

UCH-FQF
DSC-02
V152
C.1



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

**MECANISMO DE INTERACCION DE DROGAS
ANTIMALARICAS CON OXIGENO MOLECULAR
SINGULETE.
ACCION FOTOSENSIBILIZADORA.**

Tesis para optar al grado de Doctor en Química

por

GLORIA CRISTINA VALENCIA URIBE

Directores de Tesis:

Dr. Antonio Zanocco L.

Dra. Else Lemp M.

Santiago de Chile

2003

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACEUTICAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

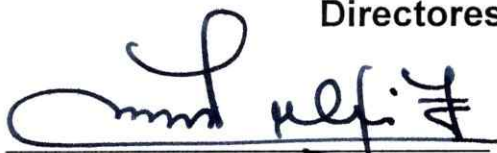
INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Doctorado Presentada por la candidata

GLORIA CRISTINA VALENCIA URIBE

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la Tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Química, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 29 de mayo del 2003.

Directores de Tesis:


Dr. ANTONIO ZANOCCOL

Dra. ELSE LEMP M

Comisión de Evaluación de la Tesis:

Dr. Bruce Cassels (Presidente)


Dra. Cecilia Rojas

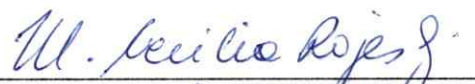
Dra. María Victoria Encinas


Dr. Claudio Olea

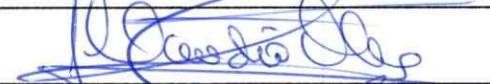
Dr. Eduardo Silva














DEDICATORIA

A mi hija, Valentina

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mis más sinceros agradecimientos a los profesores Dr. Antonio Zanocco y Dra. Else Lemp por haberme permitido trabajar en su grupo de investigación y por su valiosa dirección y enseñanzas durante la realización del presente trabajo.

Con especial gratitud al profesor Jairo Quijano, de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín, por todo el invaluable apoyo que me ha brindado en momentos claves de mi carrera de posgrado y profesional. Vayan con él mi admiración y respeto.

Deseo agradecer al Servicio Alemán de Intercambio Académico, DAAD, por la beca recibida para la realización de estudios a nivel Doctoral, en el período comprendido entre los años 1998 y 2002.

Asimismo quiero agradecer a Conicyt por la beca de término de tesis recibida en el período restante comprendido entre 2002 y 2003.

Quisiera resaltar el apoyo financiero parcial de la Tesis recibido por parte del Departamento de Posgrado y Postítulo de la Universidad de Chile, en los años 2000 y 2001.

Por último, quisiera agradecer sinceramente a la Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín, por el apoyo recibido durante el período de mis estudios Doctorales en la Universidad de Chile.

TABLA DE CONTENIDO

Tabla de Contenido.....	v
Lista de Tablas.....	viii
iiLista de Figuras.....	x
Resumen.....	xii
Summary.....	xvi
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Generalidades.....	1
1.2 Antecedentes bibliográficos.....	3
2 HIPÓTESIS.....	15
3 MARCO TEÓRICO.....	16
3.1 Oxígeno molecular singulete.....	16
3.1.1 Características electrónicas del oxígeno molecular singulete.....	16
3.1.2 Generación del $O_2(^1\Delta_g)$ en solución.....	19
3.1.2.1 Rendimiento cuántico en la generación de $O_2(^1\Delta_g)$, ϕ_Δ	20
3.1.2.2 Determinación del ϕ_Δ	24
3.1.2.2.1 Irradiación en estado estacionario.....	24
3.1.2.2.2 Medida de la intensidad de luminiscencia IR resuelta en el tiempo.....	27
3.1.3 Desactivación del oxígeno molecular, en solución.....	28
3.1.3.1 Desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ por interacción con sustratos reactivos.....	30
3.1.3.2 Mecanismos de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$	32
3.1.3.2.1 Reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con aminas.....	33
3.1.3.2.2 Adición del $O_2(^1\Delta_g)$ a compuestos insaturados.....	35
3.1.3.2.3 Adición del $O_2(^1\Delta_g)$ a compuestos aromáticos.....	37
3.2 Efecto del solvente.....	49
4 MATERIALES.....	43
4.1 Solventes.....	43
4.2 Reactivos.....	43
5 INSTRUMENTACIÓN.....	44
5.1 Espectroscopía de absorción y emisión.....	44
5.1.1 Absorción ultravioleta – visible.....	44
5.1.2 Emisión ultravioleta – visible.....	44
5.1.3 Emisión Luminiscente del $O_2(^1\Delta_g)$	44
5.1.4 Emisión Fluorescente.....	45
5.1.5 Resonancia magnética nuclear de protones.....	46

5.2	Cromatografía.....	46
5.2.1	Cromatografía gaseosa.....	46
5.2.2	Cromatografía en columna.....	47
5.2.3	Cromatografía en capa fina.....	47
5.3	Cálculos semiempíricos.....	47
6	METODOLOGÍAS.....	48
6.1	Purificación y obtención de bases libres.....	48
6.2	Rendimiento cuántico en la generación del $O_2(^1\Delta_g)$	49
6.2.1	Métodos de irradiación en estado estacionario.....	49
6.2.2	Métodos de irradiación pulsada.....	50
6.3	Rendimiento cuántico de la fluorescencia.....	51
6.4	Tiempos de vida de los estados triplete excitados.....	51
6.4.1	Cálculos semiempíricos.....	51
6.4.2	Medidas del tiempo de vida.....	52
6.5	Constantes de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$	52
6.5.1	Constantes de desactivación totales, k_T	52
6.5.1.1	Medidas en condiciones de irradiación estacionaria.....	52
6.5.1.2	Métodos resueltos en el tiempo.....	55
6.5.2	Determinación de las constantes de velocidad, para la reacción de desactivación química del $O_2(^1\Delta_g)$	56
6.5.3	Análisis del efecto del solvente.....	57
6.5.4	Cálculos teóricos.....	58
7	RESULTADOS.....	61
7.1	Purificación y obtención de bases libres.....	61
7.2	Análisis espectroscópico.....	62
7.2.1	Espectros de RMN ¹ H.....	62
7.2.2	Espectros de Absorción UV-vis y coeficientes de extinción molar, ϵ	65
7.2.3	Espectroscopía de emisión.....	68
7.3	Generación del $O_2(^1\Delta_g)$	70
7.3.1	Experimentos en estado estacionario.....	70
7.3.2	Experimentos resueltos en el tiempo.....	72
7.3.3	Tiempos de vida del estado triplete excitado τ_T de compuestos antimaláricos.....	75
7.4	Desactivación del oxígeno molecular singulete, por drogas antimaláricas.....	76
7.4.1	Constantes de velocidad total, k_T	76
7.4.1.1	Análisis del efecto del solvente sobre la constante de velocidad total, para la reacción entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y sustratos quinolínicos.....	81
7.4.1.2	Efecto del sustituyente sobre k_T	84
7.4.2	Constantes de velocidad para la reacción química entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y sustratos 8-Aminoquinolínicos: PQ y 8-AmQ.....	87
7.4.3	Cálculos semiempíricos.....	88
8	DISCUSIÓN.....	90
8.1	Generación de $O_2(^1\Delta_g)$, por compuestos quinolínicos con actividad antimalárica.....	90

8.2 Interacción de compuestos quinolínicos, con $O_2(^1\Delta)_g$	96
8.2.1 Efecto del solvente sobre k_T	96
8.2.2 Desactivación química, k_r , y productos de reacción.....	109
9 CONCLUSIONES.....	111
Anexo 1.....	114
Anexo 2.....	115
Anexo 3.....	116
Anexo 4.....	124
10 BIBLIOGRAFÍA.....	125

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Efectos adversos asociados a la administración de drogas anantimaláricas.....	2
Tabla 2	Constantes de disociación, pK_a , de drogas con actividad antimalárica y compuestos de referencia.....	5
Tabla 3	Rendimientos cuánticos en la formación del $O_2(^1\Delta_g)$ y constantes de velocidad de decaimiento del oxígeno molecular singulete, por drogas antimaláricas. D_2O , $pD = 7$	6
Tabla 4	Rendimientos cuánticos de fluorescencia, ϕ_f , para algunos compuestos derivados de quinolina.....	11
Tabla 5	Rendimiento cuántico de fluorescencia, ϕ_f , de 5-hidroxiquinolina, 8-hidroxiquinolina y 8-metoxiquinolina.....	12
Tabla 6	Banda de absorción de menor energía para algunos compuestos quinolínicos.....	66
Tabla 7	Banda de absorción de menor energía para algunos compuestos antimaláricos.....	66
Tabla 8	Coefficientes de extinción de drogas antimaláricas y moléculas modelo, ϵ ($L\ cm^{-1}\ mol^{-1}$).....	67
Tabla 9	Coefficientes de extinción molar para el 9,10-DMA.....	68
Tabla 10	Longitud de onda de máxima emisión en los compuestos antimaláricos y 6-MeOQ.....	69
Tabla 11	Rendimiento cuántico en la fluorescencia, ϕ_n , de algunas drogas con actividad antimalárica y de quinolina.....	70
Tabla 12	Rendimiento cuántico, ϕ_Δ , en la formación de oxígeno molecular singulete por drogas antimaláricas y compuestos modelo.....	74
Tabla 13	Tiempos de vida del estado triplete de compuestos quinolínicos y λ de máxima absorción de estos estados excitados a $20 \pm 1\ ^\circ C$	76
Tabla 14	Valores de la constante de velocidad total, k_T , para la reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con drogas antimaláricas en distintos solventes.....	78
Tabla 15	Valores de la constante de velocidad total, k_T , para la reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con derivados de quinolina en distintos solventes.....	79
Tabla 16	Dependencia de la constante de velocidad de reacción entre los compuestos quinolínicos y el $O_2(^1\Delta_g)$, como función de los parámetros empíricos del solvente. Coeficientes en el análisis LSER.....	83
Tabla 17	Dependencia de la constante de velocidad de reacción entre los compuestos quinolínicos y el $O_2(^1\Delta_g)$, como función de los parámetros teóricos del solvente. Coeficientes en el análisis TLSER.....	84
Tabla 18	Constantes de velocidad para la reacción química de primaquina y 8-aminoquinolina con $O_2(^1\Delta_g)$	87
Tabla 19	Parámetros empíricos y descriptores teóricos del solvente.....	115
Tabla 20	Indices de Fukui, para Q.....	116

Tabla 21	Indices de Fukui, para 8-AmQ.....	116
Tabla 22	Indices de Fukui, para 6-MeOQ.....	117
Tabla 23	Indices de Fukui, para 7-ClQd.....	117
Tabla 24	Indices de Fukui, para 7-ClQ.....	118
Tabla 25	Indices de Fukui, para Qd.....	118
Tabla 26	Indices de Fukui, para 4-AmQ.....	119
Tabla 27	Indices de Fukui, para 4-OHMeQ.....	119
Tabla 28	Indices de Fukui, para 4-MeAmQ.....	120
Tabla 29	Indices de Fukui, para 8-MeAmQ.....	120
Tabla 30	Indices de Fukui, para Ac.....	121
Tabla 31	Indices de Fukui, para Cl, OH-Ac.....	122
Tabla 32	Indices de Fukui, para 10-AmAc.....	123

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Drogas antimaláricas.....	13
Figura 2	Quinolinas sustituidas.....	14
Figura 3	Diagrama de energía orbital para el O_2 y distribución electrónica en el estado basal: (A) utilizando el modelo CLOA y (B) aplicando adicionalmente la hibridación orbital.....	17
Figura 4	Curvas de energía potencial y niveles vibracionales, para el oxígeno molecular y sus dos primeros estados excitados, $^1\Delta_g$ y $^3\Sigma_g$	18
Figura 5	Mecanismo general de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$, por un sustrato Q	30
Figura 6	Desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$, por aminas.....	34
Figura 7	Mecanismos involucrados en las reacciones de adición del $O_2(^1\Delta_g)$, a compuestos insaturados.....	35
Figura 8	Reacción de adición del $O_2(^1\Delta_g)$ al 1,4-dimetilnaftaleno.....	37
Figura 9	Endoperóxido formado en reacciones de cicloadición [4+2] del $O_2(^1\Delta_g)$ a derivados quirales del naftaleno.....	38
Figura 10	Representación cualitativa del efecto del solvente sobre la energía de los reactivos y el complejo de encuentro.....	40
Figura 11	Espectros de absorción de compuestos quinolinicos, en etanol.....	65
Figura 12	Dependencia del área bajo la curva del espectro de fluorescencia con la concentración de sustrato en la determinación de los rendimientos cuánticos de fluorescencia de QC.....	69
Figura 13	Foto oxidación sensibilizada de DPBF por Q y benzofenona.....	71
Figura 14	$I_{\Delta,t \rightarrow 0}$ vs la intensidad relativa del láser (láser de Nd, 355 nm), en el cálculo del rendimiento cuántico en la generación foto sensibilizada de $O_2(^1\Delta_g)$ en etanol, por QC.....	73
Figura 15	Intensidad inicial de fosforescencia del $O_2(^1\Delta_g)$, $I_{\Delta,t \rightarrow 0}$, generado por foto sensibilización de 6-MeOQ y PNF en etanol, en función de la concentración del sensibilizador (láser de N_2 , 337 nm, 100%T).....	74
Figura 16	Decaimientos de la luminiscencia IR del $O_2(^1\Delta_g)$ a 1270 nm, en presencia de AQ. RB como sensibilizador y DMF como solvente.....	77
Figura 17	Decaimiento del $O_2(^1\Delta_g)$ por interacción con AQ, en DMF.....	77
Figura 18	Correlación de los valores de $Logk_T$, experimental para PQ vs $Logk_T$ calculado.....	82
Figura 19	Análisis de residuales del $Logk_T$ vs $Logk_T$	82
Figura 20	Gráfico de la dependencia del logaritmo del cociente entre las constantes de velocidad de reacción medidas para la quinolina k_T^Q , quinolinas sustituidas k_T^{QS} , con el parámetro \mathcal{F}	85

Figura 21	Gráfico de los valores experimentales del logaritmo del cociente entre las constantes de velocidad de reacción, medidas para la quinolina, k_r^O y quinolinas sustituidas k_r^{OS} vs los valores calculados de acuerdo a la ecuación 46.....	86
Figura 22	Gráficos de los índices de Fukui de las posiciones 5 (22a), 6 (22b), 7 (22c) y 8 (22d) del anillo quinolínico versus el logaritmo de la constante de velocidad experimental.....	99
Figura 23	Interacción intramolecular de enlace de hidrógeno en la amodiaquina.....	101
Figura 24	Mecanismo propuesta de interacción entre amodiaquina y $O_2(^1\Delta_g)$	103
Figura 25	Mecanismo propuesto de interacción entre la primaquina y el $O_2(^1\Delta_g)$	109
Figura 26	Quinolina.....	116
Figura 27	8-Aminoquinolina.....	116
Figura 28	6-Metoxiquinolina.....	117
Figura 29	7-Cloroquinaldina.....	117
Figura 30	7-Cloroquinolina.....	118
Figura 31	Quinaldina.....	118
Figura 32	4-Aminoquinolina.....	119
Figura 33	4-Hidroximetilquinolina.....	119
Figura 34	4-Metilaminoquinolina.....	120
Figura 35	8-Metilaminoquinolina.....	120
Figura 36	Acridina.....	121
Figura 37	3-Cloro-6-hidroxi acridina.....	122
Figura 38	10-Aminoacridina.....	123

RESUMEN

Estudios epidemiológicos, permiten clasificar a la malaria como una de las más devastadoras enfermedades parasitarias a escala mundial. Se estima que anualmente mueren a causa de esta enfermedad alrededor de 1,5 a 2,7 millones de personas y que entre 300 y 500 millones de personas tienen la enfermedad. Por siglos, la quinina fue la única droga empleada para tratar esta enfermedad, sin embargo, desde comienzos del siglo XX, hubo un gran interés por desarrollar y utilizar drogas antimaláricas sintéticas. A partir de estos estudios, diversos compuestos, entre los que se incluyen cloroquina, quinacrina, mefloquina, primaquina y amodiaquina, han sido utilizados en el tratamiento de la malaria. La mayoría de los compuestos antimaláricos sintéticos y también la quinina, poseen propiedades fotosensibilizadoras no deseadas que producen efectos secundarios fototóxicos en la piel y los ojos. El mecanismo preciso por el cual transcurren estas reacciones en seres humanos es desconocido, aunque el oxígeno molecular singlete y otras especies activas de oxígeno como radical superóxido, radicales centrados en carbono y radicales centrados en nitrógeno, han sido sugeridos como responsables de estos efectos fototóxicos. Por otra parte, se ha demostrado que la irradiación de drogas antimaláricas en medio acuoso, produce en general una mezcla relativamente compleja de productos de degradación, como productos de fotodescomposición y productos de fotooxidación que involucran reacciones de estos compuestos con oxígeno excitado.

Con el propósito de contribuir al estudio de los procesos foto oxidativos causados por las drogas antimaláricas, en el presente trabajo, se ha evaluado su capacidad fotosensibilizadora, analizada en términos de la generación de oxígeno molecular singlete. Además, se ha medido la reactividad de estos compuestos y de algunas moléculas modelo frente al oxígeno excitado, en un conjunto amplio de solventes, con el interés de entender los mecanismo de interacción que promueven la desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$, a partir del análisis del efecto del solvente, mediante el uso de relaciones lineales de energía libre de solvatación, que correlacionan la

constante de velocidad del proceso con parámetros empíricos (LSER) y teóricos (TLSER) del solvente.

Las determinaciones del rendimiento cuántico para la generación de oxígeno molecular singulete por las drogas antimaláricas y las medidas de las constantes de velocidad de reacción, se realizaron empleando métodos clásicos de fotólisis estacionaria y métodos de fotólisis de pulso en el que se observa el decaimiento resuelto en el tiempo de la luminiscencia IR del oxígeno molecular singulete a 1270 nm.

Los resultados obtenidos muestran que, las drogas antimaláricas estudiadas sensibilizan la formación de oxígeno molecular singulete en medios orgánicos y con excepción de la primaquina, tienen un rendimiento cuántico de formación de oxígeno molecular singulete, ϕ_{Δ} , relativamente importante en etanol, con valores de $0,43 \pm 0,12$, $0,14 \pm 0,005$, $0,146 \pm 0,084$, $0,003 \pm 0,001$ y $0,96 \pm 0,076$, para quinina, quinacrina, cloroquina, primaquina y 6-metoxiquinolina, respectivamente. Todas las drogas investigadas, absorben luz en la region UVA del espectro, (320 – 400 nm), radiación que es capaz de penetrar algunos tipos de piel y que puede ser transmitida a la retina por las lentes oculares. En consecuencia, la quinina y sus análogos cloroquina y quinacrina deben ser considerados como potenciales agentes fototóxicos en este tipo de tejidos, debido a la gran afinidad que tienen por la melanina. Así, los efectos laterales adversos cutáneos y oculares, asociados al tratamiento de la malaria con estas drogas, pueden ser relacionados al menos parcialmente, con la habilidad de estos fármacos para generar oxígeno molecular singulete.

Las constantes de velocidad total para la desactivación de oxígeno molecular singulete por drogas antimaláricas son del orden de $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, para las cinco drogas antimaláricas estudiadas, lo que permite clasificarlas como buenos desactivantes del oxígeno excitado. Los compuestos más reactivos hacia el $O_2(^1\Delta_g)$, fueron PQ, CQ y QC. Además, se encontró que en todos los casos, los valores de k_T dependen con el

solvente. Por ejemplo, el valor de la constante de velocidad para la reacción de oxígeno excitado la primaquina, aumenta en un factor del orden de cincuenta cuando el solvente se cambia de hexano ($k_T = 0,63 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) a formamida ($k_T = 32,5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Las constantes de velocidad para QC y CQ aumentan en alrededor de veinticinco veces cuando el solvente es cambiado de prótico a polar no-prótico. El menor efecto solvente se observa para la amodiaquina. En el caso de los derivados simples de la quinolina, sólo la 8-AmQ muestra constantes de velocidad del mismo orden que las drogas antimaláricas y un efecto solvente muy importante. Los valores extremos de k_T , corresponden a un cambio en casi dos órdenes de magnitud cuando el solvente cambia de hexano ($k_T = 0,31 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) a formamida ($k_T = 26,1 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Los compuestos quinolina y 6-metoxiquinolina, muestran constantes de velocidad del orden de $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, observándose un moderado efecto solvente para ambos compuestos.

El análisis de la dependencia de la constante de velocidad con los parámetros microscópicos del solvente en términos de correlaciones lineales de energía libre, ha permitido distinguir tres tipos diferentes de comportamiento. Para los compuestos quinina, cloroquina y quinacrina los valores de k_T aumentan en solventes que tienen gran capacidad para estabilizar cargas y/o dipolos y en solventes aceptores de enlace de hidrógeno y disminuyen en solventes con valores altos del parámetro de acidez. Esta dependencia con los parámetros microscópicos del solvente es indicativa de que estos compuestos reaccionan con el oxígeno molecular singulete muy probablemente vía la formación un complejo de transferencia de carga. De acuerdo con estos resultados el centro reactivo en estas drogas antimaláricas correspondería al grupo amino terciario en la cadena lateral. Para la primaquina y los modelos simples de drogas antimaláricas quinolina, 6-metoxiquinolina y 8-aminoquinolina, el análisis muestra que la constante de velocidad total para la reacción de estos compuestos con el $O_2(^1\Delta_g)$, depende con los parámetros π^* , α , β y ρ_H . Estudios teóricos y de efecto de sustituyente, permiten proponer que en este caso el mecanismo de reacción involucra la cicloadición, parcialmente concertada del

oxígeno excitado al anillo quinolínico, que muy probablemente ocurre sobre las posiciones 5 y 8.

La amodiaquina es la menos reactiva de las drogas antimaláricas estudiadas y para este compuesto, el análisis LSER muestra que la constante de velocidad total depende con los parámetros solvatocrómicos π^* , δ y α . Los datos cinéticos son compatibles con un bloqueo del grupo amino terciario debido a una interacción de enlace de hidrógeno intramolecular, lo que promueve la reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con el sustituyente p-aminofenol en la posición 4 del anillo quinolínico, vía la formación de un intermediario perepóxido y/o vía una cicloadición [2+4] parcialmente concertada.

SUMMARY

According to epidemiological studies, malaria, is one the worst diseases in humans. Is already estimated to kill between 1.5 to 2.7 million people every year. Another 300 to 500 million people have the disease. For centuries quinine was the only drug employed for the malaria's treatment, however, from early XX century, great interest in development and using synthetic antimalarials was devoted. From these studies, a number of useful compounds have been employed in treatment of malaria, including among others chloroquine, primaquine, mefloquine, and amodiaquine. Most of synthetic antimalarials and quinine, possessed undesirable photosensitizing properties that produce phototoxic side effects both in the skin and the eye. The precise mechanism for these reactions in humans is unknown, although singlet molecular oxygen, $O_2(^1\Delta_g)$, and other active species of oxygen as superoxide, carbon-centered and nitrogen-centered radicals have been invoked as responsible of these phototoxic effects. Also has been demonstrated that irradiation in aqueous media of several antimalaric drugs containing the quinoline ring, produces in general, a relatively complex mixture of degradation products, including both, photocleavage and photooxidation derivatives. Formation of photooxidation derived products involves reaction of antimalaric drugs with singlet molecular oxygen.

With the aim of contribute to the study of the photooxidative processes caused by antimalaric drugs, in the present work, has been evaluated its photosensitizing capacity, measured in terms of it's singlet molecular oxygen generation by these compounds. In addition, the reactivity of antimalaric drugs and model compounds towards singlet oxygen has been measured in a large solvent set, with the idea of understanding the interaction mechanisms that promote singlet oxygen quenching. Mechanistic investigation has been carried out from the solvent effect analysis by using lineal solvation free energy relationships that correlate the process rate constant with empirical (LSER) and theoretical (TLSER) parameters.

Singlet oxygen quantum yields and measurements of reaction rate constants were performed by employing classical steady-state photolysis and time resolved method in which the IR decay of singlet oxygen luminescence at 1270 nm is observed.

Results obtained show that the antimalaric drugs studied sensitizes singlet oxygen production in organic media and with exception of primaquine, have relatively large singlet oxygen quantum yield, ϕ_{Δ} , in ethanol, with values of $0,43 \pm 0,12$, $0,14 \pm 0,005$, $0,146 \pm 0,084$, $0,003 \pm 0,001$ and $0,96 \pm 0,076$, for quinine, quinacrine, chloroquine, primaquine and 6-methoxyquinoline, respectively. All studied drugs absorb light in the UVA region of the spectra (320 – 400 nm), electromagnetic radiation which can go through several skin types and that also can be transmitted to the retinae by the ocular lens. Consequently, quinine and its analogous chloroquine and quinacrine can be considered as potential phototoxic agents in this type of tissues, due to the great affinity that have by melanin. Adverse cutaneous and ocular side effects associated to the malaria treatment with these drugs can be related at least partially with the ability to produce singlet oxygen.

For the five drugs studied, the values of total rate constants for singlet oxygen quenching by antimalaric drugs are in the order of $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, result that indicates that are good singlet oxygen quenchers. Most reactive compounds towards singlet oxygen were PQ, CQ and QC. In addition, was found that for all the drugs, the k_T values are solvent dependent. For example, the rate constant value for reaction of singlet oxygen with primaquine increases in a factor fifty when solvent is changed from hexane ($k_T = 0,63 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) to formamide ($k_T = 32,5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). The rate constant for QC and CQ increases approximately in a factor twentyfive when solvent is changed from protic to polar non-protic. The smallest solvent effect was observed for amodiaquine. Between the simples quinoline derivatives, only 8-aminoquinoline shows rate constants of the same order than that antimalaric drugs and a very important solvent effect. For this compound, the extreme values of k_T

change in near to two orders of magnitude when solvent varie from hexane ($k_T = 0,31 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) to formamide ($k_T = 26,1 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Quinoline and 6-methoxyquinoline show rate constants in the order of $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ and a moderate solvent effect.

Analysis of rate constant dependence on the microscopic solvent parameters in terms of lineal free energy correlations, distinguish three different behaviours. For quinine, chloroquine and quinacrine, k_T values increase in solvents with large capacity to stabilize charges and/or dipoles and in hydrogen bond acceptor solvents, whereas decrease in hydrogen bond donor solvents. This dependence on the microscopic solvent parameters indicate that these compounds reacts with singlet oxygen probably by formation a charge transfer complex. According to these results, the reactive center in these antimalaric drugs, correspond to the tertiary amino group of the side chain. For primaquine and the simplest models of antimalaric drugs quinoline, 6-methoxyquinoline and 8-aminoquinoline, solvent effect analysis shows that the total rate constant for reaction of these compounds with singlet oxygen depends on the parameters π^* , α , β and ρ_H . Theoretical and substituent studies, allow to propose that for these compounds the reaction mechanism correspond to a partially concerted cycloaddition of the excited oxygen to the quinolinic ring probably involving the 5 and 8 positions.

Of the antimalaric drugs studied, amodiaquine exhibit the smallest reactivity. The LSER analysis shows that the total rate constant depends on the solvatochromic parameters π^* , δ and α . Kinetic data are compatibles with the blocking of the tertiary amino group due to an intramolecular hydrogen bond interaction, that promotes the singlet oxygen reaction with the p-aminophenol substituent in the position 4 of the quinolinic ring by formation of a perepoxide intermediate and/ or by a partially concerted [2 + 4] cycloaddition.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades

Estudios epidemiológicos, permiten clasificar a la malaria como una de las más devastadoras enfermedades parasitarias a escala mundial¹. Sin embargo, persisten las limitaciones a nivel de prevención y tratamiento de esta enfermedad, pues los fármacos utilizados como agentes antimaláricos y en especial los análogos sintéticos de la quinina, llevan al desarrollo de efectos secundarios adversos². Algunos de estos daños son atribuidos a la acumulación de los fármacos en tejidos ricos en melanina³ (ojos y piel), sustancia a la que se le reconoce tanto por su poder antioxidante, como la capacidad de acumular sustancias químicas y drogas⁴.

Estos efectos secundarios adversos, se manifiestan en pacientes que presentan deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa⁵, enzima que por su poder antioxidante ayuda a controlar el estrés oxidativo que generan entre otras, las especies activas del oxígeno. También es importante mencionar, que dadas las propiedades antiinflamatorias asociadas a estos fármacos, se ha extendido su uso en el tratamiento de enfermedades como lupus eritromatoso y artritis reumatoidea. Adicionalmente, otros estudios⁶ indican que la administración de sustancias con actividad antimalárica como cloroquina, ayudan a normalizar los niveles de colesterol, triglicéridos e hiperglicemia. Así, el consumo de estos medicamentos por un período de tiempo más prolongado, aumenta el riesgo de acumulación por dosis.

Teniendo en consideración que los tejidos ricos en melanina están expuestos continuamente a la acción directa de la luz, la presencia de agentes exógenos, como los compuestos antimaláricos, con absorción en la región UV-Vis (290-400nm), pueden inducir el desarrollo de algunas lesiones en ojos y piel, pues su potencial acción foto sensibilizadora puede dar lugar a la formación de especies activas del

oxígeno, como es el caso del oxígeno molecular singlete, $O_2(^1\Delta_g)$ y disminuir la capacidad protectora del pigmento natural.

El papel de la melanina en el organismo como agente antioxidante, depende tanto de su estado de agregación, como de la cantidad de sitios disponibles⁷ para su interacción con las especies activas del oxígeno y en particular con el $O_2(^1\Delta_g)$. Es decir, el estrés oxidativo generado por la presencia de sustancias sensibilizadoras en tejidos ricos en melanina, conducirá a la disminución de su poder antioxidante por saturación de sitios activos y/o por cambios estructurales en el polímero de melanina que conlleven a la variación de sus propiedades fisicoquímicas. Cabe mencionar que la irradiación de la melanina sola, causa el incremento del ión superóxido y peróxido de hidrógeno, posiblemente por liberación de sustancias atrapadas o enlazadas al pigmento⁸.

Tabla 1. Efectos adversos asociados a la administración de drogas antimaláricas.

Compuesto	Efectos adversos	t _{1/2}	λ máx (nm)	λ corte (nm)
Amodiaquina, AQ	Opacidad en la córnea Retinopatía Comparable a CQ	5 h	341	485
Cloroquina, CQ	Disturbios visuales Reacciones de foto sensibilidad Retinopatía	25-60 d	343	365
Hidroxiclороquina, HQ	Retinopatía Decoloración del cabello Menos foto tóxica que CQ	40 d	343	365
Mefloquina, MQ	Fotosensibilización leve de la piel No se ha reportado toxicidad ocular	19.5 d	284	330
Primaquina, PQ	Disturbios visuales leves	7 h	352	430
Quinacrina, QC	Piel amarilla, dermatitis Toxicidad ocular similar a CQ	5 d	443	500
Quinina, QU	Interacción con melanina limitada Daños asociados con dosis continuas	9 h	331	360

Algunos de los aspectos farmacocinéticos reportados para estas drogas, han sido analizados por Kristensen y col.,⁹ (Tabla 1), donde es posible observar la

relación entre el tiempo de vida media de la droga en el organismo, el máximo de absorción en el UV-vis y los daños asociados a procesos de fotosensibilización. Para el caso específico de la mefloquina (MQ), cuyo espectro de absorción no sobrepasa los 300 nm, su uso no conlleva a problemas de fotosensibilización ocular, debido a la acción de filtro que ejerce la córnea.

1.2 Antecedentes bibliográficos

Se ha reportado¹⁰ que no todos los compuestos que se enlazan a la melanina, conducen o causan toxicidad, pues las interacciones estudiadas en medio acuoso entre la melanina y moléculas cargadas positivamente son de naturaleza iónica y reversibles, sin embargo, pueden haber algunas interacciones irreversibles de naturaleza no electrostática entre melanina y algunas drogas con actividad antimalárica, como por ejemplo clorpromazina y cloroquina, pero hasta el momento no han sido dilucidados los mecanismos que dan cuenta de tal interacción.

Se han realizado numerosos estudios sobre la fototoxicidad de los compuestos antimaláricos,¹¹ en los que se ha propuesto la participación de especies activas de oxígeno como anión radical superóxido, oxígeno molecular singlete y radical hidroxilo, además de radicales libres centrados en carbono y radicales libres centrados en nitrógeno, como responsables de los efectos dañinos observados en sistemas biológicos. También, se ha planteado recurrentemente que estas especies altamente reactivas, provienen de reacciones de los estados excitados de las drogas. Por ejemplo, mefloquina, MQ, genera eficientemente oxígeno excitado en D₂O a pD = 7,4 ($\phi_{\Delta} = 0,36$)¹². También, se ha mostrado que el $O_2(^1\Delta_g)$ producido por fotosensibilización de drogas antimaláricas, puede reaccionar con residuos de aminoácidos fotooxidables de una proteína, para generar especies reactivas que puedan interaccionar con aminoácidos de otras proteínas, provocando el entrecruzamiento del biopolímero¹³.

Los derivados sintéticos de la quinina, utilizados en la actualidad como drogas antimaláricas, conservan en su estructura el núcleo quinolínico. Sin embargo, la variedad de sustituyentes presentes en estos fármacos, afecta sus propiedades básicas, haciendo que las propiedades fotofísicas¹⁴, fotoquímicas y fotosensibilizadoras, sean dependientes de la estructura de la droga y de las propiedades fisicoquímicas del medio en que se localizan, por ejemplo del pH. Así, los cambios estructurales de los derivados de quinina, producen diferencias en la distribución de densidad de cargas de estos compuestos quinolínicos, por lo que podrían esperarse diferentes caminos de reacción para la interacción de estos compuestos con diversos sustratos.

Las diferencias en la distribución electrónica, se reflejan entre otros parámetros, en diferencias en los valores de pKa (Tabla 2), que a su vez, determinan la naturaleza de la especie predominante a diferentes pHs, y por lo tanto las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de la droga. Por ejemplo, la quinina al ser irradiada en solución acuosa genera eficientemente $O_2(^1\Delta_g)$ a pH 2, capacidad que disminuye gradualmente hasta ser totalmente ineficiente a pH 11. Por otra parte, al irradiar cloroquina a un pH cercano a 9, en el que la droga se encuentra en forma de monocatión, se observa generación de $O_2(^1\Delta_g)$, radicales hidroxilo e ión superóxido, sin embargo a pHs altos, se observa pérdida del cloro por vía radicalaria, mientras que, la irradiación de cloroquina en isopropanol, conduce a varios productos de foto degradación, en los que permanece intacto el enlace Cl-C de la CQ¹⁵. Además de las diferencias en la estructura electrónica, también se ha propuesto que las diferencias en los valores de pKa de cloroquina y quinina, podrían deberse a la existencia de un equilibrio tautomérico en la cloroquina¹⁶, equilibrio que se presenta en compuestos del tipo 4-aminoquinolinas, lo que incrementaría el carácter básico del nitrógeno en el grupo amino terciario.

Tabla 2. Constantes de disociación, pK_a , de drogas con actividad antimalárica¹⁷ y compuestos de referencia.

Compuesto	pK_{a1}	pK_{a2}
Cloroquina	8.4	10.4
Primaquina	3.2	10.4
Amodiaquina ¹⁸	7.08	8.14
Quinina	4.2	8.3
Quinacrina	7.72	10.39
Quinolina	4.9	
Dimetilamina	9.6	
Dietilamina	10.64	
Trimetilamina	8.66	
Trietilamina	11.01	
Piridina	5.23	
Anilina	3.5	

pK_{a1} y pK_{a2} hacen referencia al N del heterocíclico y al N alifático, respectivamente. Para los N aromáticos, los valores no han sido determinados.

Otro aspecto importante a considerar y que se refleja en la actividad antimalárica de estas drogas, se relaciona con la presencia de un grupo amino en la cadena lateral. Algunos estudios realizados con compuestos N-acetilados de primaquina, mostraron que estos son inactivos¹⁹. También, es importante la naturaleza y posición de los sustituyentes que se incluyen en el anillo quinolínic, pues hay diferencias significativas tanto en la capacidad fotosensibilizadora como en la actividad antioxidante de los compuestos derivados de la quinolina como consecuencia de los cambios estructurales. Por ejemplo, el grupo amino en posición 4 (donor de electrones) contribuye al aumento en la basicidad de la cloroquina, dejando más disponibles los electrones no enlazantes del nitrógeno en el heterociclo. Otra situación, se presenta para el caso específico de la primaquina, para la que se ha postulado la existencia de un puente de hidrógeno intramolecular, entre un protón del grupo amino alifático y el par de electrones libre del nitrógeno quinolínic vía la formación de un anillo de 10 átomos. Los cambios en el comportamiento fotofísico de la primaquina, han sido atribuidos, al menos parcialmente, a esta interacción intramolecular, observándose una disminución en el rendimiento cuántico de fluorescencia al aumentar la disponibilidad de protones en el medio²⁰.

