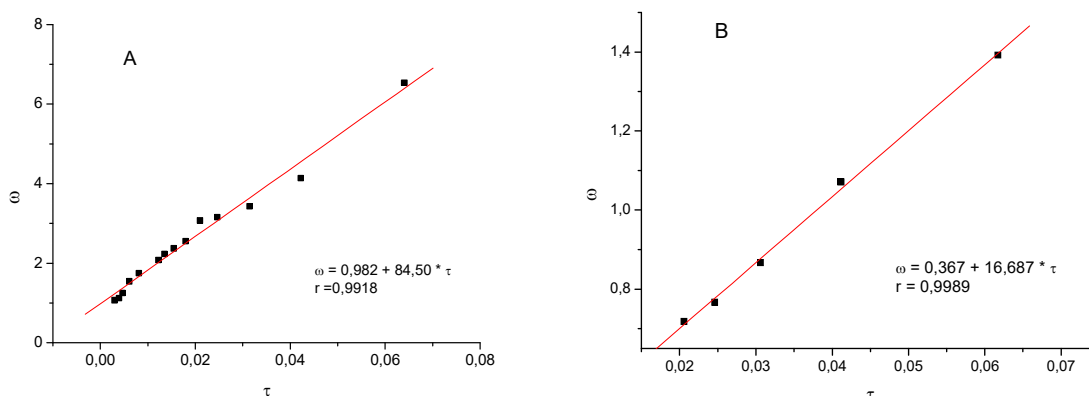


FIGURA 4.14 Gráfico ω v/s τ a pH 10 en medio mixto Britton Robinson/etanol (70/30) para 1-alil-2-metil-4-Nlm (A) 1-etil-2-metil-4-Nlm (B).

D. Culombimetría

Se realizó electrólisis a potencial controlado de -850 mV para 1-etil-2-metil-4-Nlm y de -800 mV para 1-alil-2-metil-4-Nlm (100 mV pasado el potencial de pico de la reducción) para determinar el número de electrones totales transferidos en el proceso de reducción. La solución del nitrocompuesto en medio mixto buffer B.R. /etanol (70/30) se ajusta a pH $7,0 \pm 0,1$. La electrólisis fue seguida por voltamperometría cíclica y HPLC hasta el agotamiento de la especie electroactiva, prácticamente disminución total de la señal del compuesto de partida. Esto ocurre a los 70 - 80 minutos de electrólisis.

En la figura 4.15 (A), se observa que la señal de reducción disminuye a medida que aumenta el tiempo de electrólisis, debido a que, la cantidad de especie electroactiva se va agotando. La señal que se observa a -150 mV corresponde a la oxidación del producto hidroxilamina formado sobre el electrodo, la cual también disminuye con el tiempo de electrólisis.

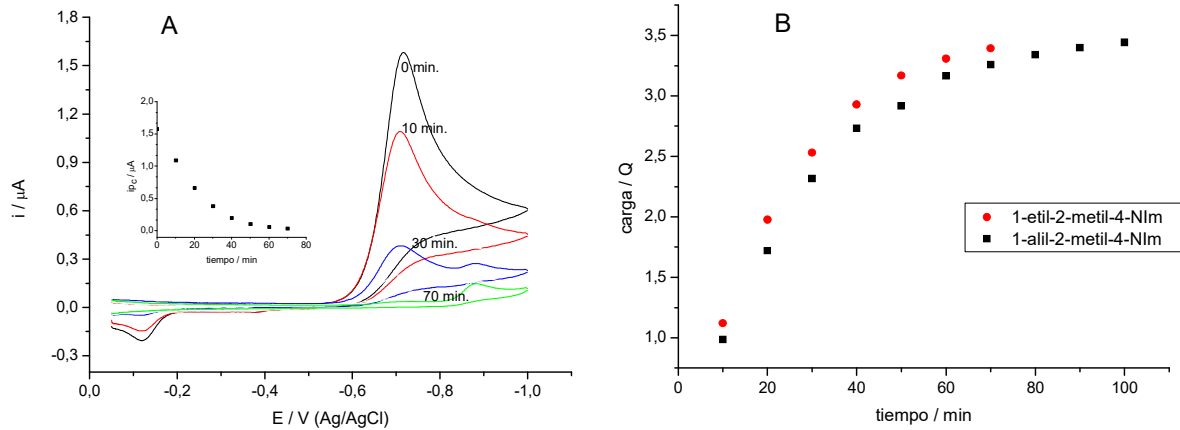


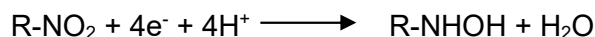
FIGURA 4.15 Gráfico de seguimiento de electrólisis por voltamperometría cíclica para 1-etil-2-metil-4-NIm (A). Variación de la carga consumida con el tiempo de electrólisis para ambos compuestos (B) en medio Britton Robinson / etanol (70/30) a pH 7.

La figura 4.15 (B) muestra la carga total transferida en el proceso de electrólisis. El número de electrones calculados de acuerdo a la ecuación 10 (punto 3.2.2) para ambos compuestos en estudio se resume en la tabla 2.

Electrólisis a potencial controlado			
Compuesto	Moles electrolizados (n)	Q_t / C	n° electrones transferidos
1-aliil-2-metil-4-NIm (-0,80 V)	1×10^{-5}	3,44	3,57
1-etil-2-metil-4-NIm (-0,85 V)	1×10^{-5}	3,39	3,52

Tabla 2: carga total consumida y número de electrones calculados para electrólisis de nitrocompuestos en medio Britton Robinson/etanol (70/30) a pH 7.

De acuerdo a esto, son transferidos un total de cuatro electrones en el proceso de reducción, lo que concuerda con la ecuación general asumida para este tipo de compuestos.



Ecuación que deja a la luz, la formación de derivado hidroxilaminico, sin embargo, no se observa a $-0,15\text{ V}$ que aumente la señal de oxidación de hidroxilamina con el tiempo de electrólisis por lo que se utilizaran técnicas cromatográficas para su explicación.

El seguimiento de la electrólisis por HPLC insinúa la existencia de dos productos de electrólisis. Como muestra la figura 4.16, la señal del reactivo (r) disminuye con el tiempo de electrólisis mientras las señales de productos p1 y p2, aumentan. Para el 1-alil-2-metil-4-NIm las señales de productos de electrólisis tienen tiempos de retención de a 3,9 y a 5,6 min, mientras que para 1-etil-2-metil-4-NIm aparece una señal a los 3,2 min y se insinúa una segunda señal a los 7,6 min.

