



Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica
Laboratorio de Cinética y Fotoquímica

Profesor patrocinante y Director de tesis:
Dr. Julio R. De la Fuente Urrutia

ESTUDIO DE LAS ESPECIES TRANSIENTES GENERADAS DURANTE LA
FOTORREDUCCION POR AMINAS DE OXOISOAPORFINAS:
5-METOXI-7H-DIBENZO[de,h]QUINOLIN-7-ONA y
7H-DIBENZO[de,h]QUINOLIN-7-ONA

Cristián Ignacio Poblete González

SANTIAGO, CHILE

Abril 2007

DEDICATORIA

Esta tesis, todo el trabajo y tiempo que representó están íntegramente dedicados a dos personas:

A mi padre Manuel, quién con tal de que yo viviera este momento único en mi vida sacrificó muchos de la suya, por lo que le estaré eternamente agradecido.

A mi Iaia Teresa, que más que abuela es mi madre, me cuidó y crió (con discutibles resultados a veces), y que es una de las personas que más quiero en la vida.

Muchas gracias a ustedes dos por hacer esto posible.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera además agradecer a todos aquellos que me han acompañado, de una u otra manera, en este largo camino ya recorrido. A lo largo de los años han sido muchos y quizá más de los que pueda recordar en este momento.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Cinética y Fotoquímica y en especial a Javier, Manuel y Claudia. Gracias por los buenos momentos pasados trabajando y, sobretodo, por todos aquellos compartidos fuera del laboratorio.

A mis compañeros de actividades “extra programáticas”, que estuvieron en los momentos más extraños: Esteban, Alejandro, Felipe, Mario y, aunque no fue compañero, también a Don Nano.

A los profesores Álvarez y Díaz por la inspiración, y a la profesora E. Lemp por su confianza.

A mis grandes amigos de carrera y ahora de vida: Rodrigo Suárez, Sebastián Rodríguez y, muy especialmente, a mi hermano Rodrigo López.

Gracias a Paulina y Carolina, por haberme acompañado (y soportado) en distintos e importantísimos momentos de este largo tramo. Se les quiere mucho.

Al proyecto FONDECYT N° 1030963 por hacer posible esta investigación.

Finalmente, muchas gracias a mi profesor y amigo Julio De la Fuente, a quién a lo largo de los años he aprendido a querer (no sé si comprender) y qué, si la paciencia es una virtud, ha demostrado que es un hombre virtuoso entre los virtuosos...

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	
Summary	
1. Introducción	8
1.1 Consideraciones fotoquímicas	8
1.1.1 Fotoquímica	8
1.1.2 Generación y decaimiento de moléculas electrónicamente excitadas	8
1.1.3 Cinética fotoquímica	11
1.1.3.1 Rendimiento cuántico	11
1.1.3.2 Tiempo de vida de un estado excitado	11
1.1.3.3 Apagamiento por transferencia de electrón	14
1.2 Oxoisoaporfinas	15
1.2.1 Propiedades generales de las oxoisoaporfinas	15
1.2.2 Características de la 2,3-dihidro-oxoisoaporfina	16
1.2.3 Características de las oxoisoaporfinas en estudio	18
2. Estudios de las especies transientes	19
2.1 Hipótesis de trabajo	19
2.2 Objetivo General	21
2.3 Objetivos Específicos	21
3. Materiales y métodos	21
3.1 Materiales	21
3.2 Métodos	23
3.2.1. Fotólisis de pulso o láser flash fotólisis	23

3.2.2. Determinación de rendimientos cuánticos de tripletes	25
3.2.3 Cálculos semi-empíricos	25
4. Caracterización de las especies transientes	27
4.1. Tripletes de la 5-metoxi y oxoisoaporfina	27
4.1.1 Absorción del estado triplete de 5-metoxi- y oxoisoaporfina	27
4.1.2 Rendimientos cuánticos de triplete ϕ^T de 5-metoxi- y	
Oxoisoaporfina	29
4.1.3 Estimación de la energía del triplete	30
4.1.4 Apagamiento del estado triplete de 5-metoxi- y oxoisoaporfina	31
4.2 Anión radical de 5-metoxi y oxoisoaporfina	33
4.3 Radicales neutros hidrogenados de 5-metoxi- y oxoisoaporfina	40
4.3.1 Generación de radicales neutros hidrogenados de 5-metoxi-	
y oxoisoaporfina por aminas	40
4.3.2 Cálculos mecano cuánticos semiempíricos	45
4.4 Cálculo teórico de los espectros de los posibles transientes de	
la fotorreducción por aminas	47
5. Conclusiones	50
Bibliografía	51

Resumen

Los sistemas fotosintéticos naturales y artificiales en los cuales la energía de la luz es colectada y almacenada como energía química, es un proceso de conversión que es iniciado con la transferencia fotoinducida de un electrón, que es seguida por otras etapas químicas que permiten la separación y estabilización cinética de los llamados “sistemas de carga separada”.

Este es el caso de las *7H*-dibenzo[*de,h*]quinolin-7-onas, conocidas como oxoisoaporfinas, que al ser fotorreducidas en presencia de aminas generan fotoproductos iónicos metaestables, capaces de almacenar una fracción apreciable de la energía de fotoexcitación. Los fotoproductos que se forman vía una transferencia secuencial de electrón-protón-electrón, revierten térmicamente a las oxoisoaporfinas originales, generando productos de oxidación de la amina. La reconversión del fotoproducto metaestable permite la reutilización del sistema en tanto exista amina remanente que reaccione con la oxoisoaporfina regenerada.

Se estudiaron los transientes de la fotorreducción por aminas de la oxoisoaporfina y 5-metoxi-oxoisoaporfina, el triplete excitado, el anión radical y el radical neutro.

Los intermediarios transientes fueron generados por láser flash-fotólisis, en presencia y ausencia de aminas terciarias, con y sin hidrógenos alfa. Si la amina no es capaz de donar protones, la reacción procederá sólo hasta la formación de $A^{\cdot-}$. Se identificaron y se caracterizaron los tripletes y radicales de las dos oxoisoaporfinas en estudio y se determinaron los parámetros cinéticos.

Summary

Natural and artificial photosynthetic systems in which the energy of the light is collected and stored as chemical energy, is a process beginning with a photoinduced single electron transfer, PET, followed by other stages which allow the separation and kinetic stabilization of “separate-charge systems”.