Los estudios relativos a la generación de oxígeno molecular singulete por drogas antimaláricas, son contradictorios. Moore y col., han reportado que la irradiación de amodiaquina, primaquina y quinacrina en solución acuosa equilibrada con aire, no genera oxígeno excitado, aunque si lo hace cuando el solvente es metanol. Sin embargo, los datos en metanol fueron obtenidos observando el consumo de dimetilfurano, DMF, un eficiente atrapador de $O_2(^1\Delta_g)$, aunque en las condiciones experimentales empleadas, el consumo de DMF podría deberse a reacciones con otras especies altamente reactivas producidas por el compuesto antimalárico excitado. Más recientemente, se ha medido la eficiencia con que algunas drogas con actividad antimalárica generan oxígeno molecular singulete en agua deuterada (Tabla 3) observando la luminiscencia IR, a 1270 nm del $O_2(^1\Delta_g)$ en experimentos en estado estacionario²². Los datos de la tabla, muestran que mefloquina y quinina, fotosensibilizan eficientemente la producción de oxígeno molecular singulete. Por otra parte, los autores indican que en el caso de quinacrina, no se observa la luminiscencia del $O_2(^1\Delta_g)$ a tiempos cortos de irradiación, aunque si se produce después de transcurridos alrededor de 10 minutos, por lo cual atribuyen la generación de oxígeno excitado a productos de fotólisis de QC.

Tabla 3. Rendimientos cuánticos en la formación del $O_2(^1\Delta_g)$ y constantes de velocidad de desactivación del oxígeno molecular singulete, por drogas antimaláricas²¹, en agua deuterada a pD = 7.

Compuesto	ϕ_Δ	$k_T/10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
Sulfato de quinina, QU	0,36	1,4
Clorhidrato de mefloquina, MQ	0,38	0,54
Clorhidrato de amodiaquina, AQ	0,011	4,4
Clorhidrato de quinacrina, QC	0,013	4,6
Difosfato de cloroquina, CQ	<0,005	0,59
Sulfato de hidroxiclороquina, HCQ	<0,005	2,3
Difosfato de primaquina, PQ	<0,005	26

En las mismas condiciones experimentales, agua deuterada a pD = 7, también se han determinado las constantes de velocidad para la desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ por drogas antimaláricas²². Los valores encontrados, que se incluyen en la Tabla 3, en el rango de $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, son relativamente altos, lo que permite clasificar a estos compuestos antimaláricos como desactivantes relativamente eficientes del oxígeno excitado en esas condiciones. La consideración de estos resultados, en particular para la primaquina, que de los compuestos estudiados es el más eficiente desactivante del $O_2(^1\Delta_g)$, podría apoyar el argumento de que el bajo rendimiento cuántico para la producción del oxígeno excitado por esta droga, es consecuencia de su eficiencia para desactivar esta especie activa del oxígeno.

Hay muy pocos datos descritos en la literatura relativos a la desactivación del oxígeno molecular singulete por derivados simples de la quinolina. En efecto, sólo se han reportado constantes de velocidad total, k_T , para la desactivación de $O_2(^1\Delta_g)$ por quinolina en etanol ($k_T = 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), valor cercano al límite controlado por difusión²² y para la desactivación de oxígeno molecular singulete por las quinolinas monosustituidas, 8-hidroxiquinolina y 6-metoxiquinolina en cloroformo, con valores de k_T iguales a $1,1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ y $< 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ²³. Estos resultados muestran, en principio, que para los derivados de la quinolina, la reactividad frente al oxígeno molecular singulete, depende fuertemente de la sustitución. La inclusión de un grupo metoxi en la posición 6 ó hidroxilo en la posición 8 del anillo quinolínico, baja la constante de velocidad de reacción en casi cuatro órdenes y un orden de magnitud con relación a la quinolina, respectivamente. Cuando las medidas fueron realizadas en agua deuterada y tamponada a pD = 7, se observó una mayor velocidad para la primaquina, la cual contiene un grupo metoxi en posición 6 y un amino secundario en la posición 8. Drogas como cloroquina, hidroxiclороquina y amodiaquina con sustituyentes amino secundarios en posición 4, reaccionan con el $O_2(^1\Delta_g)$ a velocidades menores que la primaquina, la cual posee el mismo sustituyente, pero en posición 8. Cloroquina e hidroxiclороquina presentan diferencias significativas de reactividad, cuando la diferencia estructural radica en un grupo sustituyente 2-ol-

etano sobre el nitrógeno alifático en vez del etilo en la cloroquina. Tales diferencias pueden deberse a que existe más de un grupo funcional en una molécula capaz de interactuar con el oxígeno molecular singulete.

Es importante considerar que algunos de los experimentos no se realizaron en óptimas condiciones, pues en medio acuoso se requiere de concentraciones de droga muy altas para reducir el tiempo de vida del $O_2(^1\Delta_g)$ a la mitad. A altas concentraciones, del orden de $1 \times 10^{-3}M$, la absorbancia de la droga a la longitud de onda con que se excita el sensibilizador (pulsos de láser de 355 nm) sería aproximadamente 2,7, para el caso de la primaquina. Esto podría llevar a errores significativos en los valores de las constantes de velocidad reportados, pues el sustrato absorbe una fracción importante de la luz utilizada para excitar el sensibilizador (fenalenona) cuya absorbancia no debiera ser mayor de $1,2^{24}$.

En general, la diversidad de grupos funcionales presentes en los agentes antimaláricos y en especial aquellos derivados de quinolina, conllevan al desarrollo de propiedades fisicoquímicas claramente diferentes. Por lo anterior, es importante evaluar la participación que tienen cada uno de los grupos funcionales presentes en los fármacos, en la generación de especies que puedan conducir a daños en los tejidos, como es el caso del oxígeno molecular singulete. Esto será útil al momento de diseñar y desarrollar nuevos fármacos, en los que se logre disminuir y/o eliminar los efectos secundarios adversos.

Luego, como no todas las drogas dan lugar al desarrollo de estos efectos secundarios adversos o los presentan en menor magnitud, es razonable pensar que solo algunos grupos funcionales promueven estas interacciones irreversibles. Así, es necesario caracterizar las drogas en lo que corresponde a su acción fotosensibilizadora y estudiar el mecanismo de reacción a través del cual promueven tanto la formación de especies activas del oxígeno, como su desactivación.

Además del sistema quinolínico, todas estas drogas presentan en su estructura grupos amino alifáticos y aromáticos, cuyo mecanismo de interacción con el oxígeno molecular singulete, ha sido ampliamente estudiado²⁵. Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio sobre la interacción que tiene el sistema quinolínico con el $O_2(^1\Delta_g)$, incluso se desconoce que tipo de desactivación predomina (física o química) y cómo la naturaleza de los sustituyentes afecta tal interacción, aspecto importante, al momento de establecer órdenes de reactividad. Por lo anterior, es conveniente realizar estudios cinéticos que permitan identificar las características de tal interacción.

Por otra parte, son varios los estudios realizados sobre la estabilidad fotoquímica de los agentes antimaláricos. Por ejemplo, para la primaquina²⁶, éstos incluyen el seguimiento de la fotodescomposición en presencia y ausencia de oxígeno en soluciones acuosas a pH 7,4 (320-600nm), donde se observan variaciones estructurales sobre la cadena lateral, permaneciendo intacto el anillo quinolínico. Resultados similares fueron obtenidos con cloroquina²⁷ e hidroxiclороquina¹⁵, tanto en medio acuoso como en isopropanol, así como para la quinina²⁸ en solución acuosa de ácido cítrico. Otra observación importante que puede derivarse de estudios previos, es la participación del oxígeno en las reacciones de descomposición de compuestos quinolínicos. Por ejemplo, la fotodescomposición de mefloquina²⁹, genera diferentes productos de degradación en presencia y ausencia de oxígeno. Por otra parte, la fotodegradación de primaquina³⁰, es altamente dependiente de la concentración de oxígeno, pues en condiciones anaeróbicas se han logrado detectar solo dos productos, que también se observan en la fotólisis en presencia de oxígeno, donde además, se forman al menos otros 6 productos. Durante la fotólisis de PQ se detectaron especies radicalarias como superóxido y radical hidroxilo, sin embargo, en la reacción de oxidación fotosensibilizada de PQ, con azul de metileno y con irradiación a $\lambda > 450\text{nm}$, es la participación del oxígeno molecular singulete la que conduce a la descomposición de PQ, pues la reacción es fuertemente inhibida por la presencia de azida de sodio y no ocurre en ausencia de sensibilizador.

La información previa referente a los estados triplete excitados de las drogas es relativamente escasa. Por ejemplo, para la mefloquina³¹ se ha reportado que el espectro de absorción del triplete presenta un máximo a 430 nm, con un coeficiente de extinción molar de $3600 \text{ m}^{-1}\text{cm}^{-1}$ y que tanto el rendimiento cuántico del cruce entre sistemas como el rendimiento cuántico en la formación de oxígeno singulete, sensitizada por el triplete de MQ, tiene valores cercanos a uno. Para este derivado de quinolina con sustituyentes 2-CF₃, 8-CF₃ y α -2-piperidil, el tiempo de vida del estado triplete, medido en solución de etanol a 77°K es de 3,5 ms, lo suficientemente largo como para interactuar con el oxígeno en estado basal, aunque probablemente a esta temperatura, la reacción es lenta. Adicionalmente, presenta un bajo rendimiento cuántico de fluorescencia, como se muestra en la Tabla 4, donde se incluyen los valores de los rendimientos cuánticos de fluorescencia para algunos compuestos quinolínicos, en diferentes medios. Por ejemplo, la quinina es utilizada como actinómetro en la determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia, con un valor de referencia de $\phi_{fl} = 0,55$ en solución 0,05M de H₂SO₄. Este compuesto tiene un rendimiento cuántico de fluorescencia medido en metanol a 30°C de 0,0071 y un tiempo de vida del triplete de 0,4 ms en etanol a 77°K, por lo que cabe suponer una alta eficiencia de cruce entre sistemas al triplete, pese a que los resultados a 77°K, no estrictamente comparables con el rendimiento cuántico en la generación de oxígeno singulete de 0,36, medido a pD = 7.0 (Tabla 3).

Otros compuestos como quinolina, 4-amino-7-cloroquinolina, difosfato de cloroquina y sulfato de hidroxicloroquina, presentan tiempos de vida del triplete³² de 1,20, 0,94, 0,92 y 0,96 s, respectivamente, medidos en EPA, a 77°K. En condiciones de trabajo similares, la sal difosfato de primaquina²⁰, presenta un tiempo de vida de fosforescencia de 4.8 μs .

Tabla 4. Rendimientos cuánticos de fluorescencia¹⁷, ϕ_{fl} , para algunos compuestos derivados de quinolina.

COMPUESTO	ϕ_{fl}		ϕ_{fl}	
Sulfato de quinina	0.4 0.0071	(H ₂ O, pH 6) (Metanol)	0.018	(H ₂ O, pH 10)
Clorhidrato de mefloquina	0.12	(H ₂ O, pH 7)	0.018	(H ₂ O, pH 10)
Clorhidrato de amodiaquina	nd	(H ₂ O, pH 8)	nd	(Metanol)
Clorhidrato de Quinacrina	0.39	(H ₂ O, pH 6)	0.189	(H ₂ O, pH 11.5)
Difosfato de cloroquina	0.11 0.173	(H ₂ O, pH 7.4) (Metanol)	0.127	(H ₂ O, pH 11.4)
Difosfato de primaquina ²⁰	5E-5 0.014	(H ₂ O, pH 6) (Metanol)	0.02 0.015	(Hexano) (Hexano+1%MOH)
Abs0.07 a 0.08				
4-Amino-7-cloroquinolina	0.49	(H ₂ O, pH 7.4)	0.206	(H ₂ O, pH 10.1)

En estudios realizados por Goldman y col.³³, se evaluó el efecto del sustituyente sobre el rendimiento cuántico de fluorescencia de 5- y 8-hidroxiquinolinas, en un grupo limitado de solventes (Tabla 5). A partir de estos resultados se ha propuesto la formación de un puente de hidrógeno intramolecular en la 8-hidroxiquinolina, considerando que el ϕ_{fl} para el compuesto 5-hidroxiquinolinico, además de ser mayor, presenta un efecto del solvente importante, que no se observa para el derivado 8-hidroxi, a diferencia de cuando se utiliza un medio extremadamente ácido, en el cual se supone que no se produce la interacción intramolecular tipo puente de hidrógeno, debido a las interacciones con los protones presentes en el medio. En el caso de la 8-metoxiquinolina se observa en general, que presenta un mayor ϕ_{fl} . La menor fluorescencia observada en la 8-hidroxiquinolina se atribuye al incremento en la conversión interna por la presencia del puente de hidrógeno.

Tabla 5. Rendimiento cuántico de fluorescencia, ϕ_f , de 5- y 8-hidroxiquinolina y 8-metoxiquinolina.

Solvente	8-OHQ	5-OHQ	8-MeOQ
298°C Isopentano	<0.0002	0.30	0.05
Acetonitrilo	0.003	0.24	-
Etanol	0.002	0.003	0.08
98% H_2SO_4	0.31	0.12	0.42

Teniendo en consideración lo antecedentes discutidos en los párrafos precedentes, en el presente trabajo de investigación, se propone evaluar el potencial fotosensibilizador, medido en términos de la generación de oxígeno molecular singlete de algunas drogas antimaláricas derivadas de quinolina (Figura 1). Además, se propone estudiar su reactividad frente al oxígeno excitado y dar cuenta de los mecanismo de interacción a través del cual se promueve la desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$, en base al análisis del efecto del solvente, mediante el uso de relaciones lineales de energía libre (LSER), y la caracterización de los productos de reacción.

La variación de la velocidad de reacción (desactivación total y química) de cada sustrato con el oxígeno excitado en función del solvente, permite reconocer algunas características específicas de las interacciones involucradas en la reacción.

Moléculas como cloroquina, primaquina y amodiaquina, poseen una variedad de grupos funcionales y ambientes químicos, con los que se espera abarcar las principales modificaciones sintéticas realizadas sobre el primer agente antimalárico de origen natural, la quinina. Por otra parte, resulta muy interesante incluir la quinacrina, pues su núcleo aromático básico, la acridina, cuenta con un rendimiento cuántico en la generación de oxígeno molecular singlete en acetonitrilo, de 0,82³⁴. Así, la evaluación de este conjunto de moléculas, permite ver el efecto que tiene la extensión del sistema deslocalizado en el mecanismo de interacción con el oxígeno excitado y adicionalmente observar su efecto frente a la capacidad fotosensibilizadora.

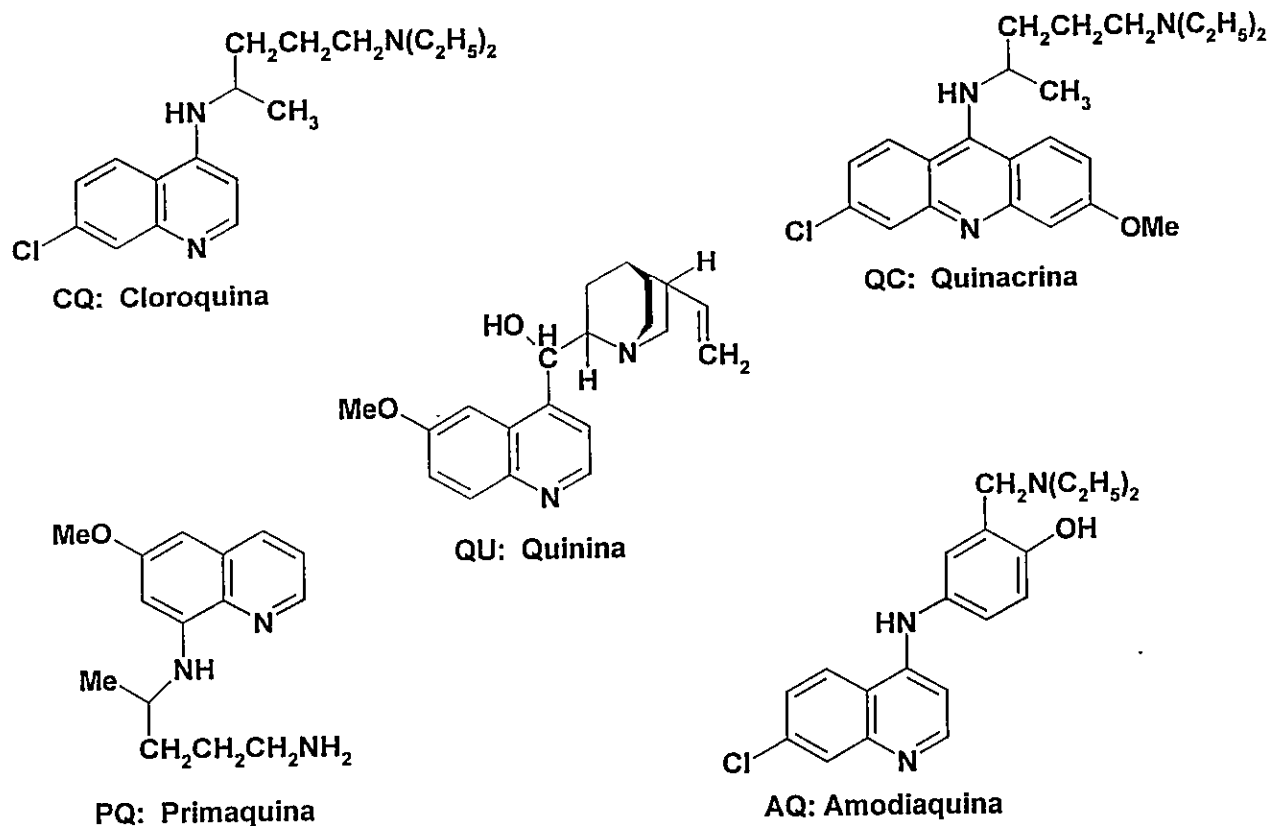


Figura 1. Drogas antimaláricas

Se incluyen en el presente trabajo, algunas moléculas modelo (Figura 2), con el fin de establecer generalidades en torno a la participación del anillo quinolínic y el efecto que tienen los sustituyentes principales, presentes en las drogas, en la generación y apagamiento del oxígeno molecular singulete.



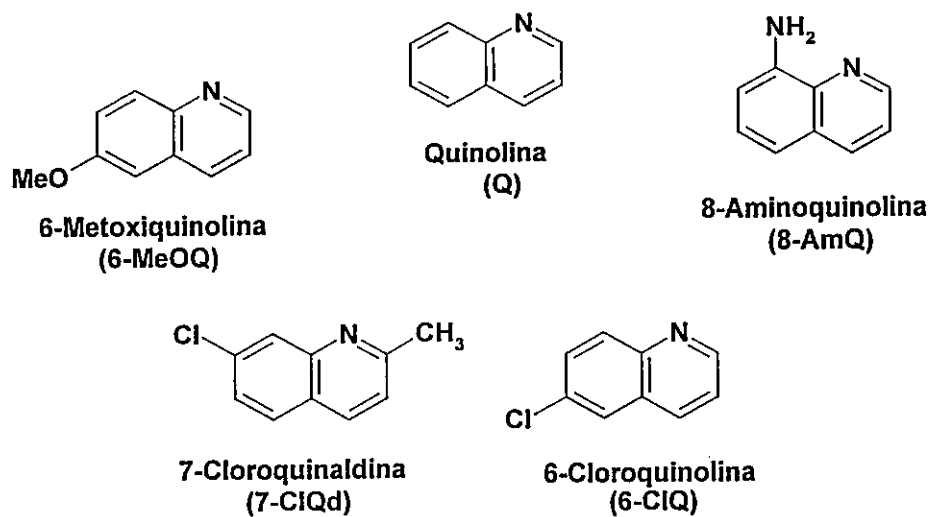


Figura 2. Quinolinas sustituidas

2 HIPOTESIS

- 2.1 Las interacciones de los distintos grupos funcionales presentes en cada una de las drogas antimaláricas con el $O_2(^1\Delta_g)$, varían en función de las propiedades del medio, dado que la densidad de carga de los centros reactivos, son susceptibles de variar en función de los sustituyentes y el entorno específico. Sobre esta base y dada la dependencia de la constante de velocidad con los parámetros empíricos del solvente, es posible tener información de la funcionalidad que predomina en la interacción de estas moléculas con el oxígeno excitado.
- 2.2 A partir del estudio del rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete, por parte de algunos compuestos con actividad antimalárica, en un conjunto de solventes, es posible estimar su potencial como agentes fotosensibilizadores y posteriormente, extrapolar estos resultados a sistemas biológicos.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Oxígeno molecular singulete

El estado electrónico excitado de más baja energía del oxígeno molecular, $O_2(^1\Delta_g)$, denominado oxígeno molecular singulete, ha despertado gran interés desde hace ya varias décadas³⁵, dada su participación en procesos dañinos (fotoalergias, fototoxicidad) y benéficos (terapia fotodinámica) en sistemas biológicos³⁶ y en un amplio rango de reacciones con sustratos orgánicos, entre las que cabe destacar la degradación fotoinducida de polímeros³⁷ y las reacciones de fotooxidación sensibilizadas³⁸.

3.1.1 Características electrónicas del oxígeno molecular

El oxígeno en su estado basal, es una molécula paramagnética que posee un carácter diradical. Este hecho puede ser explicado satisfactoriamente utilizando el modelo de orbitales moleculares por combinación lineal de orbitales atómicos, OM-CLOA, el cual puede mejorarse, utilizando adicionalmente el concepto de orbitales híbridos, dado el solapamiento existente entre los orbitales $s\sigma$ y $p\sigma$, de igual simetría. Así, la configuración electrónica para el O_2 sería $(\sigma 1s)^2 (\sigma^* 1s)^2 (\sigma 2s)^2 (\sigma^* 2s)^2 (\sigma 2p_z)^2 (\pi_y 2p)^2 (\pi_x 2p)^2 (\pi_{x,y}^* 2p)^2$, donde los dos electrones en el último nivel de energía ocupado, HOMO, deben ser distribuidos en orbitales $p\pi^*$ doblemente degenerados. De este modo y siguiendo la regla de Hund o principio de máxima multiplicidad, es posible determinar que la configuración electrónica de mínima energía para el oxígeno, corresponde a un estado triplete, $^3\Sigma_g$, en donde ambos electrones están con espines paralelos y en orbitales diferentes $(\pi_x^* 2p)^1 (\pi_y^* 2p)^1$. Lo anterior se indica en la Figura 3.

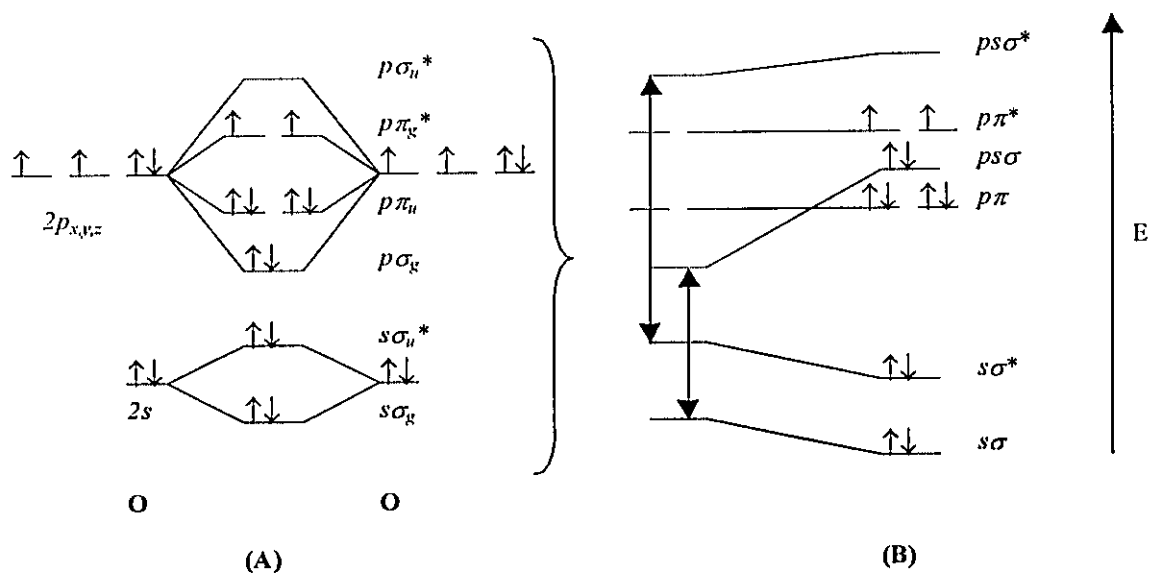


Figura 3. Diagrama de energía orbital para el O_2^{39} y distribución electrónica en el estado basal: (A) utilizando el modelo CLOA y (B) aplicando adicionalmente la hibridación orbital.

De forma similar, pueden determinarse los estados electrónicos excitados, más próximos en energía al estado basal y que en notación espectroscópica corresponderían a $^1\Delta_g$ y $^1\Sigma_g$, respectivamente¹. En el primer estado excitado, los dos electrones están apareados en el mismo orbital degenerado. En el segundo estado excitado, los dos electrones con espines opuestos, están localizados en orbitales degenerados diferentes, $p_x\pi^*$ y $p_y\pi^*$. En ambos casos la multiplicidad de espín es 1, como se indica en la notación espectroscópica.

¹ En la notación espectral, $^{2s+1}\Lambda$, s corresponde a la multiplicidad de espín y Λ a la magnitud del momento electrónico angular alrededor del eje molecular. Si ambos electrones están en el mismo orbital molecular degenerado, el valor de Λ es 2 y corresponde a $^1\Delta$. Si están ocupando diferentes orbitales degenerados y la función de espín es antisimétrica, el término será $^1\Sigma$.

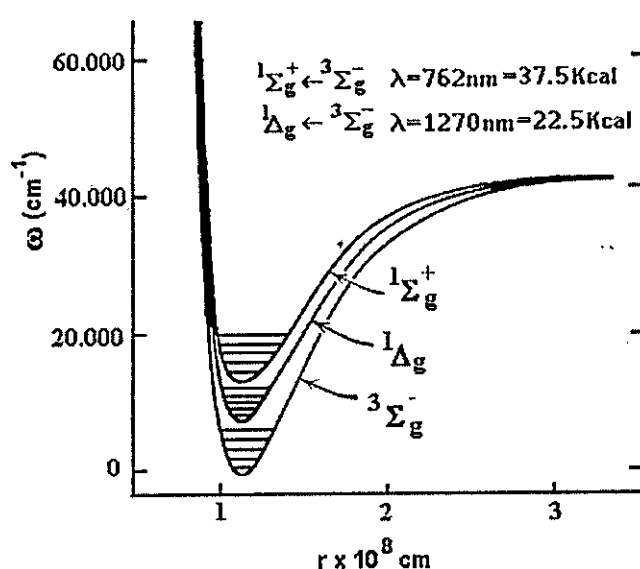


Figura 4. Curvas de energía potencial y niveles vibracionales, para el oxígeno molecular y sus dos primeros estados excitados, ${}^1\Delta_g$ y ${}^1\Sigma_g$.

En la Figura 4, se muestra el perfil de energía potencial para el estado basal y los dos primeros estados excitados en la molécula de oxígeno. Estas transiciones son débiles y de baja intensidad, y aún cuando son permitidas por el momento dipolar magnético, violan las reglas de selección al ser prohibidas por el momento dipolar eléctrico y por espín, sin embargo, es posible observarlas en la región del espectro visible ${}^1\Sigma_g \leftarrow {}^3\Sigma_g$ y en la región infrarroja ${}^1\Delta_g \leftarrow {}^3\Sigma_g$, debido a otros factores, como son el acoplamiento espín-orbita y las perturbaciones de la simetría molecular por colisión⁴⁰. La colisión entre dos moléculas de oxígeno, puede conducir por intercambio electrónico, a estados combinados de multiplicidad permitida, disminuyendo la prohibición debida al momento dipolar eléctrico y aumentando la probabilidad de transición.

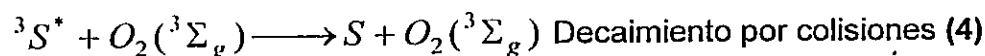
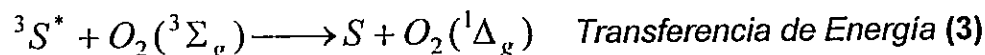
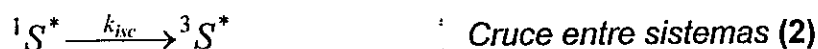
Adicionalmente, los procesos de desactivación para los estados excitados del oxígeno molecular, ${}^1\Delta_g$ y ${}^1\Sigma_g$, también son prohibidos por espín, presentando tiempos de vida radiativa en fase gaseosa para ambas especies de 65 minutos y 10 segundos, respectivamente³⁵. En fase condensada, el tiempo de vida de ambas especies disminuye considerablemente, debido a la interacción con el medio, lo que

se refleja en tiempos de vida en el rango de los μs para el $O_2(^1\Delta_g)$ y de los ns para $O_2(^1\Sigma_g)$. Este factor, es determinante en las diferencias de reactividad de los primeros estados excitados del oxígeno molecular, pues el tiempo de vida radiativo, relativamente largo del oxígeno molecular singulete $O_2(^1\Delta_g)$, permite su interacción con otras especies químicas, mientras que el segundo estado excitado, $O_2(^1\Sigma_g)$, aún cuando posee mayor energía $37.5 \text{ Kcal mol}^{-1}$, se desactiva muy rápidamente al primer estado singulete, limitando su participación en procesos reactivos.

En general, es posible señalar que el oxígeno molecular singulete $O_2(^1\Delta_g)$, podrá participar en una serie de reacciones que son prohibidas por espín para el oxígeno $^3\Sigma_g$, al mismo tiempo, su carácter diamagnético lo diferencia ampliamente del oxígeno en estado basal, pues este último posee la reactividad propia de una especie diradicálica.

3.1.2 Generación de $O_2(^1\Delta_g)$ en solución

Son varios los procedimientos utilizados en la generación del oxígeno molecular singulete, entre los que se destaca el proceso de fotosensibilización²⁵. En este proceso, una molécula de sensibilizador, es excitada por la absorción de un fotón (Ecuación 1) y este exceso de energía es disipado por transferencia de energía desde el estado excitado del sensibilizador al estado basal del oxígeno molecular (Ecuación 3). Luego, los tiempos de vida de los estados excitados del sensibilizador, juegan un rol muy importante, dado que la interacción entre el oxígeno $O_2(^3\Sigma_g)$ y el estado triplete excitado del sensibilizador, se ve favorecida en comparación con la del estado singulete excitado, por tener un tiempo de vida mayor, como consecuencia de la prohibición por espín que acompaña la transición $^3S^* \rightarrow S$. Por lo anterior, la eficiencia en la generación de oxígeno molecular singulete, va directamente ligada a la eficiencia del proceso de cruce entre sistemas⁴¹ (Ecuación 2).



Por otra parte, en la elección de un buen sensibilizador, deben considerarse tanto los aspectos energéticos, como los cinéticos. El cambio energético que acompaña la transición del estado triplete al basal del sensibilizador, ΔE (${}^3S^* \rightarrow S$), debe ser mayor que los requerimientos energéticos para las transiciones del oxígeno ${}^3\Sigma_g \rightarrow {}^1\Delta_g$ (22.5 Kcal mol⁻¹) ó ${}^3\Sigma_g \rightarrow {}^3\Sigma_g$ (37.5 Kcal mol⁻¹), de otra forma, la interacción se restringiría a un decaimiento del estado excitado del sensibilizador, por colisiones con el medio (Ecuación 4).

El compuesto elegido como sensibilizador, debe presentar un alto rendimiento cuántico en la formación de estados triplete ϕ_T , con tiempos de vida del triplete, τ_T , lo suficientemente largos, que permitan su interacción con el oxígeno molecular. Adicionalmente, el sensibilizador debe poseer un alto coeficiente de extinción (ϵ), a la longitud de onda del experimento y una baja tendencia a reaccionar, esto último para evitar su consumo durante el proceso de fotosensibilización.

3.1.2.1 Rendimiento cuántico en la generación del $O_2({}^1\Delta_g)$, ϕ_{Δ} .

Ahora, a partir del esquema cinético propuesto por Wilkinson³⁵ (Anexo1), que considera todos los procesos elementales asociados a la generación de oxígeno molecular singulete en solución y que incluye los procesos que dan cuenta de su consumo, es posible establecer que en la generación de oxígeno excitado pueden participar los dos estados excitados de menor energía del sensibilizador, singulete y triplete. Luego, el rendimiento cuántico total en la generación de $O_2({}^1\Delta_g)$ para un

sensibilizador dado, ϕ_{Δ} , corresponderá a la suma de las contribuciones de ambos estados:

$$\phi_{\Delta} = \phi_{\Delta}({}^1S^*) + \phi_{\Delta}({}^3S^*) \quad (5)$$

donde los términos $\phi_{\Delta}({}^1S^*)$ y $\phi_{\Delta}({}^3S^*)$, corresponden respectivamente al número de moles de $O_2({}^1\Delta_x)$ que son generadas desde el primer estado singulete excitado y del estado triplete desactivado por el oxígeno en estado fundamental.

Un análisis más detallado de este esquema cinético general, incluye los diferentes caminos por los que pueden evolucionar los primeros estados excitados del sensibilizador (vias radiativas y no radiativas). Así, la ecuación 5 puede ser escrita como:

$$\phi_{\Delta} = \phi_T P_T^{O_2} f_{\Delta}^T + P_S^{O_2} \left[f_{\Delta}^S + P_T^{O_2} f_{\Delta}^T (f_T^{O_2} - \phi_T) \right] \quad (6)$$

donde ϕ_T corresponde al rendimiento cuántico de tripletes del sensibilizador, $P_T^{O_2}$ a la fracción de estados triplete desactivados por oxígeno en estado fundamental, así como f_{Δ}^T y f_{Δ}^S a las fracciones de los estados triplete y singulete desactivados por oxígeno en estado basal y que generan oxígeno en estado excitado. Por analogía, $f_S^{O_2}$ es la fracción de estados singulete del sensibilizador, desactivados por oxígeno y que dan estados triplete excitados. Así, ϕ_{Δ} tomará un valor máximo cuando todos los estados singulete excitados del sensibilizador, fuesen desactivados por oxígeno basal mediante un mecanismo de cruce entre sistemas asistido, pues todos los estados triplete excitados del sensibilizador, producidos a través de este mecanismo, serían desactivados nuevamente por el oxígeno en estado fundamental, generando una segunda molécula de oxígeno molecular singulete y el sensibilizador en estado

basal. Para observar este caso límite, es necesario una alta concentración de oxígeno disuelto que no se observa en condiciones de trabajo normales.

A temperatura ambiente, las soluciones equilibradas con aire, de solventes orgánicos, tienen una concentración de oxígeno disuelto que oscila entre 1×10^{-3} M y 3×10^{-3} M⁴². En agua, etilenglicol y glicerol, la solubilidad del oxígeno es mucho menor, alcanzando concentraciones alrededor de 1×10^{-4} M. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la contribución a la producción de $O_2(^1\Delta_g)$, por parte del estado singulete excitado del sensibilizador, no solo depende de la concentración del oxígeno basal en la solución, también dependerá del tiempo de vida del estado singulete excitado del sensibilizador y de su velocidad específica de desactivación.

De igual forma, se ha establecido una dependencia para la generación de $O_2(^1\Delta_g)$ por estados triplete excitados. En este caso, las constantes son de alrededor de un orden de magnitud menores que en el caso del singulete excitado y en consecuencia, los tiempos de vida del estado triplete del sensibilizador deberán ser significativamente mayores, para que la generación del $O_2(^1\Delta_g)$ desde el triplete ($P_T^{O_2} \approx 1$) sea eficiente. Esta tendencia se ve favorecida, dado el carácter prohibido de la transición del estado triplete excitado al estado singulete basal.

No obstante, deben tenerse muy presentes las consideraciones energéticas, pues la proporción de los estados singulete y triplete excitados del sensibilizador, que son desactivados por el oxígeno y que dan lugar a la generación del oxígeno molecular singulete, también dependerá del cambio de energía que acompaña tanto la transición entre los estados excitados, como del cambio de energía entre el primer estado triplete excitado y el estado basal, del sensibilizador. Por ejemplo, si $\Delta E(^1S^* \rightarrow ^3S^*)$ es menor que el cambio de energía requerido para excitar el oxígeno molecular singulete, entonces el ϕ_Δ dependerá exclusivamente de la contribución que

presenten los estados triplete excitados del sensibilizador. Así, la Ecuación 6 tomaría la siguiente forma:

$$\phi_{\Delta} = \phi_T P_T^{O_2} f_{\Delta}^T \quad (7)$$

Con relación a lo anterior, es interesante considerar la proposición de Ogilby y col.⁴³, que clasifica las moléculas capaces de generar $O_2(^1\Delta_g)$ en tres tipos. Los sensibilizadores tipo I son aquellos cuyos estados excitados singulete y triplete pueden ser desactivados por oxígeno en estado basal, pues los cambios en energía que implica el paso de S_1 y T_1 a S_0 , son mayores que la energía necesaria para excitar al oxígeno molecular. Sensibilizadores tipo II, son los que tienen tiempos de vida del singulete y triplete lo suficientemente largos como para ser desactivados por oxígeno en estado basal, pero solo la desactivación del estado triplete genera $O_2(^1\Delta_g)$. Por último, son sensibilizadores tipo III, aquellos que a concentraciones normales del oxígeno molecular, no sufren desactivación del estado singulete excitado, pero sí del estado triplete.