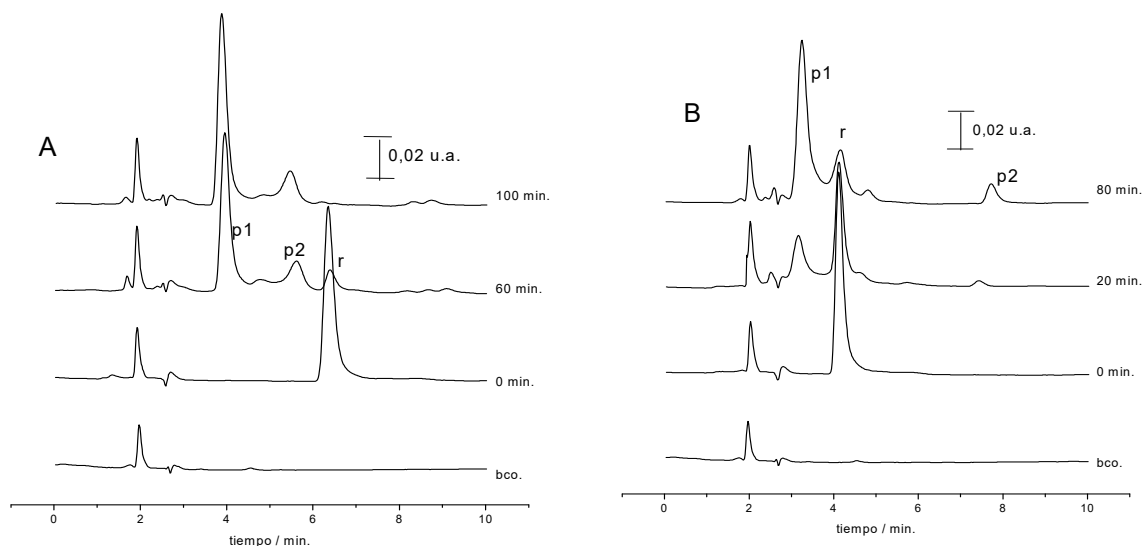


Figura 4.16 Seguimiento de electrólisis por HPLC con detector UV-visible a 230 nm para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y 1-etil-2-metil-4-NIm (B) en medio mixto Britton Robinson / etanol (70/30) a pH 7.

La figura 4.17 muestra la disminución de la señal del reactivo con el tiempo de electrólisis y el aumento de las señales de productos de la electrólisis de los nitrocompuestos, cuantificadas a 250 nm para 1-alil-2-metil-4-NIm y 230 nm para 1-etil-2-metil-4-NIm.

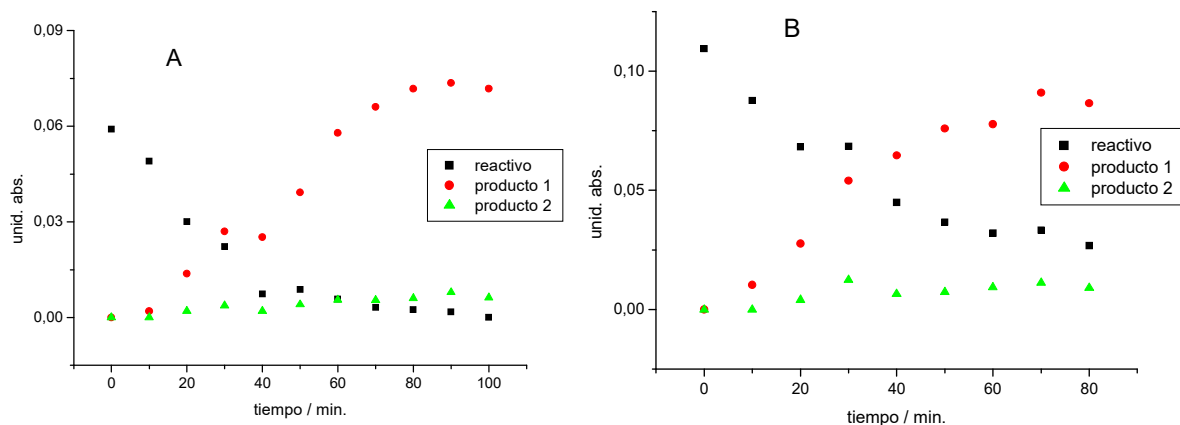


Figura 4.17 Intensidad de señal del cromatográfica con el tiempo de electrólisis para reactivos y productos de electrólisis del 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y para el 1-etil-2-metil-4-NIm (B).

Para la identificación de los productos de electrólisis se realizó GC-MS tanto a la solución de partida como a la solución final, del producto electrolizado. Por este método, los reactivos de partida son bien identificados (ver anexo 1 y 2), por sus respectivas m/z de 155 para 1-etil-2-metil-4-NIm y de 167 para 1-alil-2-metil-4-NIm. El segundo compuesto, presenta un fragmento de 121 que correspondería a la molécula con pérdida del grupo nitro.

Para el análisis de los productos, estos fueron derivatizados con TMS (el cual aporta con masa 73). Considerando que el producto de electrólisis mas probable es el derivado hidroxilamínico, se esperan m/z de 213 y 225 para 1-etil-2-metil-4-NIm y 1-alil-2-metil-4-NIm respectivamente, sin embargo se obtienen m/z de 211 y 223 y por lo tanto no sería este el producto de electrólisis, lo que concuerda con la disminución de la señal de oxidación del derivado hidroxilamínico a nitroso (-0,1 V) del seguimiento de electrolisis por VC que

disminuye con el tiempo de electrólisis. Según estos valores de m/z se presume que los productos formados son derivados nitrosos (con dos protones menos) y no derivados hidroxilamínicos. Sin embargo, no se vió por VC la oxidación de derivado nitroso a nitro que debiese aparecer a los $-0,18$ V a este pH, como se mostró en la figura 4.7 (página 32).

Con todo esto, surge la inquietud de la posibilidad que la hidroxilamina formada se pudiese consumir en otras reacciones para formar dímeros, los cuales, fuesen degradados térmicamente durante la derivatización o en la columna del GC-MS y con ello no identificados con este método de análisis.

Por lo tanto los resultados de los espectros de masa, en este caso, no son concluyentes a la hora de identificar productos de electrólisis.

4.1.3 Estudio en medio mixto DMF / citrato (60/40)

A. Polarografía de Pulso Diferencial y Polarografía TAST

Para ambos compuestos se observó en PPD, que a partir de pH 9 a parece una segunda señal, la que se puede ser identificada a los -1,6 V aproximadamente en polarografía en TAST (figura 4.18)

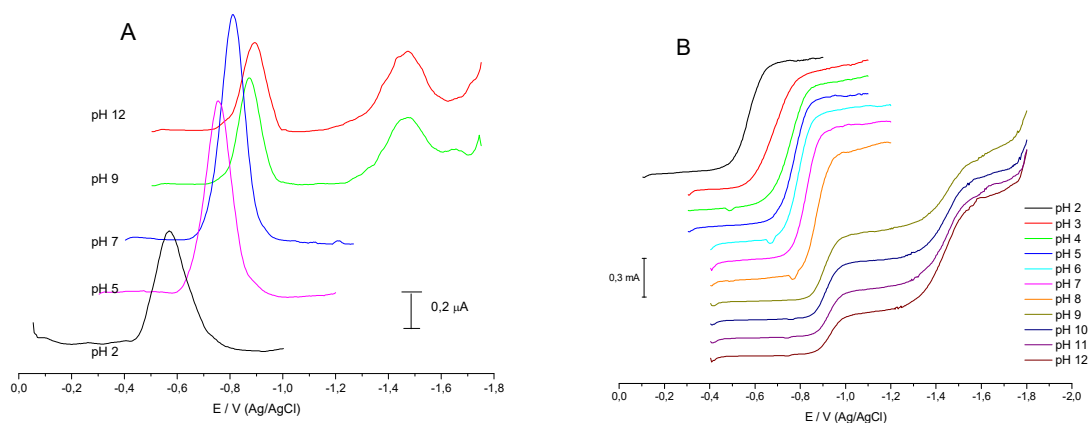


FIGURA 4.18 Polarogramas de pulso diferencial para 1-alil-2-metil-4-Nlm (A) y TAST para 1-etil-2-metil-4-Nlm (B) a diferentes pH de solución en buffer Citrato / DMF (40/60).