This is the case of 7H-dibenzo[de,h]quinolin-7-ones, well-known as oxoisoalloporphines, which are photoreduced by amines, generating ionic metastable photoproducts capable to store an appreciable fraction of the photoexcitation energy. The photoproducts, formed via a sequential transfer of electron-proton-electron, revert thermally to the original oxoisoalloporphines generating amine photooxidation products. The back reaction of the metastable photoproducts allows the reuse of the system as long as amine remains in the system, to react with the regenerated oxoisoalloporphine.

In this work we studied the transient species involved in the photoreduction by amines of oxoisoalloporphine and 5-methoxy-oxoisoalloporphine; the excited triplet state of oxoisoalloporphines, the radical anion formed after electron transfer and the neutral hydrogen radical, generated by proton transfer.

Photoreduction intermediary transients were generated by laser flash-photolysis, in the presence and absence of tertiary amines, with and without transferable α -hydrogen. If the amine is not able to donate protons, the reaction will only proceed until the formation of $A^{\cdot-}$, allowing its characterization. With amines capable to donate an α -H, photoreduction continues to the formation of neutral hydrogen radical AH^{\cdot} , and eventually to metastable photoproducts. In this work triplet excited states were

characterized, radical anions and neutral hydrogen radicals for both oxoisoaporphines and the kinetic parameters through evolve were also determined.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Consideraciones fotoquímicas

1.1.1. Fotoquímica

En un sentido amplio, la fotoquímica es el estudio de las transformaciones químicas provocadas por la absorción de luz visible o ultravioleta.

La fotoquímica abarca a todas las reacciones químicas que son inducidas por acción de la luz visible o ultravioleta. La principal diferencia con la química en estado basal (térmica), es que en estos procesos hay participación directa de una molécula en un estado electrónicamente excitado, con una reactividad química distinta a la de su estado basal. Por lo tanto tiene otras vías de reacción, formando intermediarios o productos de alta energía como, por ejemplo, radicales y biradicales.

Un estado excitado puede decaer en forma radiativa (fluorescencia, *f*, o fosforescencia, *p*) o no radiativa (conversión interna, *ic*, cruce entre sistemas, *isc*, o por reacción química), en procesos generalmente muy rápidos y de primer o segundo orden cinético.

1.1.2. Generación y decaimiento de moléculas electrónicamente excitadas

Para bajos niveles de absorción, el proceso es descrito por la ley de Beer-Lambert, Ecc1. Cuando la luz atraviesa una sustancia esta puede ser absorbida, y la luz incidente (I_0) y transmitida (I_t) pueden ser relacionadas por la ecuación:

$$\ln(I_t / I_0) = -\epsilon cl \quad (1)$$

Donde c es la concentración de la sustancia (mol/l), l es el trayecto a través del cual se hace pasar la luz y ϵ corresponde al coeficiente de extinción molar de la sustancia.

Esta absorción promueve la molécula a un estado electrónicamente excitado, el cual se define como aquel generado por la promoción de un electrón, desde un orbital ocupado de baja energía a otro orbital desocupado de mayor energía, generando una especie que tiene al menos dos electrones desapareados en distintos orbitales. Si los electrones tienen espín antiparalelo, se tratará de un estado singulete, y si tienen el mismo espín, de un estado triplete. El estado triplete tiene menor energía que su singulete correspondiente, debido a la interacción de repulsión entre los electrones del mismo espín, que hace disminuir su energía. Ambos estados corresponden a especies distintas, ya que presentan propiedades físicas y químicas diferentes.

Los estados excitados inicialmente producidos por la absorción de un fotón tienen la misma multiplicidad del estado basal, ya que las reglas de selección para la absorción prohíben el cambio de espín durante el proceso.

Es posible representar los procesos físicos y químicos involucrados en la desactivación de una especie excitada, en un Diagrama de Jablonski, en el cual los estados electrónicos basales y excitados se ordenan verticalmente de menor a mayor energía, separando horizontalmente los estados de distinta multiplicidad.

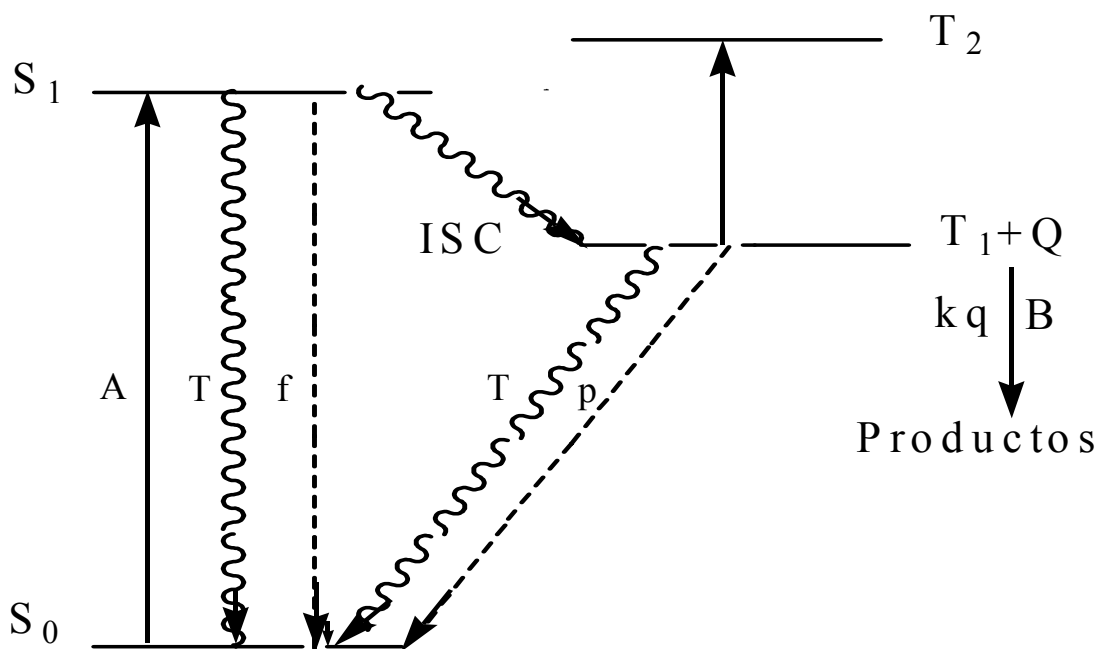


Figura 1: Diagrama de Jablonsky.