En general, las cetonas aromáticas presentan un primer estado excitado singulete $n \rightarrow \pi^*$ con tiempos de vida muy cortos. En estos compuestos, la proporción de estados singulete excitados que son desactivados por el oxígeno molecular singulete, $P_S^{O_2}$, es menor que 0.05. Benzofenona y 2-acetonaftona, presentan adicionalmente cambios energéticos en la transición del singulete al triplete, menores a 7882cm^{-1} , por lo que no hay participación del primer estado singulete excitado del sensibilizador en la generación del oxígeno singulete. Así, los rendimientos cuánticos observados en solución de benceno equilibrada con aire, de 0.29 y 0.7 (saturando con oxígeno: 0.35 y 0.73) respectivamente⁴⁴, corresponden exclusivamente, a la generación del $O_2(^1\Delta_g)$ por transferencia de energía desde el estado triplete del sensibilizador.

Sin embargo, para el caso de los hidrocarburos aromáticos, el término $P_S^{O_2}$, es muy variable y depende de factores como temperatura, naturaleza y viscosidad del solvente, y la solubilidad, tanto del oxígeno, como la del sensibilizador. Investigaciones realizadas por Wu y Trozzolo⁴⁵, señalan que los hidrocarburos aromáticos altamente fluorescentes, presentan una importante contribución a la generación del oxígeno molecular singulete por parte del estado singulete excitado del sensibilizador, lo que está en concordancia con un mecanismo de generación de $O_2(^1\Delta_g)$ a través de un cruce entre sistemas asistido. Por ejemplo, sensibilizadores tales como 9,10-dimetilantraceno, 9,10-difenilantraceno y rubreno, en solución de hexano saturada con oxígeno, muestran un rendimiento cuántico de 1.20, 1.27 y 1.20, respectivamente. Por su parte, quinolina y acridina, presenta un valor de $\phi_\Delta = 0.1$ y 0.82, en soluciones saturadas con oxígeno, de metanol y benceno, respectivamente.

3.1.2.2 Determinación del ϕ_Δ .

Son varias las técnicas utilizadas en la determinación del rendimiento cuántico en la generación del oxígeno molecular singulete²⁵, entre las que cabe destacar las que se realizan en condiciones de irradiación estacionaria y las técnicas resueltas en el tiempo, ambas utilizadas en el presente trabajo de tesis.

3.1.2.2.1 Irradiación en estado estacionario

La evaluación del rendimiento cuántico en la generación de oxígeno molecular singulete, puede realizarse a través del seguimiento de alguna propiedad directamente relacionada con la cantidad de $O_2(^1\Delta_g)$, como es el consumo de esta especie excitada del oxígeno, en las reacciones de foto oxidación.

En condiciones de irradiación en estado estacionario, es posible medir este parámetro, a través del rendimiento cuántico en la reacción de foto oxidación, ϕ_{ox} , de

un sustrato altamente reactivo frente al oxígeno singulete, Q , donde el cambio en su concentración, será proporcional al cambio en la concentración de $O_2(^1\Delta_g)$, como se indica en la Ecuación 8.

$$-\frac{d[Q]}{dt} = -\frac{d[{}^1O_2^*]}{dt} = k_r^Q [{}^1O_2^*] [Q] \quad (8)$$

Por su parte, el rendimiento cuántico en la reacción de foto oxidación ϕ_{ox} , se relaciona directamente con la velocidad de desaparición del sustrato Q , a través de la siguiente expresión:

$$\phi_{ox} = \alpha \frac{\left[-\frac{d(Q)}{dt} \right]}{I_{abs}} \quad (9)$$

donde I_{abs} la intensidad de luz absorbida y α es un factor de proporcionalidad asociado a la estequiometría de la reacción. Con estas consideraciones y aplicando la aproximación en estado estacionario al esquema cinético propuesto por Wilkinson y col., (Anexo 1), se tiene que:

$$\phi_{ox} = \frac{\phi_{\Delta} k_r^Q [Q]}{k_d + k_T [Q]} = \phi_{\Delta} P_Q \quad (10)$$

En esta ecuación, P_Q es la relación entre ambos rendimientos cuánticos y corresponde a la proporción de $O_2(^1\Delta_g)$ que reacciona químicamente con Q , k_r^Q es la constante de velocidad para la reacción química entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y Q , k_d la

constante de desactivación del oxígeno singulete por el medio y k_T la suma de las constantes de velocidad de desactivación química y física para el $O_2(^1\Delta_g)$.

Para el caso en el que se tiene una alta concentración de Q , tal que $k_d \ll k_Q[Q]$, la Ecuación 10, se reduce a la siguiente expresión:

$$\phi_{ox} = f_r^Q \phi_\Delta \quad (11)$$

donde f_r^Q , es la fracción entre las constantes de velocidad de reacción química para el decaimiento del oxígeno singulete por el sustrato Q y la constante de desactivación total.

Otra situación se daría para el caso en que la concentración de Q tiende a cero, donde la desactivación del oxígeno molecular por parte del solvente pasaría a ser el componente fundamental. Así, la relación entre la velocidad de desaparición del sustrato aceptor de $O_2(^1\Delta_g)$ y ϕ_Δ , tomaría la forma:

$$-\frac{d[Q]}{dt} = \frac{I_{abs} \phi_\Delta k_r^Q [Q]}{k_d} \quad (12)$$

Si consideramos una cinética de primer orden, la reorganización de los términos de la ecuación anterior, nos permitiría obtener una relación entre el ϕ_Δ y la velocidad de desaparición de Q :

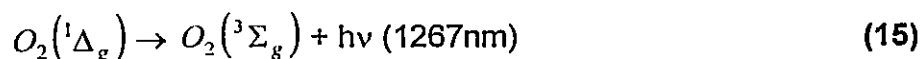
$$-\frac{d[Ln(Q)]}{dt} = \frac{I_{abs} \phi_\Delta k_r^Q}{k_d} = k_{exp} \quad (13)$$

Esta ecuación puede ser empleada para establecer el rendimiento cuántico en la generación de oxígeno molecular singulete para sensibilizador de interés, $(\phi_{\Delta})_S$, en función de un sensibilizador de referencia $(\phi_{\Delta})_{S'}$, siempre y cuando, se garanticen las mismas condiciones experimentales.

$$\frac{(\phi_{\Delta})_S}{(\phi_{\Delta})_{S'}} = \frac{(-d[\text{Ln}(Q)]/dt)_S}{(-d[\text{Ln}(Q)]/dt)_{S'}} \quad (14)$$

3.1.2.2.2 Medida de la Intensidad de Luminiscencia IR resuelta en el tiempo

La luminiscencia del $O_2(^1\Delta_g)$ a 1267 nm (7882 cm^{-1}), corresponde a una emisión fluorescente extremadamente débil (Ecuación 15), que puede ser observada gracias al uso de diodos de germanio altamente sensitivos⁴⁶, con límite de resolución en la escala de tiempo de los nanosegundos.



Como se mencionó anteriormente, la generación del oxígeno molecular singulete, depende del producto entre la eficiencia en la producción de los estados excitados del sensibilizador y la eficiencia en la transferencia de esta energía al oxígeno molecular singulete. Como la separación de estos términos no es sencilla, se hace necesario recurrir a determinaciones relativas, utilizando sensibilizadores con ϕ_{Δ} conocidos.

Así, es posible evaluar la capacidad fotosensibilizadora de un compuesto, al compararla con la de un sensibilizador de referencia. En cada caso, la intensidad de la emisión del oxígeno molecular singulete extrapolada a tiempo cero, I_{Δ} , medida bajo las mismas condiciones experimentales y a concentraciones reguladas de las

soluciones ($\varepsilon_{S'}c_{S'} = \varepsilon_S c_S$), da una medida relativa de la cantidad de $O_2(^1\Delta_g)$ generado por el sensibilizador, luego de su excitación con un pulso de láser en presencia de oxígeno.

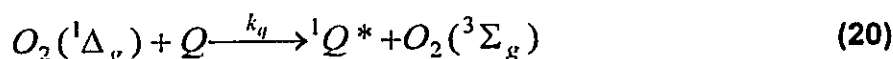
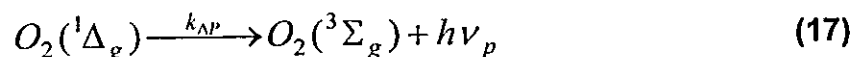
$$\frac{(\phi_{\Delta})_S}{(\phi_{\Delta})_{S'}} = \frac{(I_{\Delta})_{S,t \rightarrow 0}}{(I_{\Delta})_{S',t \rightarrow 0}} \quad (16)$$

Cuando las condiciones experimentales lo permitan, la relación de intensidades debe ser extrapolada a potencia cero del láser, esto para eliminar los posibles efectos no lineales⁴⁷. También es adecuado, extrapolar los resultados obtenidos a dilución infinita y así, evitar errores originados en reacciones de autooxidación u otras reacciones secundarias.

Adicionalmente, dada la dependencia con el medio, es preciso comparar la intensidad de la luminiscencia en el IR del oxígeno molecular singulete, I_{Δ} , en el mismo solvente. Sin embargo, Schmidt y col.²⁵, han propuesto la utilización de un sensibilizador universal de referencia, fenalenona, una cetona aromática con un ϕ_{Δ} que varía entre 0.94 y 1.00, en una amplia gama de solventes y con un espectro de absorción que se extiende en medios polares, hasta 460 nm.

3.1.3 Desactivación del oxígeno molecular singulete, en solución

Son varios los procesos asociados a la desactivación del oxígeno molecular singulete, estos incluyen el decaimiento radiativo a través de su emisión fosforescente ($k_{\Delta P}$), desactivación promovida por interacciones con el solvente ($k_{\Delta d}$) y la desactivación física (k_q) y/o química (k_r) por interacción con otros sustratos presentes en el medio.



La constante de velocidad que acompaña el decaimiento del oxígeno molecular singlete, en solución y en ausencia de otras especies reactivas ($k_{\Delta} = k_{\Delta P} + k_{\Delta d}$), depende significativamente del solvente⁴⁴. Por ejemplo, el tiempo de vida del $O_2(^1\Delta_g)$ ($\tau_{\Delta} = 1/k_{\Delta}$) en ciclohexano, benceno y acetonitrilo, es 24, 32 y 67 μs , respectivamente. Este efecto, también es posible observarlo si comparamos solventes tales como agua y agua deuterada, en donde el tiempo de vida del $O_2(^1\Delta_g)$ es aproximadamente 15 veces mayor en D_2O que en H_2O . En soluciones acuosas la detección del oxígeno molecular singlete presenta algunas dificultades, debido a la baja solubilidad del oxígeno en agua y a su reducido tiempo de vida en este medio, $\sim 4 \mu\text{s}$ ⁴⁸.

Por otra parte, la presencia de un sustrato reactivo frente al $O_2(^1\Delta_g)$, contribuye a la disminución en su tiempo de vida, observándose la siguiente relación:

$$\tau_{\Delta} = \frac{1}{k_{\Delta} + k_T [Q]} \quad (21)$$

donde k_T es la suma de las constantes de velocidad de decaimiento del $O_2(^1\Delta_g)$, por interacción tanto física como química, con la especie Q .

3.1.3.1 Desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ por interacción con sustratos reactivos⁴⁹

La eficiencia con que un sustrato desactiva al oxígeno excitado, está fuertemente influenciada por el tiempo de vida del $O_2(^1\Delta_g)$ en el medio, independientemente de la velocidad específica a la que reacciona⁵⁰. Estas reacciones son en su mayoría sin control difusional y en consecuencia, la extensión de la reacción depende tanto de la concentración estacionaria de $O_2(^1\Delta_g)$ en el sitio de reacción, como de la constante de velocidad para la reacción bimolecular. Además, basados en numerosos estudios, se ha establecido que en muchos de los casos, pueden involucrarse interacciones de transferencia de carga, las cuales ocurren vía formación de un exciplexo y/o especies zwitteriónicas. También se ha planteado que la formación de este exciplexo en muchos casos, es la etapa determinante de la velocidad de reacción, aunque más recientemente, se ha postulado la participación de un complejo de encuentro previo a la formación del exciplexo, cuya generación es controlada por difusión⁵¹. Con estos antecedentes, el proceso de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ puede ser representado en términos del siguiente mecanismo general:

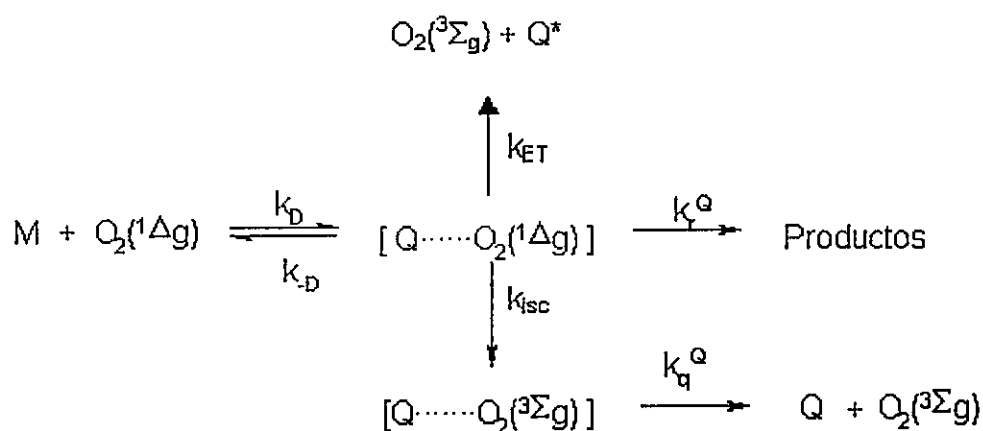


Figura 5. Mecanismo general de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$, por un sustrato Q .

Si se considera que el tiempo de vida del $O_2(^1\Delta_g)$ es menor que el tiempo de vida del exciplexo y que las concentraciones de desactivante pueden controlarse adecuadamente, tal que: $k_d + k_D[Q] \ll k_{-D} + (k_q^Q + k_r^Q)$, es posible describir la cinética como se indica en las Ecuaciones 22 y 23:

$$k' = k_D + k_T[Q] \quad (22)$$

$$k_T = \frac{k_D(k_q^Q + k_r^Q)}{k_{-D} + (k_q^Q + k_r^Q)} \quad (23)$$

donde k' es la constante de velocidad de primer orden para el decaimiento del oxígeno en estado excitado y k_T es la constante de velocidad para el proceso de desactivación total.

Para desactivantes muy eficientes, $k_{-D} \ll (k_q^Q + k_r^Q)$ y para los poco eficientes $k_{-D} \gg (k_q^Q + k_r^Q)$. En estos casos se logra un sistema simplificado de ecuaciones, que corresponde a las situaciones límite, con control difusional (Ecuación 24) y límite de pre-equilibrio (Ecuación 25):

$$k_T = k_D \quad (24)$$

$$k_T = K(k_q^Q + k_r^Q) \quad (25)$$

siendo K , la constante de equilibrio para la formación del exciplexo.

Teniendo en cuenta este mecanismo, puede establecerse que la mayoría de los valores de k_T a temperatura ambiente, corresponden a valores en el límite del pre-equilibrio. En este caso, las entalpías de activación experimentales son cero o

incluso negativas y deberán corresponder a un balance entre la entalpía de formación negativa del exciplexo y una entalpía de activación mayor que cero, para que tenga lugar la desactivación. En general, el proceso de formación de un exciplexo también involucra la reducción de la entropía de activación y su magnitud depende ampliamente de la disposición espacial que presenten las especies involucradas. Por ejemplo, sustratos como la estricnina, cuyo nitrógeno terciario reactivo frente al oxígeno excitado está específicamente localizado como cabeza de puente en un biciclo, posee una geometría especial que favorece las colisiones efectivas, presentando entropías de activación del orden de -15 a -20 cal mol⁻¹.

3.1.3.2 Mecanismos de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)^{26}$.

En la Figura 5 se muestra el mecanismo general para la desactivación del oxígeno molecular singulete. Aquí, se muestra como la desactivación del oxígeno excitado puede darse a través de un proceso de transferencia de energía desde el oxígeno excitado a una molécula de soluto en estado basal (k_{ET}), dando lugar a la formación del estado triplete excitado del soluto, con el respectivo decaimiento al estado basal del oxígeno molecular. Sin embargo, hay algunos requerimientos energéticos que deben ser tenidos en cuenta, como por ejemplo, que el cambio de energía entre los estados electrónicos de la molécula de desactivante, sea menor o igual al cambio que acompaña la emisión fosforescente del oxígeno, de 22,5 kcal mol⁻¹. Compuestos altamente conjugados que presentan baja energía del estado triplete⁵², como los carotenos, desactivan al $O_2(^1\Delta_g)$ a través de este mecanismo. Por ejemplo, la interacción entre el β -caroteno⁵³ y el oxígeno molecular singulete, es ligeramente dependiente de la viscosidad del medio, lo que es compatible con un proceso parcialmente controlado por difusión, y que adicionalmente en solventes no polares, está controlado por el apagamiento físico.

También es posible, que la interacción entre oxígeno molecular singulete y un sustrato reactivo, de lugar a la formación de un complejo de transferencia de carga que puede evolucionar hacia la formación de productos (k_r^O) o por cruce entre sistemas, hacia la desactivación física (k_q^O), obteniendo en el último de los casos, las dos moléculas en estado basal. El decaimiento del oxígeno molecular singulete puede darse también a través de ambos caminos competitivos, donde experimentalmente se ha observado que la mayor contribución al proceso de desactivación total, k_T , lo constituye el apagamiento físico, k_q^O . Grupos ricos en electrones, como aminas, fenoles, ion superóxido y sulfuros, reaccionan con el oxígeno molecular singulete mediante este mecanismo.

3.1.3.2.1 Reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con aminas

El mecanismo de oxidación fotosensibilizada de aminas, ha sido investigado ampliamente. Algunos estudios cinéticos realizados por los grupos de Ogryzo⁵⁴ y Young⁵⁵, proponen a principio de los 70, que la desactivación del oxígeno singulete por aminas procedía a través de un complejo de transferencia de carga, pues observaron disminución de la constante de velocidad para la desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$, al aumentar el potencial de ionización de la amina, donde k_T (terciaria) > k_T (secundaria) > k_T (primaria). La evolución de este intermediario depende fundamentalmente de la estructura de la amina (Figura 6). Cuando el sustrato corresponde a aminas primarias o secundarias y posee hidrógenos en posición α , se produce su abstracción intramolecular, la eliminación de peróxido de hidrógeno, con posterior formación de imino-derivados. En el caso de las aminas terciarias, el producto primario sería una hidroperoxiamina, que evolucionaría posteriormente para dar la cetona y la amina correspondientes.

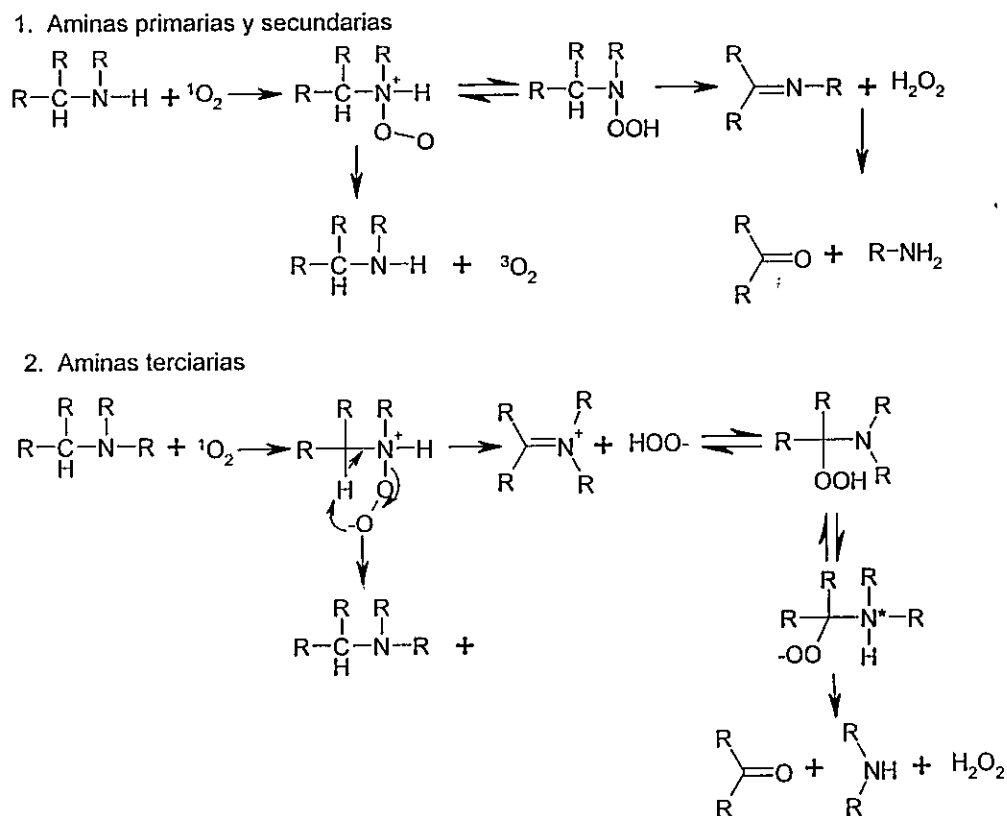


Figura 6. Desactivación del $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$, por aminas⁵⁶.

Diversos autores han estudiado el efecto solvente sobre la reacción de oxígeno excitado con aminas⁵⁷. Las aminas terciarias disminuyen en forma muy significativa su reactividad hacia el $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$, cuando el medio cambia de solventes polares apróticos, como diclorometano o acetonitrilo, a solventes polares próticos, como metanol. Esto muestra que el rol del solvente es más complejo que una simple estabilización del intermediario de transferencia de carga mediante interacciones polares o dipolares y que deben considerarse otras propiedades del solvente (p. ej. su carácter ácido). Estudios mediante ecuaciones LSER reportados por Zanocco y col.⁵⁸, para la reacción de $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$ con trietilamina, en los que se midió la constante de velocidad para esta reacción en un conjunto de 28 solventes, muestran que la velocidad de esta reacción disminuye en solventes con un fuerte carácter dador de hidrógenos debido al impedimento estérico que se produce por la interacción del solvente con el centro reactivo (el nitrógeno amínico) y aumenta en solventes que

poseen valores altos del parámetro de dipolaridad/polarizabilidad π^* . La velocidad de la reacción también aumenta en solventes aceptores de enlace de hidrógeno, probablemente por una mayor estabilización del complejo de encuentro en este tipo de solventes.

3.1.3.2.2 Adición del $O_2(^1\Delta_g)$, a compuestos insaturados

Las reacciones de adición del oxígeno molecular singulete a compuestos insaturados, pueden analizarse en forma general a través de tres mecanismos diferentes.

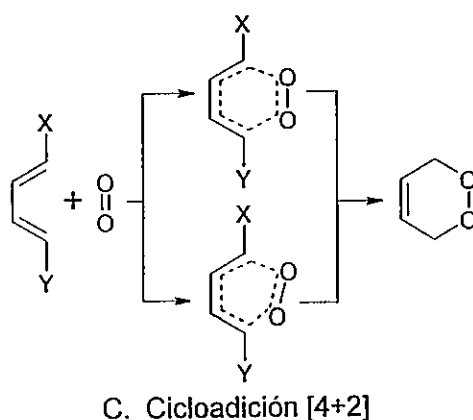
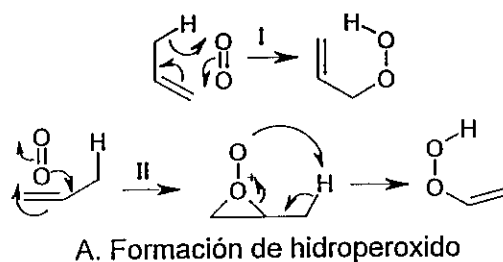


Figura 7. Mecanismos involucrados en las reacciones de adición del $O_2(^1\Delta_g)$, a compuestos insaturados.

El primero de ellos, corresponde a una reacción tipo *ene*⁵⁹ (Figura 7A, ruta I) y requiere de una olefina con al menos un hidrógeno en posición alílica, que dirija la reacción a la formación de un hidroperóxido por abstracción del H alílico y el desplazamiento del doble enlace. Este mecanismo ha sido catalogado típicamente dentro de las reacciones pericíclicas, en función de las características del posible estado de transición involucrado, pues la constante de velocidad evaluada para compuestos monoolefinicos⁶⁰, es débilmente dependiente del solvente, lo que apoya la formación de un estado de transición de seis miembros, en el que hay poco desarrollo de cargas. Sin embargo, estos resultados experimentales no permiten descartar totalmente la ocurrencia de un mecanismo que involucre la adición del oxígeno molecular singulete al doble enlace, a través de un intermediario perepóxido (Figura 7A ruta II), seguido por la transferencia interna de un protón, dando lugar a la formación del mismo hidroperóxido que se obtiene a través de la ruta I.

El segundo mecanismo involucra una cicloadición [2+2] (Figura 7B). Este camino presenta un efecto del solvente mayor, el cual ha sido asociado a la formación de un intermediarios perepóxidos o *zwiterionicos*, en los que se produce una significativa separación de carga, que evolucionan para dar un dioxetano, que usualmente se fragmenta para dar aldehídos o cetonas.

Por último, el tercer mecanismo posible corresponde a una cicloadición [4+2] del $O_2(^1\Delta_g)$, a hidrocarburos aromáticos o dienos conjugados de conformación *cis* (Figura 7C), que conduce a la formación de endoperóxidos. En este mecanismo, el oxígeno molecular singulete actúa como dienófilo (por analogía con la clásica reacción Diels-Alder). El carácter simétrico o asimétrico del estado de transición, dependerá de la naturaleza de los sustituyentes en el dieno. Así, en una reacción parcialmente concertada, será mayor el acercamiento del dienófilo al centro de mayor densidad de carga en el dieno.

Cabe mencionar, que tanto la distribución de productos, como el control estereoquímico que pueda derivarse de la interacción entre el oxígeno molecular

singulete y moléculas insaturadas, será función de las características estéricas y electrónicas en torno al centro de reacción. De manera similar, el efecto del solvente puede alterar tanto el equilibrio químico, como aspectos cinéticos, por la solvatación diferencial que presentan las diferentes especies, involucradas en la reacción.

3.1.3.2.3 Adición de $O_2(^1\Delta_g)$ a compuestos aromáticos

Las reacciones de adición de oxígeno molecular singulete a compuestos aromáticos y en especial aquellos que presentan varios anillos aromáticos fusionados, como naftalenos, antracenos y naftacenos, han sido clasificadas típicamente como reacciones de cicloadición [4+2], debido a la formación de intermediarios endoperóxidos, relativamente estables y a la presencia de un moderado efecto del solvente.

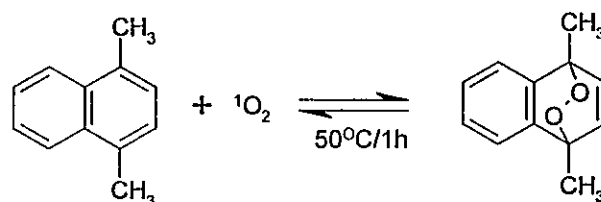


Figura 8. Reacción de adición del $O_2(^1\Delta_g)$ al 1,4-dimetilnaftaleno.

A partir de estudios de la cinética de la reacción del 1,4-dimetilnaftaleno, 1,4-DMN, con oxígeno excitado (Figura 8), en un conjunto de 28 solventes Aubry y col.⁶¹, han demostrado que la velocidad de reacción entre dienos aromáticos ricos en electrones y oxígeno excitado, depende de la habilidad del solvente para estabilizar cargas o dipolos y de su densidad de energía cohesiva. Para esta reacción, el cambio de solvente de ciclohexano a formamida, produce un incremento en la constante de velocidad de dos ordenes de magnitud. El análisis de la dependencia de la constante de velocidad con los parámetros microscópicos empíricos del solvente empleando ecuaciones lineales de energía libre de solvatación, LSER, ha sido expresada en términos de la siguiente ecuación:

$$k_7 = 2.62 + 0.07\rho_H^2 + 1.18\pi^* \quad (26)$$

Estos resultados, son compatibles con la formación de un complejo de encuentro en el que se produce transferencia parcial de carga y cuyo volumen es menor que el de los reactantes por separado, típico de las reacciones concertadas, aunque a partir de estudios teóricos, Yamaguchi⁶², ha propuesto que primero se produce exciplojo tipo Diels Alder que progresa hacia la formación un complejo de transferencia de carga.

La reacción de adición del $O_2(^1\Delta_g)$ sobre compuestos derivados del antraceno, ocurre específicamente sobre las posiciones 9 y 10, sin embargo, la presencia de sustituyentes dadores de electrones en las posiciones 1 y 4, dirige el ataque hacia estas posiciones⁶³, situación análoga a lo que se observa cuando el sustrato corresponde a naftalenos sustituidos.

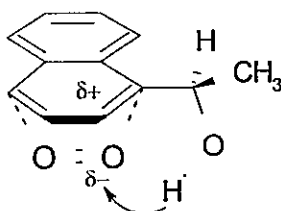


Figura 9. Endoperóxido formado en reacciones de cicloadición [4+2] del $O_2(^1\Delta_g)$ a derivados quirales del naftaleno.

Por otra parte, se han realizado algunos estudios sobre el efecto del sustituyente en la reacción del oxígeno molecular singulete con algunos derivados quirales del naftaleno, por W. Adams y col.⁶⁴ Los resultados obtenidos por estos autores, muestran que la reacción es altamente estereoespecífica, en presencia de sustituyentes CH_2OH y CH_2CH_2OH en posición 1, evidenciando la formación de un puente de hidrógeno entre el sustituyente al anillo y el oxígeno polarizado

negativamente, que estabiliza el complejo de encuentro, previo a la formación del endoperóxido, tal como se muestra en la Figura 9.

3.2 Efecto del solvente

Las interacciones entre diferentes especies químicas presentes en un medio, pueden ser estudiadas a través de modelos que plantean la correlación entre las características microscópicas asociadas a la estructura molecular, en función de las propiedades macroscópicas del medio. Estos modelos, permiten interpretar resultados cinéticos y termodinámicos, basados en las interacciones específicas que tienen lugar para cada especie molecular y que está relacionada íntimamente con la afinidad soluto – solvente.

Específicamente en el análisis cinético, los cambios en velocidad de las reacciones químicas y/o interacciones intermoleculares, dependen de las características del solvente, reflejando la contribución de las propiedades del medio a las interacciones a nivel molecular de las especies que reaccionan. Esta relación es la que permite dar cuenta del mecanismo de interacción entre diferentes moléculas y el oxígeno molecular singulete, a través del efecto del solvente.

En la Figura 10, se muestra un esquema general del efecto del solvente sobre la velocidad de una reacción, analizada a través de la afinidad del solvente por los reactivos y complejo de encuentro. Es posible observar como al aumentar la polaridad del solvente, las especies que presenten un mayor momento dipolar, serán más estabilizadas que las especies menos polares. Así, reactivos que presenten una mayor separación de carga, relativa al complejo de encuentro, serán más estabilizados que éste y por lo tanto, aumenta la energía de activación y disminuye en la velocidad de reacción (Figura 10 II). Por otra parte, si es mayor el momento dipolar en el complejo de encuentro, su estabilización en solventes polares será mayor que la de los reactivos, lo que hace predecible un aumento en la velocidad de

reacción.

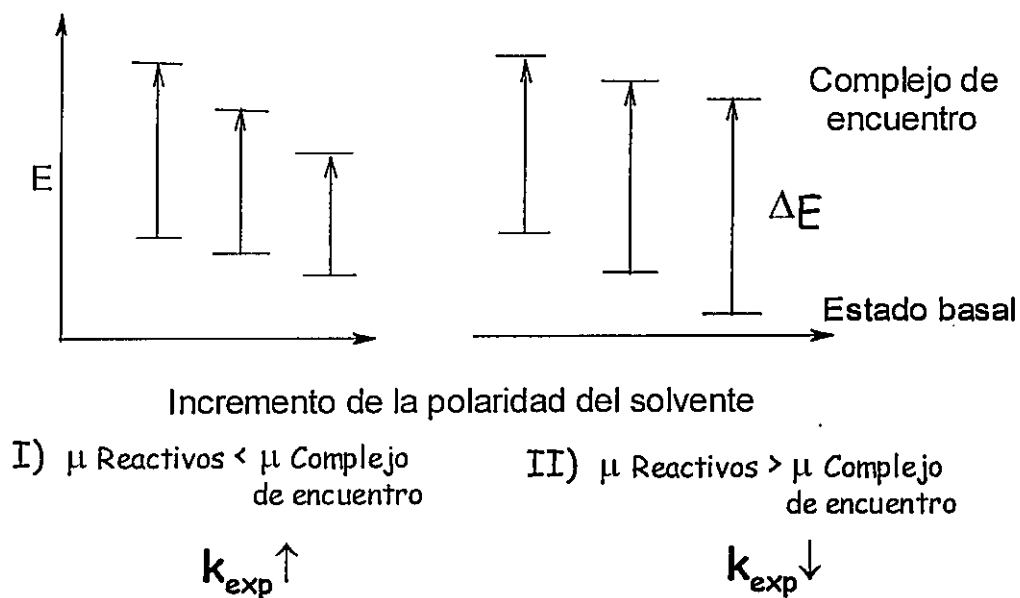


Figura 10. Representación cualitativa del efecto del solvente sobre la energía de los reactivos y el complejo de encuentro

Debido a la complejidad de las interacciones soluto-solvente y a la dificultad para cuantificar su efecto sobre las reacciones, se han empleado recurrentemente relaciones lineales de energía libre de solvatación, LSER⁶⁵, utilizando ecuaciones multiparamétricas que relacionan los datos cinéticos, con parámetros empíricos que describen las propiedades microscópicas del solvente y permiten reconocer la naturaleza de las interacciones entre las especies involucradas en una reacción.

Las interacciones a escala microscópica pueden clasificarse como específicas y no específicas. Las primeras, incluyen interacciones tales como los enlaces tipo puente de hidrógeno (capacidad donora o aceptora de puentes de hidrógeno, HBD y HBA respectivamente) y a través de pares electrónicos libres (EPD y EPA), y las segundas, incluyen las interacciones dipolares (ión-dipolo, dipolo-dipolo y dipolo-dipolo inducido). A nivel macroscópico, las propiedades del solvente

se representan por parámetros tales como la constante dieléctrica ϵ , el momento dipolar μ , y el índice de refracción η .

Uno de los modelos LSER más utilizados y que se emplea en el presente trabajo, corresponde a la ecuación propuesta por Kamlet, Abboud, Abraham y Taft⁶⁶:

$$\log k_T = \log k_{T,0} + s(\pi^* + d\delta) + a\alpha + b\beta + h\rho_H^2 \quad (27)$$

donde k_T y $k_{T,0}$ son las constantes de velocidad de la reacción objeto de estudio, en presencia de un solvente dado y en un solvente de referencia, respectivamente. Los coeficientes s , d , a , b y h , dan cuenta de la sensibilidad de la reacción a cada parámetro (π^* , α , β , δ y ρ_H^2). El parámetro π^* tiene su origen en la transición transferencia de carga de un electrón dador a un electrón aceptor conjugados a través de un anillo (sistema) aromático y refleja que tanto el efecto inductivo como las interacciones de tipo electrostático son proporcionales al momento dipolar molecular. El valor δ es un factor de corrección de polarizabilidad y es función del índice de refracción. La escala α de acidez, proporciona una medida de la habilidad del solvente para donar puentes de hidrógeno y la escala β de basicidad, se relaciona con la capacidad del solvente para aceptar puentes de hidrógeno o donar pares de electrones libres. El término ρ_H , parámetro de solubilidad de Hildebrand o densidad de energía cohesiva, se asocia a cambios en el volumen de las especies involucradas en la expresión cinética. Se han descrito otros parámetros como el parámetro ϕ de Dubois, que se basa en el efecto que tiene el cambio del solvente, sobre la posición de la banda de transición $n \rightarrow \pi^*$ y el índice ξ o de covalencia coordinada, es un parámetro empírico basado en las propiedades básicas del solvente. Estos y otros parámetros, pueden incorporarse selectivamente al tratamiento con ecuaciones multiparamétricas generalizadas.

De forma análoga, la dependencia de la constante de velocidad con la naturaleza del solvente se puede analizar en términos de relaciones teóricas de energía libre de solvatación, TLSEER, que incluyen parámetros teóricos del solvente.