El pico de la segunda señal aparece a más de 500 mV de potencial de diferencia con respecto de la primera señal. Si se compara con el medio mixto Britton-etanol, cuya diferencia es de 200 mV.

En la figura 4.19 (A) se observan dos quiebres, a pH 4 y 9 aproximadamente, en (B), la corriente es constante hasta pH 8, a partir de este la corriente baja y aparece una segunda señal, lo que indica un cambio en el mecanismo de transferencia electrónica, de formar el derivado hidroxilamínico en un solo paso, a hacerlo en dos pasos, formando el anión radical nitro en el primero (ver ecuación 12 y 13).

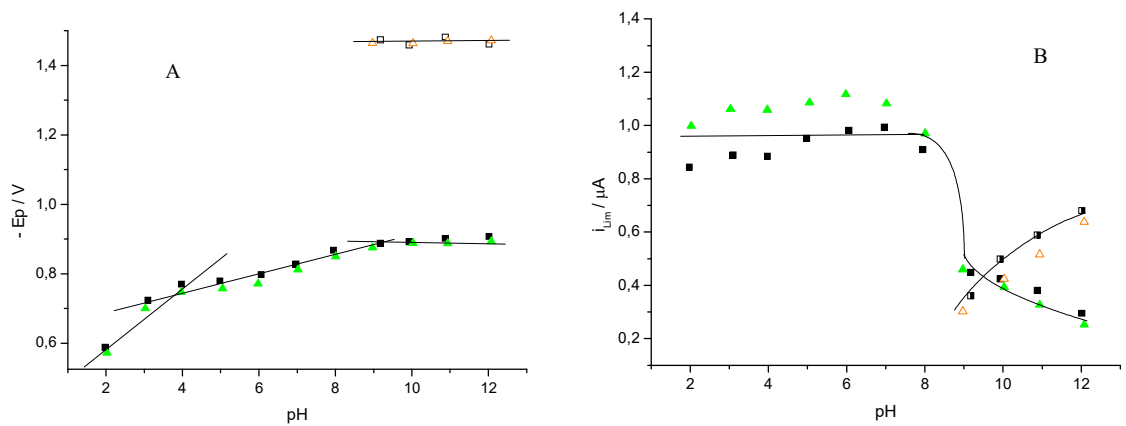


FIGURA 4.19 Variación del potencial de pico (A) y corriente límite (B) con el pH para (\blacktriangle) 1-alil-2-metil-4-NIm y (\blacksquare) 1-etil-2-metil-4-NIm en buffer Citrato / DMF (40/60) con sus respectivas segundas señales (\blacktriangle), (\square).

B. Espectroscopia UV visible

De los espectros se obtiene la absorbancia máxima medida a una longitud de onda fija, 312 nm para 1-alil-2-metil-4-NIm y 314 nm para 1-etil-2-metil-4-NIm con respecto del pH. La figura 4.20 no muestra ningún cambio en la absorbancia de los compuestos al variar el pH.

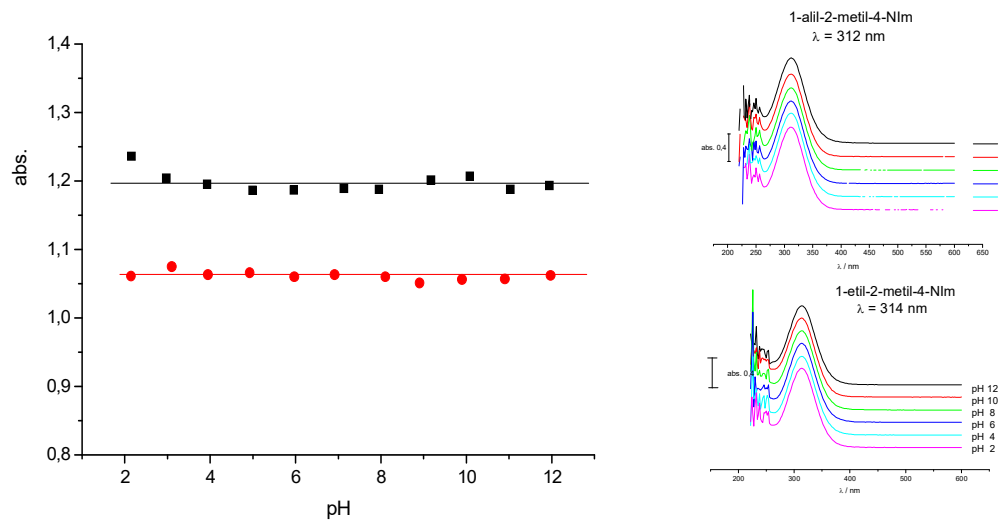


FIGURA 4.20 Dependencia de la absorbancia con el pH para (\blacksquare) 1-alil-2-metil-4-NIm y (\bullet) 1-etil-2-metil-4-NIm y sus respectivos espectros UV en medio mixto DMF/Citrato (60/40)

C. Voltamperometría cíclica

El estudio de velocidad de barrido realizado desde 0,3 a 40 V/s, se lleva a cabo mediante voltamperometría cíclica a pHs en los cuales fue posible aislar la señal del par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$, pH 9, 10, 11 y 12, ajustando debidamente el potencial de swiching (fig. 4.21 A).

En la figura 4.21 (B) se observa que al aumentar la velocidad de barrido, aumenta la intensidad de corrientes.

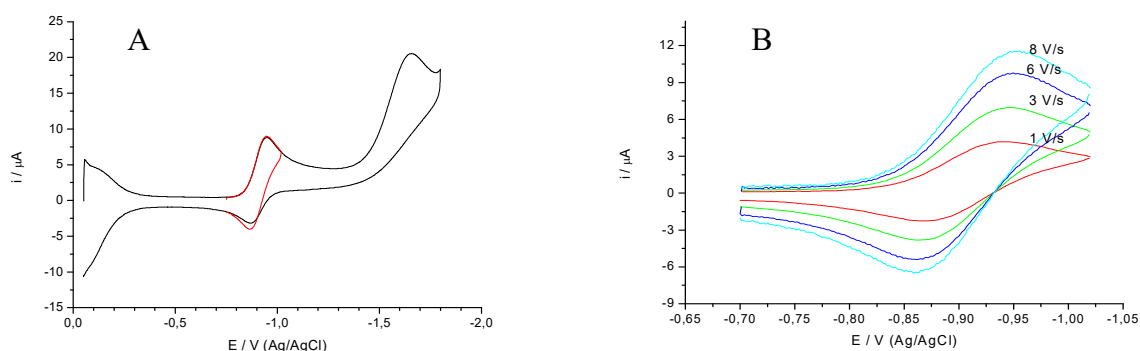


FIGURA 4.21 Voltamperograma de barrido completo (—) junto con el anión radical aislado (—) a 5 V/s (A) y voltamperogramas del anión radical aislado a diferentes velocidades de barrido (B) para 1-alil-2-metil-4-NIm $1 \times 10^{-3} \text{M}$ a pH 10 en medio mixto DMF / buffer citrato (60/40).

En la figura 4.21 (A) se muestra el voltamperograma de barrido completo y el del par redox aislado, donde se ve que la intensidad de corriente de pico anódica del par redox es mayor a la del barrido completo, debido a que al acortar el potencial de swiching, todo el radical formado es nuevamente oxidado y no se consume por la reacción de reducción a hidroxilamina.