El proceso **(A)** corresponde a la absorción de luz por el estado basal S_0 y la consiguiente formación del estado singulete excitado S_1 , que puede decaer térmicamente **(T)** al estado S_0 . Este proceso puede ocurrir también radiativamente, por emisión fluorescente en el proceso **(f)**. Otra posibilidad es que se invierta el espín de uno de los electrones desapareados, formándose el estado triplete correspondiente T_1 en un proceso de cruce entre sistemas **(ISC)**. Esta especie a su vez, puede decaer al estado fundamental en forma térmica o en forma radiativa por fosforescencia **(p)**. El paso de T_1 a T_2 muestra la capacidad que tiene el triplete inicial de absorber energía y generar un nuevo triplete, conocido como absorción triplete-triplete. Se representa la reacción química del triplete con un apagador **Q** en el proceso **B**.

1.1.3. Cinética fotoquímica

1.1.3.1 Rendimiento cuántico

Probablemente el concepto más importante de las reacciones fotoquímicas es el “rendimiento cuántico”, que se define, como la medida de eficiencia de un determinado proceso en relación al número de fotones absorbidos. Corresponde a la fracción de moléculas que se transforman de una forma determinada dividido por el número de cuantos de luz absorbidos.

$$\Phi = \frac{\text{N}^\circ \text{ de moléculas transformadas por el proceso}}{\text{N}^\circ \text{ de fotones absorbidos}} \quad (2)$$

1.1.3.2 Tiempo de vida de un estado excitado

Los procesos de decaimiento de un estado excitado, en ausencia de apagadores, son de primer orden cinético y el tiempo que tarda en disminuir la concentración de la especie excitada a 1/e veces su valor inicial, se denomina tiempo de vida τ y está dada por:

$$\tau = 1 / \sum k_d \quad (3)$$

Donde $\sum k_d$ es la suma de las constantes cinéticas de todos los procesos de desactivación del estado excitado. En presencia de un apagador, el tiempo de vida de la especie excitada es modificado al agregar una vía bimolecular de desactivación, por interacción con el apagador Q. Así, el apagamiento de la fluorescencia por Q, puede ser tratado con las siguientes expresiones, considerando su rendimiento cuántico en ausencia (4) y presencia de apagador (5):

$$\Phi^\circ_f = k_f / \sum^s k_d \quad (4)$$

$$\Phi_f^o = k_f / (\sum^s k_d + k_q [Q]) \quad (5)$$

Las constantes cinéticas k_f , $^s k_d$ y k_q corresponden a las constantes de los procesos de fluorescencia, decaimiento desde el estado singulete y apagamiento bimolecular, respectivamente.

De la razón de las ecuaciones 4 y 5 se puede obtener la ecuación de Stern-Volmer (6), que permite evaluar k_q , previo conocimiento del tiempo de vida τ^o del estado singulete.

$$\Phi_f^o / \Phi_f = 1 + k_q \tau^o [Q] \quad (6)$$

El rendimiento cuántico de formación del triplete, Φ^T se puede definir como la razón entre k_{ces} y $\sum^s k_d$, es decir, como la razón entre el proceso de formación del estado triplete y los procesos de desaparición del estado singulete a partir desde el cual éste se forma, considerando que cada fotón absorbido genera una molécula en su estado singulete excitado.

$$\Phi^T = K_{ces} / \sum^s k_d \quad (7)$$

El decaimiento del estado triplete observable por absorción T-T al igual que el decaimiento del estado singulete, puede ser acelerado por un apagador. En consecuencia, en presencia del apagador Q, el triplete excitado tiene una nueva vía de decaimiento cuya velocidad esta dada por $k_q [Q] [T_1]$, y el tiempo de vida en presencia de apagador estará dado por:

$$\tau = 1 / (\sum^T k_d + k_q [Q]) \quad (8)$$

La ecuación de Stern-Volmer, para el apagamiento del triplete excitado, se puede obtener dividiendo la expresión para el tiempo de vida en ausencia de apagador:

$$\tau^o = 1 / \sum^T k_d \quad \text{por el tiempo de vida en presencia del apagador, Ecc. (8) obteniéndose:}$$

$$\tau^{\circ} / \tau = 1 + k_q [Q] / \sum^T k_d \quad (9)$$

La que se puede reordenar:

$$1/\tau = (1/\tau^{\circ}) + k_q [Q] \quad (10)$$

Luego, midiendo los tiempos de vida a distintas concentraciones del apagador Q, es posible determinar la constante k_q de la pendiente de la gráfica $1/\tau$ v/s $[Q]$, mientras del inverso del intercepto se puede obtener τ° , el tiempo de vida del estado triplete en ausencia de apagador.

Los apagadores pueden actuar por transferencia de carga, dependiente de los potenciales de oxidación de la especie excitada y del apagador que actuará como donador o aceptor de electrones, generando como producto primario un par ión radical, que puede conducir a otros productos. El otro mecanismo usual de apagamiento es la transferencia de energía, en la cual la energía electrónica de la especie excitada es transferida al apagador, quedando este último excitado. Este mecanismo requiere de un solapamiento de los estados energéticos del donador y aceptor de energía.

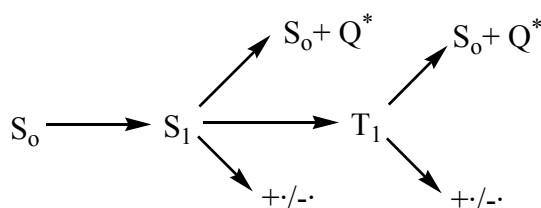


Figura 2: Procesos posibles de apagamiento. Las flechas dirigidas hacia la parte superior indican procesos que involucran transferencia de energía, mientras que las que van hacia la parte inferior indican transferencia de carga.

El oxígeno es uno de los apagadores más eficientes que existen para estados tripletes, ya que su estado fundamental también es triplete, por lo tanto la ausencia de la absorción transiente, en presencia de O_2 resulta ser una excelente prueba para determinar

si la señal de absorción observada, puede ser atribuida a la absorción triplete- triplete.

1.1.3.3 Apagamiento por transferencia de electrón

Uno de los procesos de apagamiento bimoleculares frecuente es la transferencia de electrón, entre un donador y un aceptor, conocida también como “transferencia de carga”. En el siguiente diagrama de orbitales, se muestra un aceptor de electrones en estado triplete y la transferencia desde un apagador Q, que está actuando como donador. Como resultado de este proceso, se generan el anión y el catión radical respectivamente, que pueden a su vez reaccionar generando nuevas especies, o regenerar las especies de partida por una retrotransferencia electrónica con inversión de espín.