Son seis los descriptores teóricos que se incluyen en la ecuación propuesta por Famini y col.⁶⁷ (Ecuación 29) y que en principio han sido desarrollados para dar una óptima correlación con los parámetros empíricos. Sobre esta base, una de las aplicaciones más importantes de las ecuaciones TLSEER se relaciona con la predicción del comportamiento de una variable macroscópica de un sistema (reacción), en solventes en los cuales no hayan sido determinados aún los parámetros empíricos.

$$\log k_T = \log k_{T,0} + b\pi_1 + ce_b + de_a + eq_- + fq_+ + g\rho_H^2 \quad (28)$$

En esta ecuación TLSEER, los efectos de acidez y basicidad son modelados por parámetros covalentes (e_a y e_b) y electrostáticos (q_+ y q_-) y las características de polaridad –polarizabilidad del medio, descritas a través del índice π_1 . Además, se incluye en este modelo, el parámetro de Hildebrand, ρ_H . Los términos de acidez y basicidad covalentes, resultan de considerar los conceptos de Brønsted y Lewis, donde la basicidad covalente, e_b , es 30 menos la magnitud de la diferencia de energía entre el HOMO de un solvente y el LUMO del agua. Lo opuesto se aplica, para el caso de la acidez, e_a . De forma similar, los parámetros electrostáticos se definen en función de la carga formal negativa q_- , en un átomo y la carga formal positiva, q_+ , sobre el hidrógeno más positivo. Por otra parte, el índice de polarizabilidad, π_1 , se obtiene de la razón entre el volumen de polarizabilidad y el volumen molecular.

4 MATERIALES

4.1 Solventes

Todos los solventes utilizados fueron grado espectroscópico o HPLC: metanol, etanol, butanol, hexanol, alcohol bencílico, alcohol amílico, etilenglicol, acetonitrilo, benzonitrilo, formamida, N,N-dimetilformamida, propilencarbonato, dietil éter, acetona, benceno, tolueno, n-hexano, n-heptano, cloroformo, diclorometano, dioxano y ácido sulfúrico (*Merck*), propanol, acetona y acetato de etilo (*Mallinckrodt*), dimetilamina (*Aldrich*) y octanol (*Fluka*), fueron utilizados sin purificación previa; éter etílico, fue secado sobre sodio metálico y dimetilamina fue destilada al vacío antes de su empleo. Los solventes deuterados (agua y cloroformo), empleados en los análisis de resonancia magnética nuclear, fueron *Merck*.

4.2 Reactivos

Los sensibilizadores fenazina, rubreno, fenalenona, TPP (5,10,15,20-tetrafenil-21H,23H-porfirina) y benzofenona, y los actinómetros 1,3-difenilisobenzofurano, 9,10-dimetilantraceno (DMA) y sulfato de quinina, obtenidos de *Aldrich*, se utilizaron sin tratamientos previos. Rosa de bengala, (*Fluka*), fue recristalizado desde etanol.

Las drogas antimaláricos, clorhidrato de quinacrina, dihidrocloruro de amodiaquina y quinina fueron obtenidas de *Sigma*, difosfato de primaquina y difosfato de cloroquina, de *Aldrich*. Los modelos simples de las quinolina (*Sigma*), 7-cloroquinaldina, 6-cloroquinolina, 8-aminoquinolina y 6-metoxiquinolina, (*Aldrich*), fueron purificados por destilación antes de su uso.

5 INSTRUMENTACIÓN

5.1 Espectroscopía de absorción y emisión

5.1.1 Absorción ultravioleta-visible

Los espectros de absorción en el ultravioleta visible (200-700nm), fueron medidos en un espectrofotómetro *Unicam UV-4* y los datos adquiridos a través de un computador, utilizando el software *Vision*.

5.1.2 Emisión ultravioleta-visible

Los espectros de emisión y medidas a longitud de onda fija, fueron realizados en un espectrofluorímetro *Fluorolog τ 2, Spex*, controlado a través de un computador con el software *DMF 300*.

5.1.3 Emisión luminiscente del $O_2(^1\Delta_g)$

Las mediciones de la luminiscencia IR del oxígeno molecular singulete fueron empleadas en la evaluación de los rendimientos cuánticos en la generación de oxígeno singulete ϕ_Δ y en la determinación de las constantes de desactivación total del oxígeno, $O_2(^1\Delta_g)$, por diferentes sustratos.

Para realizar estos experimentos se empleó un sistema que cuenta con dos fuentes de irradiación, un láser de nitrógeno *PTI modelo PL2300*, con potencia promedio de 3 mJ a 337 nm y un láser de Nd-YAG Q-Switched *Quantel, modelo Brilliant ω*, con dos dobladores de frecuencia que permiten obtener pulsos de láser correspondientes al segundo y tercer armónico, a 532 y 355 nm respectivamente. La potencia máxima observada, es alrededor de los 100 mJ, para el segundo armónico.

La emisión infrarroja a 1270 ± 1 nm, del oxígeno singulete generado con los pulsos del láser, se midió con un detector de germanio *North Coast, modelo EO-817P* de alta sensibilidad, el cual es enfriado permanentemente con nitrógeno líquido. La adquisición de la señal se realizó mediante un osciloscopio *Hewlett-Packard, modelo 54540A* de 1Gs/s y 500 MHz, acoplado a un computador DTK 486. El análisis de los datos obtenidos y el control del experimento se realiza con un programa desarrollado en el laboratorio con el software LabView.

5.1.4 Experimentos de absorción resueltos en el tiempo

Estas medidas se realizan con el fin de determinar los tiempos de vida del estado triplete, para los compuestos quinolínicos.

En estos experimentos, los estados tripletes son generados por excitación de la muestra con pulsos de láser a 355 nm (*Nd-YAG Q-Switched Quantel, modelo Brilliant ω*). Perpendicular al pulso de excitación, el sistema tiene una lámpara de Xe *Osram XBO de 150 W*, en un portalámparas *PTI A1010*. Este sistema está acoplado a un obturador electrónico *Uniblitz*, controlado con temporizador *T132*, donde con un interruptor se da la señal para que durante cada pulso de láser, se permita el paso de luz a la muestra por 7 ms. La longitud de onda de la luz transmitida por la muestra, es seleccionada por monocromador *PTI 01-001* y transmitida a un fotomultiplicador, *Hamamatsu R-928*. La señal es adquirida por un osciloscopio digital *Hewlett Packard 54540 A* de 500 MHz y 1Gs/s, utilizado en el modo de corriente directa. El análisis de los datos obtenidos y el control del experimento se realiza con un programa desarrollado en el laboratorio con el software LabView. Los cambios en la intensidad de luz son reportados como cambios en la densidad óptica, utilizando la siguiente ecuación:

$$\Delta DO = \log \left[I^0 / (I^0 - \Delta I(t)) \right] \quad (29)$$

donde I^0 (mV) es el promedio de las señales observadas, previo al pulso del láser y $\Delta I(t)$ (mV), es la señal observada en un tiempo t .

5.1.5 Resonancia magnética nuclear de protones

Los espectros monodimensionales de RMN- ^1H , utilizados en la caracterización de los compuestos antimaláricos y quinolinas monosustituidas, fueron adquiridos en un equipo Bruker, modelo ADX 300. En estos análisis, se utilizó como solvente cloroformo deuterado CDCl_3 y los desplazamientos químicos, fueron referidos al tetrametilsilano.

5.2 Cromatografía

5.2.1 Cromatografía gaseosa

Esta técnica es utilizada para evaluar la constante de desactivación química del oxígeno molecular singulete, por interacción con los compuestos quinolínicos.

Para esto, se utilizó un cromatógrafo 5890 serie II, marca *Hewlett-Packard*, con detectores NPD y de conductividad térmica, el cual es operado desde un computador *DTK*, con el software *HP 3365 Chemstation*. Se empleó una columna capilar *HP-5* (Crosslinked 5% PH Me Silicone) 30 m x 0.32mm x 0.25 μm film thickness.

Por otra parte, en la determinación de los productos de reacción entre la primaquina y el oxígeno singulete, se utilizó un cromatógrafo GC8000 acoplado a un espectrómetro de masas MD800, de *Fisons Instruments*, el cual es controlado por un computador con el software *Mass Lab*.

5.2.2 Cromatografía en columna

Esta técnica de separación fue utilizada para la purificación de algunas drogas antimaláricas y en ella se utilizaron columnas de vidrio con dispensador acoplado, para regular el flujo de fase móvil, usando como fase estacionaria sílica gel.

5.2.3 Cromatografía en capa fina

El seguimiento de las fracciones separadas por cromatografía en columna, se realizó a través de esta técnica, empleando placas semipreparativas de sílica gel 60 F₂₅₄.

5.3 Cálculos semiempíricos

Los cálculos mecano-cuánticos a nivel semiempírico, PM3 y ZINDO/S, se utilizaron para predecir las longitudes de onda a las que absorben los estados triplete excitados de las drogas antimaláricas y algunos compuestos quinolínicos.

Adicionalmente, este nivel de cálculo también se utilizó para calcular los índices de reactividad de Fukui frente al ataque electrofílico, evaluando la densidad electrónica sobre cada átomo en los orbitales ocupados más externos. Para la realización de estos cálculos se utilizaron los programas *HyperChem-6.01 HyperCube, Inc.*, *Gaussian 98, Inc.*, y *GaussView 2.1*, en un computador personal con procesador Pentium III de 450 MHz y 128 MB de memoria RAM.

6 METODOLOGÍAS

6.1 Purificación y obtención de las bases libres

Para la obtención de las bases libres de primaquina, cloroquina, quinacrina y amodiaquina, se neutralizó la sal respectiva. Se prepararon soluciones acuosas de cada sal (50ml) y se llevó a pH 11 por adición de NaOH al 10%. Luego, en un embudo de separación, se extrajo con cloroformo (4x30ml) y éter (1x30ml). Las fracciones orgánicas fueron secadas sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. Posteriormente el solvente fue removido en un evaporador rotatorio. Estos compuestos, son fácilmente oxidables en presencia de oxígeno y por tanto, durante su purificación y tratamiento son protegidos de la luz y mantenidos bajo vacío o bajo atmósfera de N₂. La primaquina, se purificó por cromatografía en columna, utilizando sílica gel y las fases móviles I y II, diclorometano:etanol:dimetilamina (10:2:0.2) y metanol:amonio (95:5), respectivamente. En el caso de la quinacrina, también se empleó la técnica de cromatografía en columna, utilizando como eluyente metanol:amonio, 97:3 (fase móvil III). En ambos casos, se realiza el seguimiento de las distintas fracciones, por cromatografía en capa fina. Amodiaquina y cloroquina se recrystalizaron desde etanol y éter etílico, respectivamente, verificando sus puntos de fusión. La quinolina y 6-MeOQ, se purificaron por destilación al vacío y la 8-aminoquinolona, se recrystalizó desde etanol. 7-cloroquinaldina y 6-cloroquinolina se utilizaron sin tratamiento previo, pues los análisis por cromatografía gaseosa mostraron una pureza mayor al 99%. La estructura de los compuestos purificados, se verificó mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protones. En la descripción de estos espectros, δ es el desplazamiento químico en ppm, J la constante de acoplamiento en Hz. Aquí, la multiplicidad de espín se indica con las iniciales, esto es: s para singulete, d doblete, etc.

6.2 Rendimiento cuántico de generación del $O_2(^1\Delta_g)$

Para determinar la eficiencia en la generación de oxígeno molecular singulete por drogas antimaláricas y moléculas modelo, en algunos solventes representativos de la escala de polaridad, se emplearon alternativamente métodos de irradiación en estado estacionario y métodos resueltos en el tiempo.

6.2.1 Métodos de irradiación en estado estacionario.

En la determinación del ϕ_Δ con métodos de iluminación en estado estacionario, se comparan las velocidades de consumo de un sustrato que es un eficiente aceptor de $O_2(^1\Delta_g)$ en presencia de un sensibilizador de referencia o actinómetro, de rendimiento cuántico conocido, y el compuesto en estudio. El 1,3-difenilbenzofurano (DPBF) es utilizado como sustrato reactivo y su reacción con el oxígeno molecular singulete se ajusta a una cinética de orden cero. En este caso, el seguimiento de la reacción se hace por espectrofotometría de absorción UV-Vis, graficando la absorbancia del DPBF a 414 nm en función del tiempo. La pendiente de este gráfico, será la constante de velocidad experimental $k_{\text{exp}(S')}$ ó $k_{\text{exp}(Q)}$, según se utilice el sensibilizador de referencia o el compuesto a evaluar. La razón entre estas constantes de velocidad, corresponde a la razón de los rendimientos cuánticos, cuando los experimentos se realizan bajo las mismas condiciones, como se indica en la Ecuación 30, de donde se puede despejar el ϕ_Δ^Q en función del $\phi_\Delta^{S'}$. En estos experimentos, se utiliza como fuente de irradiación una lámpara de mercurio, con un sistema de filtros, para excitar la muestra selectivamente con la línea de 313 nm.

$$\phi_\Delta^Q = \phi_\Delta^{S'} \frac{k_{\text{exp}Q}}{k_{\text{exp}S'}} \quad (30)$$

6.2.2 Métodos de irradiación pulsada

Para evaluar los valores de ϕ_{Δ} , se utilizan los dos equipos láser de excitación pulsada descritos en la sección anterior. El detector infrarrojo, permite monitorear la emisión resuelta en el tiempo asociada al decaimiento del oxígeno excitado. Como compuestos de referencia, se utilizan diferentes actinómetros (dependiendo del solvente) y en la mayoría de los casos, cuando las condiciones experimentales lo permiten, los valores de rendimientos cuánticos se extrapolan a potencia cero del láser y a concentración cero del sensibilizador. Para regular la potencia del láser, se intercala en la trayectoria del haz de luz, una solución acuosa de NaNO_3 a diferentes concentraciones. Las medidas de ϕ_{Δ} se efectúan a temperatura ambiente y equilibradas con aire. Las intensidades de la fosforescencia del oxígeno singulete a tiempo cero, $I_{\Delta,t \rightarrow 0}$, se obtienen de las curvas de decaimiento resuelta en el tiempo, las cuales se ajustan a una función exponencial simple. Una serie de medidas de intensidad inicial, efectuadas a diferentes energías del láser, permiten graficar la $I_{\Delta,t \rightarrow 0}$ vs la intensidad relativa del láser, que en general, responden a un comportamiento lineal en el rango de intensidades utilizadas, de luz incidente. Adicionalmente, también se realizaron mediciones de la luminiscencia inicial en función de la concentración de sustrato, graficando la razón de las intensidades iniciales de la emisión del oxígeno molecular singulete, cuando se utiliza el compuesto quinolínico y el sensibilizador de referencia $I_{\Delta,t \rightarrow 0,Q} / I_{\Delta,t \rightarrow 0,S}$, vs la absorbancia, que es igual para ambas soluciones (sustrato y actinómetro) a la longitud de onda de excitación ($Abs_Q = Abs_S$). Del intercepto de este gráfico, se obtiene el valor del rendimiento cuántico de generación de $O_2(^1\Delta_g)$ por Q, relativo a S, según la Ecuación 16. Todos los ϕ_{Δ} se midieron utilizando el mismo solvente tanto para la muestra como para el sensibilizador de referencia, pues de esta forma, no es necesario efectuar correcciones por cambio en el índice de refracción del medio.

6.3 Rendimiento cuántico de la fluorescencia

Los rendimientos cuánticos de la fluorescencia ϕ_f , se calcularon relativos al sulfato de quinina en una solución de H_2SO_4 0.05 M, tomando como valor de referencia $\phi_f^{OU} = 0.55$.

Los valores de ϕ_f , se obtienen graficando el área bajo los espectros de emisión corregidos, del sulfato de quinina y del sustrato en estudio vs la absorbancia. Ambas soluciones tienen la misma absorbancia a la longitud de onda de excitación. El ϕ_f se obtiene de la razón entre las pendientes y el rendimiento cuántico de fluorescencia. Todos los experimentos se realizan en un rango de absorbancia de 0.01 a 0.12.

6.4 Tiempos de vida de los estados triplete excitados

6.4.1 Cálculos semiempíricos

Para la predicción de las longitudes de onda a las que absorben los estados triplete excitados de las drogas quinolónicas, se optimizó la estructura de la molécula en estado basal, por HyperChem-6.0, con un cálculo RHF utilizando como método PM3. A esta estructura, se le calcula con ZINDO/S, la configuración electrónica más estable del primer estado excitado triplete, considerando los 5 orbitales moleculares de mayor energía HOMO y de menor energía LUMO, para proceder posteriormente a la optimización con *single point*. Utilizando esta estructura, se calcula el espectro electrónico y se obtiene una aproximación de las longitudes de onda a las que absorbe el estado triplete y la fuerza relativa del oscilador, indicativo de su intensidad.

6.4.2 Medidas del tiempo de vida

Las soluciones de los compuestos quinolínicos con absorbancias que oscilaron entre 0.4 y 0.8, fueron purgadas con N_2 . Inmediatamente después, se excitan las muestras con un máximo de 4 pulsos de láser a 355 nm y se registran las curvas de decaimiento de las especies transcientes a distintas longitudes de onda. Los espectros de absorción se obtuvieron analizando los datos con el software Origin-5.0 y graficando el cambio en la densidad óptica, ΔDO , en función de la longitud de onda, λ .

El tiempo de vida de los tripletes, τ , se obtiene de las curvas de decaimiento del transiente, a longitudes de onda máxima del espectro de absorción triplete-triplete. Para el análisis de los datos se realizó un ajuste monoexponencial de la curva de decaimiento de la absorción atribuida al triplete.

6.5 Constantes de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$

En la determinación de las constantes de velocidad para la desactivación del oxígeno molecular singulete, el oxígeno es generado por fotosensibilización. El sensibilizador de referencia se selecciona en función de las condiciones de trabajo y de las características propias del sustrato, como son su espectro de absorbancia y solubilidad.

6.5.1 Constantes de desactivación totales, k_T .

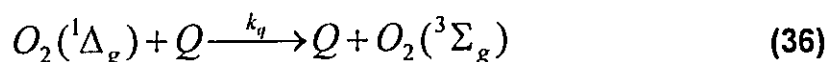
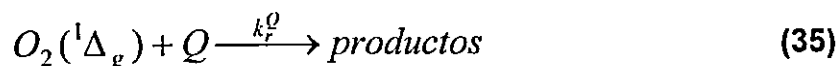
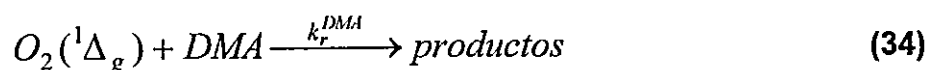
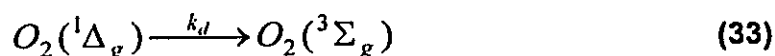
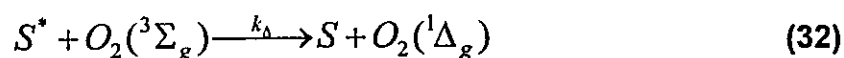
6.5.1.1 Medidas en condiciones de irradiación estacionaria

La medición de las constantes de velocidad para la desactivación total del oxígeno molecular singulete, en presencia de drogas antimaláricas, en condiciones de irradiación estacionaria, se realizó en varios solventes. Para estos experimentos,

se utilizaron celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, en portaceldas termostatzados y filtros de corte que permitan la excitación selectiva del sensibilizador. Como fuente de irradiación, se emplearon lámparas halógenas de 50 y 100 watt.

Estas determinaciones se realizan empleando el método de las reacciones competitivas, el cual consiste en evaluar el efecto inhibitor del compuesto en estudio, sobre la velocidad de reacción entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y un sustrato reactivo, cuya constante de velocidad es conocida. En los experimentos realizados en estas condiciones, se utilizó 9,10-dimetilantraceno (DMA) como sustrato de reactividad conocida.

En el esquema siguiente, se describen los procesos críticos involucrados en la reacción entre el oxígeno molecular singulete y el DMA, en presencia de un sustrato reactivo Q :



Las Ecuaciones 31 a 36, corresponden a: la excitación del sensibilizador, la generación de oxígeno molecular singulete con una constante k_Δ , la desactivación por interacciones con el solvente, k_d , desactivación por reacción química con el

DMA, k_r^{DMA} , desactivación por reacción química con el sustrato reactivo Q , k_r^Q y el proceso de desactivación física por interacción del oxígeno excitado con el sustrato Q , k_d , respectivamente.

De esta forma, la velocidad para la reacción entre el DMA y el oxígeno excitado, se puede expresar en términos de la siguiente ecuación:

$$v = -\frac{d[DMA]}{dt} = k_r^{DMA} [O_2(^1\Delta_g)] [DMA] \quad (37)$$

Por otra parte, bajo condiciones de iluminación en estado estacionario, la concentración de $O_2(^1\Delta_g)$ permanece constante y $k_{exp} = k_r^{DMA} [O_2(^1\Delta_g)]$. Así, la integración de la Ecuación 37 dará lugar a una expresión cinética que describe un proceso de pseudo primer orden:

$$\ln \frac{[DMA]_0}{[DMA]} = k_{exp} t \quad (38)$$

donde $[DMA]_0$ corresponde a la concentración inicial de dimetil antraceno.

A partir del esquema anterior (Ecuaciones 31-36) y utilizando la aproximación en estado estacionario, se pueden obtener las concentraciones de oxígeno excitado. Así, se obtiene la razón entre las constantes de velocidad experimental en ausencia y presencia de Q , a través de la siguiente Ecuación:

$$\frac{k_{exp}}{k_{exp}^Q} = \frac{k_r^{DMA} [O_2(^1\Delta_g)]}{k_r^{DMA} [O_2(^1\Delta_g)]^Q} = 1 + \frac{(k_r^Q + k_q)[Q]}{k_d + k_r^{DMA} [DMA]} \quad (39)$$

donde, a bajas concentraciones de DMA, la expresión anterior se transforma en la Ecuación 40:

$$\frac{k_{\text{exp}}}{k_{\text{exp}}^0} = 1 + \frac{(k_r^0 + k_q)[Q]}{k_d} = 1 + \tau k_T [Q] \quad (40)$$

Esta expresión cinética, permite obtener la constante de velocidad para la desactivación total del $O_2(^1\Delta_g)$, k_T , donde τ es el tiempo de vida del oxígeno singulete en el solvente utilizado.

6.5.1.2 Métodos resueltos en el tiempo

Las constantes de velocidad para la desactivación total del $O_2(^1\Delta_g)$, k_T , por compuestos quinolínicos en distintos solventes, se pueden determinar también por métodos resueltos en el tiempo, observando la disminución del tiempo de vida del oxígeno excitado con el agregado del sustrato, que sigue una relación de Stern Volmer simple, de la forma:

$$1/\tau = k_D = k_\Delta + k_T [Q] \quad (41)$$

donde k_Δ es la constante de desactivación del oxígeno excitado en el solvente utilizado y k_D , es el inverso del tiempo de vida medido a distintas concentraciones de Q . Como se señaló anteriormente, los tiempos de vida del $O_2(^1\Delta_g)$ se obtienen del decaimiento exponencial de la señal IR a 1270 nm.

Gráficos del inverso del tiempo de vida del oxígeno excitado, en función de la concentración del compuesto quinolínico, generan una línea recta con pendiente k_T .

y cuyo intercepto, en ausencia de otras interacciones, debe coincidir con el inverso del tiempo de vida del oxígeno excitado en el mismo solvente.

En estos experimentos se emplean como sensibilizadores porfirinas solubles en solventes orgánicos de baja polaridad y hematoporfirina o rosa de bengala en solventes orgánicos polares.

6.5.2 Determinación de las constantes de velocidad, para la reacción química.

La constante de velocidad para la reacción química entre el oxígeno molecular singlete y primaquina, se determinó a través de experimentos en estado estacionario, siguiendo el consumo del sustrato reactivo, PQ, por cromatografía gaseosa utilizando como estándar interno 6-MeOQ. Una solución de PQ en presencia de rosa de bengala como sensibilizador, fue irradiada en una celda de 1 cm de paso óptico, provista de un sistema de doble pared, para mantener la temperatura constante. Como fuente de irradiación, se empleó una lámpara halógena de 50 W y un filtro de corte a 500 nm entre la celda y la fuente de luz, para proteger la PQ de la irradiación directa. Utilizando las mismas condiciones experimentales, se determinó la concentración estacionaria de oxígeno molecular singlete por actinometría, empleando como sustrato aceptor de oxígeno singlete al 9,10-DMA. El seguimiento del consumo del 9,10-DMA se realizó por espectrofotometría UV-vis a la λ de máxima absorción del actinómetro, en el solvente utilizado.

Para el análisis de los datos, en condiciones de irradiación estacionaria, la concentración de oxígeno se considera constante y la velocidad de consumo de PQ se puede representar a través de la siguiente ecuación:

$$v = -\frac{d[PQ]}{dt} = k_r [^1O_2][PQ] = k_{\text{exp}} [PQ] \quad (42)$$

reorganizando términos e integrando, tenemos:

$$\ln \frac{[PQ]_0}{[PQ]_t} = k_{\text{exp}} t \quad (43)$$

Los datos así obtenidos, se ajustan a una cinética de pseudo-primer orden, donde la pendiente es la constante de velocidad experimental e incluye la concentración estacionaria del $O_2(^1\Delta_g)$. Del cociente entre las constantes experimentales obtenidas para la PQ y 9,10-DMA, es posible determinar la constante de velocidad para la reacción química entre PQ y oxígeno singulete, conociendo previamente la constante de velocidad para la reacción química entre $O_2(^1\Delta_g)$ y 9,10-DMA, k_r^{DMA} , cuyos valores en acetonitrilo y metanol son $4,7 \times 10^7$ y $2,0 \times 10^7$ $M^{-1} s^{-1}$, respectivamente.

6.5.3 Análisis del efecto del solvente

Los estudios del efecto del solvente sobre las constantes de velocidad total, $k_T = k_r + k_q$, para las reacciones del oxígeno singulete con drogas antimaláricas y compuestos modelo, se realizaron en términos de ecuaciones lineales de energía libre LSER y TLSER.

Los coeficientes de las ecuaciones (27) y (28), fueron obtenidos mediante análisis de correlación multilineal de la dependencia de la propiedad medida con los parámetros del solvente empleando el software StatView 5.0. Las ecuaciones de correlación son el resultado de la aplicación de criterios puramente estadísticos, entre los que se incluyen: a) los coeficientes de los descriptores aceptados en la correlación deben tener un nivel de significancia ≥ 0.95 (estadística-t grande, P(2-tail) $< 0,05$); b) el valor del parámetro VIF, una medida de la ortogonalidad entre los parámetros definido por $VIF = 1/(1 - r^2)$, donde r es el coeficiente de correlación para

un parámetro particular en términos de los otros parámetros. Para un parámetro dado, cuanto más cercano a uno es el valor de VIF, hay menos correlación cruzada con los otros parámetros. Cuando el valor de VIF es grande, la variable menos significativa es eliminada. En las ecuaciones de correlación se aceptó una baja colinealidad entre las variables ($VIF < 5$); c) coeficiente de correlación r igual o mayor que 0,90 (variancia, $r^2 > 0,80$); y d) tamaño de la muestra tan grande como fuese posible, con el requerimiento de que N debe ser al menos tres veces el número de variables independientes incluidas en la ecuación de correlación. En resumen, el tamaño de la muestra, N , el coeficiente de correlación, r , la desviación estándar, SD y el índice de confiabilidad de la ecuación de Fisher, F , dan cuenta de la calidad de la ecuación de correlación. La confiabilidad de cada término, es determinada por la estadística- t , t -stat, y el valor del factor VIF. Una buena calidad de la ecuación implica que debe tener valores grandes de N , F y t -stat, valores pequeños de SD y valores de r y VIF cercanos a uno.

En la sección de resultados, los datos relativos al efecto del solvente sobre las reacciones del $O_2(^1\Delta_g)$ con drogas antimaláricas y compuestos relacionados, expresados en términos de ecuaciones LSER y TLSER, fueron tratados empleando el mismo análisis estadísticos para su validación. En algunos casos el número de datos incluidos en las correlaciones LSER y TLSER no coincide, principalmente debido a tres factores. Primero, para diversos solventes (por ejemplo fosfato de tributilo y carbonato de propilo) los parámetros teóricos no han sido descritos; en segundo lugar, el agua no puede ser incluida porque es el solvente de referencia para calcular ϵ_A y ϵ_B ; y tercero, el factor más importante, algunos datos son rechazados por el análisis estadístico en una de las ecuaciones de correlación y no en la otra.

6.5.4 Cálculos teóricos

En el presente trabajo, se incluyeron algunos cálculos teóricos a nivel semiempírico, PM3 para tratar de reconocer la susceptibilidad al ataque electrofílico

del oxígeno molecular singulete, que presentaría el anillo quinolínico en los compuestos antimaláricos, considerando los diferentes sustituyentes sobre este anillo. Aquí, se utilizan como modelos, las quinolinas sustituidas que se presentaron en la Figura 2.

Las posiciones favorecidas frente al ataque electrofílico sobre el anillo quinolínico, puede deducirse satisfactoriamente del análisis de las estructuras resonantes, presentándose más dificultades en el caso de quinolinas sustituidas, pues se conjugan adicionalmente efectos estéricos, de campo e inductivo. Sin embargo, un análisis empleando la aproximación de los orbitales de frontera, permite estimar las variaciones de densidad electrónica que presentan los diferentes átomos de una molécula, según se afecta su densidad de carga en función del número de electrones, por el cálculo de la población electrónica de estos orbitales a través del índice Fukui⁶⁸, cuya aproximación se basa en que la llegada de un electrón al LUMO del electrófilo, modifica principalmente la densidad electrónica del orbital ocupado de más alta energía, HOMO, sin afectar la densidad electrónica del *core*. Esto es, la variación en la densidad electrónica del orbital de frontera α (HOMO o LUMO según se analice su carácter electrofílico o nucleofílico), frente al cambio en el número de electrones, como función de la coordenada de reacción, expresado a través de la siguiente ecuación:

$$f(r) = \left(\frac{\partial \phi(r)}{\partial N} \right)_r \cong |\phi_{\alpha(r)}|^2 \quad (44)$$

Este cálculo también se extiende a través del análisis de la función de Fukui, para orbitales ocupados con energías muy cercanas a las del HOMO, lo cual es muy valioso de analizar, en el caso de compuestos altamente conjugados. Si consideramos la interacción de un compuesto electrofílico, con el sistema aromático, y específicamente en el caso de los compuestos quinolínicos, la simetría orbital es muy importante, pues el acercamiento de las dos especies, en el caso específico de las reacciones tipo Diels Alder, requiere una disposición específica de los orbitales,

de tal forma que tenga lugar un solapamiento positivo y por tanto, es necesario considerar en principio, los orbitales más próximos en energía al HOMO, esto es: HOMO-1, HOMO-2, etc.

En este caso, se procede inicialmente a la optimización de la geometría por PM3, en el modo RHF, a través del software Gaussian 98, el cual tiene implementado el formalismo matemático adecuado para el cálculo de las funciones de Fukui frente al ataque electrofílico.

El análisis de la densidad electrónica de los orbitales de frontera se evalúa gráficamente, optimizando la geometría de la molécula en estado basal por PM3 en el modo RHF, a través del software HyperChem-6.0 y posteriormente efectuando un cálculo *single point*.

7 RESULTADOS.

7.1 Purificación y obtención de las bases libres.

Los cinco compuestos antimaláricos incluidos en este estudio: quinina, primaquina, cloroquina, amodiaquina y quinacrina, son moléculas que en su mayoría son fácilmente oxidables y por tanto, se adquieren comercialmente en forma de sal, a diferencia de la quinina, que también se comercializa en su forma neutra. Por lo anterior y con el fin de ampliar el rango de solubilidad de estas drogas antimaláricas, se transformaron a su forma básica.

Las bases libres de primaquina, cloroquina, quinacrina y amodiaquina, se obtuvieron según el procedimiento descrito en la sección 6.1.

Para el caso específico de primaquina, la purificación se efectuó por cromatografía en columna sobre sílica gel, utilizando como fase móvil diclorometano: etanol: dimetilamina (10:2:0,2) y metanol: amonio (95:5). Se obtuvo un líquido de color ámbar, con una densidad de 1,042 g/ml. La purificación de QC, también se realizó por cromatografía en columna, utilizando la fase móvil III descrita en la metodología. En este caso, se obtuvo un material altamente viscoso, de un 99,5% de pureza según el análisis efectuado por GC.

La amodiaquina se purificó por recristalización, utilizando como solvente una mezcla de cloroformo: éter (5:1), logrando obtener un polvo amarillo claro, con un punto de fusión de 205,5 a 207,5 °C. La cloroquina, se recristalizó en éter y se obtuvieron cristales blancos con punto de fusión de 88,1-89,5°C. El valor reportado es de 86-87°C.

Adicionalmente, también fueron incluidas en el presente estudio, quinolina y algunas quinolinas sustituidas, 8-aminoquinolina, 6-metoxiquinolina, 7-

cloroquina y 6-cloroquinolina. Algunos de estos compuestos se recibieron con purzas inferiores al 99,0%, según el análisis efectuado por cromatografía gaseosa por lo que se procedió a su purificación. La quinolina fue purificada por destilación en línea de alto vacío, obteniendo un líquido transparente de un 99,62% de pureza, según el análisis realizado por GC-NPD, mientras que la 6-MeOQ fue purificada por destilación al vacío (2 – 8 mm Hg), logrando recolectarse un líquido transparente de punto de ebullición 124-128°C (99,4%). El material sólido, 8-aminoquinolina, fue recristalizado dos veces desde etanol, logrando unos cristales brillantes en forma laminar, de color verde oliva. Se logró una pureza del 99,55%.

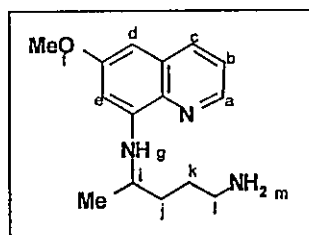
En todos los casos, se obtuvo una pureza superior al 99%, según los análisis efectuados por cromatografía de gases y sus estructuras se verificaron a través del análisis de resonancia magnética nuclear protónica.

7.2 Análisis espectroscópico

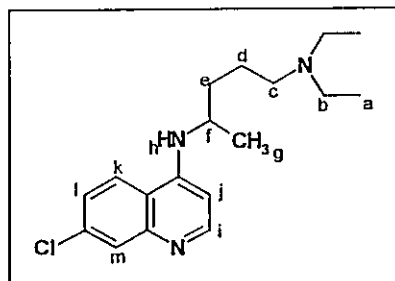
7.2.1 Espectros RNM¹H

Los espectros RMN¹H (300 MHz), que se obtuvieron para los distintos sustratos, se describen a continuación, indicando la asignación correspondiente a cada señal.

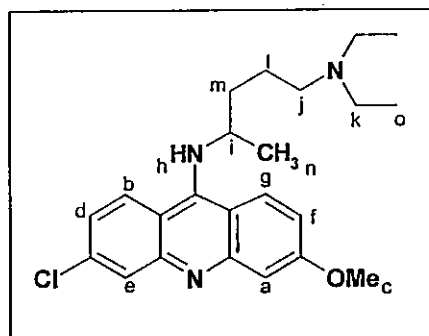
Primaquina: ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,23 (t, 2H_j, J = 6,96 Hz); 1,31 (d, 3H_h, J = 6,21 Hz); 1,52 (m, 4H_{k,l}); 2,72 (t, 2H_m, J = 6,96 Hz); 3,71 (c, 1H_i); 3,88 (s, 3H_f); 6,03 (d, 1H_g, J = 8,01 Hz); 6,28 (d, 1H_d, J = 2,4 Hz); 6,33 (d, 1H_e, J = 2,55 Hz); 7,30 (dd, 1H_b, J = 8,04 y 4,2 Hz); 7,92 (dd, 1H_c, J = 8,04 y 1,47 Hz); 8,52 (dd, 1H_a, J = 4,02 y 1,47 Hz).



Cloroquina: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,93 (t, 6H_a , $J = 8,01$ Hz); 1,24 (d, 3H_g , $J = 6,42$ Hz); 1,59, (m, 4H_b); 2,41 (m, $6\text{H}_{c,d,e}$, $J = 7,05$ y $6,39$ Hz); 3,64 (m, 1H_f , $J = 6,78$ Hz); 5,16 (d, 1H_h , $J = 7,02$ Hz); 6,34 (d, 1H_j , $J = 5,43$ Hz); 7,26 (dd, 1H_i , $J = 8,97$ y $2,22$ Hz); 7,58 (d, 1H_k , $J = 8,97$ Hz); 7,86 (d, 1H_m , $J = 1,92$ Hz); 8,43 (d, 1H_l , $J = 5,43$ Hz).