La figura 4.22 (A) muestra que existe un aumento de la razón de corrientes con el logaritmo de la velocidad de barrido que tiende a uno. A pH 9, 10 y 11, se tiene un ΔE_p de 70, 70, 75 mV para 1-alil-2-metil-4-NIm y 75, 75, 77 mV respectivamente. A pH 12 no es posible determinar las constantes de decaimiento

a partir de las curvas descritas por Olmstead y col.[18-19], ya que la razón de corrientes es constante y cercana a la unidad como lo muestra la figura 4.22 (B).

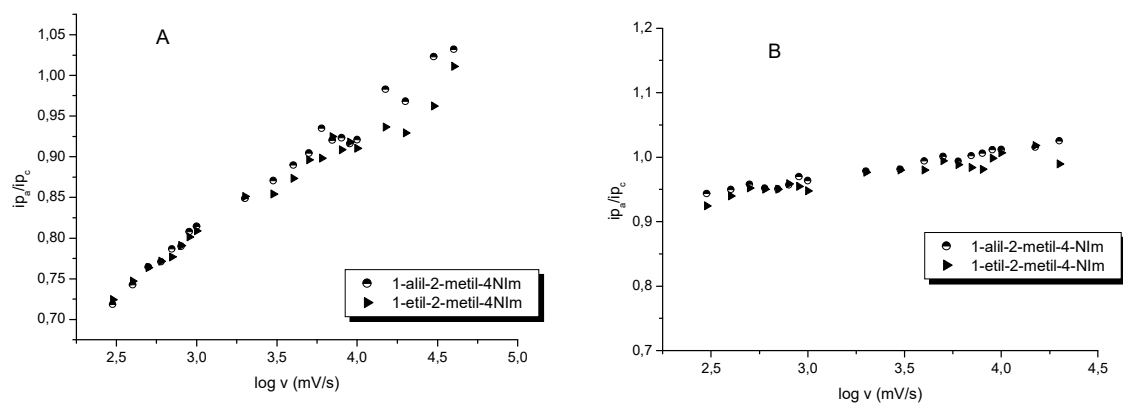


FIGURA 4.22 Grafico razón de corriente versus $\log v$ para ambos compuestos a pH 10 (A) y pH 12 (B) en medio mixto 60% DMF 40 %Buffer citrato.

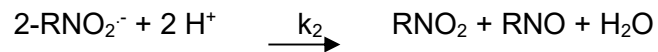
El anión radical nitro para este medio decae mediante disproporción. El valor de las constantes y tiempos de vida media se observan en la tabla 3.

pH	1-etil-2-metil4-NIm		1-aliil-2-metil4-NIm	
	Disproporción		Disproporción	
	$k_2 \cdot 10^{-4} / M^{-1}s^{-1}$	$t_{1/2} / s$	$k_2 \cdot 10^{-4} / M^{-1}s^{-1}$	$t_{1/2} / s$
9	2,96	0,034	2,08	0,048
10	1,57	0,064	1,82	0,055
11	1,41	0,071	0,933	0,107

TABLA 3 Constantes de decaimiento del anión radical nitro a diferentes pHs en medio mixto DMF/citrato (60/40).

Cabe destacar que la constante de decaimiento disminuye a medida que el pH es más alcalino y el $t_{1/2}$ aumenta, indicando que la estabilidad del anión

radical nitro se ve favorecida con el aumento del pH ya que al disminuir la concentración de protones en el medio, la reacción de disproporciónación se desfavorece estabilizando al radical. La siguiente ecuación describe este proceso.



4.1.4 Estudio en medio mixto DMF / citrato (40/60)

A. Polarografía de Pulso Diferencial y Polarografía TAST

En este punto se ha disminuido el porcentaje de DMF en 20% con respecto al estudio anterior. De manera similar a lo informado en el punto 4.1.3, a partir de pH 9 para ambos compuestos estudiados la señal en Polarografía de Pulso Diferencial se desdobra en dos, aumentando la intensidad de corriente de pico para esta segunda señal a medida que el pH de la solución es más alcalino.

En la figura 4.23 se observa que el potencial de pico en PPD coincide con el potencial de semionda de polarografía TAST para ambas señales.

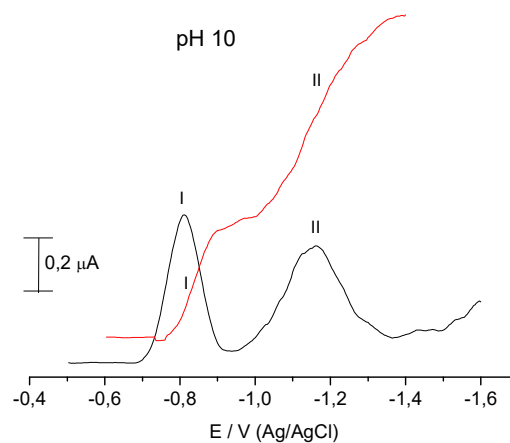


FIGURA 4.23 Señales polarográficas para 1-aliil-2-metil-4-NIm 2×10^{-4} M en medio mixto DMF / citrato (40/60) a pH alcalino e identificación de las señales en polarografía TAST y PPD.

En la figura 4.24 (A) potencial versus pH se observa que el potencial de pico aumenta (en valor absoluto) hasta pH 9 donde se mantiene constante, observándose dos quiebres en la curva, a pH 5 y pH 9 aproximadamente, lo que sugiere la existencia de cambios en el mecanismo de reducción. La corriente límite de la primera señal (I) se mantiene casi constante hasta pH 9 donde desciende, coincidiendo con la aparición de la segunda señal (II).

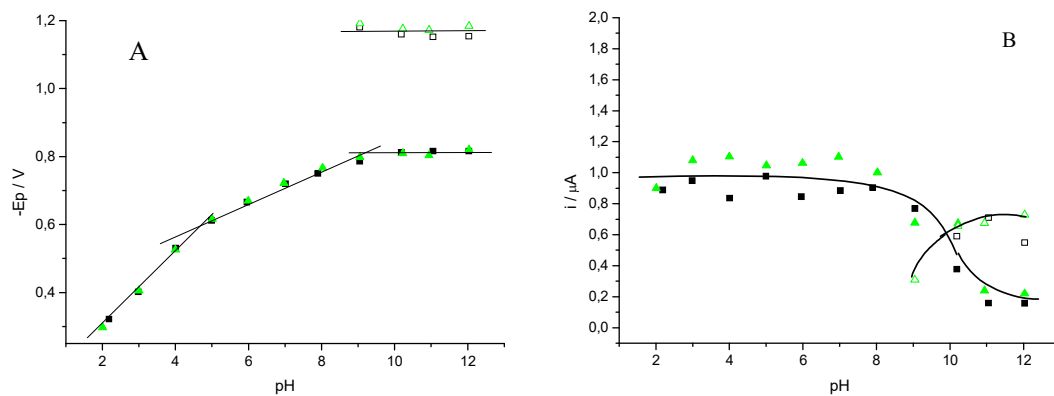


FIGURA 4.24 Dependencia del potencial de pico (A) e intensidad de corriente (B) frente al pH en solución, para (■) 1-alil-2-metil-4-NIm, (▲) 1-etil-2-metil-4-NIm. Y su segunda señal que aparece desde pH 9 en adelante para ambos compuestos (□), (△) respectivamente.