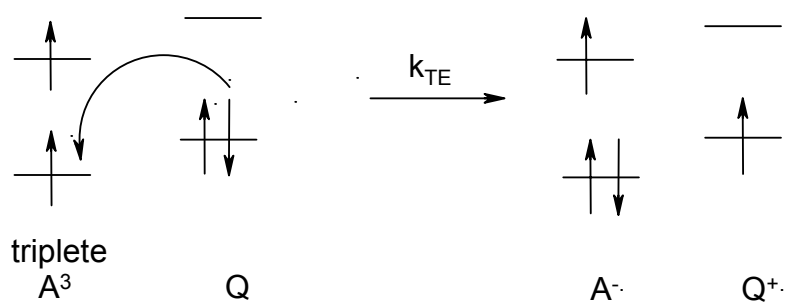


Figura 3: Esquema de orbitales moleculares para transferencia de electrón desde un donador al triplete excitado del aceptor, en este caso, el triplete aceptor formando el anión radical y el catión radical.

Las especies iones radical formadas en este proceso de transferencia de carga, pueden seguir sus propias vías de reacción compitiendo con el proceso de retrotransferencia de electrón que es prohibido por espín y por lo tanto relativamente lento. Entre los varios posibles procesos, se pueden mencionar la ruptura de enlaces, reordenamientos, transferencia de protones o hidrógeno, etc.

1.2 Oxoisoaporfinas

1.2.1 Propiedades generales de las oxoisoaporfinas

Las **7H-dibenzo[de,h]quinolin-7-onas**, Figura 5, referidas desde aquí como **oxoisoaporfinas**, son análogos sintéticos de algunas oxoisoaporfinas naturales que han sido aisladas desde hace más de tres décadas de la enredadera *Menispermum dauricum* DC (Menispermaceae) y otras plantas de la misma familia debido a sus propiedades como tintes, analgésicas y antipiréticas, así como su actividad dopaminérgica en el sistema nervioso central en receptores D₁ y D₂. Motivo por el cual se encuentran incluidas oficialmente en la Farmacopea China¹.

El número de reportes sobre oxoisoaporfinas es limitado. Los primeros estudios se refieren a la elucidación estructural e identificación de las oxoisoaporfinas, y recién 10 años después, a la síntesis de alcaloides análogos a los naturales obtenidos de la planta *Menispermum dauricum* DC². Desde 1987, distintos autores realizan ensayos farmacológicos, midiendo actividad antiinflamatoria³, inhibición de la agregación plaquetaria^{4,5}, actividad citotóxica (antitumoral)⁶ y efectos cardiológicos y hemodinámicos⁷⁻⁹. En los últimos años junto con el aislamiento de nuevos compuestos¹⁰⁻¹³, el interés se ha enfocado a la realización de estudios en las áreas de la química orgánica y electroquímica¹⁴, en los cuales se ha estudiado la reactividad de estas especies y su comportamiento como reductores. Más reciente es el estudio de las propiedades fotoquímicas de estos compuestos¹⁵⁻¹⁷.

1.2.2 Características de la 2,3-dihidro-oxoisoaporfina

La presente tesis se llevó a cabo cómo la continuación de estudios previamente realizados acerca de la 2,3-dihidro-oxoisoaporfina y las diferencias en reactividad inducidos por la presencia de una insaturación entre los carbonos C3 y C4 de estas oxoisoaporfina.

De acuerdo a estudios previos realizados sobre la 2,3-dihidro-oxoisoaporfina¹⁵, las oxoisoaporfina absorben luz en la región UV-visible del espectro, no muestran fluorescencia en solución, son compuestos fotoestables, sin embargo, en presencia de aminas terciarias con H α y en ausencia de O₂ generan fotoproductos metaestables con rendimientos cuánticos del orden de 0,1.

El mecanismo de fotorreducción reportado para la 2,3-dihidro-oxoisoaporfina, involucra varias etapas que ocurren desde el estado triplete excitado y la transferencia de electrón-protón-electrón, que debería ser similar para las oxoisoaporfina insaturadas.

Para las oxoisoaporfina, se ha propuesto un mecanismo de reacción esquematizado en la siguiente figura, basado en las características más significativas de la fotorreducción de 2,3-dihidro-oxoisoaporfina¹⁵:

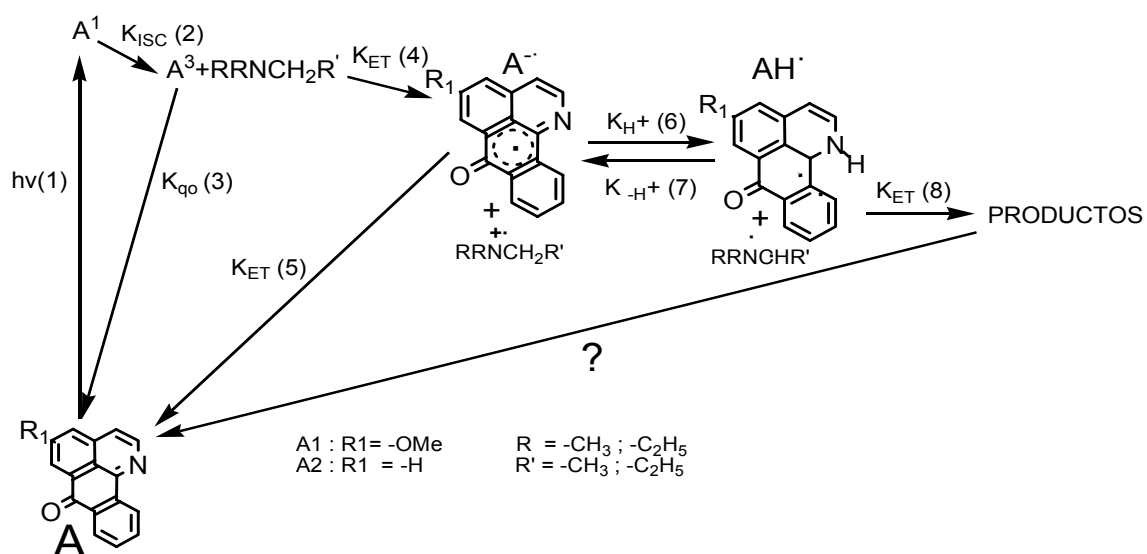


Figura 4: Esquema propuesto de reacción de las oxoisoaporfinas.