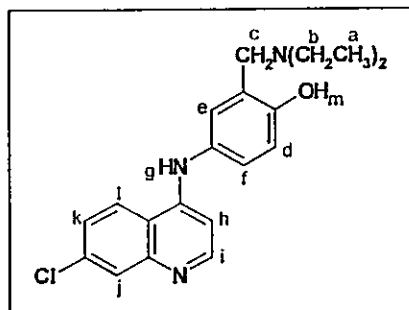


Quinacrina: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,89 (t 1:2:1, 6H_o , $J = 6,93$ Hz); 1,20 (d, 3H_n , $J = 6,63$ Hz); 1,57 (m, $4\text{H}_{m,l}$); 2,31 (t, 2H_j , $J = 5,19$ Hz); 2,39 (c, 4H_k , $J = 6,93$ Hz); 3,89 (s, 3H_c); 3,96 (m, 1H_i); 4,38 (d, 1H_h); 7,16 (d, 1H_a , $J = 2,61$ Hz); 7,25 (dd, 1H_g , $J = 9,27$ y $2,01$ Hz); 7,35 (dd, 1H_f , $J = 9,27$ y $2,52$ Hz); 7,93 (dd, $2\text{H}_{d,b}$, $J = 9,54$ y $3,48$ Hz); 8,10 (d, 1H_e , $J = 2,04$ Hz).

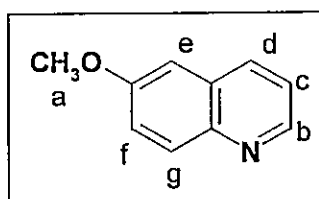


Amodiaquina: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,07 (t, 6H_a , $J = 7,35$ Hz); 2,59 (c, 4H_b , $J = 7,35$ Hz); 3,73 (s, 2H_c); 6,44 (s, 1H_g); 6,56 (d, 1H_h , $J = 5,13$ Hz); 6,79 (d, 1H_d , $J = 8,64$ Hz); 6,86 (d, 1H_e , $J = 1,92$ Hz); 7,02 (dd, 1H_f , $J = 8,31$ y $2,4$ Hz); 7,35 (dd, 1H_k , $J = 8,94$ y $1,92$ Hz); 7,75 (d, 1H_l , $J = 8,97$ Hz); 7,93 (d, 1H_j , $J = 2,1$ Hz); 8,41 (d, 1H_i , $J = 5,43$).

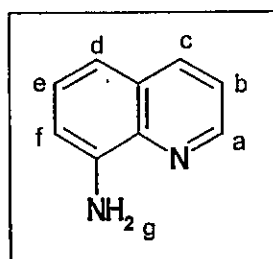
Amodiaquina: $^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ : 1,26 (t, 6H_a , $J = 7,29$ Hz); 3,20 (c, 4H_b , $J = 7,14$ Hz); 4,27 (s, 2H_c); 6,68 (d, 1H_e , $J = 6,99$ Hz); 7,06 (d, 1H_h , $J = 9,36$ Hz); 7,33 (m, $2\text{H}_{f,d}$ $J = 6,27$ y $2,48$ Hz); 7,65 (dd, 1H_i , $J = 9,06$ y $1,74$ Hz); 7,84 (d, 1H_j , $J = 1,89$ Hz); 8,15 (d, 1H_k , $J = 7,17$ Hz); 8,24 (d, 1H_i , $J = 9,21$ Hz).



6-metoxiquinolona: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3,94 (s, 3H_a); 7,08 (d, 1H_e , $J = 2,79$ Hz); 7,36 (dd, 1H_f , $J = 9,21$ y $2,76$ Hz); 7,38 (dd, 1H_c , $J = 8,34$ y $4,23$ Hz); 8,01 (d, 1H_g , $J = 9,21$ Hz); 8,06 (d, 1H_d , $J = 8,34$ Hz); 8,78 (dd, 1H_b , $J = 4,23$ Hz).



8-Aminoquinolona: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 4,98 (s, 2H_g); 6,93 (dd, 1H_e , $J = 7,47$ y $1,14$ Hz); 7,15 (dd, 1H_d , $J = 8,16$ y $1,08$ Hz); 7,33 (t, 1H_f , $J = 7,83$ Hz); 7,36 (dd, 1H_b , $J = 8,28$ y $4,17$ Hz); 8,06 (dd, 1H_c , $J = 8,28$ y $1,65$ Hz); 8,76 (dd, 1H_a , $J = 4,17$ y $1,65$ Hz).



7.1.1 Espectros de absorción UV-vis y coeficientes de extinción molar, ϵ .

Los espectros de absorción de los compuestos quinolínicos estudiados, se muestran en la Figura 11. Además, en las Tablas 6 y 7, se muestran los máximos de absorción para la banda de menor energía de estos compuestos, en varios solventes representativos de la escala de polaridad.

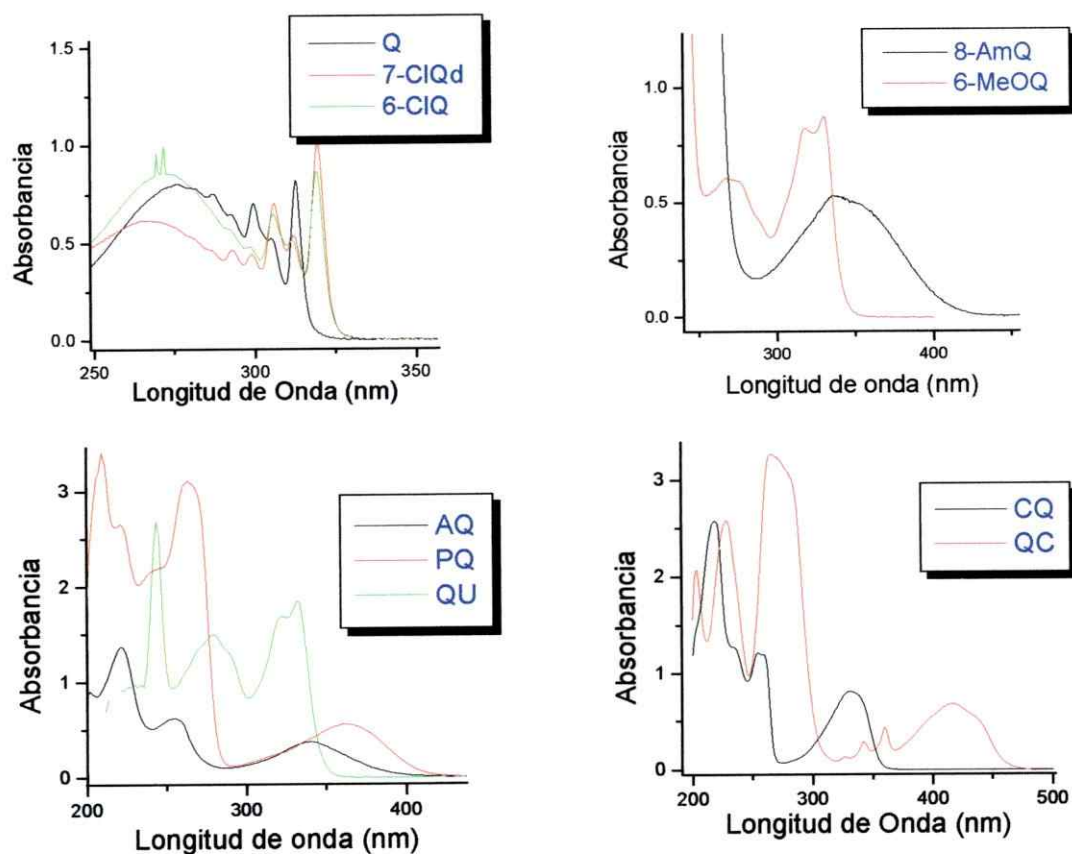


Figura 11. Espectros de absorción de compuestos quinolínicos, en etanol.

Tabla 6. Banda de absorción de menor energía para algunos compuestos quinolínicos

Solvente	Q	6-MeOQ	7-ClQd	8-AmQ	6-ClQ
	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$
Agua	312	326	319	331	319
Etanol	312,5	330	319	335,0	319
Acetonitrilo	312,5	328	319	335	318,5
Benceno	314	332	321	351	321
Hexano	313	330	320	351	321

En compuestos como Q, 6-MeOQ, 7-ClQd y 6-ClQ, no se aprecia un desplazamiento significativo de la banda de absorción de menor energía, por efecto del solvente ($\Delta\lambda \leq 4$ nm). Otra situación se observa para 8-AmQ, donde se puede observar una banda muy ancha de absorción, cuyo máximo se encuentra alrededor de los 351 nm en solventes no polares como benceno y hexano, mientras que solventes polares como etanol y acetonitrilo, se desplaza alrededor de los 335 nm ($\Delta\lambda \approx 16$ nm).

Tabla 7. Banda de absorción de menor energía para algunos compuestos antimaláricos.

Solvente	PQ	CQ	QC	QU	AQ
	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$
Agua	353	328	417	330	341
Etanol	362	332	416	333	341
Acetonitrilo	362	331	414	332	338
Benceno	369	328	416	332	336
Hexano	366	324	412	332	340

En general, se encuentra que el mayor efecto del solvente sobre la banda de absorción de menor energía se presenta para 8-AmQ, y PQ ($\Delta\lambda \approx 16$ nm).

Los coeficientes de extinción molar, ϵ_λ ($\text{dm}^3\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$), para los diferentes compuestos quinolínicos, determinados por la ley de Lambert-Beer, se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Coeficientes de extinción de drogas antimaláricas y moléculas modelo, ϵ ($\text{L cm}^{-1} \text{mol}^{-1}$).

Droga	$\lambda_{\text{máx}}$ de absorción / ϵ									
	PQ	QC	QU	CQ	6-MeOQ	7-ClQd	6-ClQ	Q	8-AmQ	AQ
Solvente										
Benceno	368/ 3,290	362/ 4,630 414/ 6,100	332/ 5,410	328/ 10,950	332/ 4,540	321/ 4,950	322/ 3,130	314/ 2,830	346/ 3,290	336/ 10,300
Etanol	364/ 3,050	360/ 4,310 416/ 6,850	332/ 5,290	330/ 13,490	330/ 4,280	320/ 5,300	320/ 3,450	314/ 3,270	337,5/ 2,890	341/ 12,800
Hexano	366/ 3,150	360/ 4,900 412/ 6,330	331/ 5,406	324/ 12,690	330/ 4,780	321/ 4,990	322/ 3,000	314/ 2,850	344,5/ 3,110	333/ 10,710
Acetonitrilo	364/ 3,140	362/ 4,100 414/ 6,280	332/ 4,660	332/ 11,960	328/ 4,000	319/ 4,200	320/ 2,750	314/ 2,450	336/ 3,180	338/ 11,500
Agua	352/ 2,700	360*/ 4,700 418/ 6,210	330/ 4,790	nd	326/ 4,100	320/ 5,870	320/ 3,230	312/ 3,400	331/ 3,030	nd

* Opalescencia a $[\text{QC}] = 0.146$ mM. nd: no puede determinarse, pues la tendencia no es lineal.

Considerando el efecto solvente observado para PQ y 8-AmQ, el desplazamiento a longitudes de onda menores, con el aumento en la polaridad del solvente y los bajos coeficientes de extinción, se puede proponer que las transiciones observadas corresponden a transiciones $n \rightarrow \pi^*$

También se realizaron medidas del coeficiente de extinción molar en solventes representativos de la escala de polaridad, para el 9,10-DMA, sustrato utilizado como aceptor de oxígeno molecular singulete en las determinaciones de las constantes de velocidad de reacción química entre compuestos antimaláricos y oxígeno singulete, k_r , (Tabla 9).

Tabla 9. Coeficientes de extinción molar para el 9,10-DMA.

Solvente	λ (nm)	ϵ
Metanol	376	10.500
	397	10.100
Acetonitrilo	377	10.160
	398	9.580
Benceno	380	10.650
	401,5	10.200
Hexano	376	10.800
	397,5	11.030

7.2.3 Espectroscopía de emisión

Como parte de la caracterización de los compuestos quinolínicos estudiados en el presente trabajo, se determinaron las longitudes de onda del máximo de la emisión fluorescente en un conjunto limitado de solventes, de todos los compuestos con actividad antimalárica y de la 6-MeOQ (Tabla 10).

La quinolina, muestra una banda de emisión ancha, centrada 418 nm en metanol. En acetonitrilo, benceno o hexano, no se observa tal emisión. Otros compuestos quinolínicos, como 7-CIQd y 6-CIQ, presentan un comportamiento similar, con bandas de emisión en metanol centradas en 416 y 434 nm, respectivamente. Por otra parte, la AQ no fluoresce en benceno.

Tabla 10. Longitud de onda de máxima emisión en los compuestos antimaláricos y 6-MeOQ.

Solvente	λ_{\max} emisión (nm)				
	PQ	CQ	QC	QU	6-MeOQ
Agua		386	498	381	368
Etanol	468*	376	489	358	359
Acetonitrilo	478	384	496	362	358
Benceno	458	377	485	363	355
Hexano	440	365	492	353	356

* Emisión muy débil.

Al mismo conjunto de compuestos quinolínicos, se les determinó el rendimiento cuántico de fluorescencia ϕ_f . Estas medidas se realizaron relativas al sulfato de quinina en H_2SO_4 0.05 M ($\phi_f = 0.55$), en soluciones equilibradas con aire y en varios solventes representativos de la escala de polaridad.

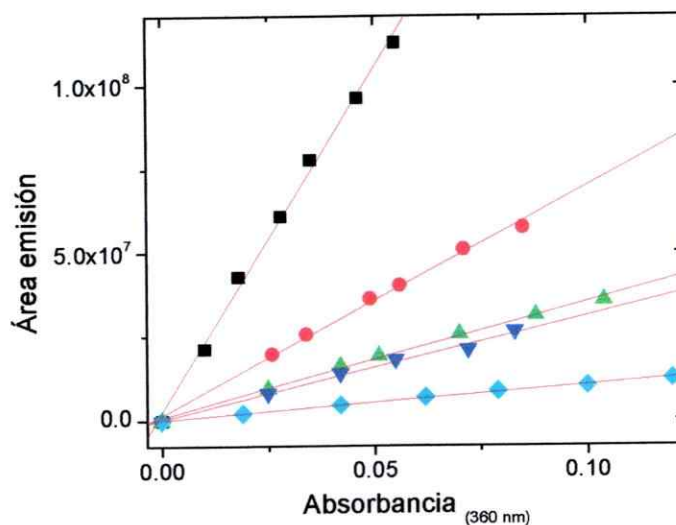


Figura 12. Dependencia del área bajo la curva del espectro de fluorescencia con la absorbancia del sustrato, en la determinación de los rendimientos cuánticos de fluorescencia de QC. \square Sulfato de Quinina, \bullet QC en etanol, \blacktriangle QC en acetonitrilo, \blacktriangle QC en benceno y \blacklozenge QC en hexano.

En la Figura 12, se muestran los gráficos obtenidos en la determinación del rendimiento cuántico de fluorescencia de QC, en diferentes solventes, utilizando soluciones de QC y del actinómetro sulfato de quinina, en el mismo rango de absorbancias. En todos los casos, es posible observar una dependencia lineal del área bajo la curva de emisión (370 a 707 nm)., El tratamiento de los datos con la correlación de mínimos cuadrados, da coeficientes de correlación lineal mayores a 0,996. En la Tabla 11, se recopilan los valores de ϕ_f obtenidos para los compuestos antimaláricos, entre los que se incluye la quinolina.

De estos resultados, es importante notar que PQ se sale del comportamiento general, pues es el único caso en que disminuye la fluorescencia, en un solvente polar prótico.

Tabla 11. Rendimiento cuántico en la fluorescencia, ϕ_f , de algunas drogas con actividad antimalárica y de quinolina.

Compuesto Solvente	Q	QU	PQ	QC	CQ
Hexano	nd	0,020	0,003	0,027	-
Benceno	nd	0,020	0,011	0,082	0,055
Acetonitrilo	nd	0,004	0,026	0,092	0,064
Etanol	0,012	0,062	<0,001	0,183	0,155

nd: no se detectó o no flourece

7.3 Generación del $O_2(^1\Delta_g)$

7.3.1 Experimentos en estado estacionario

La determinación del ϕ_Δ para la quinolina, en benceno, se efectuó por estudios de actinometría en estado estacionario, en los que se utilizó 1,3-difenil isobenzofurano (DPBF) como sustrato aceptor de oxígeno singulete y benzofenona

(BP) como actinómetro, cuyo rendimiento cuántico de referencia en benceno es de 0,31. Los experimentos se realizaron irradiando por separado soluciones de quinolina y BP, en presencia de DPBF a 310 nm. En estas determinaciones y con el fin de garantizar que la reacción entre el DPBF y el oxígeno singlete se ajustara a una cinética de orden cero, se emplearon diferentes concentraciones de DPBF. En la Figura 13, se muestra un gráfico de la cinética de consumo de DPBF cuando son utilizados quinolina ó BP, como sensibilizadores.

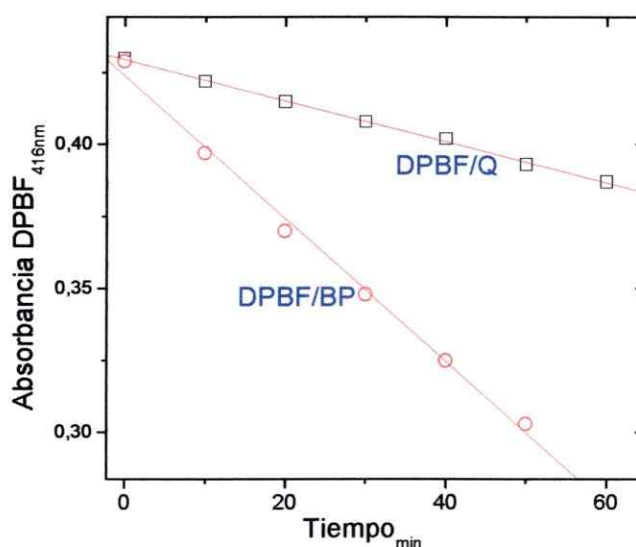


Figura 13. Foto oxidación sensibilizada de DPBF por Q □ y benzofenona ○.

En experimentos independientes, se obtuvieron valores de ϕ_{Δ}^Q iguales a 0,036, 0,038 y 0,033. Resultados comparables se obtuvieron empleando bajas concentraciones de actinómetro, monitoreando la cinética de consumo del DPBF mediante la disminución de su emisión fluorescente a 456 nm ($\lambda_{exc} = 414$ nm). Estos valores son menores que los reportados en metanol de 0,09 y 0,10, los cuales fueron medidos en experimentos de fotólisis continua, utilizando como sustrato aceptor de oxígeno singlete el 2,5-dimetilfurano, en un medio saturado con oxígeno.

7.3.2 Experimentos resueltos en el tiempo

La eficiencia con que los compuestos antimaláricos generan de oxígeno molecular singulete, también se evaluó con métodos resueltos en el tiempo, en varios solventes en soluciones equilibradas con aire. En estos experimentos, el ϕ_{Δ} se obtuvo de la razón entre las intensidades iniciales de fosforescencia del oxígeno molecular singulete observadas cuando se excita, utilizando las mismas condiciones experimentales, para soluciones del sustrato en estudio y de un sensibilizador de referencia, S' , cuyo rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete es conocido. Todos los valores de rendimiento cuántico fueron medidos utilizando el mismo solvente para la muestra y el sensibilizador de referencia. Cuando los compuestos estudiados fueron PQ y QC, se utilizó como fuente de excitación el tercer armónico de un láser Nd-YAG, a 355 nm, con una potencia máxima de 18 mJ/pulso. En esos casos, el sensibilizador de referencia fue perinaftenona, PNF, ($\phi_{\Delta}=0,98^{25}$ en los distintos solventes empleados). Además, los valores de ϕ_{Δ} para estos compuestos fueron obtenidos por extrapolación a concentración cero de droga y a potencia cero del láser.

En la Figura 14, se muestran las curvas obtenidas al graficar la intensidad inicial de la emisión fosforescente del $O_2(^1\Delta_g)$, $I_{\Delta,t \rightarrow 0}$, generado por QC y el sensibilizador de referencia PNF, en función de la potencia relativa del láser. En ambos casos, tanto para QC como para PNF, es posible observar una dependencia lineal de la intensidad de la emisión luminiscente del oxígeno excitado con la potencia del láser. De manera similar, se obtuvieron gráficos lineales para la dependencia de la emisión del $O_2(^1\Delta_g)$ con la concentración de la droga en estudio y el sensibilizador de referencia. Empleando este método de extrapolación, los valores de rendimiento cuántico calculados, mostraron una desviación menor al 5%.

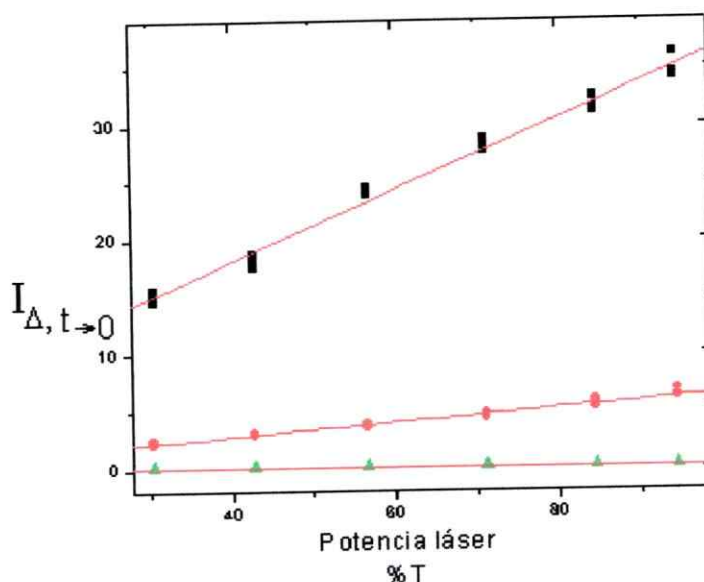


Figura 14. $I_{\Delta, t \rightarrow 0}$ vs la intensidad relativa del láser (láser de Nd, 355 nm), en el cálculo del rendimiento cuántico en la generación foto sensibilizada de $O_2(^1\Delta_g)$ en etanol, por QC (Abs = 0,483) y relativo al rendimiento cuántico de PNF. $I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{QC}$ (\bullet), $I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{PNF}$ (\square) y $I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{QC} / I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{PNF}$ (π).

Por otra parte, en la determinación del ϕ_{Δ} para QU, CQ y 6-MeOQ, fue necesario utilizar el láser de nitrógeno a 337 nm, a su potencia nominal de 6 mJ/pulso. Debido a esto, no fue posible efectuar las medidas de ϕ_{Δ} extrapolando a potencia cero del láser y solo se efectuaron medidas extrapolando el ϕ_{Δ} , a concentración cero del sensibilizador. En estos experimentos, se utilizaron como sensibilizadores de referencia, fenazina (ϕ_{Δ} = 0,88 en benceno y 0,80 en hexano), TPP (ϕ_{Δ} = 0,70 en etanol y acetonitrilo) y hematoporfirina (ϕ_{Δ} = 0,67 en etanol).

En la Figura 15, se ilustran las curvas obtenidas al graficar la intensidad inicial en la emisión del $O_2(^1\Delta_g)$, generado por foto sensibilización en etanol, al irradiar 6-MeOQ y utilizando como sensibilizador de referencia PNF.

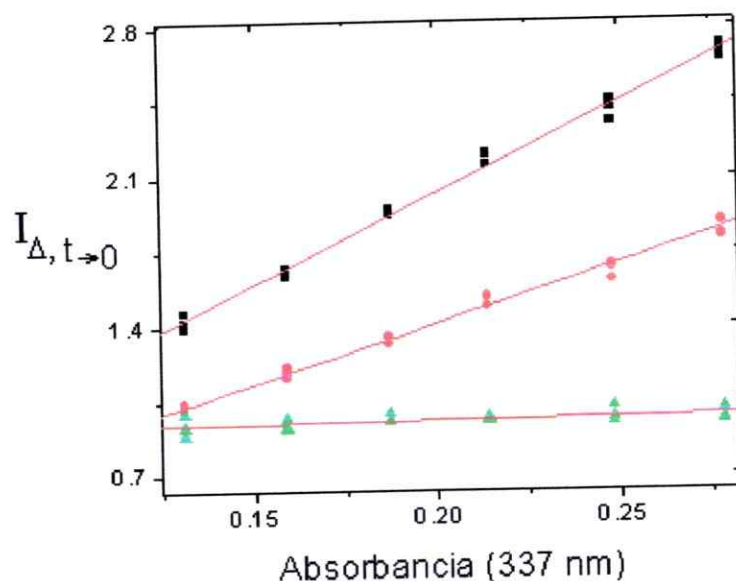


Figura 15. Intensidad inicial de fosforescencia del $O_2(^1\Delta_g)$, $I_{\Delta, t \rightarrow 0}$ generado por fotosensibilización de 6-MeOQ y PNF en etanol, en función de la concentración del sensibilizador (láser de N_2 , 337 nm, 100%T). $I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{6-MeOQ}$ (\square), $I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{PNF}$ (\bullet) y $I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{6-MeOQ} / I_{\Delta, t \rightarrow 0}^{PNF}$ (π).

Tabla 12. Rendimiento cuántico, ϕ_{Δ} , en la formación de oxígeno molecular singlete por drogas antimaláricas y compuestos modelo.

Solvente	Compuesto					6MeOQ
	QU	QC ^a	CQ	PQ ^a	Q ^e	
Benceno	0,33±0,013 ^b	0,076±0,009	0,044±0,001 ^b	0,010±0,003	0,036±0,002	0,216±0,005 ^b
n-Hexano	0,43±0,01 ^b	0,078±0,013	0,034±0,001 ^b	0,006±0,002		0,45±0,003 ^b
Etanol	0,43±0,12 ^c	0,142±0,005	0,146±0,084 ^c	0,003±0,001		0,96±0,076 ^c
Acetonitrilo	0,34±0,05 ^d	0,083±0,013	nd	0,011±0,002		1,12±0,055 ^d
D ₂ O ¹²	0,36	0,013	<0,005	<0,005		
buffer, pD7						

nd: No se logró detectar la generación del $O_2(^1\Delta_g)$ (Abs CQ_{337nm} = 0,235, 0,735 y 1,985).

^aPNF, ^bPZ, ^cTPP y HP, ^dHP y ^eBP.

En la Tabla 12, se presentan los valores de rendimiento cuántico de la generación de oxígeno molecular singlete, producido por foto sensibilización con compuestos quinolínicos.

En estos experimentos, se observó que en algunas de las drogas, el tiempo de vida del $O_2(^1\Delta_g)$ disminuyó considerablemente. Por ejemplo, el tiempo de vida del oxígeno molecular singlete τ_{Δ} , en acetonitrilo es del orden de 77 μ s. Cuando se utilizó PQ como sensibilizador ($Abs_{355\text{ nm}} = 0,610$) este valor se redujo a 20 μ s. En benceno, $\tau_{\Delta} = 31\ \mu$ s y con PQ presente, disminuyó a 21 μ s, observándose menor efecto en hexano. Este comportamiento además lo presentaron drogas como QC y CQ siendo de menor importancia en el caso de QU y 6-MeOQ.

7.3.3 Tiempos de vida del estado triplete excitado, τ_T , de compuestos antimaláricos

Con el propósito de determinar la naturaleza del o los estados excitados involucrados en la generación del oxígeno excitado por drogas antimaláricas, se efectuaron algunas medidas del tiempo de vida del triplete para estos compuestos. Las mediciones, en general se realizaron en condiciones extremas, dada la dificultad para poder observar del decaimiento de los estados triplete. En estos experimentos, las muestras fueron excitadas utilizando un láser de Nd-YAG a 355 nm a una potencia de 28 mJ/pulso, empleando absorbancias de alrededor de 0.600. Previo a las medidas, las muestras fueron purgadas con N_2 (g) por un período aproximado de 20 minutos. En estas condiciones, se lograron medir los tiempos de vida del triplete de QU y 6-MeOQ (Tabla 13), pero no fue posible obtenerlos para QC, CQ y AQ.

Tabla 13. Tiempos de vida del estado triplete de compuestos quinolínicos y λ de máxima absorción de estos estados excitados a 20 ± 1 °C.

Solvente	QU		6-MeOQ	
	$\tau_T(s)$	$\lambda_{m\acute{a}x. abs(nm)}$	$\tau_T(s)$	$\lambda_{m\acute{a}x. abs(nm)}$
Etanol	nd		$5,11 \pm 0,78 E-6$	430
Benceno	$27,91 \pm 1,9 E-6$	432	$2,53 \pm 0,41 E-6$	426

7.4 Desactivación del oxígeno molecular singlete, por drogas antimaláricas

7.4.1 Constantes de velocidad total, k_p .

Las constantes de velocidad total para la reacción entre el oxígeno molecular singlete y los compuestos quinolínicos (Q, 6-MeOQ, 8-AmQ, 6-ClQ, 7-ClQd, PQ, QU, CQ, AQ, QC), se midieron mediante experimentos resueltos en el tiempo, observando las cinética de decaimiento de la luminiscencia IR del $O_2(^1\Delta_g)$, como función de la concentración del sustrato quinolínico. Estos experimentos se realizaron en una amplia gama de solventes, con el fin de estudiar la naturaleza de tal interacción mediante el análisis del efecto solvente en términos de correlaciones lineales de energía libre de solvatación. Cuando se emplearon solventes orgánicos de baja polaridad, el sensibilizador utilizado fue TPP, y en solventes orgánicos polares, RB.

En la Figura 16, se muestran algunas de las curvas de decaimiento del $O_2(^1\Delta_g)$, obtenidas a diferentes concentraciones de AQ en dimetilformamida como solvente. En este caso se puede observar la disminución del tiempo de vida del oxígeno excitado con el aumento en la concentración de sustrato. Un resultado significativo que muestra la figura es que no se observaron variaciones importantes en la intensidad inicial de emisión del oxígeno excitado en presencia de AQ, lo que

permite descartar eventuales reacciones secundarias entre el sensibilizador y la AQ. Los valores de k_D obtenidos en este experimento, ($k_D = \tau_D^{-1}$) se grafican en función de la concentración del sustrato (Figura 17). Estos gráficos de tipo Stern Volmer, presentaron un comportamiento lineal en todos los casos estudiados. De la pendiente de estos gráficos se obtuvieron los valores de k_T .

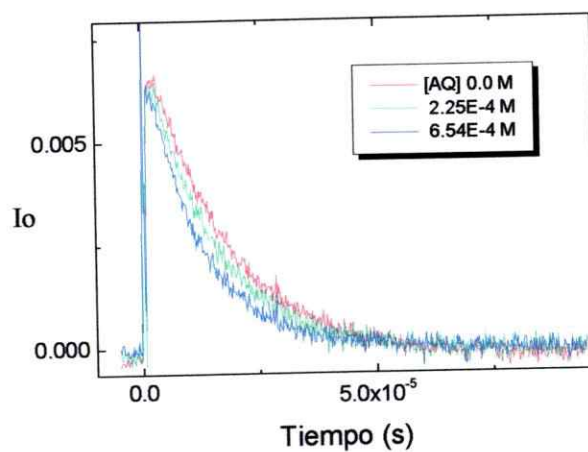


Figura 16. Decaimientos de la luminiscencia IR del $O_2(^1\Delta_g)$ a 1270 nm, en presencia de AQ. RB como sensibilizador y DMF como solvente.

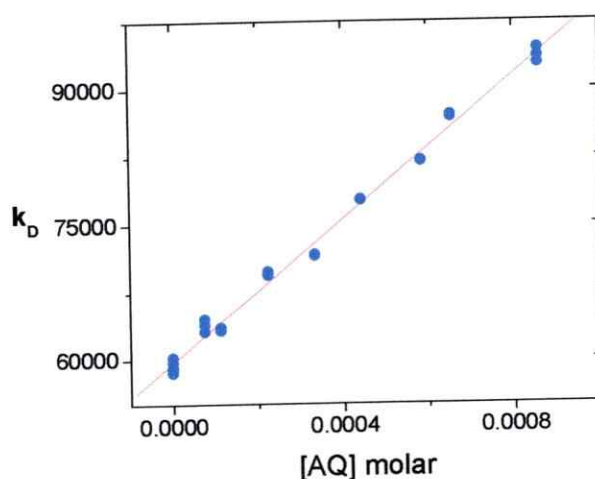


Figura 17. Gráfico de Stern-Volmer para la dependencia del tiempo de vida del $O_2(^1\Delta_g)$, con la concentración de AQ, en DMF como solvente. S' = RB. $k_T = 3,97 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, $\tau_\Delta = 16,8 \mu\text{s}$, $r = 0,99657$.

Tabla 14. Valores de la constante de velocidad total, k_T , para la reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con drogas antimaláricas en distintos solventes.

Solvente	PQ	QU	CQ	AQ	QC
	$k_T/10^7 M^{-1} s^{-1}$	$k_T/10^7 M^{-1} s^{-1}$	$k_T/10^7 M^{-1} s^{-1}$	$k_T/10^7 M^{-1} s^{-1}$	$k_T/10^7 M^{-1} s^{-1}$
Metanol	4,43±0,12	0,61±0,09	0,959±0,27	1,20±0,03	0,97±0,04
Etanol	2,41±0,07	1,11±0,02	1,72±0,03	0,70±0,01	1,53±0,04
n-propanol	1,92±0,04	1,14±0,02	1,55±0,04	0,50±0,01	2,00±0,09
n-butanol	1,88±0,04	1,19±0,02	1,61±0,04	0,49±0,01	2,08±0,05
n-hexanol	1,9±0,02	1,04±0,02	1,74±0,03	0,53±0,01	2,68±0,32
n-octanol	1,72±0,02	1,26±0,02	1,92±0,03	0,49±0,01	2,35±0,10
A. Amilico	2,35±0,02	1,14±0,02	1,54±0,04	0,48±0,01	1,63±0,03
A. Bencilico	7,25±0,06	0,75±0,04	1,66±0,24	2,50±0,05	2,00±0,15
Etilenglicol	8,88±1,02	0,91±0,02	1,3±0,40	4,17±0,12	2,58±0,13
Acetonitrilo	17,1±0,30	7,95±0,14	12,3±0,18	2,13±0,03	11,9±0,91
Benzonitrilo	11,2±0,12	10,8±0,20	13,5±0,31	1,76±0,01	14,9±0,16
Formamida	32,5±1,46	nd	1,18±0,46	1,71±0,06	2,02±0,26
N,N-DMF	21,1±0,41	21,7±0,94	25,1±0,38	3,93±0,04	23,0±0,75
Carb. de Prop.	21,5±0,95	10,9±0,33	17,05±0,25	4,78±0,02	15,7±0,51
Dietiléter	1,19±0,02	10,1±0,29	3,95±0,09	0,57±0,02	4,48±0,21
Acetato de etilo	4,51±0,07	8,30±0,19	9,58±0,23	1,17±0,04	8,75±0,13
Acetona	7,29±0,08	12,0±0,23	13,2±0,28	1,22±0,03	10,9±0,07
Benceno	3,46±0,03	9,13±0,49	6,69±0,21	0,45±0,03	7,12±0,71
Tolueno	2,70±0,03	13,1±1,01	4,86±0,13	0,48±0,01	6,08±0,13
Hexano	0,63±0,02	0,79±0,03	0,952±0,30	nd	1,17±0,02
Heptano	0,69±0,02	0,86±0,03	1,02±0,24	nd	1,38±0,02
Cloroformo	3,02±0,04	2,33±0,04	2,66±0,09	0,93±0,02	2,64±0,41
Diclorometano	7,70±0,21	4,54±0,08	5,69±0,14	1,06±0,02	5,40±0,12
Dioxano	8,35±0,39	24,2±0,05	13,49±0,32	1,23±0,08	14,3±0,30
Trifluoroetanol				0,71±0,01	
D ₂ O, pH 7.4	29,7±0,12				

nd: No se logró determinar y en el caso de AQ, hay problemas de solubilidad en hexano y heptano.

Tabla 15. Valores de la constante de velocidad total, k_T , para la reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con derivados de quinolina en distintos solventes.