B. Voltamperometría cíclica

En la figura 4.25 se muestra el voltamperograma cíclico de barrido completo y del anión radical. Se aprecia que la señal a $-0,2$ V (aprox.) disminuye cuando el potencial de switching es de $-1,0$ V. Claramente esta señal corresponde a la oxidación del producto, hidroxilamina, formado en la señal II.

La razón de corrientes obtenida a pH 10 (figura 4.26) aumenta gradualmente hasta llegar a 1, el ΔE_p es constante, con un valor alrededor de 70 mV. Dadas estas condiciones, es posible obtener la constante de decaimiento, determinando que el mecanismo por el cual decae el anión radical nitro es disproporción.

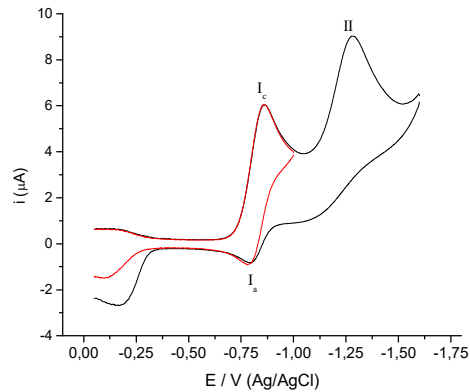


FIGURA 4.25 Voltamperogramas cíclicos a 8 V/s para solución 1×10^{-3} M de 1-alil-2-metil-4-NIm a pH 12. De color negro el voltamperograma de barrido completo y en color rojo el voltamperograma cíclico para el anión radical aislado en medio mixto DMF/citrato (40/60).

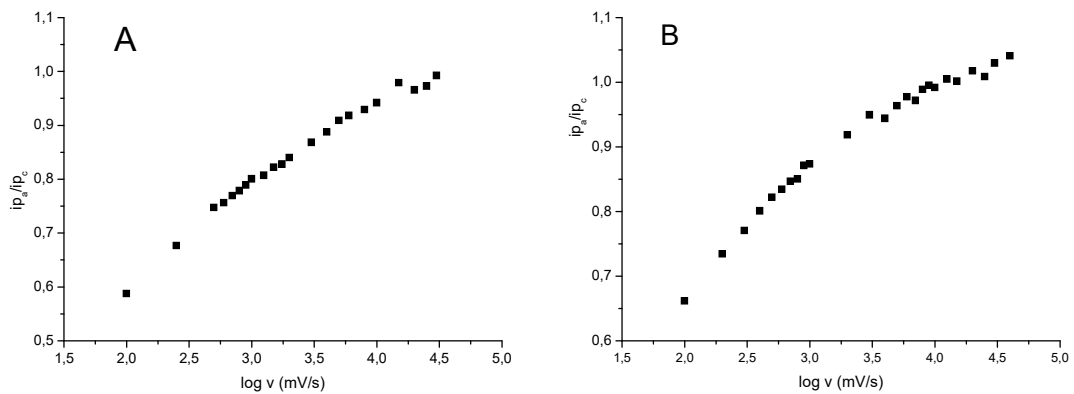


Figura 4.26 Gráfico de la dependencia de la razón de corriente con la velocidad de barrido en voltamperogramas cíclicos a pH 10 para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y 1-etil-2-metil-4-NIm (B) en medio mixto DMF/citrato (40/60).

	1-alil-2-metil-4-NIm	1-etil-2-metil-4-NIm
$t_{1/2}$ (s)	0,053	0,177
$k_2 \cdot 10^{-4}$ ($M^{-1}s^{-1}$)	1,88	0,564

Tabla 4 constante de disproporciónación para ambos compuestos a pH 10 en medio DMF/citrato (40/60).

4.1.5 Estudio en medio no acuoso: 100 % DMF (PTBA) y 100 % DMSO (PTBA)

A. Polarografía de Pulso Diferencial y Polarografía TAST

En la figura 4.27 se observa los resultados para ambos compuestos estudiados en polarografía de pulso diferencial y polarografía TAST, observando sólo una señal correspondiente a la reducción del nitrocompuesto a anión radical nitro.

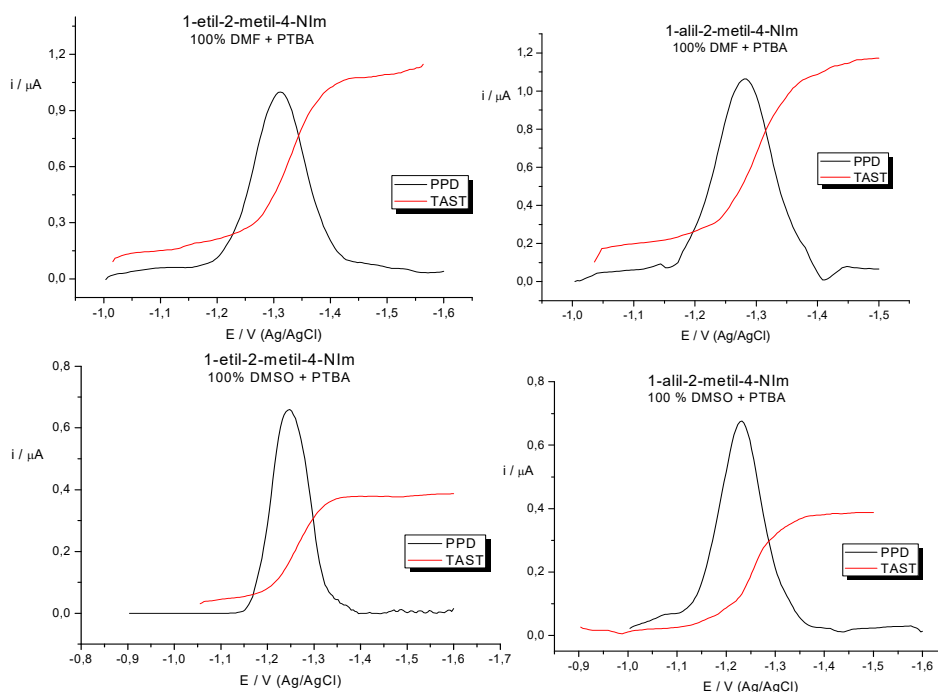


FIGURA 4.27 Compuestos 1-alil-2-metil-4-NIm y 1-etil-2-metil-4-NIm $2 \times 10^{-4} \text{M}$ estudiados en polarografía de pulso diferencial y TAST en medios no acuoso.

En la tabla 5 se resumen los valores de E_p para ambos compuestos en medio no acuoso.

Como se muestra en la tabla 5, los potenciales de pico en medio no acuoso son ligeramente menores cuando se utiliza DMSO.

1-alil-2-metil-4 NIm

Medio de Trabajo	- Ep / V		
	pH 3	pH 7	pH 10
Britton Robinson (100 %)	0,27	0,49	0,64
Britton Robinson-Etanol (70/30)	0,36	0,65	0,75
DMF-buffer citrato (40/60)	0,40	0,72	0,81
DMF-buffer citrato (60/40)	0,70	0,81	0,89
100% DMF (PTBA)	1,28		
100% DMSO (PTBA)	1,23		

1-etil-2-metil-4 NIm

Medio de Trabajo	- Ep / mV		
	pH 3	pH 7	pH 10
Britton Robinson (100 %)	0,27	0,51	0,66
Britton Robinson-Etanol (70/30)	0,38	0,66	0,77
DMF-buffer citrato (40/60)	0,41	0,72	0,81
DMF-buffer citrato (60/40)	0,72	0,83	0,89
100% DMF (PTBA)	1,31		
100% DMSO (PTBA)	1,25		

Tabla 5: Potenciales de reducción para ambos compuestos 2×10^{-4} M en medio 100 % no acuoso.