En una primera etapa (1), la oxoisoaporfina absorbe energía (fotón), poblando el estado singulete A^1 . Luego, por cruce entre sistemas (2), se generará la especie triplete A^3 . El triplete puede decaer térmicamente al estado basal o ser apagado por oxígeno (3). El apagamiento por una amina terciaria, en un proceso de transferencia electrónica desde la amina a la oxoisoaporfina (4), formará el anión radical de la oxoisoaporfina y el catión radical de la amina. Luego, por transferencia de un protón (desde la amina a la oxoisoaporfina (6), se generaran el radical neutro $RRN\cdot CHR'$ proveniente de la amina y el o los radicales neutros $AH\cdot$ de la oxoisoaporfina, (en el esquema se representa sólo uno) los que darán origen por una segunda transferencia de electrón, al menos a dos fotoproductos metaestables (8) que revierten a la oxoisoaporfina original.

La principal diferencia entre las oxoisoaporfinas en estudio y las 2,3-dihidro-oxoisoaporfinas estudiadas previamente, está en la presencia de una insaturación entre los carbonos C2 y C3, posibilitando la generación de otros radicales hidrogenados a

diferencia del único reportado para la fotorreducción por aminas de las 2,3-dihidro-oxoisoaporfinas.¹⁵

1.2.3 Características de las oxoisoaporfinas en estudio

Se estudiarán las especies transientes generadas en la fotorreducción por aminas donoras y no donoras de H-alfa de las oxoisoaporfinas de la figura 4, es decir; el triplete excitado A^3 , el anión radical $A^{\cdot-}$ y el radical neutro hidrogenado AH^{\cdot} .

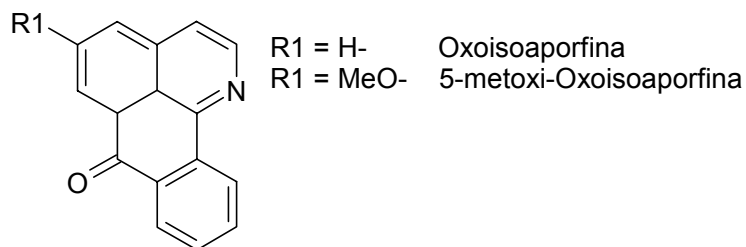


Figura 5: *Oxoisoaporfinas en estudio.*

Las oxoisoaporfinas en estudio, al igual que las 2,3-dihidro-oxoisoaporfinas, demostraron ser fotoestables en presencia de O_2 en el medio, así como en ausencia de este. Sin embargo al ser fotolizadas en presencia de una amina terciaria capaz de donar $H\alpha$, en conjunto con la ausencia de O_2 , sufrieron radicales cambios en sus espectros de absorción.

Debido a la ausencia de puntos isosbesticos en los espectros de absorción se espera la presencia de, a lo menos, dos productos en distinta proporción. Estos fotoproductos semireducidos, revierten lentamente a la oxoisoaporfina original en ausencia de luz y rápidamente en presencia de O_2 , tal como se puede observar en la figura siguiente:

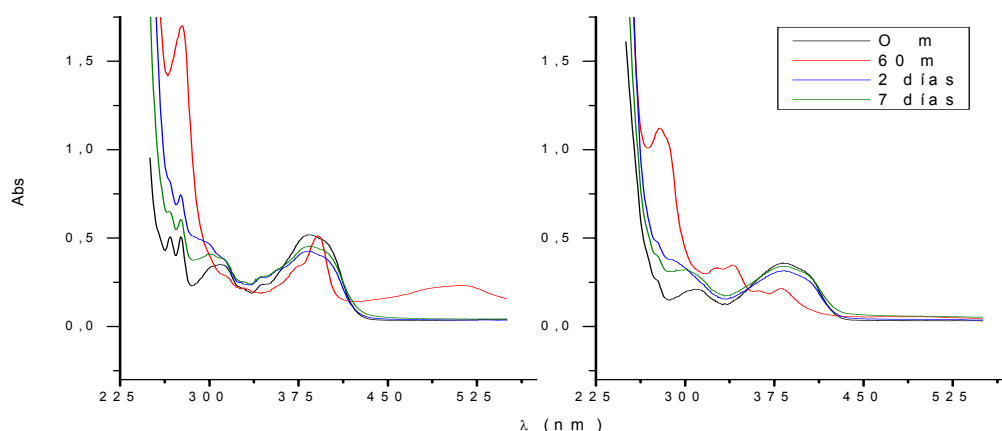


Figura 6: Fotólisis de Oxoisoaporfina y 5-metoxi-oxoisoaporfina respectivamente.

En la figura 6, el cambio en los espectros de absorción se observa a partir de tiempo 0, es decir, no fotolizada, dónde la oxoisoaporfina se encuentra en presencia de amina y ausencia de O_2 , hasta el máximo a los 60 minutos de fotólisis, dónde ya no se observan cambios en los espectros debido a la formación de fotoproductos. Una vez logrado esto se procedió a dejar las cubetas en la oscuridad y se realizaron espectros nuevamente a los 2 y 7 días observándose claramente la recuperación de la especie original. Durante este proceso la amina se oxida y sus productos pueden ser detectados por las diferencias en los espectros de absorción bajo los 300 nm.

2. ESTUDIO DE LAS ESPECIES TRANSIENTES

2.1 Hipótesis de trabajo

Las fotorreducciones de las oxoisoaporfinas ocurren desde el estado triplete A^3 , en etapas sucesivas de transferencia de electrón-protón-electrón, con la consiguiente formación del anión radical A^- y de uno o varios radicales neutros hidrogenados AH , seguido por una segunda transferencia de electrón, en forma similar a las

fotorreducciones por aminas de las 2,3-dihidro-oxoisoaporfinas citadas anteriormente.

Utilizando espectroscopía resuelta en el tiempo, será posible detectar y caracterizar el espectro UV-visible del triplete excitado y de las especies radicalarias $A^{\cdot-}$ y AH^{\cdot} , generadas durante la fotorreducción.

Si la amina usada como donador, no tiene hidrógenos α , ($H\alpha$), capaces de ser donados, la fotorreacción llegará sólo hasta la formación del anión radical $A^{\cdot-}$ de la oxoisoaporfina. Si la amina donora posee $H\alpha$, la reacción continuará hasta la formación del o los radicales neutros hidrogenados AH^{\cdot} , posibilitando así su caracterización, siempre y cuando los espectros de absorción y los tiempos de vida de estas especies sean lo suficientemente diferentes como para permitir la caracterización de estas.