Solvente	Q	6-MeOQ	8-AmQ
	$k_T/10^5 M^{-1} s^{-1}$	$k_T/10^5 M^{-1} s^{-1}$	$k_T/10^7 M^{-1} s^{-1}$
Metanol	1,86±0,12		1,98±0,07
Etanol	1,42±0,04	2,53±0,12	1,40±0,02
n-propanol	1,68±0,04	2,25±0,04	1,23±0,03
n-butanol	1,05±0,07	1,90±0,06	1,11±0,02
n-hexanol	1,26±0,06		1,01±0,01
n-octanol	1,12±0,02		1,16±0,02
A. Amilico	1,12±0,02	2,66±0,08	1,21±0,03
A. Bencílico	2,75±0,06		4,27±0,32
Etilenglicol	1,05±0,76		7,06±0,32
Acetonitrilo	2,96±0,04	13,8±0,43	8,53±0,21
Benzonitrilo	2,50±0,03	6,29±0,13	5,49±0,13
Formamida	3,61±0,16	17,3±0,72	26,1±0,70
N,N-DMF	5,81±0,13		19,8±0,60
Carb. de Prop.	3,34±0,26		11,6±0,92
Dietiléter	0,58±0,04		0,74±0,02
Acetato de etilo	2,14±0,03	5,80±0,12	2,72±0,06
Acetona	2,36±0,04	7,49±0,31	4,35±0,09
Benceno	1,78±0,02	2,94±0,07	1,09±0,02
Tolueno	1,96±0,03	2,60±0,09	1,14±0,03
Hexano	0,67±0,03	1,17±0,07	0,31±0,02
Heptano	0,69±0,02	1,05±0,08	0,35±0,02
Cloroformo	1,26±0,06		1,09±0,03
Diclorometano	2,02±0,05	2,80±0,09	2,04±0,04
Dioxano	2,22±0,09	10,4±0,63	6,51±0,24

Los valores de k_T obtenidos para drogas antimaláricas y derivados de la quinolina se muestran en las Tablas 14 y 15, respectivamente. Los compuestos 6-cloroquinolina y 7-cloroquinaldina, presentan valores de k_T muy pequeños y difíciles de medir, pues están en el límite de sensibilidad del equipo. Por ejemplo, para 6-ClQ en acetonitrilo se determinó un valor de k_T menor a $1 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$, mientras que

para 7-CIQd se obtuvieron constantes de velocidad en acetonitrilo y etanol, de $9.25 \pm 1.02 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ y $6.0 \pm 0.86 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente.

Además, se realizaron algunos experimentos en estado estacionario, para la determinación de las constantes para la reacción foto sensibilizada entre la quinolina y el oxígeno molecular singulete, k_T^O , por el método de las reacciones competitivas, utilizando DMA y Rubreno, como actinómetros de reactividad conocida. Los valores obtenidos, son comparables a los medidos utilizando experimentos resueltos en el tiempo.

Los datos de la Tabla 14 muestran que las constantes de velocidad total para la desactivación de oxígeno molecular singulete por drogas antimaláricas son del orden de $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, para los cinco compuestos estudiados, lo que permite clasificarlos como buenos desactivantes del oxígeno excitado. Los compuestos más reactivos hacia el $O_2(^1\Delta_g)$, fueron PQ, CQ y QC. Además, se encontró que en todos los casos, los valores de k_T dependen del solvente. Por ejemplo, el valor de k_T para la primaquina, aumenta en un factor del orden de cincuenta cuando el solvente se cambia de hexano a formamida. Las constantes de velocidad para QC y CQ aumentan en alrededor de veinticinco veces cuando el solvente es cambiado de prótico a polar no-prótico. El menor efecto solvente se observa para la amodiaquina. En el caso de los derivados simples de la quinolina (Tabla 15), sólo la 8-AmQ muestra constantes de velocidad del mismo orden que las drogas antimaláricas y un efecto del solvente muy importante. Los valores extremos de k_T , corresponden a una variación de casi dos órdenes de magnitud cuando el solvente cambia de hexano a formamida. Los compuestos quinolina y 6-metoxiquinolina, muestran constantes de velocidad del orden de $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, observándose un moderado efecto solvente para ambos.

Estos resultados, no son susceptibles de ser interpretados de manera simple en términos de parámetros macroscópicos del solvente, como por ejemplo la

constante dieléctrica, lo que sugiere la presencia de interacciones específicas soluto-solvente. En estos casos, es apropiado utilizar relaciones lineales de energía libre de solvatación para correlacionar los valores de la constante de velocidad experimental con propiedades del solvente. Luego, para lograr una mejor comprensión del efecto del solvente sobre la interacción del oxígeno molecular singulete con drogas antimaláricas, se analizó la dependencia de la constante de velocidad de desactivación con las características microscópicas del solvente, empleando las ecuaciones solvatocrómicas LSER de Taft y col. y TLSER de Famini y col (Ecuaciones 27 y 28, respectivamente).

7.4.1.1 Análisis del efecto del solvente sobre la constante de velocidad total, para la reacción entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y los sustratos quinolínicos

Con el propósito de entender la naturaleza de las interacciones del $O_2(^1\Delta_g)$, con drogas antimaláricas y compuestos modelos, se realizaron correlaciones lineales multiparamétricas entre los valores experimentales de la constante de velocidad total y los parámetros empíricos microscópicos del solvente empleando los métodos estadísticos previamente descritos.

La aplicación de la Ecuación de Taft a los datos obtenidos para la primaquina, da como resultado la Ecuación 45, con un coeficiente de regresión lineal $r = 0,979$ y valores $RMS = 0,112$ y $F = 107,779$.

$$\text{Log}k_T = 6,817 + 1,515\pi^* - 0,303\delta - 0,490\alpha + 0,466\beta + 0,001\rho^2 \quad (45)$$

En el gráfico de la Figura 18, se muestra la correlación entre los valores experimentales del $\text{Log}k_T^{PQ}$ y los valores calculados según la Ecuación 45. Como se observa en la Figura, los valores experimentales correlacionan adecuadamente con los calculados. La calidad de la correlación además, se puede verificar mediante

el gráfico de los residuales del $\text{Log}k_T$ vs $\text{Log}k_T$, experimental, donde se observa una distribución al azar de los residuales para el rango de los valores k_T .

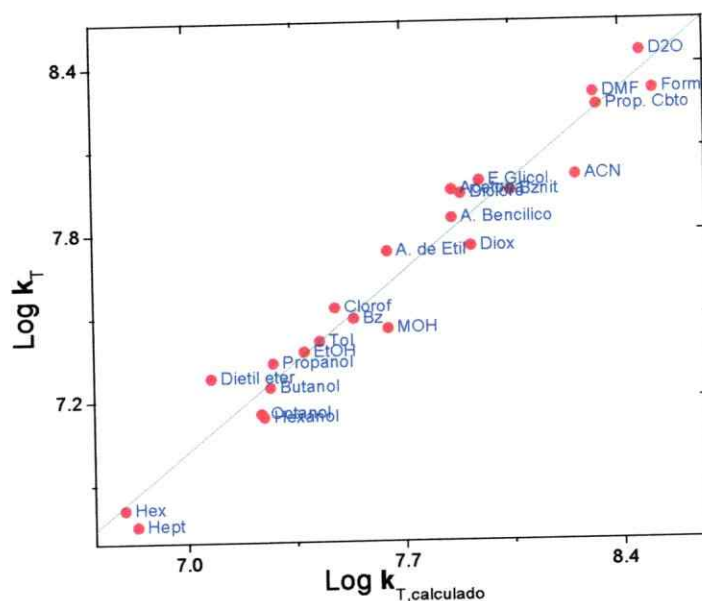


Figura 18. Correlación de los valores de $\text{Log}k_T$ experimental para PQ vs $\text{Log}k_T$ calculado.

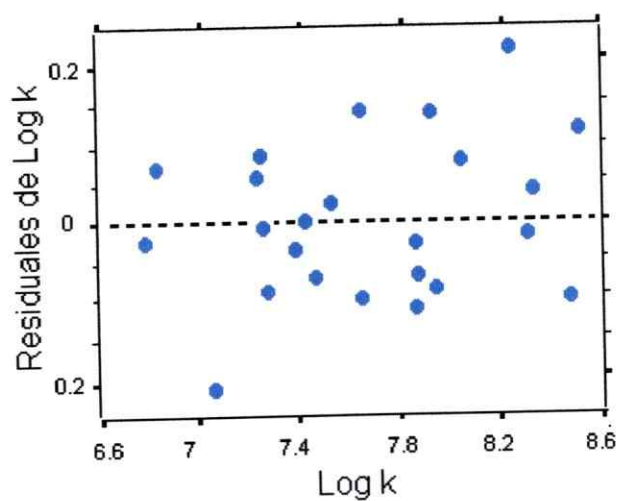


Figura 19. Análisis de residuales vs k_T .

Tabla 16. Dependencia de la constante de velocidad de reacción entre los compuestos quinolínicos y el $O_2(^1\Delta_g)$, como función de los parámetros empíricos del solvente. Coeficientes en el análisis LSER.

Compuesto	Log $k_{T,o}$	π^*	δ	α	β	ρ_H^2	N	r	RMS	F
Q	4,798	0,507		-0,445	0,363	0,001	21	0,971	0,061	66,803
6-MeQ	4,831	0,306		-1,421	1,118	0,004	13	0,983	0,085	52,943
8-AmQ	6,317	1,227	-0,259	-0,730	0,424	0,003	22	0,981	0,116	83,067
PQ	6,817	1,515	-0,303	-0,490	0,466	0,001	24	0,979	0,112	107,779
CQ	7,168	0,711		-1,441	1,049		25	0,949	0,155	63,453
QC	7,197	0,782		-1,187	0,848		23	0,965	0,118	85,731
QU	7,091	0,851		-1,448	0,930		18	0,971	0,135	77,715
AQ	6,164	1,629	-0,350	-0,175			22	0,941	0,122	46,554
TEA	7,924	0,321		-1,305	0,362		28	0,927	0,200	48,995
1,4-DMN	3,621	1,920	-0,202	-0,394	0,855	0,003	26	0,968	0,214	63,364

Empleando la misma metodología descrita para la primaquina, se obtuvieron las ecuaciones de correlación LSER para las reacciones de los compuestos antimaláricos y derivados simples de la quinolina con oxígeno molecular singulete. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 16, en que además se incluyen los estadígrafos más importantes que dan cuenta de la calidad de las ecuaciones de correlación. En esta Tabla, además se incluyen resultados reportados para los compuestos trietilamina (TEA) y 1,4-dimetilnaftaleno (1,4-DMN), moléculas que típicamente reaccionan por mecanismos de transferencia de carga y cicloadición parcialmente concertada, respectivamente, como ha sido previamente establecido⁶⁹.

El efecto del solvente sobre k_T , también se analizó en términos de ecuaciones TLSE, que incluyen parámetros teóricos del solvente (Ecuación 28). Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 17.

Tabla 17. Dependencia de la constante de velocidad de reacción entre los compuestos quinolínicos y el $O_2(^1\Delta_g)$, como función de los parámetros teóricos del solvente. Coeficientes en el análisis TLSEER.

Compuesto	Log $k_{T,0}$	e_b	e_a	q^-	q^+	ρ_H^2	N	r	RMS	F
Q	3,235		10,789	0,576		0,001	16	0,958	0,066	44,726
6-MeQ	2,579		15,860	0,920	-0,375	0,002	12	0,956	0,129	18,579
8-AmQ	3,941		15,764	1,392	-0,271	0,004	17	0,974	0,117	54,800
PQ	3,218		23,550	1,073	-0,494	0,003	18	0,960	0,150	38,645
CQ	1,466	17,924	21,485	1,508	-0,967		18	0,966	0,130	45,219
QC	1,731	20,330	18,533	1,173	-0,892		17	0,958	0,135	33,352
QU	2,630	7,715	8,235	1,129	-0,201		19	0,908	0,109	16,352
AQ	3,150		19,131	2,490	-0,100		16	0,942	0,106	31,528

De la Tabla 16, se puede establecer que, con excepción de la amodiaquina, todos los compuestos antimaláricos que incluyen un grupo amino terciario en su estructura muestran dependencias de la constante de velocidad de reacción con los mismos parámetros empíricos del solvente, lo que sugiere que reaccionan por un mecanismo común. También muestran ecuaciones de correlación que dependen con los mismos parámetros, como por ejemplo primaquina y 8-aminoquinolina, y por otra parte, quinolina y 8-metoxiquinolina. Los resultados obtenidos para las ecuaciones TLSEER presentan sólo una relativa compatibilidad con las ecuaciones de correlación obtenidas empleando parámetros solvatocrómicos empíricos, lo que probablemente es un reflejo de las aproximaciones involucradas en los cálculos semiempíricos utilizados para determinar los parámetros teóricos.

7.4.1.2 Efecto del sustituyente sobre k_T

La Ecuación de Hammett, ha sido recurrentemente utilizada para correlacionar efectos de sustituyente con propiedades fisicoquímicas observables en el estudio de los derivados de compuestos aromáticos. Con el propósito de obtener mayor

información acerca del mecanismo de reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con los modelos simples de drogas antimaláricas, Q, 6-MeOQ, 8-AmQ, y racionalizar los resultados obtenidos para 6-ClQ y 7-ClQ, se analizó el efecto del sustituyente sobre las velocidades de reacción, k_T , graficando el logaritmo del cociente entre las constantes de velocidad de reacción medidas para la quinolina k_T^Q , utilizada como referencia y quinolinas sustituidas k_T^{QS} . En la Figura 20 se muestra la dependencia del logaritmo del cociente de las constantes de velocidad con el parámetro F (efecto inductivo). El gráfico muestra un comportamiento lineal ($\log k_T^{QS} / k_T^Q = 3,10 - 10,89 F$, $r = 0,99991$, $N = 5$). Este resultado es indicativo de que el oxígeno excitado reacciona con los compuestos considerados mediante el mismo mecanismo, observándose una disminución de la constante de velocidad total, cuando se incluyen sustituyentes fuertemente atractores de electrones en el anillo aromático que sigue la tendencia: $PQ > 8-AmQ > 6-MeOQ > -6-ClQ \approx 7-ClQ$.

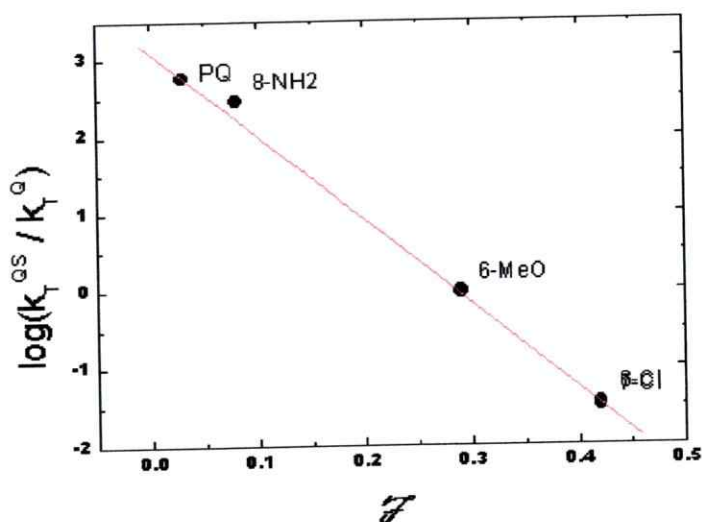


Figura 20. Gráfico de la dependencia del logaritmo del cociente entre las constantes de velocidad de reacción medidas para la quinolina k_T^Q , quinolinas sustituidas k_T^{QS} , con el parámetro F.

Cuando la correlación se realiza utilizando una ecuación multilínea que incluye los efectos de campo, F , y resonante, R , se obtiene la siguiente ecuación:

$$\log k_T^{QS}/k_T^Q = 0,10733 - 5,80377 F - 3,64044 R, \quad (r = 0,9804, \text{ y } N = 6) \quad (46)$$

En la Figura 21, se muestra la correlación entre los valores experimentales de $\log k_T^{QS}/k_T^Q$ vs los valores calculados según la Ecuación 46. Como se observa en la Figura, existe un buen acuerdo entre los datos empíricos y los valores teóricos. Los coeficientes de la Ecuación 46 muestran que para esta reacción, los efectos de campo son más importantes que los efectos resonantes y que derivados quinolínicos con sustituyentes que tienen valores pequeños o negativos de F son más reactivos hacia el oxígeno excitado.

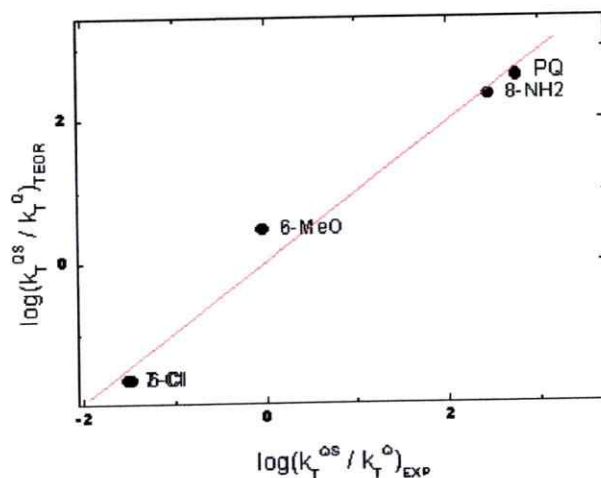


Figura 21. Gráfico de los valores experimentales del logaritmo del cociente entre las constantes de velocidad de reacción, medidas para la quinolina, k_T^Q y quinolinas sustituidas k_T^{QS} vs los valores calculados de acuerdo a la ecuación 46.

7.4.2 Constantes de velocidad para la reacción química entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y sustratos 8-Aminoquinolinicos: PQ y 8-AmQ.

Con el fin de determinar contribución de la reacción química a la desactivación del oxígeno molecular singulete por algunos de los compuestos estudiados en este trabajo, se midieron las constantes de velocidad para la reacción química entre esta especie excitada del oxígeno y los compuestos PQ y 8-AmQ, k_r^{PQ} y k_r^{8-AmQ} , respectivamente. En particular, se seleccionó a la primaquina pues en los análisis de efecto solvente presenta un comportamiento diferente al de los otros compuestos estudiados.

Las constantes de reacción química entre PQ y el oxígeno excitado, fueron determinadas en metanol y acetonitrilo a $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$ en condiciones de estado estacionario, según se describió en la Sección 6.6.2. En la Tabla 18 se resumen los resultados encontrados en estos experimentos.

Tabla 18. Constantes de velocidad para la reacción química de primaquina y 8-aminoquinolina con $O_2(^1\Delta_g)$.

Solvente	$k_r^{PQ} / 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$k_r^{8-AmQ} / 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
Acetonitrilo	3.71 ± 0.43	-
Metanol	9.61 ± 1.28	5.15 ± 0.11

Los datos de la tabla muestran que la reacción química contribuye en alrededor de un 20% a la desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ por primaquina en metanol, mientras que en solventes polares apróticos como acetonitrilo la vía química no es mas que un 2%. Para el caso de la 8-aminoquinolina en metanol, la contribución de la reacción química a la desactivación del oxígeno excitado es del orden del 25%.

7.4.3 Cálculos semiempíricos

Con el fin de analizar el efecto de los sustituyentes, sobre la reactividad del anillo quinolínico frente al ataque electrofílico del oxígeno molecular singulete, se procedió a efectuar algunos cálculos a nivel semiempírico con el programa Gaussian 98W, utilizando el método de cálculo PM3, en el que se ha adaptado el formalismo matemático para la determinación directa de la densidad de población electrónica sobre cada átomo, a través de los índices de Fukui⁷⁰. Este índice se calcula de la sumatoria de los cuadrados de los coeficientes en el orbital, en cada eje y para cada átomo y es una medida satisfactoria de la susceptibilidad de cada átomo en el orbital molecular, frente al ataque electrofílico, pues otras aproximaciones como las cargas de Millikan y/o NBO no ofrecen buenos resultados a este nivel.

Así, se realizaron cálculos de densidad electrónica para un total de 13 moléculas y cuyo análisis se centró en la reactividad de las 8-aminoquinolinas, aún cuando se incluyen otros sistemas, como acridina y acridinas sustituidas. Los resultados de estos cálculos se presentan en el Anexo 3.

El índice de Fukui se calculó sobre el orbital molecular de más alta energía ocupado, HOMO, pues un análisis comparativo entre los orbitales ocupados más externos, permite observar que en los orbitales de frontera HOMO y LUMO, de los sistemas quinolínicos estudiados, la densidad electrónica se localiza sobre los mismos átomos del sistema aromático y perpendicular al plano del anillo. Para el caso de la 8-AmQ, la optimización de la geometría molecular, conduce a una estructura en la que los electrones no enlazantes del nitrógeno exocíclico, hacen parte del sistema deslocalizado. Esto también se observa en compuestos del tipo 4-aminoquinolinas. Los valores del índice de Fukui calculados para quinolinas sustituidas se muestran en las Tablas 20 a 29. De estos datos se puede concluir que los centros de mayor densidad electrónica corresponden a las posiciones 5 y 8 del anillo quinolínico, tanto para la quinolina, como para las quinolinas sustituidas en el anillo α .

En la Figura 22, se muestran los gráficos correspondientes a las correlaciones entre el $\log k_T$ y los índices de Fukui calculados para quinolinas con sustituyentes en el anillo α . Los gráficos muestran una dependencia relativa a la linealidad para las correlaciones correspondientes a las posiciones 8 y 5.

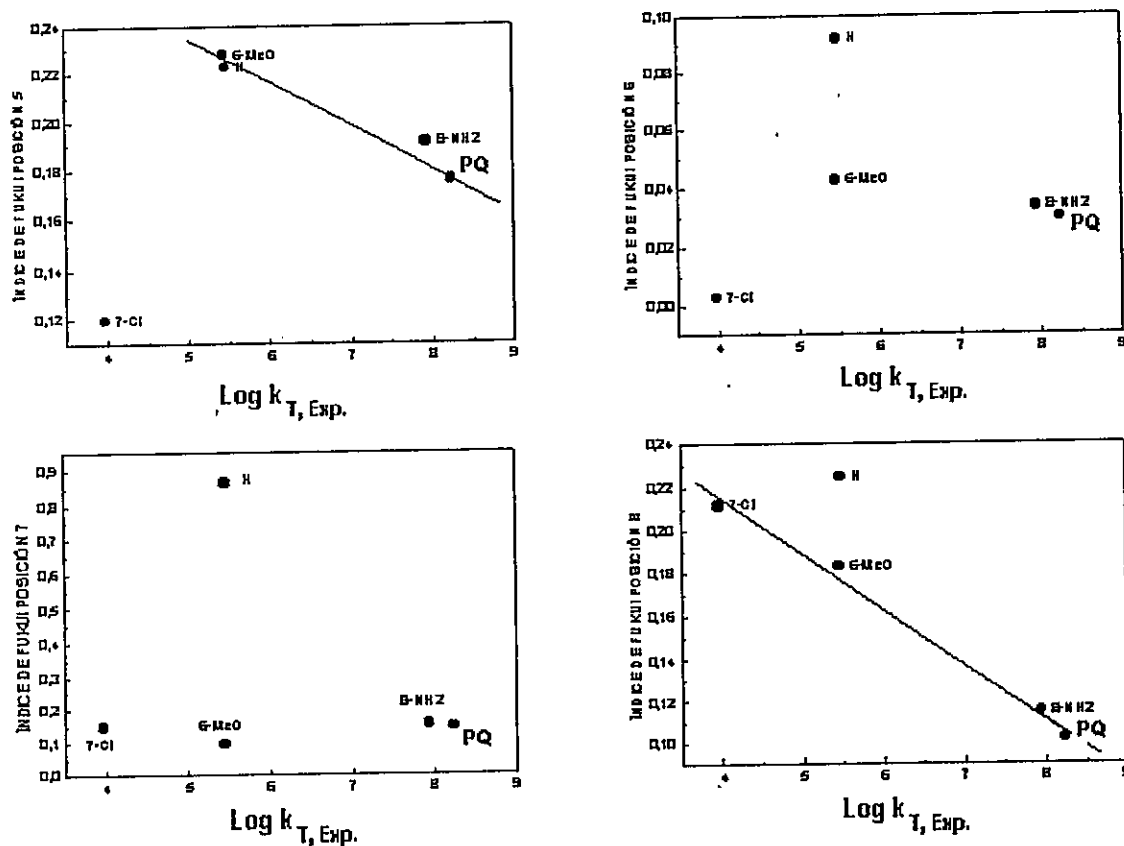


Figura 22. Gráficos de los índices de Fukui de las posiciones 5 (22a), 6 (22b), 7 (22c) y 8 (22d) del anillo quinolínico vs el logaritmo de la constante total de velocidad experimental.

8 DISCUSIÓN

8.1 Generación de $O_2(^1\Delta_g)$, por compuestos quinolínicos con actividad antimalárica.

En la actualidad, se utilizan una gran variedad de fármacos en el tratamiento y prevención de la malaria, la mayoría de ellos moléculas que contienen como núcleo básico a la quinolina. Como se discutió anteriormente, la mayoría de las drogas antimaláricas sintéticas poseen propiedades fotosensibilizadoras no-deseadas, y en consecuencia, su utilización prolongada produce efectos secundarios fototóxicos en tejidos que están expuestos continuamente a la acción directa de la luz, como la piel y los ojos. Los mecanismos precisos por los cuales se producen estas reacciones en humanos, aún no han sido dilucidados, aunque se ha planteado que el oxígeno molecular singulete, y otras especies activas de oxígeno como anión radical superóxido, radicales centrados en carbono y radicales centrados en nitrógeno, podrían ser responsables de estos efectos fototóxicos. Es un hecho bien conocido que las reacciones del oxígeno molecular singulete son de interés en sistemas biológicos, donde puede participar en procesos que causan daño a biomoléculas de gran importancia, o bien juegan un rol central en aplicaciones benéficas como la terapia fotodinámica. Luego, la relevancia de los efectos fotosensibilizadores de las drogas antimaláricas, mediados por oxígeno molecular singulete, puede ser relacionado a la eficiencia con que estas drogas producen oxígeno excitado.

Los espectros de absorción UV-VIS de los compuestos quinolínicos con actividad antimalárica que se muestran en la Figura 11 y en las Tablas 6 y 7, muestran que la posición del máximo de la banda de menor energía en la mayoría de los casos es muy poco dependiente de la naturaleza del solvente. Para la primaquina se visualiza un pequeño, pero observable corrimiento al azul cuando el solvente cambia de solventes no-polares como benceno o hexano a solventes polares como etanol o metanol. El mismo comportamiento se observa para la 8-aminoquinolina. Este desplazamiento del máximo de absorción hacia longitudes de onda de mayor energía para los compuestos que tienen sustituyentes amino en posición 8 (PQ y 8-

AmQ), sugiere que el estado singlete de menor energía de este tipo de compuestos corresponde a un estado $n-\pi^*$. Estos resultados son compatibles con los descritos por Kristensen y col.²⁰, que encuentra un corrimiento al azul del máximo de absorción de la primaquina de alrededor de 14 nm al pasar de hexano a metanol. Para el resto de las drogas antimaláricas, CQ, QC, QU y AQ, donde el máximo de absorción depende muy poco con el solvente, se puede apreciar un pequeño desplazamiento de la banda de menor energía hacia el rojo, con el aumento en la polaridad del medio, lo que podría ser indicativo de que el estado singlete de más baja energía es del tipo $\pi-\pi^*$. La naturaleza diferente, de los estados singlete de más baja energía de los derivados 8-aminoquinolínicos también es compatible con los coeficiente de extinción más bajos determinados para estos compuestos, teniendo en consideración que transiciones que involucran orbitales moleculares localizados en diferentes regiones del espacio ($n \rightarrow \pi^*$) son menos probables que aquellas que involucran orbitales que se localizan en la misma región ($\pi \rightarrow \pi^*$).

Evidencia directa de la generación de oxígeno molecular singlete por las drogas antimaláricas y derivados simples de la quinolina, fue obtenida de la detección de la emisión fosforescente del $O_2(^1\Delta_g)$ a 1270 nm, después de excitar la muestra con un pulso de láser. Este método es mucho más confiable que el método indirecto que involucra el atrapamiento del oxígeno excitado por una molécula muy reactiva frente al $O_2(^1\Delta_g)$, como el difenilisobenzofurano, o la detección de la luminiscencia IR del oxígeno singlete en experimentos en estado estacionario. El método que involucra reacción química del oxígeno excitado con una molécula reactiva, puede dar resultados erróneos si se producen interacciones significativas entre el actinómetro y/o sustrato en estudio, con la molécula reactiva; en la detección de la luminiscencia IR del $O_2(^1\Delta_g)$, se puede subestimar o sobreestimar los rendimientos cuánticos de oxígeno molecular singlete si por irradiación prolongada de la molécula estudiada, se producen fotoproductos que eventualmente pueden reaccionar con $O_2(^1\Delta_g)$ o generarlo por fotosensibilización, respectivamente.

En la Tabla 12, se muestran los valores del rendimiento cuántico de oxígeno molecular singulete, ϕ_{Δ} , obtenidos para los compuestos estudiados, en un conjunto de solventes representativos de la escala de polaridad. Adicionalmente, también se incluyen algunos valores de ϕ_{Δ} reportados previamente por Motten y col.¹², en agua deuterada a pD 7,4 y obtenidos observando la luminiscencia IR del oxígeno excitado realizando experimentos en estado estacionario. Los datos de la tabla muestran que en todos los solventes empleados, la quinina es el sensibilizador más eficiente, con rendimientos cuánticos que varían entre 0.33 y 0.43 en benceno y etanol, respectivamente. Probablemente, el principal mecanismo de generación de oxígeno singulete por quinina involucra un proceso de aniquilación triplete-triplete, por interacción del estado fundamental $^3\Sigma_g$ del oxígeno con el estado triplete excitado de menor energía de la droga. En experimentos de fotólisis de pulso, en benceno, bajo nitrógeno, se observó la absorción de un transiente a $\lambda_{\max} = 432$ nm. La señal del transiente, muestra un decaimiento monoexponencial y no presenta absorción residual, además, no es detectada cuando el experimento se realiza en las mismas condiciones, pero con la solución equilibrada con aire. Esta absorción, probablemente corresponde a la absorción del triplete de menor energía y tiene un tiempo de vida de 27,9 μ s (Tabla 13). Este tiempo, compara razonablemente con el máximo de absorción descrito para el triplete de más baja energía de la quinolina ($\lambda_{\max} = 425$ nm)⁷¹. De más importancia son los rendimientos cuánticos de oxígeno molecular singulete encontrados en etanol. Tres de los compuestos antimaláricos estudiados quinina, quinacrina y cloroquina, y el compuesto modelo 6-metoxiquinolina, producen eficientemente oxígeno excitado en este solvente. Estos resultados, contrastan con los publicados previamente por Motten y col., que encontró una muy ineficiente producción de oxígeno molecular singulete por quinacrina y cloroquina en D₂O a pH = 7,4. De acuerdo a estos autores, en D₂O tamponada, la quinacrina no produce inicialmente $O_2(^1\Delta_g)$ en experimentos en que la irradiación se realiza en estado estacionario, pero después de un cierto tiempo, una creciente cantidad de oxígeno excitado es generado por un producto de fotólisis no identificado. Los experimentos realizados en este trabajo muestran que en todos los

solventes empleados y particularmente en etanol, la quinacrina genera niveles apreciables de oxígeno singulete por fotosensibilización. Las diferencias en la eficiencia con que la quinacrina sensibiliza la producción de $O_2(^1\Delta_g)$ en D_2O a $pH = 7,4$ y solventes orgánicos puede ser atribuída al diferente estado de protonación de la droga en agua tamponada y los solventes orgánicos. La capacidad para producir oxígeno molecular singulete por un sensibilizador depende en gran parte de que éste genere (preferiblemente) un estado triplete de larga vida. Se sabe que los monocationes de algunos derivados quinolínicos antimaláricos, producen rendimientos apreciables de estados triplete debido a sus estados triplete $n-\pi^*$ de más baja energía¹⁴. Sin embargo, a $pD = 7,4$, la quinacrina existe principalmente como dicación ($pK_{a1} = 7,72$; $pK_{a2} = 10,39$ (Tabla 2)), tautómeros que producen estados triplete con una eficiencia mucho menor. Además, como se indicó anteriormente, hay un pequeño pero observable corrimiento al rojo del espectro de absorción de la quinacrina cuando el solvente cambia de hexano a etanol. Esta dependencia de la posición del espectro de absorción con el solvente, es compatible con un estado singulete excitado de más baja energía de naturaleza $\pi-\pi^*$. Por otra parte, la mayoría de los compuestos heterocíclicos aromáticos con átomos de nitrógeno en su estructura tienen estados triplete de menor energía del tipo $\pi-\pi^*$ ⁷², luego se puede esperar para la quinacrina en solventes orgánicos, que el cruce al triplete $\pi-\pi^*$ sea más eficiente debido probablemente a una menor diferencia de energía entre los estados singulete y triplete más bajos, similar a lo que ocurre en estructuras del tipo antracenoide. Las mismas consideraciones son aplicables a la cloroquina, para explicar la mayor eficiencia con que esta droga genera oxígeno excitado en solventes orgánicos que en agua tamponada. En todos los solventes, el menor rendimiento cuántico para la generación de oxígeno molecular singulete por drogas antimaláricas fue encontrado para la primaquina. Una tendencia similar fue observada por Motten y col. en D_2O a $pD = 7,4$. Estos autores explican el bajo rendimiento cuántico para la generación de oxígeno molecular singulete por esta droga, argumentando que la misma droga desactiva muy eficientemente al oxígeno excitado en las condiciones experimentales empleadas por ellos. De hecho, encontraron que la primaquina desactiva al oxígeno excitado en D_2O a $pD = 7,4$ con

una constante de velocidad igual a $26,0 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, alrededor de cinco veces mayor que las determinadas en las mismas condiciones para la desactivación de $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ por quinacrina y amodiaquina, y cincuenta veces mayor que la observada para cloroquina.

Con el propósito de verificar si esta aproximación es aplicable en los solventes empleados en este trabajo, se pueden considerar las constantes de velocidad total para la desactivación del oxígeno molecular singulete por las diversas drogas antimaláricas estudiadas en este trabajo que se incluyen en la Tabla 14. Los datos de la Tabla 14 muestran que, considerando sólo los solventes en que se midieron los rendimientos cuánticos de oxígeno molecular singulete, n-hexano, benceno, acetonitrilo y etanol, para todos los compuestos estudiados, la desactivación es más eficiente en acetonitrilo y benceno, aunque la primaquina no desactiva al $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ mucho más eficientemente que las otras drogas. En particular, cuando los solventes son acetonitrilo y etanol, las constantes de velocidad para la desactivación del oxígeno molecular singulete por primaquina, son sólo un factor dos veces mayor que las observadas para las otras drogas. Estos resultados muestran claramente que en solventes orgánicos, la eficiencia con que la primaquina desactiva al oxígeno molecular singulete no es el proceso que explica la baja eficiencia con que esta droga genera $\text{O}_2(^1\Delta_g)$. Un aspecto que debe ser tomado en consideración, es la dependencia del espectro de absorción de la primaquina con el solvente. Como se discutió anteriormente, para la primaquina se observa un corrimiento del máximo de absorción hacia el azul cuando el solvente cambia de no polar a polar, comportamiento compatible con un estado singulete de más baja energía de naturaleza $n-\pi^*$. Es probable que para esta molécula, no opere un mecanismo eficiente de inversión de espín que promueva el cruce entre sistemas a partir de este estado. Por otra parte, debe ser considerada la posición de los sustituyentes en el anillo quinolínico de la primaquina. Una interacción del tipo enlace de hidrógeno entre los hidrógenos del grupo amino secundario de la cadena lateral y el nitrógeno del anillo quinolínico, podría cambiar totalmente el comportamiento fotofísico de la

droga, como ha sido descrito por Goldman y Wehry³³ para la 8-hidroxiquinolina. Para este compuesto, no ha sido posible detectar emisión fosforescente y el rendimiento cuántico de fluorescencia es muy bajo ($\phi_f \leq 0.005$), comportamiento similar al observado para 8-AmQ y PQ.