Por otro lado, al ir aumentando el porcentaje de solvente no-acuoso (DMF) en el medio el potencial de reducción se desplaza a potenciales más negativos, dificultando la reducción del nitrocompuesto o la formación del anión radical nitro. Este comportamiento rige para todos los pHs, aunque 100% DMF no presenta pH, y es para ambos compuestos.

La tabla 6 muestra los valores de potencial de reducción para diferentes derivados del 4-NIM.

	1-etil-2-metil-4-NIm	1-alil-2-metil-4-NIm	1-H-2-meOH-4-NIm	1-metil-2-CHO-4-NIm*	1-metil-2-OH-4-NIm*	1-metil-2-DHP-4-NIm*
Ep / mV	-1,31	-1,28	-1,85	-1,29	-1,29	-1,32

Tabla 6: Compuestos derivados del 4-NIm en PPD 100% DMF.

* Tesis para optar al título de Químico, Universidad de Chile, Marcelo Rodríguez 2005 pg. 32

La tabla 6 muestra los potenciales de reducción de diferentes derivados del 4-NIm en medio 100 % DMF. Según esto, el potencial de reducción del 1-etil-2-metil-4NIm es mayor que el 1-alil-2-metil-4NIm en el mismo medio, por lo que el doble enlace del alil facilita la reducción de grupo nitro. No obstante, la diferencia de potencial de estos compuestos y otros nitroimidazoles con sustituyentes en posición 1 y 2 es pequeña a pesar de que los sustituyentes son diferentes en cuanto a electroafinidad, por lo tanto, la reducción no es notoriamente dependiente del tipo de sustituyente, mas bien de la presencia de un sustituyente en posición 1.

B. Voltamperometría cíclica

Se estudió la influencia de la velocidad de barrido desde 0,5 a 40 V/s para voltamperogramas cíclicos realizados en dos medios no-acuosos DMSO y DMF.

La figura 4.28 muestra voltamperogramas cíclicos para 1-alil-2-metil-4-NIm, siendo el mismo comportamiento para ambos compuestos.

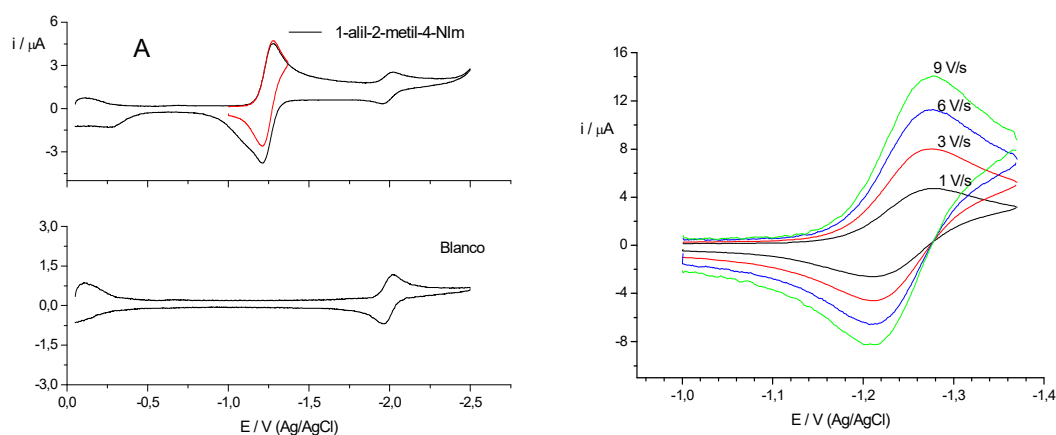


FIGURA 4.28 Voltamperogramas cíclicos de 1-alil-2-metil-4-NIm 1×10^{-3} M en medio 100% DMSO. Voltamperograma del compuesto y del blanco a 2 V/s (A), voltamperograma cíclico del anión radical aislado entre -1 y -1,37 V a diferentes velocidades de barrido (B).

Como muestra la figura 4.28 (A) aparecen dos señales en medio 100% DMSO, una señal reversible a -1,28 V corresponde a la reducción del nitrocompuesto y una segunda señal a -2,01 V, corresponde al electrolito soporte. Al contrario de lo observado en la figura 4.20, la intensidad de corriente catódica, en este caso, es menor para el voltamperograma cíclico correspondiente al par redox, ya que, al ser menor el potencial de inversión se forma menor cantidad de anión radical que posteriormente será oxidado y como en este medio no existe una reacción química acoplada, todo el producto formado es oxidado.

En la figura 4.28 (B) se muestra la respuesta voltamperométrica del anión radical aislado a diferentes velocidades de barrido.

Para este medio (DMSO) se observa una señal reversible en todo el rango de velocidades de barrido estudiadas.

En la figura 4.29 se muestran las razones de corriente de ambos compuestos en los dos solventes no-acuosos (DMF y DMSO).

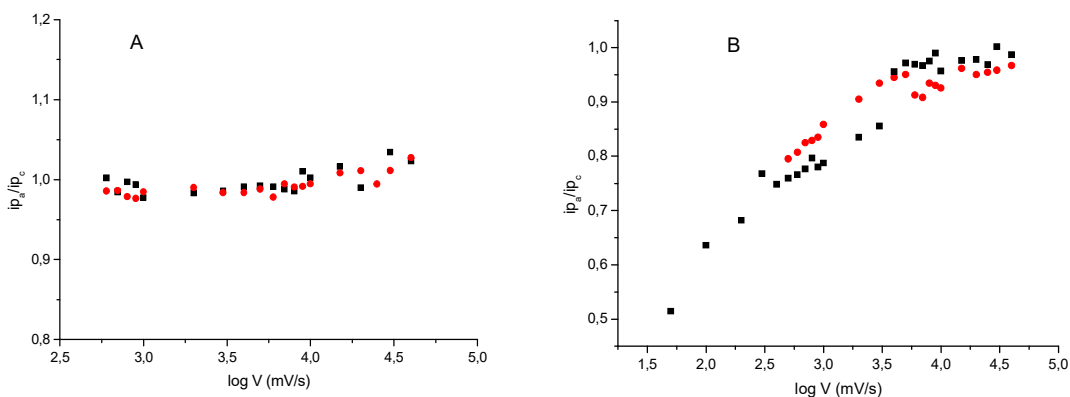


FIGURA 4.29 Gráficas de razón de corriente v/s $\log(v)$ en medio no-acuoso. 100 % DMSO (A) y 100 % DMF (B) para 1-*alil*-2-metil-4-NIm (■) y 1-*etil*-2-metil-4-NIm (●).

Como se observa en la figura 4.29, en DMSO ambos compuestos presentan un comportamiento reversible en toda la zona de velocidades de barrido estudiadas, lo que indica que no existe una reacción química acoplada, por lo que no es posible determinar una constante de decaimiento en este medio. En medio 100 % DMF, en cambio, la razón de corrientes aumenta tendiendo a uno, lo que indica que existe una reacción química acoplada a este proceso y, por lo tanto, se obtiene la constante de decaimiento a partir de las curvas descritas Olmstead y col [18-19].