Por lo tanto, la elección de la amina terciaria adecuada permitirá distinguir las absorciones del $A^{\cdot-}$ y del AH^{\cdot} , dependiendo de la capacidad de la amina para transferir el $H\alpha$ se debe considerar que la caracterización espectroscópica de las especies transientes sólo será posible si los espectros de absorción presentan diferencias significativas en sus bandas de absorción o bien si los tiempos de vida de las especies permitan la resolución temporal de sus espectros.

Se presume que en las fotorreducciones en que intervienen las oxoisoaporfinas insaturadas, participan directamente, además del N y el O del grupo carbonilo, los C2 y C3 del sustrato generando pares ión-radical, pares radical semireducidos y pares iónicos que conducirán a los productos de fotorreducción metaestables encontrados.

2.2 Objetivo General

Se caracterizarán espectroscópicamente los intermediarios transientes: el triplete fotorreactivo, el par ión-radical y el par radical usando espectroscopía resuelta en el tiempo, con aminas donoras y no donoras de H y se medirán los parámetros cinéticos de las reacciones en que intervienen usando técnicas espectroscópicas de fotólisis de pulso.

2.3 Objetivos Específicos

- Caracterizar espectroscópicamente las absorciones y tiempos de vida de las especies transientes involucradas en la fotorreducción por aminas de oxoisoapofinas, es decir: tripletes, anión radicales y radicales hidrogenados.
- Medir rendimientos cuánticos y estimar las energías de los tripletes de ambas oxoisoapofinas.
- Medir las constantes de apagamiento bimolecular del triplete excitado de las oxoisoapofinas por aminas donoras y no donoras de H.
- Identificar las absorciones atribuibles a los radicales hidrogenados de las oxoisoapofinas.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Materiales

Las oxoisoapofinas utilizadas fueron sintetizadas, purificadas y completamente caracterizadas por el Dr. Eduardo Sobarzo S. en su tesis de grado¹⁸. Para realizar el estudio, se prepararon soluciones de las oxoisoapofinas en acetonitrilo purgadas con N₂ por 20 minutos para eliminar el O₂ del medio, en celdas de cuarzo de 10 mm de paso.

Todas las soluciones empleadas, se prepararon con una absorbancia aproximada de 0,2 a 355 nm.

Las aminas utilizadas para los estudios de apagamiento y de caracterización de los espectros de las especies transientes radicalarias fueron las de la tabla 1:

Tabla 1: Aminas utilizadas en la caracterización de las especies transientes.

Amina	Presencia H α	PM g/mol	[M] mol/L
Trietilamina Hopkin Williams, TEA N(C ₂ H ₅) ₃	Si	101,19	7,175
Dietilmetilamina , Aldrich, DEMA H ₃ CN(C ₂ H ₅) ₂	Si	87,17	8,870
Dimetiletilamina, Aldrich, DMEA (H ₃ C) ₂ NC ₂ H ₅	Si	73,14	9,229
Tribencilamina Aldrich, TBzA N(C ₆ H ₅ CH ₂) ₃	Si	287,41	----
Trietilamina Aldrich, TAA N (H ₂ C=CHCH ₂) ₃	Si	137,23	5,757
1,4-diaza[2.2.2]bicyclooctano Merck, DABCO C ₆ H ₁₂ N ₂	No	112,18	----
Trifenilamina Aldrich, TPA N (C ₆ H ₅) ₃	No	245,33	----
2,2,6,6-tetrametilpiperidina Aldrich, TMP C ₉ H ₁₉ N	No	141,26	5,93

Las aminas líquidas fueron purificadas por destilación trap to trap a 10⁻⁴ mmHg (TEA, DEMA, DMEA, TAA, TMP) y selladas al vacío hasta su utilización y las sólidas (TBzA, DABCO y TPA) fueron usadas tal como se recibieron. El acetonitrilo, Fisher o Merck utilizado como solvente fue de calidad espectroscópica o HPLC.

Tabla 2: Aceptores de energía utilizados para la estimación de la energía del triplete.

Aceptor	Energía del triplete (kJ/mol)	P.M. (g/mol)
Azuleno	163	128,16
Rodamina G	180	479,02
Perileno	146	252,32
Quinoxalina	255	295,34
Naftaleno	253	128,17
Acridina	205	179,13

3.2 Métodos

3.2.1 Fotólisis de pulso o láser flash fotólisis

Los experimentos de láser flash fotólisis se realizaron usando como fuente de luz de excitación un láser Nd-Yag (Quantel Brilliant), provisto del generador en el tercer armónico, emitiendo luz de 355 nm a potencia constante nominal de 70 mJ/pulso. El haz del láser es dispersado hacia el portacelda por medio de una lente divergente, a fin de excitar la muestra a todo lo ancho de la celda.

Para el monitoreo de la absorción de las especies transientes, se usó una lámpara de Xe (Osram XBO), perpendicular al haz del láser, montada en un sistema PTI A1010, alimentada por una fuente de poder PTI LPS-220/250. La radiación infrarroja de la lámpara es absorbida parcialmente por un filtro de agua, entre el filtro de agua y el portacelda se encuentra un obturador electrónico (Uniblitz), controlado por el módulo, modelo TI 32, ambos de Vincent Associates.

El obturador se mantuvo abierto 2 ms y se midieron las señales 20 μ s antes y 180 μ s después del pulso del láser. Para enfocar la luz al portacelda y al colimador de entrada del monocromador (PTI- 01- 001), se utilizaron dos lentes convergentes y un par de colimadores. El fotomultiplicador (Hamamatsu R-928), conectado a la salida del

monocromador, está provisto de un divisor de voltaje especialmente diseñado para las intensidades de luz monitoreadas.

La captura de las señales provenientes del fotomultiplicador se realiza con un osciloscopio (Hewlett-Packard 54540A de 500MHz y 1Gs/s) en el modo de corriente directa, DC. Estas señales son almacenadas en el osciloscopio a la velocidad de repetición del pulso del láser (10 Hz) y transferidas a un PC equipado con la interfase GPIB de National Instruments. Las señales fueron tratadas con un programa diseñado específicamente para la adquisición y tratamiento de los datos, escrito en lenguaje LabView 3.0 (National Instruments). Este programa controla también el monocromador y el pulso del láser.

Los espectros fueron obtenidos en el rango de longitudes de onda de interés (entre 370 nm y 700 nm para espectros de absorción), y el decaimiento de los transientes fue monitoreado a la longitud de onda de máxima absorción o cerca de ella, si se observaran interferencias de otras especies transientes.