Para explicar las diferencias en los rendimientos cuánticos para la generación de oxígeno molecular singlete por las drogas quinina y primaquina, que muestran los valores extremos en todos los solventes, se determinó el rendimiento cuántico para la generación de $O_2(^1\Delta_g)$, por los modelos simples quinolina y 6-metoxiquinolina. La 6-metoxiquinolina se seleccionó porque ambas drogas antimaláricas, tienen un sustituyente metoxi en posición 6. En el caso de quinolina, se realizaron experimentos en estado estacionario, en soluciones equilibradas con aire, obteniéndose en benceno un $\phi_\Delta^O = 0.036$, valor inferior al reportado por Wilkinson en metanol ($\phi_\Delta^O = 0.1$). Sorprendentemente, los valores de ϕ_Δ^O para la 6-metoxiquinolina en todos los solventes considerados, medidos en experiencias resueltas en el tiempo fueron muy altos, particularmente en solventes polares, donde ϕ_Δ^O es aproximadamente 1. Es evidente que la inclusión de un sustituyente metoxi en la posición 6 del anillo quinolínico produce un cambio sustantivo en la fotofísica de este compuesto. La fotofísica de compuestos quinolínicos no ha sido estudiada con detalle, pero los experimentos realizados en este trabajo muestran que no hay una clara dependencia de la posición máximo de absorción con la polaridad del solvente y que hay un leve desplazamiento hacia el rojo de la banda de emisión del singlete excitado al pasar de solventes no polares a solventes polares ($\lambda_{\max,em}$ (n-hexano) = 356 nm; ($\lambda_{\max,em}$ (H₂O) = 368 nm) indicativo de un estado excitado más polar. Además, el rendimiento cuántico de fluorescencia en los cinco solventes considerados, es $< 0,002$, cercano al límite de detección del instrumento utilizado para realizar las determinaciones. Por otra parte, el comportamiento general de compuestos aromáticos muestra que la inclusión de grupos que son fuertes donores de electrones, como el grupo metoxilo, produce cambios muy importantes en el comportamiento fotofísico de estas moléculas⁷³, donde la naturaleza del primer

estado singulete excitado cambia de un estado π, π^* a un estado $\pi I, \pi^*$, aumentando la velocidad de cruce entre sistemas. Hay tres razones que permiten explicar el aumento de la constante de velocidad para el proceso de cruce entre sistemas: a) disminución en la simetría de la molécula; b) efecto de átomo pesado interno y c) aumento en el mezclado del primer estado singulete excitado $\pi I, \pi^*$ con estados triplete superiores. En el caso de anillos quinolínicos con sustituyentes metoxi en posición 6, es muy probable que el factor más importante corresponda a un mezclado de estados más favorable, que promueve el cruce entre sistemas, lo que permite explicar el mayor rendimiento cuántico para la generación de oxígeno singulete por quinina y 6-metoxiquinolona. El gran aumento en los valores de ϕ_{Δ} para la 6-metoxiquinolona al pasar de solventes no polares a solventes polares es compatible con un estado excitado más polar que el correspondiente a la quinina, lo que se refleja en el corrimiento al rojo de la banda de emisión observada para este compuesto. Este comportamiento no se observa en el caso de la primaquina, que también posee un sustituyente 6-metoxi, probablemente por la presencia del grupo amino en posición 8, que además, puede formar un enlace tipo puente de hidrógeno con el nitrógeno en el anillo. Cuando se comparan los índices de Fukui para los compuestos modelo quinolina, 6-metoxiquinolona y 8-amino quinolina, las densidades de carga sobre los carbonos 5 y 8 del anillo quinolínicico son mayores para el compuesto no sustituido y el metoxi derivado, mientras que en el amino derivado, la carga se localiza fuertemente en el nitrógeno exocíclico.

8.2 Interacción de compuestos quinolínicos, con $O_2(^1\Delta_g)$.

8.2.1 Efecto del solvente sobre k_f .

Existe un número limitado de publicaciones, con datos cinéticos relativos a la reacción de compuestos quinolínicos con actividad antimalárica y el oxígeno molecular singulete. Estas, incluyen las constantes de velocidad de decaimiento del oxígeno molecular singulete por interacción con algunos de estos fármacos (Tabla 3),

medidos en agua deuterada a $pD = 7,0$, con valores extremos de $k_T = 26,0 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$ y $k_T = 0,59 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$, para PQ y CQ respectivamente. Las drogas antimaláricas estudiadas en este trabajo, poseen diversos grupos funcionales que pueden interaccionar con especies electrofílicas, como lo es el oxígeno molecular singlete. Los estudios de efecto solvente analizados en términos de correlaciones lineales de energía libre, constituyen una herramienta muy conveniente para obtener información acerca del sitio preferencial de reacción y de la naturaleza del complejo de encuentro formado entre un sustrato determinado y el oxígeno excitado (Figura 5), en particular cuando el análisis de productos de reacción resulta difícil de realizar porque la reactividad química es baja y/o la distribución de productos de reacción es compleja. Por otra parte, si se considera la complejidad estructural de las drogas antimaláricas, es apropiado comparar los resultados del análisis del efecto solvente con los obtenidos en moléculas modelo más simples, razón por la cual, se incluyeron en el presente trabajo, moléculas como quinolina y algunas quinolinas con sustituciones simples (Figura 2).

Los valores de las constantes de velocidad para la reacción total, dados en las Tablas 14 y 15, señalan que los cloroderivados de la quinolina, presentan valores de k_T muy pequeños. En las medidas de las constantes de velocidad totales, k_T^0 , para la reacción fotosensibilizada entre la quinolina y el oxígeno molecular singlete, por el método de las reacciones competitivas, se utilizaron DMA y rubreno, como actinómetros de reactividad conocida. Los valores obtenidos, son comparables a los medidos utilizando experimentos resueltos en el tiempo. Esto, permite descartar posibles cambios químicos rápidos del sustrato durante la iluminación, interferencias de la luz del láser difractada por la celda de medición y/o interferencias de la fluorescencia del sensibilizador con la luminiscencia del $O_2(^1\Delta_g)$. Además, en los experimentos de estado estacionario la posible desactivación de los estados excitados del sensibilizador, pueden ser despreciados ya que en las cinéticas competitivas con DMA, se obtuvieron gráficos lineales en el rango de concentraciones de droga empleadas.

Las cinco drogas antimaláricas estudiadas, corresponden a buenos desactivantes del $O_2(^1\Delta_g)$, ya que presentan constantes de velocidad del orden de $10^7 M^{-1} s^{-1}$. Los compuestos más reactivos hacia el $O_2(^1\Delta_g)$, fueron PQ, CQ y QC y para todos los compuestos, los valores de k_r dependen con el solvente. El mayor efecto se observó para la primaquina, cuya constante de velocidad aumenta en un factor del orden de cincuenta cuando el solvente se cambia de hexano a formamida. Las constantes de velocidad para QC y CQ aumentan en alrededor de veinticinco veces cuando el solvente es cambiado de prótico a polar no-prótico y el menor efecto solvente se observa para la amodiaquina. El único de los compuestos modelo que muestra constantes de velocidad del mismo orden que las drogas antimaláricas y un efecto solvente muy importante es la 8-AmQ (Tabla 15) cuya constante de velocidad aumenta en casi dos órdenes de magnitud cuando el solvente cambia de hexano a formamida. Los compuestos quinolina y 6-metoxiquinolina, muestran constantes de velocidad del orden de $10^5 M^{-1} s^{-1}$, observándose un moderado efecto del solvente en la velocidad de reacción de ambos compuestos. El valor de k_r obtenido para la quinolina es muy inferior al reportado por Wilkinson²³ ($1 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$), y comparable a las constantes de velocidad descritas para naftaleno y derivados. Considerando que la presencia del nitrógeno del heterociclo, en la quinolina, desactiva el sistema aromático frente al ataque electrofílico es razonable esperar una menor reactividad y no constantes de velocidad cercanas al límite controlado por difusión. Una mayor disminución en la reactividad se observa cuando el anillo quinolínico se sustituye con grupos atradores de electrones. Para los derivados de la quinolina 6-cloroquinolina y 7-cloroquinaldina las constantes de velocidad determinadas en etanol y acetonitrilo son menores que $1,0 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$, lo que se explica por el efecto atractor inductivo del sustituyente cloro, que disminuye aún más la densidad de carga sobre el anillo. La dependencia de la reactividad del anillo quinolínico con la sustitución también se observa cuando se incluyen sustituyentes dadores de electrones. Las constantes de velocidad totales obtenidas para la reacción de la 6-metoxiquinolina fueron mayores que las determinadas para la quinolina en todos los solventes empleados. Este

aumento en la reactividad refleja el efecto donador resonante del grupo metoxi, que aumenta la densidad de carga sobre el anillo.

Una mejor comprensión de los mecanismos involucrados en las reacciones de drogas antimaláricas con oxígeno molecular singulete, se obtiene analizado los datos cinéticos para estas reacciones en términos de relaciones lineales de energía libre de solvatación que correlacionan los valores de la constante de velocidad experimental con propiedades microscópicas del solvente. Los coeficientes que dan cuenta de la dependencia de la constante de velocidad con cada uno de los coeficientes de la ecuación de Taft, se incluyen en la Tabla 16. En esta tabla, es posible apreciar que tres de las drogas antimaláricas muestran la misma dependencia de la constante de velocidad con los parámetros solvatocrómicos.

Para los compuestos quinina, cloroquina y quinacrina los valores de k_p dependen de los parámetros microscópicos π^* , α y β , aumentando en solventes que tienen gran capacidad para estabilizar cargas y/o dipolos y en solventes HBA (aceptores de enlace de hidrógeno) y disminuyendo en solventes con valores altos de α . Esta dependencia con los parámetros microscópicos del solvente es similar a la observada en aminas terciarias de similar reactividad, tal como la trietilamina. Estos resultados indican que quinina, cloroquina y quinacrina reaccionan con el oxígeno molecular singulete muy probablemente vía un exciplexo de transferencia de carga, tal como ha sido propuesto para la trietilamina. De acuerdo con estos resultados el centro reactivo en estas drogas antimaláricas correspondería al grupo amino terciario en la cadena lateral. El aumento en el valor de k_p en solventes polares no próticos, se explica por una mayor estabilización del complejo de transferencia de carga por interacciones dipolares en esos solventes. Una mayor estabilización se obtiene si esos solventes tienen una gran capacidad como aceptores de enlace de hidrógeno (dadores de pares de electrones) debido a la interacción estabilizante entre el solvente HBA y la carga positiva que se desarrolla sobre el nitrógeno amínico terciario reactivo. Los solventes con valores altos de α (solventes HBD, dadores de enlace de hidrógeno), disminuyen la velocidad de la

reacción por formación de enlaces de hidrógeno con el par de electrones no-enlazantes del átomo de nitrógeno reactivo. La resultante de las interacciones vía enlace de hidrógeno entre solventes HBD y nitrógeno amínico, bloquea estéricamente el centro reactivo, causando una disminución de la constante de velocidad.

La amodiaquina es la menos reactiva de las drogas antimaláricas estudiadas y muestra una diferente dependencia de k_r con los parámetros solvatocrómicos a la observada para quinina, cloroquina y quinacrina. Para este compuesto, el análisis LSER muestra que la constante de velocidad total depende con los parámetros solvatocrómicos π^* , δ and α , con un alto peso estadístico asociado al parámetro π^* . Esta molécula presenta varios sitios que eventualmente pueden reaccionar con el oxígeno molecular singulete: el grupo amino terciario de la cadena lateral, el anillo quinolínico y el anillo fenólico. Los datos cinéticos y el análisis LSER no son compatibles con la formación de un complejo de transferencia de carga como ocurre con quinina, cloroquina y quinacrina, y como ha sido previamente establecido para aminas terciarias, en particular para la trietilamina. Para esta molécula, los valores de k_r son menores que para las otras drogas antimaláricas estudiadas y menores que las reportadas para la trietilamina. Además, la importancia relativa del parámetro α es menor que la observada típicamente en reacciones de transferencia de carga del oxígeno molecular singulete con aminas. Teniendo en cuenta estas consideraciones, se propone que en esta molécula, el grupo amino terciario está bloqueado por una interacción de enlace de hidrógeno intramolecular, que impide el ataque del oxígeno singulete, como se muestra en la Figura 23:

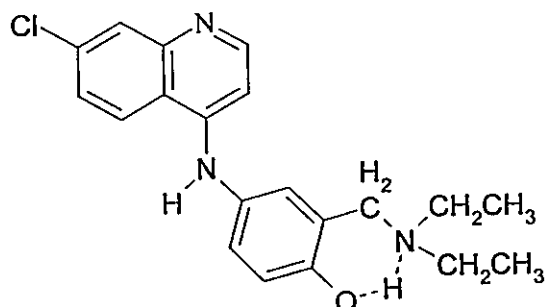


Figura 23. Interacción intramolecular de enlace de hidrógeno en la amodiaquina.

Esta interacción que bloquea el acceso del oxígeno excitado al grupo amino terciario debería ser más importante en solventes no-próticos, mientras que en solventes próticos, las interacciones del solvente con el par de electrones no enlazantes del nitrógeno amínico también impiden estéricamente la interacción de este grupo con el $O_2(^1\Delta_g)$.

Esta proposición es sustentada por los datos cinéticos. En la Tabla 14, se observa que los valores de k_r para la amodiaquina son entre un factor de dos a un factor de cuatro, menores que las determinadas para las otras drogas antimaláricas, mientras que en solventes no próticos, en los que la interacción intramolecular de enlace de hidrógeno sería favorable, los valores de k_r para la amodiaquina son entre cuatro y veinte veces menores que las constantes de velocidad totales obtenidas para las otras drogas antimaláricas. Cleenan y col.⁷⁴, han estudiado el efecto de la formación de enlaces de hidrógeno intramolecular sobre la cinética de las reacciones del oxígeno molecular singulete con aminas. Estos autores han encontrado que reemplazar un grupo metilo terminal por un grupo hidroxilo en el sustituyente butilo de la N,N-dimetil-N-butilamina, la constante de velocidad de reacción, para la interacción de este compuesto con oxígeno excitado disminuye en un factor seis cuando el solvente es benceno y prácticamente no cambia cuando el solvente tiene

valores de α muy grandes como en el caso del trifluoroetanol. El efecto observado en la amodiaquina es mayor que el informado por Cleenan y col., para la N,N-dimetil-N-butilamina. Por otra parte, la reacción del oxígeno singlete con el anillo quinolínico en la amodiaquina es altamente improbable. Las constantes de velocidad, determinadas en este trabajo para las reacciones de la 6-cloroquinolina y la 7-cloroquinaldina con $O_2(^1\Delta_g)$, son menores que $1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, demostrando que estos compuestos tienen una muy baja reactividad frente al oxígeno excitado como consecuencia del efecto atractor de electrones del sustituyente cloro que disminuye la densidad de carga sobre el anillo aromático, lo que también se verifica al considerar los índices de Fukui calculados para la 7-cloroquinaldina y 7-cloroquinolina (Tablas 23 y 24, Anexo 3), donde se aprecia una significativa disminución de la carga sobre el carbono 5 del anillo quinolínico. Por otra parte, el sustituyente p-aminofenol podría ser el centro reactivo en la molécula de amodiaquina. Briviva y col.⁷⁵, han demostrado que el p-aminofenol reacciona eficientemente con el oxígeno singlete con constantes de velocidad del orden de $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, para dar una hidroxiquinona. También, Barlett y col.⁷⁶, han reportado que las constantes de velocidad de reacción para la interacción del oxígeno singlete con anilinas sustituidas correlacionan con el potencial de ionización de la anilina, y la dependencia es mayor que para las aminas alifáticas. Considerando los resultados obtenidos en este trabajo y los datos de la literatura, es muy probable que la reacción de la amodiaquina con $O_2(^1\Delta_g)$, involucre el ataque del oxígeno excitado al sustituyente p-aminofenólico en la posición 4 del anillo quinolínico de la amodiaquina. La dependencia de k_T con los parámetros microscópicos del solvente es fácilmente entendido en términos de un mecanismo que involucre a un intermediario perepóxido o una cicloadición parcialmente concertada que ocurre vía un intermediario de transferencia parcial de carga que evoluciona muy rápidamente a un endoperóxido, como se muestra en el mecanismo de la Figura 24.

La dependencia con el parámetro π^* se explica en términos de las interacciones de los intermediarios cargados con solventes que tienen alta capacidad

para estabilizar cargas o dipolos. La inhibición de la reacción, relativamente débil (dependencia negativa, pero pequeña con el parámetro α), puede ser entendida considerando que la interacción de solventes HBD con el grupo amino en posición 4, disminuye el efecto donador de electrones del grupo amino hacia el anillo fenólico, disminuyendo la carga negativa sobre éste.

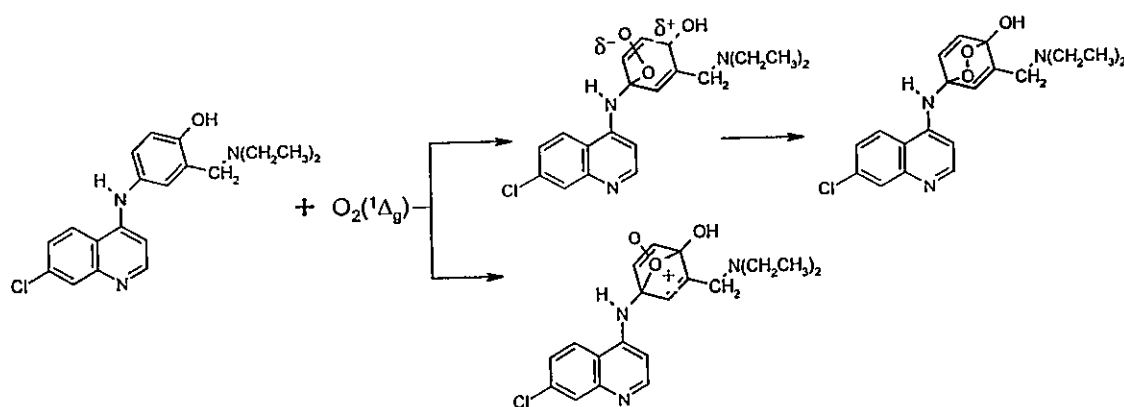


Figura 24. Mecanismo propuesto de interacción entre amodiaquina y $O_2(^1\Delta_g)$.

Para la primaquina, el análisis LSER muestra que la constante de velocidad total para la reacción de este compuesto con $O_2(^1\Delta_g)$ depende con los parámetros π^* , α , β y ρ_H , siendo muy importante la dependencia con el parámetro de dipolaridad/polarizabilidad, lo que es indicativo de la formación de un complejo de encuentro en el cual se produce una significativa separación de carga. Por el valor del coeficiente asociado al parámetro de acidez del solvente, $-0,494$, es posible que la influencia de solventes HBD corresponda a interacciones secundarias, que bloquean parcialmente el sitio reactivo por formación de enlace de hidrógeno con un átomo vecino al lugar en que se produce el ataque del oxígeno excitado. La dependencia con el parámetro de basicidad del solvente es compatible, y así ha sido ampliamente demostrado, con interacciones estabilizantes entre este tipo de solventes y cargas positivas que se desarrollan en el complejo de encuentro. Más importante en este caso, es la dependencia de la constante de velocidad con el parámetro de Hildebrand, que implica que el complejo de encuentro tiene un menor volumen molar

que los raccionantes por separado, resultado que típicamente se observa en reacciones de cicloadición concertadas o parcialmente concertadas. Los resultados del análisis LSER para la primaquina, permiten descartar el ataque electrofílico directo del oxígeno excitado con los electrones no enlazantes, sobre un átomo de alta densidad electrónica, como es el caso del átomo de nitrógeno y sugieren que la reacción podría ocurrir por interacción sobre el anillo quinolínico.

En la literatura existen muy pocos datos cinéticos que den cuenta de la reactividad del anillo quinolínico frente al oxígeno excitado, más aún como se señaló al comienzo de esta discusión, los valores reportados para la reacción de la quinolina con $O_2(^1\Delta_g)$, probablemente no fueron obtenidos en condiciones experimentales apropiadas. Para entender los resultados LSER obtenidos para la primaquina, es importante considerar los datos cinéticos obtenidos para los modelos simples de drogas antimaláricas estudiadas en este trabajo, quinolina, 6-metoxiquinolina y 8-aminoquinolina.

Los datos de la Tabla 15, muestran que las constantes de velocidad para la reacción entre la quinolina y el $O_2(^1\Delta_g)$ son del orden de $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en todos los solventes empleados. El orden de reactividad del compuesto 6-metoxi sustituido aumenta ligeramente (constantes de velocidad en el rango $10^5 - 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) y la inclusión de un sustituyente 8-amino, aumenta la constante de velocidad en alrededor de dos órdenes de magnitud. Para los tres compuestos, quinolina y sus derivados 6-metoxi y 8-amino sustituidos, las ecuaciones LSER (Tabla 18), muestran que la constante de velocidad total depende con los mismos parámetros del solvente π^* , α , β y ρ_H , (y que son los mismos de los cuales depende la constante de velocidad para la reacción de primaquina con el $O_2(^1\Delta_g)$). Es importante considerar que esta dependencia es la misma que se ha reportado previamente para la reacción del 1,4-dimetilnaftaleno con oxígeno singulete, compuesto que reacciona típicamente por un mecanismo de cicloadición [2+4] parcialmente concertado para dar un intermediario endoperóxido. Los datos para la ecuación LSER correspondientes al 1,4-

dimetilnaftaleno, también se incluyen en la Tabla 16. Los pesos estadísticos de los coeficientes, asociados a los parámetros solvatocrómicos en la ecuación LSER correspondiente a la quinolina, no presentan grandes diferencias entre sí, lo que es compatible con un mecanismo de cicloadición parcialmente concertada, en que no se produce una muy importante separación de carga. En el caso de la 6-metoxiquinolina, llama la atención el mayor peso estadístico de los coeficientes asociados a los parámetros α y β , encontrándose que los solventes HBD inhiben fuertemente la reacción. Este comportamiento se puede entender en términos de interacciones del solvente HBD con el grupo metoxilo, que limita la capacidad del sustituyente para donar electrones por efecto resonante hacia el anillo heterocíclico. Para el compuesto 8-amino sustituido, se observa una muy importante dependencia con el parámetro π^* , lo que implica que para la reacción de este compuesto con $O_2(^1\Delta_g)$, se produce una mayor separación de carga en el complejo de encuentro. Los datos de la Tabla 16 muestran que a mayor poder donador de electrones del sustituyente, mayor es la separación de carga en el complejo. Para la 8-aminoquinolina, al igual que en los otros dos modelos simples, también se encontró una dependencia negativa con el parámetro de acidez del solvente, lo que se puede interpretar en términos de interacciones, vía formación de enlaces de hidrógeno, de este tipo de solventes con el sustituyente amino, lo que disminuye el efecto dador de carga del sustituyente hacia el anillo quinolínico. Finalmente, para los tres compuestos, se encontró que la constante de velocidad depende con el parámetro de Hildebrand, lo que implica un menor número de moléculas de solvente en la esfera de solvatación del complejo de encuentro, relativo a los reaccionantes por separado, comportamiento típico de reacciones que proceden por mecanismos de cicloadición.

Un apoyo adicional que indica que los tres compuestos modelo estudiados y la primaquina reaccionan con el oxígeno molecular singulete vía un mecanismo de cicloadición parcialmente concertado se obtiene del análisis del efecto de los sustituyentes sobre las velocidades de reacción, k_r , medidas en cloroformo, empleando la ecuación de Hammett. Del gráfico de la Figura 21, que muestra la

correlación entre los valores experimentales de $\log k_r^{QS} / k_r^Q$, vs los valores calculados según la Ecuación (46), se encuentra que existe un buen acuerdo entre los datos empíricos y los valores teóricos. Los coeficientes en esta ecuación, muestran que, para esta reacción los efectos de campo son más importantes que los efectos resonantes y que derivados quinolínicos con sustituyentes que tienen valores pequeños o negativos de ρ son más reactivos hacia el oxígeno excitado. De manera similar, mientras más pequeño o negativo es el valor ρ' del sustituyente, más grande es el valor de k_r . Este resultado es indicativo de que el oxígeno excitado reacciona con los compuestos considerados mediante el mismo mecanismo, observándose una disminución de la constante de velocidad, cuando se incluyen sustituyentes fuertemente atractores de electrones en el anillo aromático que sigue la tendencia: $PQ > NH_2Q > 6\text{-MeOQ} > 6\text{-ClQ} \approx 7\text{-ClQd}$.

En la Figura 22, se observan las correlaciones entre los valores experimentales de las constantes de velocidad total y los índices de Fukui para el ataque electrofílico sobre distintas posiciones en el anillo quinolínic. Las mejores correlaciones se obtienen para las posiciones 5 y 8 del anillo quinolínic, lo que indica que estas posiciones son las más susceptibles de reaccionar, vía una cicloadición parcialmente concertada, con el oxígeno excitado.

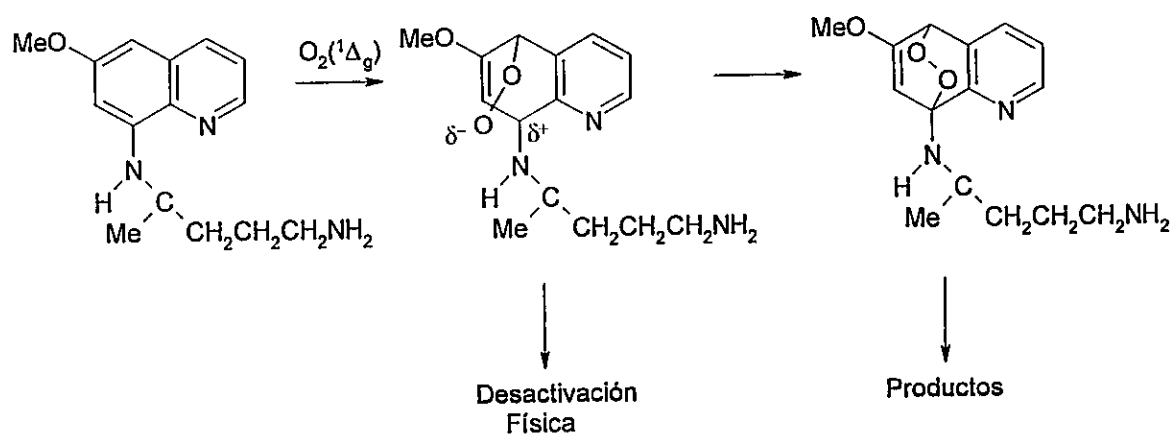


Figura 25. Mecanismo propuesto de interacción entre primaquina y $O_2(^1\Delta_g)$.

Sobre la base de estas consideraciones, es que se propone que la reacción del oxígeno excitado con la primaquina transcurre vía una cicloadición parcialmente concertada al anillo quinolínico que probablemente involucra las posiciones 5 y 8 de éste, como se muestra en el esquema de la Figura 25.

Este mecanismo permite explicar la reactividad de la primaquina hacia el oxígeno molecular singulete y la dependencia de la constante de velocidad con los parámetros empíricos del solvente observada en la ecuación LSER obtenida para ésta. La primaquina es la más reactiva de las drogas antimaláricas que no incluyen un grupo amino terciario en su estructura, más aún, su reactividad es comparable y en algunos solventes, particularmente en solventes próticos, mayor que la de las otras drogas. Esta mayor reactividad puede explicarse por la presencia del sustituyente amino en posición 8, por comparación con la molécula modelo 8-aminoquinolina, que dirige el ataque electrofílico a la posición 5 del anillo quinolínico y en consecuencia el complejo de encuentro presentaría una mayor separación de cargas. La importante dependencia con el parámetro π^* , implica que para la reacción de este compuesto con $O_2(^1\Delta_g)$, se produce una apreciable separación de carga en el complejo de encuentro. compatible con el análisis LSER para los compuestos modelo quinolina, 6-metoxiquinolina y 8-aminoquinolina, que muestra que a mayor poder donador de electrones del sustituyente, es mayor la separación de carga en el exciplexo. La dependencia negativa con el parámetro de acidez del solvente, se puede interpretar en términos de interacciones, vía formación de enlaces de hidrógeno, de este tipo de solventes con el sustituyente amino secundario en posición 8, lo que disminuye el efecto dador de carga del sustituyente hacia el anillo quinolínico. Finalmente, la dependencia de la constante de velocidad con el parámetro de Hildebrand, se entiende en términos del carácter parcialmente concertado de la cicloadición del oxígeno excitado al anillo quinolínico, de manera similar a lo encontrado previamente para el 1,4-dimetilnaftaleno.

Los resultados obtenidos empleando ecuaciones que correlacionan los valores experimentales de la constante de velocidad total con parámetros teóricos del solvente, ecuaciones TLSEER, comparan razonablemente con el análisis realizado utilizando ecuaciones LSER. Los datos de la Tabla 17, muestran que en todos los casos, no se observa dependencia con el parámetro que representa la polarizabilidad del solvente, π_1 . La pérdida de la dependencia con el parámetro π_1 en las ecuaciones TLSEER, puede ser debida a la inhabilidad de éste parámetro para modelar la dipolaridad del solvente. Este parámetro, modela la capacidad del solvente para estabilizar interacciones dispersivas dipolo-dipolo inducido y dipolo inducido-dipolo inducido. Hasta donde se conoce, no se han propuesto modelos adecuados para modelar la dipolaridad por sí misma, mediante ecuaciones TLSEER. Sin embargo, se puede observar de la Tabla 17, que para las tres drogas que, de acuerdo al análisis LSER, reaccionan por un mecanismo de transferencia de carga por interacción de un grupo amino terciario localizado en una cadena lateral, quinina, cloroquinina y quinacrina, se encuentra la misma dependencia con los parámetros TLSEER. Para estos compuestos, las ecuaciones TLSEER muestran que la constante de velocidad total para la desactivación del oxígeno molecular singulete por estos compuestos, depende con los parámetros e_b , e_a , q y q_+ , lo que puede implicar que las interacciones estabilizantes asociadas a los parámetros empíricos π^* y β tienen su origen en interacciones de naturaleza esencialmente covalente, mientras que el bloqueo estérico del centro reactivo, en este caso el átomo de nitrógeno correspondiente al grupo amino terciario es de naturaleza esencialmente electrostática. De forma análoga, el análisis TLSEER para los compuestos modelo, quinolina, 6-metoxiquinolina y 8-aminoquinolina, y la droga antimalárica, primaquina, predice en todos los casos que la constante de velocidad depende en todos los casos, con el parámetro de Hildebrand, lo que es compatible con un mecanismo de reacción parcialmente concertado. Además, para estos compuestos se encuentra que la velocidad de reacción disminuye en solventes HBD, probablemente por interacciones electrostáticas de este tipo de solventes con los sustituyentes donores de electrones (metoxilo, amino primario y amino secundario en el caso de 6-metoxiquinolina, 8-aminoquinolina y primaquina, respectivamente), lo que causa una

disminución de la capacidad del sustituyente de donar carga hacia el anillo quinolínico. En la ecuación TLSEER para la quinolina, se pierde la dependencia negativa con el parámetro q_+ , probablemente porque corresponde al modelo no sustituido. Para este mismo grupo de compuestos la dependencia con los parámetros empíricos de polarizabilidad/dipolaridad y de basicidad del solvente observada en la ecuación LSER, probablemente se expresa en la ecuación TLSEER por la dependencia con los parámetros de acidez covalente e_a y de basicidad electrostática q_- . Finalmente, para la amodiaquina la ecuaciones TLSEER predicen que el efecto inhibitor de la reacción de este compuesto con oxígeno molecular singulete por solventes HBD tiene su origen en intracciones de naturaleza electrostática de solventes de este tipo con el grupo amino secundario en el sustituyente aminofenol, mientras que las interacciones estabilizantes en solventes de altos valores de π^* , como se encuentra a partir del análisis LSER, principalmente corresponden a interacciones covalentes por la dependencia con el parámetro e_a y que explicaría las interacciones electrostáticas de solventes de carácter básico con la carga positiva que se desarrollaría en el complejo de encuentro.

8.2.2 Desactivación química, k_r , y productos de reacción.

Las constantes de velocidad para la desactivación química del $O_2(^1\Delta)_g$ y PQ (Tabla 18), muestran que tanto en metanol como en acetonitrilo, hay predominio del proceso de desactivación física. Sin embargo, en metanol la contribución de la reacción química es más importante. Las medidas realizadas en metanol, para 8-AmQ, también muestran un mayor valor de k_r ($k_r = 5,15 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ y $k_r = 1,98 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Estos resultados refuerzan la proposición de que ambos compuestos reaccionan mediante un mismo mecanismo. Además, dada la compleja distribución de productos, observada para la reacción de primaquina con oxígeno molecular singulete, compuestos que no fue posible identificar por medio de experimentos de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas, cromatografía en columna semipreparativa y resonancia magnética nuclear, por la extrema

inestabilidad de éstos. Así, es muy probable que los efectos fotosensibilizadores de la droga en sistemas biológicos, tengan su origen al menos parcialmente, en las reacciones de la primaquina con especies activas de oxígeno.

9 CONCLUSIONES

En este trabajo, se ha demostrado que las drogas antimaláricas más frecuentemente utilizadas, con excepción de la primaquina, sensibilizan la formación de oxígeno molecular singulete en medio orgánico. En consecuencia, los efectos laterales adversos, asociados al tratamiento de la malaria con estas drogas, pueden ser relacionados al menos parcialmente, a la habilidad de estos fármacos para producir oxígeno excitado.

Los resultados obtenidos en este trabajo, muestran claramente que en solventes orgánicos, la eficiencia con que la primaquina desactiva al oxígeno molecular singulete no es el proceso que explica los bajos rendimientos cuánticos con que esta droga genera $O_2(^1\Delta)_g$, como se había sugerido previamente. Dos podrían ser los factores críticos que determinan que la primaquina genere oxígeno molecular singulete con muy bajo rendimiento cuántico. La naturaleza $n-\pi^*$ del estado singulete de más baja energía y la falta de un mecanismo eficiente de inversión de espín que promueva el cruce entre sistemas a partir de este estado, y la posición de los sustituyentes en el anillo quinolínico de la droga, que podrían favorecer una interacción del tipo enlace de hidrógeno entre los hidrógenos del grupo amino secundario de la cadena lateral y el nitrógeno del anillo quinolínico, pudiendo cambiar sustancialmente el comportamiento fotofísico de la droga.

La quinina por su parte, es la droga antimalárica que produce oxígeno molecular singulete con mayor eficiencia, en todos los solventes empleados en este estudio. Por analogía con el comportamiento encontrado para el compuesto modelo 6-metoxiquinolina que presenta rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singulete de alrededor de 1 en solventes polares, se ha encontrado que la sustitución por un grupo metoxi en posición 6 del anillo quinolínico, produce cambios muy significativos en el comportamiento fotofísico de estas moléculas y que el aumento en la eficiencia con que estos compuestos generan oxígeno excitado, se origina en un mezclado de estados más favorable, entre el primer singulete excitado

de naturaleza $\pi\sigma, \pi^*$ con estados triplete superiores, lo que promueve un eficiente cruce entre sistemas.

Las cinco drogas antimaláricas estudiadas, corresponden a buenos desactivantes del $O_2(^1\Delta)_g$, ya que presentan constantes de velocidad del orden de $10^7 M^{-1} s^{-1}$.

Para los compuestos quinina, cloroquina y quinacrina los valores de k_r aumentan en solventes que tienen gran capacidad para estabilizar cargas y/o dipolos y en solventes aceptores de enlace de hidrógeno y disminuyen en solventes con valores altos del parámetro α . Esta dependencia con los parámetros microscópicos del solvente es similar a la observada en aminas terciarias de similar reactividad, tal como la trietilamina y consecuentemente, indica que las drogas quinina, cloroquina y quinacrina reaccionan con el oxígeno molecular singulete muy probablemente vía la formación un complejo de transferencia de carga. De acuerdo con estos resultados el centro reactivo en estas drogas antimaláricas correspondería al grupo amino terciario en la cadena lateral.

La amodiaquina es la menos reactiva de las drogas antimaláricas estudiadas y para este compuesto, el análisis LSER muestra que la constante de velocidad total depende de los parámetros solvatocrómicos π^* , δ y α . Los datos cinéticos son compatibles con un bloqueo del grupo amino terciario debido a una interacción de enlace de hidrógeno intramolecular, que impide el ataque del oxígeno singulete sobre este centro. Además los estudios realizados con los compuestos modelo 6-cloroquinolina y 7-cloroquinaldina muestran que la inclusión de sustituyentes atractores de electrones en el anillo aromático disminuye la densidad de carga sobre éste, con la concomitante disminución de reactividad frente al oxígeno excitado. Datos de la literatura y los resultados obtenidos del análisis LSER para este compuesto, sugieren que la reacción entre amodiaquina y $O_2(^1\Delta)_g$, puede ocurrir sobre el sustituyente p-aminofenol en la posición del anillo quinolínico, vía la

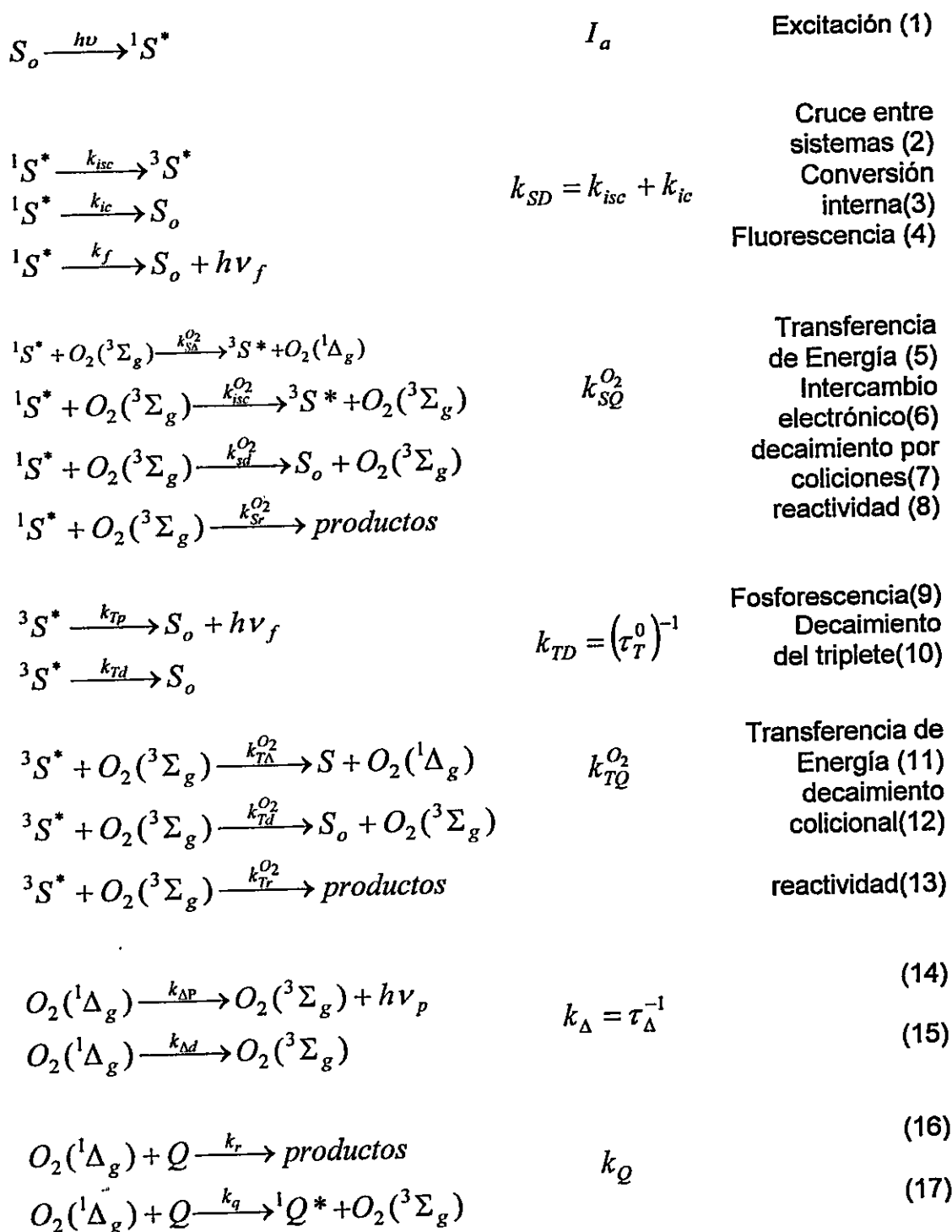
formación de un intermediario peróxido y/o vía una cicloadición [2+4] parcialmente concertada.