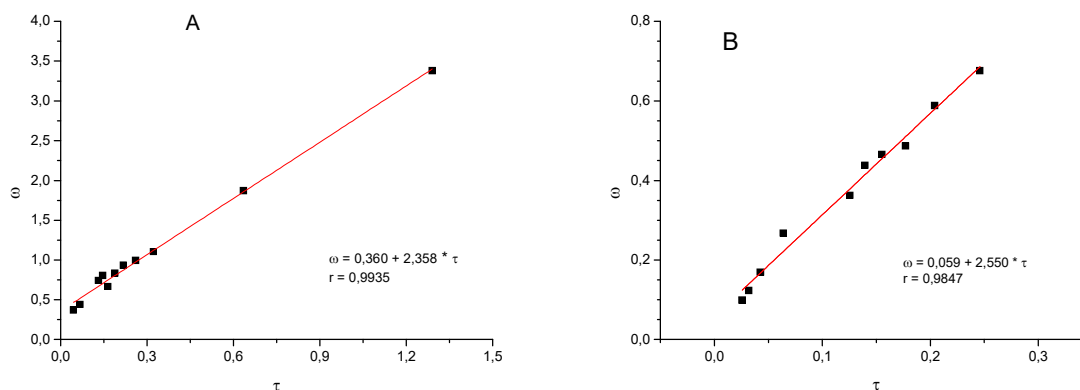


FIGURA 4.30 Gráficas de ω v/s τ para la determinación de la constante de decaimiento de dimerización para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y 1-etil-2-metil-4-NIm (B) en medio 100% DMF (PTBA 0,1 M).

En este medio el decaimiento del anión radical se produce por dimerización con un valor de constante y tiempo de vida media que aparece en tabla 7.

	1-alil-2-metil-4-NIm	1-etil-2-metil-4-NIm
$t_{1/2}$ (s)	0,424	0,392
$k_2 * 10^{-4}$ ($M^{-1}s^{-1}$)	0,236	0,255

Tabla 7: valor de constante de decaimiento por dimerización en medio 100 % DMF (PTBA 0,1 M).

En la tabla 8 se resumen los valores de las constantes de decaimiento y tiempos de vida media para 1-alil-2-metil-4-NIm y 1-etil-4-NIm en los diferentes medios estudiados sobre electrodo de mercurio.

Medio	pH	1-etil-2-metil-4-NIm		1-alil-2-metil-4-NIm	
		$k_2 \cdot 10^{-4}$ L·mol·s ⁻¹	$t_{1/2}$ s	$k_2 \cdot 10^{-4}$ L·mol·s ⁻¹	$t_{1/2}$ s
Britton Robinson- Etanol (70/30)	10	2,00	0,050	8,45	0,012
DMF-buffer citrato (60/40)	10	1,57	0,064	1,68	0,059
100% DMF (PTBA)	-	0,255	0,392	0,236	0,424

Tabla 8: Constante de decaimiento y tiempos de vida media para ambos compuestos en diferentes solventes

Como se observa en la tabla 8 mientras mayor sea la cantidad de solvente orgánico en el medio el anión radical es mas estable.

4.2 Estudio electroquímico utilizando electrodo carbón vítreo

Hasta ahora la caracterización electroquímica se ha llevado a cabo sobre gota de mercurio, en diferentes medios. Es interesante poder observar que es lo que ocurre con la formación del anión radical nitro, o mas bien, que ocurre con la respuesta de la onda voltamperométrica del par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ sobre otra superficie de trabajo. En esta sección se muestran los resultados del estudio de la respuesta voltamperométrica en voltamperometría de pulso diferencial y voltamperometría cíclica sobre electrodo de carbón vítreo, utilizando Ag/AgCl como electrodo de referencia y alambre de Platino como electrodo auxiliar, en medio 100 % no-acuoso. Este medio fue seleccionado porque sobre superficie de mercurio se obtuvo una respuesta bien definida y un mayor tiempo de vida media del anión radical nitro.

4.2.1 Estudio en medio no acuoso: 100 % DMF (PTBA) sobre carbón vítreo.

A. Voltametría de Pulso Diferencial

Manteniendo la concentración del nitrocompuesto de los estudios anteriores (2×10^{-4} M), esta vez, se realizó VPD sobre carbón vítreo observando, como muestra la figura 4.31, un solo pico de reducción a -1,32 V para 1- alil-2-metil-4-NIm y de -1,30 V para 1-etil-2-metil-4-NIm.

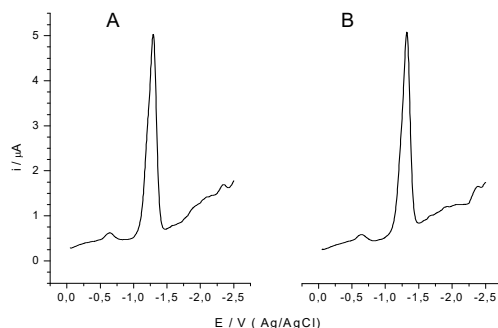


FIGURA 4.31 VPD para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y para 1-etil-2-metil-4-NIm (B) 2×10^{-4} M obtenidos sobre carbón vítreo en medio 100 % DMF (PTBA 0,1M).

B. Voltamperometría cíclica

Se observó el par redox correspondiente a $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ para ambos compuestos sobre este electrodo. Se realizó un estudio de velocidad de barrido entre 0,1 y 1 V/s para ambos compuestos. La figura 4.32 muestra los voltamperogramas cíclicos obtenidos para ambos compuestos en esta superficie.

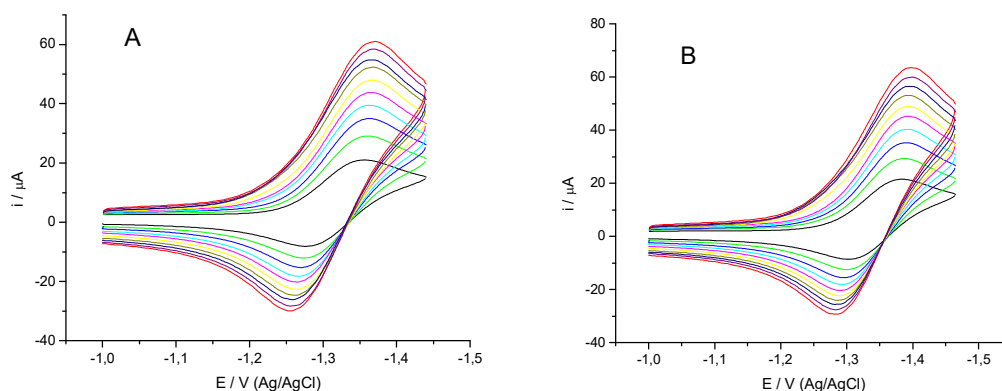


FIGURA 4.32 Voltamperogramas cíclicos para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y para 1-etil-2-metil-4-NIm (B) 1×10^{-3} M en medio 100 % DMF entre velocidades de barrido de 0,1 a 2 V/s.

Para cada uno de los compuestos se determina la razón de corrientes. A bajas velocidades de barrido, esta razón es menor a uno y aumenta gradualmente tendiendo a uno, lo que indica que hay una reacción química acoplada. En esta superficie, y en este medio de trabajo se obtiene un ΔE_p con un valor constante de aproximadamente 80 mV hasta los 0,4 V/s y aumenta hasta 140 mV a los 2 V/s.