Los cambios en la intensidad de la luz monitoreadora fueron convertidos a densidad óptica o absorbancia mediante $\Delta OD = \log [I^0 / (I^0 - \Delta I(t))]$, donde $\Delta I(t)$ (mV) es la señal observada en el tiempo t e I^0 (mV) es el promedio de la intensidad de la lámpara antes del pulso del láser.

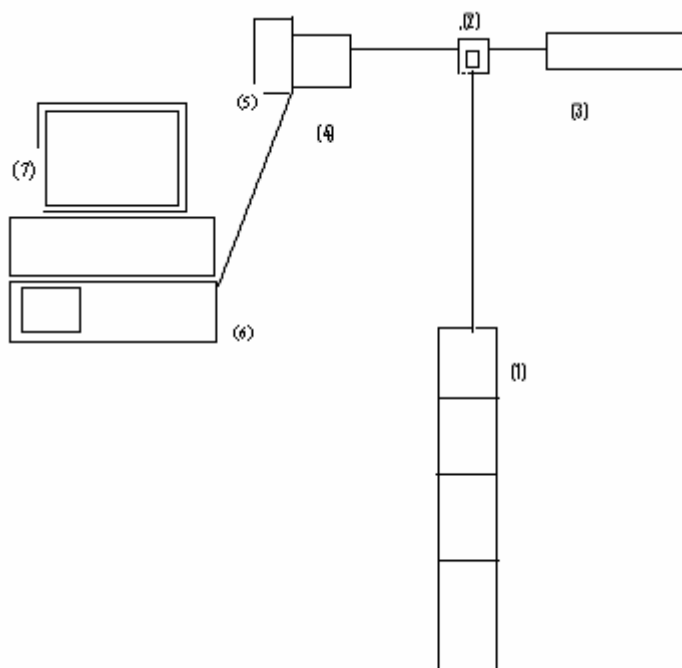


Figura 7: Esquema simplificado de equipo utilizado en técnica de láser flash fotólisis.

El equipo está formado por: (1) Láser de Nd-Yag fuente de luz de excitación. (2) Portaceldas. (3) Lámpara de Xe usada para el monitoreo de la absorción. (4) Fotomultiplicador. (5) Monocromador para la selección de longitud de onda. (6) Osciloscopio captador de señales. (7) Computador equipado con programa especialmente diseñado para el tratamiento de las señales.

3.2.2 Determinación de rendimientos cuánticos de triplete.

Los rendimientos cuánticos de triplete Φ^T , fueron obtenidos por el método de transferencia de energía usando β -caroteno como aceptor. Una de las características del β -caroteno, que permite hacer la determinación de rendimiento cuántico, es que éste no alcanza el estado triplete por absorción directa de luz¹⁹ y es poblado sólo por

transferencia de energía desde el dador, en este caso la oxoisoaporfina excitada.

Se prepararon soluciones purgadas con N_2 , de igual absorbancia a 355 nm de oxoisoaporfina y de benzofenona, usada como referencia. A las soluciones se les agregaron distintas alícuotas de β -caroteno monitoreando a 520 nm, longitud de onda donde absorbe el triplete del β -caroteno¹⁹. Utilizando la solución de benzofenona ($\Phi^T = 1$)²⁰ se buscó el plateau de absorción de $^3\beta$ -caroteno, asegurando así una transferencia completa de energía desde la benzofenona a β -caroteno. A las soluciones de oxoisoaporfina se les agregó igual cantidad de β -caroteno y se midieron los ΔOD a 520 nm, longitud de onda a la que absorben las especies estudiadas, atenuando la potencia del láser por la intercalación de portaobjetos de microscopía en el haz y midiendo la potencia incidente en la celda con un detector piroeléctrico Quantel, modelo MPI-310.

3.2.3. Cálculos semi-empíricos

A fin de hacer una estimación de las energías relativas de los radicales libres hidrogenados formados en el proceso de transferencia de protón, se hicieron cálculos mecano-cuánticos semi-empíricos PM3 utilizando el programa Hyper Chem 6.0. En este proceso se buscaron las estructuras de menor energía para estos radicales, agregando un H enlazado a: N, O, C3, C4, C6 y C9. La minimización se realizó usando la modalidad Hartree Fock no restringida (UHF) con una multiplicidad de espín igual a dos.

Se calcularon los espectros electrónicos para las posibles especies intermediarias de la fotorreducción, minimizando sus energías con el método PM3 en modo UHF o RHF (Hartree Fock restringida) dependiendo de si la especie es de capa abierta o capa

cerrada. Con las estructuras minimizadas, se procedió a hacer un cálculo de interacción de configuración con el método ZINDO-S para obtener los espectros electrónicos.

Procedimientos similares han sido usados para las 2,3-dihidro-oxoisoaporfinas y otros compuestos similares.²¹

4. CARACTERIZACIÓN DE LAS ESPECIES TRANSIENTES

4.1. Tripletes de la 5-metoxi y oxoisoaporfina

4.1.1 Absorción del estado triplete de 5-metoxi- y oxoisoaporfina

Los espectros de absorción de los estados tripletes se obtuvieron según el procedimiento descrito en la sección experimental, midiéndose en soluciones purgadas con N₂ de las oxoisoaporfinas con $A_{355} \approx 0,2$ entre los 370 y 700 nm. cada 10 nanometros. Los espectros de absorción de los transientes se construyeron de los decaimientos capturados a distintas longitudes de onda, permitiendo seguir la evolución temporal de los espectros, a distintos tiempos después del disparo del láser.

A continuación se muestran los espectros resueltos en el tiempo de soluciones de ambas oxoisoaporfinas, en ausencia de oxígeno y de aminas, como se describió anteriormente.

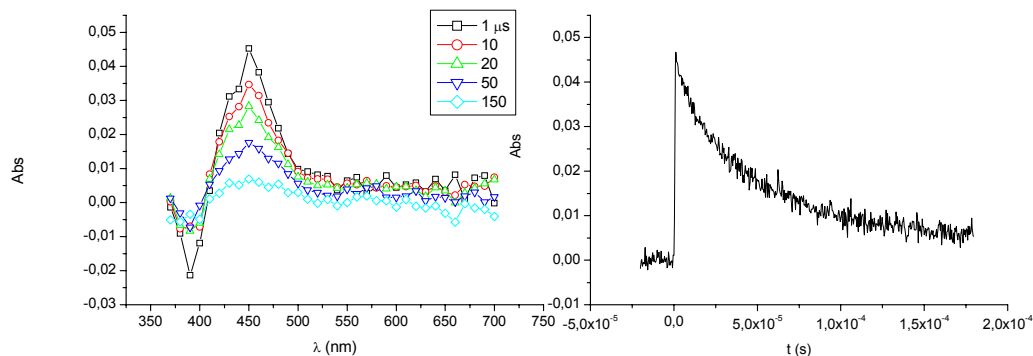


Figura 8: Decaimiento y espectro de absorción transiente de la oxoisoaerporfina en ausencia de amina, medidos: 1, 10, 20, 50 y 150 μ s, después del disparo del láser. El decaimiento de la absorción a 450 nm sigue una cinética de primer orden, con tiempo de vida de 34,7 μ s.