Para la primaquina, el análisis LSER muestra que la constante de velocidad total para la reacción de este compuesto con $O_2(^1\Delta)_g$ depende con los parámetros π^* , α , β y ρ_H , siendo muy importante la dependencia con el parámetro de dipolaridad/polarizabilidad, lo que es indicativo de la formación de un complejo de encuentro en que se produce una significativa separación de carga. La misma dependencia con los parámetros microscópicos del solvente fue encontrada para los modelos simples de drogas antimaláricas quinolina, 6-metoxiquinolina y 8-aminoquinolina. A partir del análisis del efecto del sustituyente para estos compuestos y de correlaciones con los índices de reactividad de Fukui, se concluye que en este caso el mecanismo de reacción, implica la cicloadición parcialmente concertada del oxígeno excitado al anillo quinolínico, involucrando muy probablemente las posiciones 5 y 8.

El análisis de la dependencia de la constante de velocidad con el solvente en términos de ecuaciones de correlación multiparámetrica a partir de relaciones lineales de energía libre de solvatación, corresponde a una herramienta muy apropiada para dar cuenta del mecanismo de la reacción, en particular cuando la identificación de los productos de la reacción es compleja.

ANEXO 1

Esquema cinético simplificado, para la reducción fotosensibilizada del oxígeno molecular singlete:



ANEXO 2

Tabla 19. Parámetros semiempíricos y descriptores teóricos del solvente

Solvente	π^*	α	β	π_1	e_b	q^-	e_a	q^+	ρ_H^2
Heptano	-0.08	0.0	0.00	0.1033	0.1258	0.0217	0.1455	0.0045	54.76
Hexano	-0.04	0.00	0.00	0.1033	0.1252	0.0218	0.1450	0.0045	53.29
Eter etílico	0.27	0.00	0.47	0.1034	0.1365	0.3423	0.1456	0.0071	54.76
Dioxano	0.55	0.00	0.37	0.1091	0.1391	0.3230	0.1478	0.0327	100.00
A. de etilo	0.55	0.00	0.45	0.1108	0.1314	0.3570	0.1687	0.0260	52.81
Cloroformo	0.58	0.20	0.10	0.1217	0.1165	0.1122	0.1849	0.0876	86.49
Benceno	0.59	0.00	0.10	0.1273	0.1517	0.0593	0.1744	0.0593	84.64
Acetona	0.71	0.08	0.43	0.1003	0.1380	0.2847	0.1715	0.0234	98.01
Acetonitrilo	0.75	0.19	0.40	0.1008	0.1177	0.1146	0.1622	0.0209	141.61
Diclorometano	0.82	0.13	0.10	0.1113	0.1207	0.1602	0.1773	0.0555	94.09
DMF	0.88	0.00	0.69	0.1122	0.1445	0.4779	0.1641	0.0562	146.41
Benzonitrilo	0.90	0.00	0.37	0.1336	0.1475	0.0867	0.1833	0.0696	70.56
Formamida	0.97	0.71	0.48	0.965	0.1371	0.3553	0.1667	0.1572	368.64
n-pentanol	0.40	0.84	0.86	0.1023	0.1326	0.3246	0.1456	0.1803	118.81
n-hexanol	0.40	0.80	0.84	0.1020	0.1326	0.3247	0.1462	0.1803	108.16
n-octanol	0.40	0.77	0.81	0.1043	0.1326	0.3247	0.1468	0.1803	106.09
n-butanol	0.47	0.84	0.84	0.1012	0.1326	0.3247	0.1449	0.1803	129.96
n-propanol	0.52	0.84	0.90	0.1006	0.1326	0.3244	0.1442	0.1802	141.61
Etanol	0.54	0.86	0.75	0.0980	0.1326	0.3234	0.1429	0.1799	161.29
Metanol	0.60	0.98	0.66	0.0924	0.1314	0.3291	0.1402	0.1803	210.25
Trifluoroetanol	0.73	1.51	0.00	0.6167	0.0825	0.1218	0.2973	0.1639	136.89
A. bencílico	0.98	0.60	0.52	0.1279	0.1517	0.3209	0.1757	0.1790	146.41

ANEXO 3

A continuación, se presentan los índices de reactividad de Fukui frente al ataque electrofílico, con base en la densidad electrónica sobre cada átomo en el orbital HOMO de los compuestos quinolínicos y acridinas. Calculos semiempíricos PM3 para sistemas de capa cerrada, RHF.

Tabla 20. Índices de Fukui, para Q.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.091789
2 C	0.222947
3 C	0.002281
4 C	0.006839
5 C	0.224947
6 C	0.086725
7 H	0.000000
8 H	0.000000
9 H	0.000000
10 C	0.122997
11 H	0.000000
12 H	0.000000
13 C	0.046656
14 C	0.075617
15 H	0.000000
16 H	0.000000
17 N	0.119201

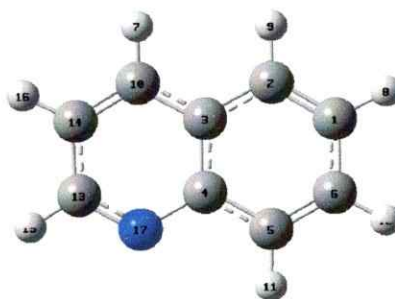


Figura 26. Quinolina.

Tabla 21. Índices de Fukui, para 8-AmQ.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.033283
2 C	0.191033
3 C	0.002686
4 C	0.040432
5 C	0.115675
6 C	0.156633
7 H	0.000003
8 H	0.000002
9 C	0.042973
10 H	0.000053
11 C	0.034493
12 C	0.017630
13 H	0.000001
14 H	0.000001
15 N	0.033713
16 N	0.309957
17 H	0.009340
18 H	0.012091
19 H	0.000001

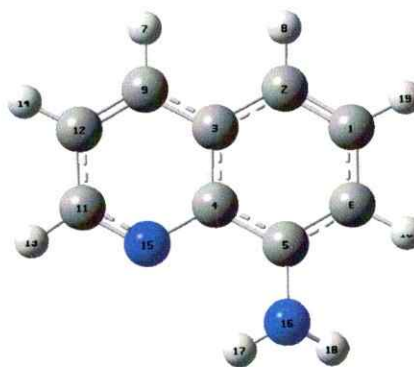
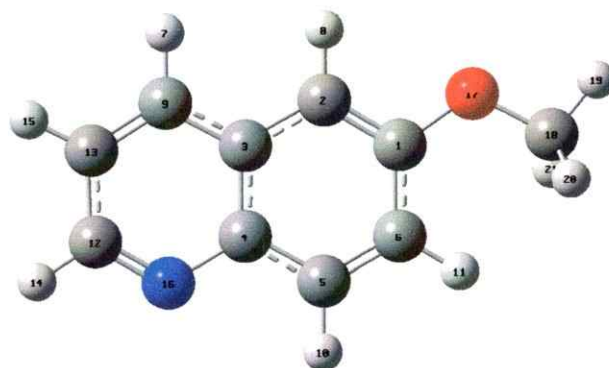


Figura 27 . 8-Aminoquinolina.

Tabla 22. Índices de Fukui, para 6-MeOQ.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.042646
2 C	0.227793
3 C	0.021112
4 C	0.000069
5 C	0.183508
6 C	0.097549
7 H	0.000000
8 H	0.000000
9 C	0.137538
10 H	0.000003
11 H	0.000001
12 C	0.020303
13 C	0.140235
14 H	0.000000
15 H	0.000000
16 N	0.122313
17 O	0.002772
18 C	0.003600
19 H	0.000223
20 H	0.000262
21 H	0.000074

**Figura 28.** 6-Metoxiquinolina.**Tabla 23.** Índices de Fukui, para 7-ClQd.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.006405
2 C	0.127792
3 C	0.040921
4 C	0.003990
5 C	0.222089
6 C	0.143052
7 H	0.000000
8 H	0.000000
9 H	0.000000
10 C	0.073168
11 H	0.000000
12 C	0.006601
13 C	0.106343
14 H	0.000000
15 N	0.088668
16 Cl	0.180228
17 C	0.000144
18 H	0.000298
19 H	0.000299
20 H	0.000000

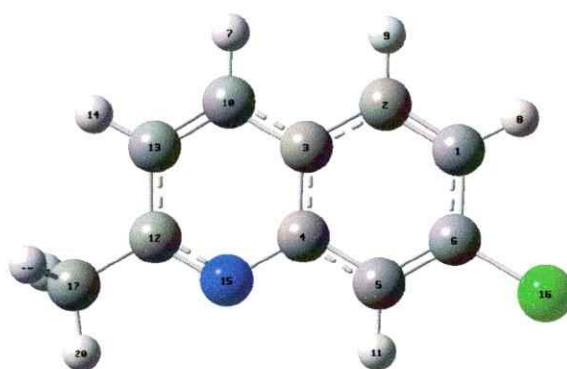
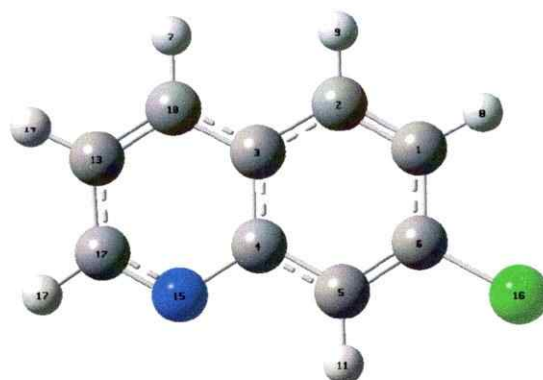
**Figura 29.** 7-Cloroquinolina.

Tabla 24. Indices de Fukui, para 7-ClQ.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.002969
2 C	0.119893
3 C	0.050185
4 C	0.006840
5 C	0.212037
6 C	0.149226
7 H	0.000000
8 H	0.000000
9 H	0.000000
10 C	0.069443
11 H	0.000000
12 C	0.003190
13 C	0.115155
14 H	0.000000
15 N	0.079696
16 Cl	0.191365
17 H	0.000000

**Figura 30.** 7-Cloroquinolina.**Tabla 25.** Indices de Fukui, para Qd.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.125422
2 C	0.206904
3 C	0.001480
4 C	0.021753
5 C	0.215704
6 C	0.053099
7 H	0.000000
8 H	0.000000
9 H	0.000000
10 C	0.111421
11 H	0.000000
12 C	0.078139
13 C	0.037052
14 H	0.000000
15 N	0.135621
16 H	0.003609
18 H	0.004898
19 H	0.004899
20 H	0.000000

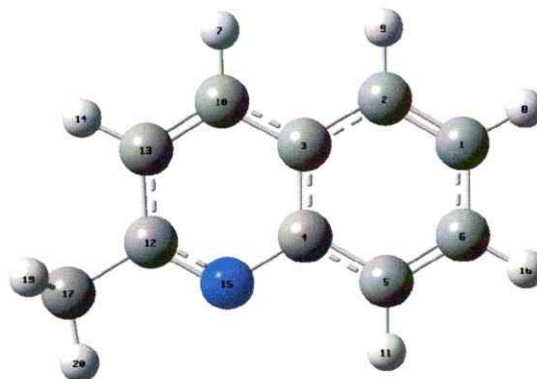
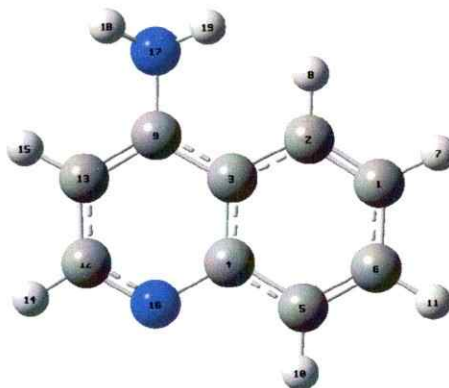
**Figura 31.** Quinaldina.

Tabla 26. Indices de Fukui, para 4-AmQ.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.062280
2 C	0.085689
3 C	0.013023
4 C	0.001311
5 C	0.098399
6 C	0.027438
7 H	0.000001
8 H	-0.000045
9 C	0.104120
10 H	0.000003
11 H	0.000000
12 C	0.025645
13 C	0.167318
14 H	0.000004
15 H	0.000042
16 N	0.156366
17 N	0.240894
18 H	0.009653
19 H	0.007859

**Figura 32.** 4-Aminoquinolina.**Tabla 27.** Indices de Fukui, para 4-OHMeQ.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.082271
2 C	0.205251
3 C	0.001131
4 C	0.003765
5 C	0.205612
6 C	0.084374
7 H	0.000003
8 H	-0.000006
9 C	0.139796
10 H	0.000000
11 H	0.000000
12 C	0.041591
13 C	0.090745
14 H	0.000001
15 H	0.000000
16 N	0.127004
17 C	0.002975
18 H	0.008496
19 H	0.001802
20 O	0.004949
21 H	0.000239

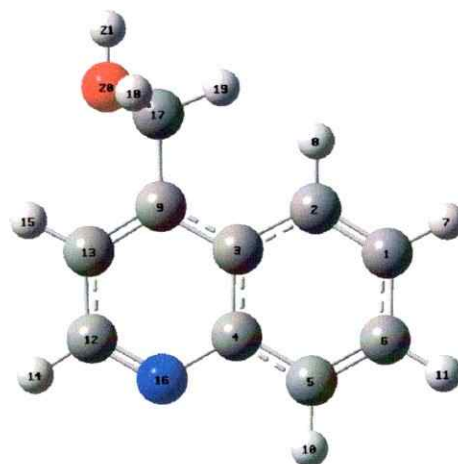
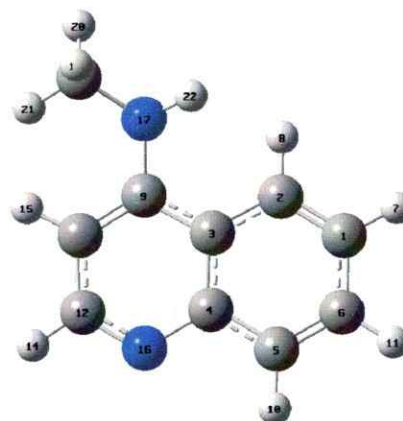
**Figura 33 .** 4-Hidroximetilquinolina.

Tabla 28. Índices de Fukui, para 4-MeAmQ.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.057405
2 C	0.074063
3 C	0.014761
4 C	0.001212
5 C	0.086797
6 C	0.023000
7 H	0.000002
8 H	-0.000070
9 C	0.093423
10 H	0.000007
11 H	0.000000
12 C	0.022928
13 C	0.163376
14 H	0.000004
15 H	0.000077
16 N	0.148136
17 N	0.274157
18 C	0.011469
19 H	0.016670
20 H	0.002559
21 H	0.000901
22 H	0.009123

**Figura 34.** 4-Metilaminoquinolina.**Tabla 29.** Índices de Fukui, para 8-MeAmQ.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.029491
2 C	0.176118
3 C	0.002382
4 C	0.039606
5 C	0.101983
6 C	0.148927
7 H	0.000007
8 H	0.038266
10 H	0.000104
11 C	0.031939
12 C	0.015031
13 H	0.000000
14 H	0.000000
15 N	0.029214
16 N	0.338040
17 H	0.010135
18 H	0.000000
19 C	0.014016
20 H	0.020603
21 H	0.001400
22 H	0.002734

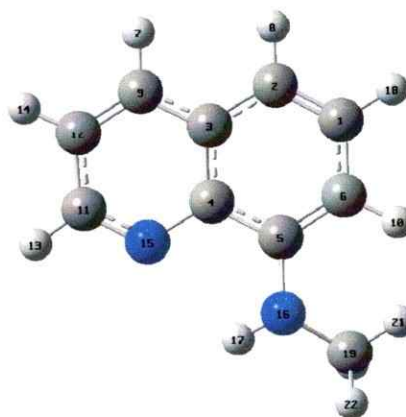
**Figura 35.** 8-Metilaminoquinolina.

Tabla 30. Índices de Fukui, para Ac.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.063964
2 C	0.102635
3 C	0.013125
4 C	0.004519
5 C	0.106127
6 C	0.053437
7 H	0.000000
8 H	0.000000
9 C	0.155003
10 H	0.000000
11 C	0.004501
12 C	0.013105
13 N	0.157021
14 C	0.102783
15 C	0.064020
16 C	0.053474
17 C	0.106286
18 H	0.000000
19 H	0.000000
20 H	0.000000
21 H	0.000000
22 H	0.000000
23 H	0.000000

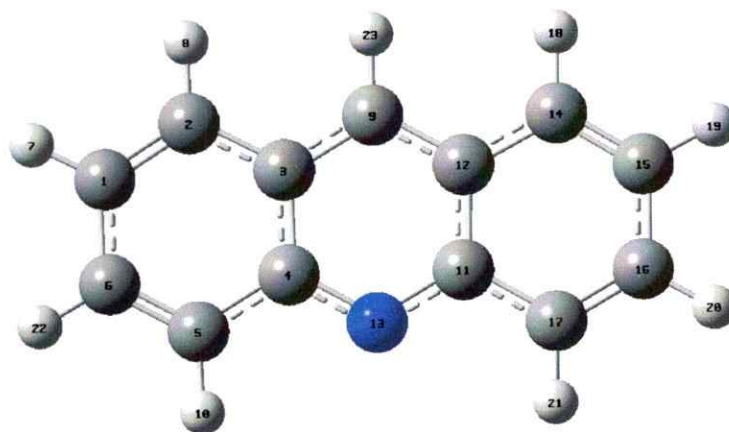
**Figura 36.** Acridina.

Tabla 31. Índices de Fukui, para Cl,OH-Ac

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.030323
2 C	0.076446
3 C	0.002217
4 C	0.009625
5 C	0.156651
6 C	0.064624
7 H	0.000000
8 H	0.000000
9 C	0.117593
10 H	0.000000
11 C	0.001196
12 C	0.021113
13 N	0.171758
14 C	0.078329
15 C	0.060746
16 C	0.041002
17 C	0.114850
18 H	0.000000
19 H	0.000000
20 H	0.000000
21 H	0.000000
22 Cl	0.025870
23 O	0.027655
24 H	0.000000

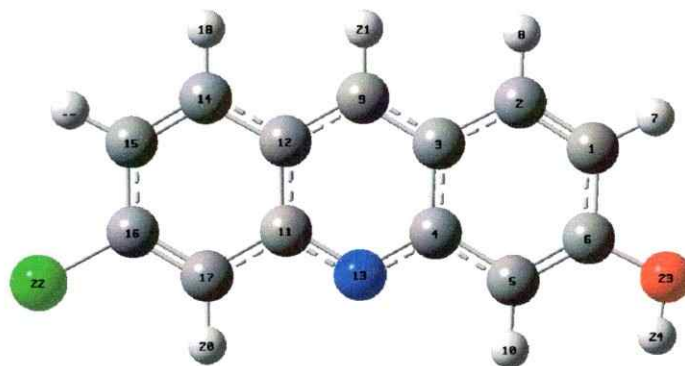
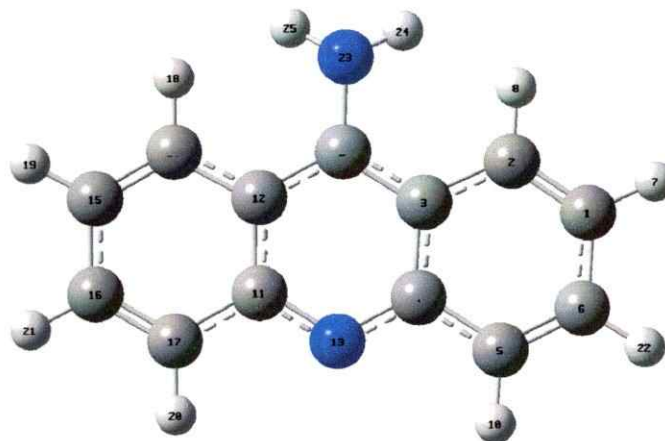
**Figura 37.** 2-Cloro -7-hidroxi acridina.

Tabla 32. Índices de Fukui, para 9-AmAc.

Átomo	Índice de Fukui
1 C	0.064326
2 C	0.059202
3 C	0.047275
4 C	0.002478
5 C	0.074729
6 C	0.026228
7 H	0.000001
8 H	-0.000037
9 C	0.109315
10 H	0.000000
11 C	0.002474
12 C	0.047253
13 N	0.184917
14 C	0.059223
15 C	0.064337
16 C	0.026229
17 C	0.074762
18 H	-0.000037
19 H	0.000001
20 H	0.000000
21 H	0.000000
22 H	0.000000
23 N	0.145135
24 H	0.006094
25 H	0.006095

**Figura 38.** 9-Aminoacridina.

ANEXO 4

Publicaciones y presentaciones a Congresos generadas por el proyecto a la fecha actual (Mayo del 2003)

Publicación

Cristina Valencia U., Else Lemp and Antonio L. Zanocco, *Quantum Yields of Singlet Molecular Oxygen, O₂(¹dg), Produced by Antimalaric Drugs in Organic Solvents*, *J. Ch. Chem. Soc.*, Aceptado para su publicación.

Presentaciones a Congresos

XIIth Inter-American Photochemical society conference, 12th IAPS: "*Singlet Oxygen Production by Antimalaric Drugs*", Cristina Valencia, Else Lemp M. and Antonio L. Zanocco. Ascochinga, Córdoba, Argentina, 20 al 25 de Mayo del 2001.

XXIV Jornadas Chilenas de Química. "*Producción y apagamiento de oxígeno molecular singulete por drogas antimaláricas*", Cristina Valencia, Else M. Lemp y Antonio Zanocco. Temuco, Chile, 28 al 30 de Noviembre del 2001.

VII Encuentro Latinoamericano de Fotoquímica y Fotobiología, ELAFOT. "*Mecanismo de interacción de drogas antimaláricas con oxígeno molecular singulete, acción fotosensibilizadora*", Cristina Valencia, Else M. Lemp y Antonio Zanocco. Viña del Mar, Chile, Noviembre 19 al 23 del 2002.

10 BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Francis, S. E.; Sullivan, D. J.; Jr. y Goldberg, D. E. *Ann. Rev. Microbiol.* **51**(1997) 97-123. Sanni, L. A.; Fu, S.; Dean, R.T.; Bloomfield, G.; Stocker, R.; Chaudhri, G.; Dinauer, M. C. y Hunt, N. H. *J. Infect. Dis.*, **179**(1999) 217-222.
- ² Krishna, C. M.; Uppuluri, S.; Riesz, P.; Zingler, J. S. y Balasubramanian, D. *Photochem. Photobiol.*, **54** (1991) 51-58.
- ³ Kristensen, S.; Karlsen, J. y Tonnensen, H. H., *Pharm. Sci. Commun.*, **4**(1994) 183-181.
- ⁴ Lingquist, N. S. y Ullberg. *The Phentadiazines and Structurally Related Drugs*, Raven, N.Y. 1974, pp. 413-423. Ings, R. M. J. *Drug. Metab. Rev.*, **15** (1984)1183-1212.
- ⁵ Kristensen, S; Grinberg, L. y Tennesen, H.H. *Eur. J. Pharm. Sc.*, **5**(1997)139-146.
- ⁶ Vera-Lastra, O., Madarriaga, S.; Ariza, R.;Altamirano, E; Bailé, L.; Jara, L. J. Y Miranda, J. *Arthr. Rheum.*, **41:9**(1998) 454.
- ⁷ Sarna, T., Menon, I.A. y Sealy, R. C. *Photochem. Photobiol.*, **42** (1985) 529-532.
- ⁸ Sarna, T. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **12**(1992) 215-258.
- ⁹ Kristensen, S.; Karlsen, J. y Tonnensen, H. H., *Pharm. Sci. Commun.*, **4**(1994) 183-181.
- ¹⁰ Larson, B. y Tjälve, H. *Biochem. Pharmacol.*, **28** (1979) 1181-1187.
- ¹¹ Spikes, J. D. *J. Photochem. Photobiol., B: Biology* **42**(1998)1-11.
- ¹² Motten, A.G., Martínez, L.J., Holt, N., Sik, R.H., Reszka, K., Chignell, C.F., Tonnesen, H.H. y Roberts, J.E., *Photochem. Photobiol.*, **69** (1999) 282-287.
- ¹³ Kristensen, S.; Wang, R. H.; Tonnesen, H.; Dillon, J. y Roberts, J. E. *Photochem. Photobiol.*, **61** (1995)124-130.
- ¹⁴ Nord, K.; Karisen, J. y Tenesen, H. H. *Photochem. Photobiol.*, **60:5**(1994)427-431.
- ¹⁵ Nord, Karin; Karisen, J. y Tenesen, H. H., *Int. J. of Pharm.*, **72**(1991):11-18.
- ¹⁶ Rosenberg, L. S. y Schulman, S. G., *J. Pharm. Sc.*, **67** (1978)1770-1772.

- ¹⁷ Moore, D.E. y Hemmens, V.J., *Photochem. Photobiol.*, **36**(1982)71-77.
- ¹⁸ Shaun, R.; Hawley, et. al., *Biochem. Pharmacol.*, **52**(1996)723-733
- ¹⁹ Bossi, A.; Millet, p.; Landau, I.; Bembenek, M. E. y Abell, C.W. *FEBS Lett.*, **214**(1987)29.
- ²⁰ Kristensen, S.; Nord, K.; Orsteen, A.L. y Tennesen, H. H. *Pharmazie*, **53:2**(1998)98-103.
- ²¹ Motten, A.; Martínez, L.; Holt, N.; Sik, R.; Reszka, K.; Chignell, C.; Tennesen, H. H. y Roberts, J. E., *Photochem. Photobiol.*, **69:3**(1999)282-287.
- ²³ Wilkinson, F. y Brummer, J. G., *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **10**(1981) 809-999.
- ²⁴ Larson, R.A. y Marley, K.A. *Phytochem.*, **23:10**(1984)2351-2354.
- ²⁵ Schmidt, R.; Tanielian, Ch.; Dunsbach, R. y Wolff, Ch., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **79**(1994)11-17.
- ²⁶ Lissi, E.A.; Encinas, M.V.; Lemp, E. y Rubio, M.A. *Chem Rev.*, **93**(1993)704-705.
- ²⁷ Kristensen, S; Grislingaas, A-L; Greenhill, J. V.; Skjetne, T.; Karlsen, J., y Tonnesen, H.H., *Int. J. Pharm.*, **100**(1993)15-23.
- ²⁸ Nord, K, Karlsen, J. y Tonnesen, H.H. *Int. J. Pharm.*, **72**(1991)11-18.
- ²⁹ Laurie, W.A.; McHale, D. y Saag, K. *Tetrahedron*, **42:13**(1986)3711-3714. Laurie, W.A.; McHale, D., Saag, K. y Sheridan, J.B. *Tetrahedron*, **44:18**(1988)5905-5910.
- ³⁰ Tonnesen, H.H. and Grislingaas, J. *Int. J. Pharm.*, **60**(1990)157-162. Yoon, U. C. y Epling, G.A. *Arch. Pharm. Res.*, **3**(1980)87-88.
- ³¹ Kristensen, S; Nord, K.; Orsteen, A-L. y Tonnesen, H.H. *Pharmazie*, **53:2**(1998)98-103.
- ³¹ Navaratnam, S.; Hamblett, I. y Tønnesen, H.H. *J. Photochem. Photobiol B: Biology*, **56:1**(2000)25-38.
- ³² Nord, K.; Karlsen, J. y Tønnesen, H.H. *Photochem. Photobiol.*, **60:5**(1994)427-431.
- ³³ Goldman, M. y E. L. Wehry. *Anal. Chem.*, **42:11**(1970)1178-1185.
- ³⁴ Wu, K.C. y Trozzolo, A.M. *J. Phys. Chem.*, **83:24**(1979)3180-3183.

- ³⁵ Wilkinson, F., Helman, W. P. y Ross, A.B. *J. Phys. Chem. Ref. Data.*, **22**:1(1993)113-211.
- ³⁶ Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbelik, M.; Moan, J. y Peng, Q. *J. Nat. Cancer Inst.*, **90**(1998)889-905.
- ³⁷ Scurlock, R. D.; Wang, B; Ogilby, P. R.; Sheats, J. R. y Clough, R. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**(1995)10194-10202.
- ³⁸ Tanielian, Ch.; Mechin, R; Seghrouchini, R. y Schweitzer, C. *Photochem. Photobiol.* **71**:1(2000)1219
- ³⁹ Pursell, K. F. y Kutz, J. **1979**. *Química Inorgánica*. Ed. Reverté, S.A., Barcelona, España, p. 174.
- ⁴⁰ Calvert, J. G. y Pitts, J. N. **1966**. *Photochemistry*. John Wiley & Sons, Inc.N.Y. pp 179-180.
- ⁴¹ Gottfried, V.; Peled, D.; Winkelman, J.W. y Kimel, S. *Photochem. Photobiol.*, **48**:2(1988)157-163.
- ⁴² *Ibidem.*, 120.
- ⁴³ Lu, K. K. y Ogilby, P. R., *J. Phys. Chem.*, **91**(1987)1611-1617.
- ⁴⁴ Gorman, A.A.; Hamblett, I.; Lambert, C.; Prescott, A. L.; Rodgers, M. A. J. y Spence, H. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**(1987)3091-3097.
- ⁴⁵ Wu, K.C. y Trozzolo, A.M. *J. Physical Chem.*, **83**:24(1979)3180-3183.
- ⁴⁶ Allan, D.; Gorman, A.A.; Hamblett, I.H.; Hodgson, B.W. y Lambert, C. *Photochem. Photobiol.*, **57**:5(1993)893-894.
- ⁴⁷ Chattopadhyay, S. K.; Kumar, C.V. y Das, P.K., *J. Photochem.* **24**(1984)1-9.
- ⁴⁸ Resultados no publicados de Lemp, E.; Günther, G.; Zanocco, A.; Pizarro, N.; Valencia, C. y Meléndrez, M.
- ⁴⁹ Gorman, A.; Hamblett, I.; Lambert, C.; Spencer, B. y Standem, M.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**(1988) 8053-8059.
- ⁵⁰ Bolesheim, M. y Schmidt, R., *J. Phys. Chem.*, **101**:31(1997) 5672-5677.
- ⁵¹ Darmayan, A. P. Jenks, W. S. and Jardon, P., *J. Phys. Chem.*, **102**:38(1998):7420-7426.

- ⁵² Ruiz, Y., *J. Phys Chem. A.*, **106**(2002)11283-11308.
- ⁵³ Gorman, A.A; Hamblett, I.; Lambert, C; Spencer, B. y Standem, M. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**(1988)8053-8059.
- ⁵⁴ Ogryzlo, E.A. y Tang, C.W. *J. Am Chem. Soc.*, **92**(1970)5034.
- ⁵⁵ Young, R.H.; Martin, R.L.; Feriozi, D.; Brewer, P. y Kayser, R. *Photochem. Photobiol.*, **17**(1973)233.
- ⁵⁶ Akasaka, T y Ando, W. *Peróxidos orgánicos*, John Wiley & Sons Ltd, **1992**.
- ⁵⁷ Encinas, M. V.; Lemp, E. y Lissi, E.A., *J. Chem Soc. Perkin Trans*, **2**(1987)1125. Clennan, E. L.; Noe, L.J.; Szneler, E. y Wen, T. *J. Org. Chem.*, **54**(1989)3581.
- ⁵⁸ Zanooco, A.L.; Günther, G.; Lemp, E.; De la Fuente, J.R. y Pizarro, N. *J. Photochem. Photobiol.*, **140**(2001)109.
- ⁵⁹ March, J. *Advanced Organic Chemistry*, Wiley Intercience, 4^a Ed. **1992**, p. 968.
- ⁶⁰ Foote, C.S. y Denny, R.W. *J. Am. Chem. Soc.* **93**(1971)5168. Manring, L.E y Foote, C.S. *J. Am. Chem. Soc.*, **105**(1983)4710.
- ⁶¹ Aubry, J-M.; Mandard-Cazin, B.; Rougee, M. y Bensasson, R.V. *J. Am. Chem Soc.*, **117**(1995) 9159-9164.
- ⁶² Yamaguchi, K. **1985**. *Singlet Oxygen Frimer*, A. A. Ed.; CRC Press, Boca Raton, Vol. III, pp 119-251.
- ⁶³ Adam, W. A. y Prein, M. *Acc. Chem. Res.*, **29**(1996)275-279.
- ⁶⁴ *Ibidem.*, pp 280-283
- ⁶⁵ Kamlet, M. J.; Abboud, J. L.; Abraham, M. H. y Taft, R. W. *J. Org. Chem.*, **48** (1983) 2877-2887. Reichardt, C. *Chem. Rev.*, **94** (1994) 2319-2358.
- ⁶⁶ Kamlet, M.J.; Doherty, R.M.; Abraham, M.H. y Taft, R.A. *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **7**(1988)71.
- ⁶⁷ Famini, G.R.; Penski, C.A. y Wilson, L.Y. *J. Phys. Org. Chem.*, **5**(1992)395-408.
- ⁶⁸ Fleming, I. **1976**. *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*. John Wiley & Sons, N.Y., pp. 52-60.

- ⁶⁹ Zanocco, A.L.; Günther, G.; Lemp, E.; De la Fuente, J. R. y Pizarro, N. *J. Photochem. Photobiol.*, **140** (2001) 109. Lemp, E.; Zanocco, A. L. y Lissi, E. A. *Curr. Org. Chem.* **7(9)**(2003) 799-819.
- ⁷⁰ Contreras, R.R; Fuentealba, P.; Galvan, M. Y Pérez P. *Chem. Phys. Lett.* **304**:5-6(1999)405-413. Fuentealba, P.; Perez, P. y Contreras, R. *J. Chem. Phys.*, **113**:7(2000)2544-2551. Ayers, P.W.; Morrison, R.C. y Roy, R.K. *J. Chem. Phys.*, **116**:20(2002) 8731-3744.
- ⁷¹ Bagdasarjano, K. S.; Kirgukhin, Yu. I. y Sinistsinme, Z. A.. *J. Photochem*, **1** (1973) 225.
- ⁷² Schulmann, S.G. *In Fluorecence and Phosphorescence Spectroscopy: Physicochemical Principles and Practice*, A. Wheaton & Co, Great Britain, **1977**.
- ⁷³ Nijegorodov, N., Mabbs, R. y Winkoun, D.P., *Spectrochim. Acta, A Mol. And Biomol. Spectr.*, **53**(2003) 595-606.
- ⁷⁴ Clennan, E.L.; Noe, L.J.; Wen, T. y Szneller, E. *J. Org. Chem.*, **54** (1989) 3581.
- ⁷⁵ Briviba, K.; Devasagayam, T.P.A.; Sies, H. y Steenken, S., *Chem. Res.Toxicol*, **6** (1993) 548.
- ⁷⁶ Barlett, P.D., Mendenhall, G.D., and Durham, D.L., *J. Org. Chem.*, **45** (1980) 4269.