Con estos resultados se calcula la constante de decaimiento de dimerización, utilizando esta superficie.

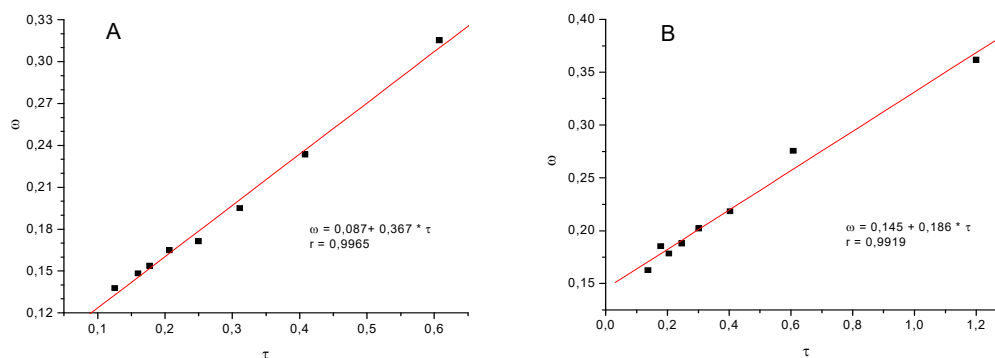


FIGURA 4.33 Grafica ω v/s τ para 1-alil-2-metil-4-NIm (A) y para 1-etil-2-metil-4-NIm (B) para la determinación de la constante de decaimiento de dimerización en medio 100 % DMF (PTBA 0,1M) sobre carbón vítreo.

En la tabla 9, se observa que el tiempo de vida media de ambos compuestos reducidos sobre carbón vítreo es mayor comparado con electrodo de Hg, por lo que se presume que esta superficie estabiliza el anión radical formado.

	Compuesto	$k_2 \cdot 10^{-3} / M^{-1} s^{-1}$	$t_{1/2} / s$	$-E_{pc} / V$
Carbón vítreo	1-alil-2-metil-4-NIm	0,367	2,723	1,37
	1-etil-2-metil-4-NIm	0,186	5,372	1,40
Mercurio	1-alil-2-metil-4-NIm	2,357	0,424	1,33
	1-etil-2-metil-4-NIm	2,550	0,392	1,36

Tabla 9: Valores de constante de decaimiento de dimerización y tiempos de vida media en medio no acuoso (100% DMF) para diferentes superficies de electrodo de trabajo.

4.3 Estudio electroquímico utilizando electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos cortos de carbono.

En esta sección se muestran los resultados obtenidos del estudio electroquímico haciendo uso de electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono como electrodo de trabajo, Ag/AgCl como electrodo de referencia y alambre de platino como electrodo auxiliar o contra electrodo.

4.3.1 Estudio en medio no acuoso: 100 % DMF (PTBA) sobre electrodos modificados.

A. Voltamperometría de Pulso Diferencial

Se realizó VPD sobre electrodos modificados de una solución del nitrocompuesto 1×10^{-3} M en DMF con perclorato de tetrabutilamonio como electrolito. En la figura 4.34 se observa un pico de reducción al mismo potencial (-1,30 V) para ambos compuestos.

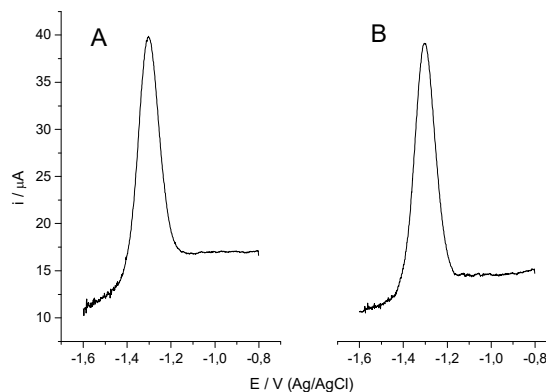


FIGURA 4.34 Voltamperogramas de pulso diferencial para 1-alil-2-metil-4-Nlm (A) y 1-etil-2-metil-4-Nlm (B) 1×10^{-3} M en 100 % DMF (PTBA 0,1M) obtenidos sobre electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono.

La tabla 10 resume los potenciales de reducción para ambos compuestos sobre diferentes superficies de trabajo.

- Ep / V		
Superficie	1-alil-2-metil-4-NIm	1-etil-2-metil-4-NIm
Mercurio	1,28	1,31
Carbón vítreo	1,32	1,30
Carbón vítreo modificado	1,30	1,30

Tabla 10: Potenciales de reducción en PPD medidos sobre diferente superficies para ambos compuestos en medio 100 % DMF (0,1 M PTBA).

Según los valores mostrados en la tabla 8, el potencial de reducción no es afectado al cambiar el material del electrodo de trabajo.

B. Voltamperometría cíclica

El estudio de velocidad de barrido se lleva a cabo entre 0,1 y 0,5 V/s para ambos compuestos, con un tiempo de acumulación de 2 minutos.

Sobre esta superficie se observan señales de baja intensidad que resultan ser independientes de la concentración del nitrocompuesto. En la figura 4.35 se observan los voltamperogramas de ambos compuestos sobre esta superficie modificada a diferentes velocidades de barrido, la intensidad de corriente prácticamente no varía. El pico de reducción es de baja intensidad y no es posible cuantificar la intensidad de corriente, el pico de oxidación en cambio, solo se insinúa. Por lo tanto, no es posible determinar la razón de corrientes en función de la velocidad de barrido utilizando esta superficie modificada y por ende no es posible determinar el valor de la constante de decaimiento del anión radical.

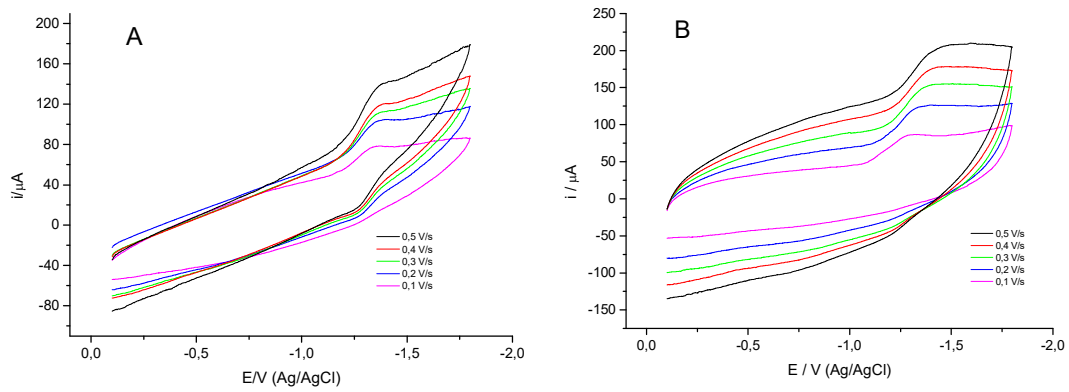


FIGURA 4.35 Voltamperogramas cíclicos para 1-alil-2-metil-4-Nim (A) y para 1-etil-2-metil-4-Nim (B) 1×10^{-3} M en medio 100 % DMF (PTBA 0,1M) medidos sobre superficie de carbón vítreo modificada con nanotubos.