La absorción transiente observada, presenta un máximo a 450 nm y bajo 400 nm muestra señales negativas que se pueden atribuir a la desaparición del estado basal que absorbe a esas longitudes de onda. Este es un fenómeno muy frecuente que se conoce como “ground depletion” y se produce por que parte del sustrato que en el estado basal tiene bandas de absorción en la zona monitoreada, pasa al estado excitado, aumentando la transmitancia de la solución a esas longitudes de onda.

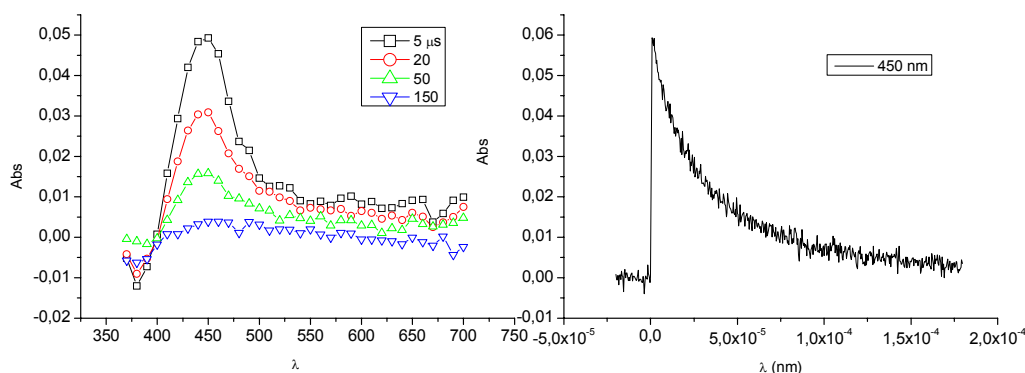


Figura 9: Decaimiento y espectro de absorción transiente de la 5-metoxi-oxoisoaerporfina en ausencia de amina, medidos: 5, 20, 50 y 150 μ s, después del disparo del láser. El decaimiento de la absorción a 450 nm sigue una cinética de primer orden, con tiempo de vida de 44,6 μ s.

Los espectros mostrados en las figuras 8 y 9, son atribuidos a la absorción triplete-triplete de la oxoisoaporfina y de la 5-metoxi-oxoisoaporfina respectivamente, ya que son apagadas eficientemente por O₂. Esto se evidencia por la admisión de O₂ a una solución previamente purgada, donde el tiempo de vida de la señal se reduce notoriamente y porque esta señal está ausente en soluciones no purgadas con N₂. Otra característica importante de estas señales, es su tiempo de vida (en ausencia de O₂), cuyo valor promedio es de: 34,7 y 44,6 μs, para la oxoisoaporfina y la 5-metoxi-oxoisoaporfina respectivamente. Este tiempo de vida es relativamente largo para los típicos valores de tiempo de vida de tripletes, τ^T , reportados en literatura pero, relativamente cortos en comparación a los de los radicales libres que son usualmente de varios cientos de μs. Por otra parte, estas absorciones son eficientemente apagadas por aceptores de energía como el β-caroteno, para el que se observa la absorción típica de ³β-caroteno triplete a 520 nm, sensibilizada por transferencia de energía desde los estados excitados de las oxoisoaporfinas en cuestión. Con estos antecedentes, las absorciones observadas a 450 nm para ambas oxoisoaporfinas no pueden corresponder más que a la absorción triplete-triplete de ellas y pueden ser asignadas inequívocamente.

4.1.2 Rendimientos cuánticos de triplete ϕ^T de 5-metoxi- y oxoisoaporfina.

Los rendimientos cuánticos fueron determinados según el método de transferencia de energía a β-caroteno descrito anteriormente, usando benzofenona como patrón. Las pendientes de las gráficas Abs versus potencia encontradas para ambas oxoisoaporfinas fueron ligeramente mayores a la correspondiente al patrón a potencias

altas, pero a baja potencia de pulso las 3 curvas se superponen, evidenciando que ϕ^T para ambas oxoisoaporfinas es igual a 1. La desviación observada a potencias de excitación mayores puede deberse a alguna contaminación de la benzofenona patrón.

Los resultados de $\phi^T = 1$ fueron corroborados por medidas independientes de espectrometría optoacústica y de rendimientos cuánticos de 1O_2 medidos en el Laboratorio de Fotoquímica del Profesor Santi Nonell, Barcelona, España.

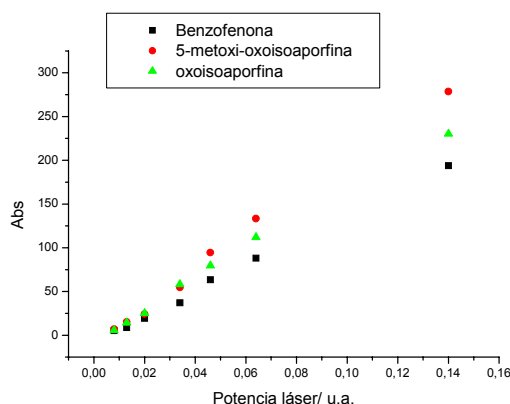


Figura 10: Gráfico de rendimientos cuánticos de tripletes absorbancia vs potencia de láser.

4.1.3 Estimación de la energía del triplete.

Se intentó estimar la energía del tripletes de la oxoisoaporfina, usando la técnica de apagamiento por aceptores de energía, usando los mencionados anteriormente, midiéndose el apagamiento por éstos, cuyas constantes resultaron difusionales para todos los apagadores con $E^T < 205$ kJ/mol y valores de k_q menores que la difusional para apagadores con $E^T > 205$ kJ/mol, lo que indica que la energía del triplete de esta oxoisoaporfina en particular cercano a los 200 kJ/mol. Este valor es muy cercano y

concuerda con el obtenido por fosforescencia en vidrio de THF a -77 K, por el grupo del Profesor Nonell, que determino una $E^T = 196$ kJ para la oxoisoaporfina.

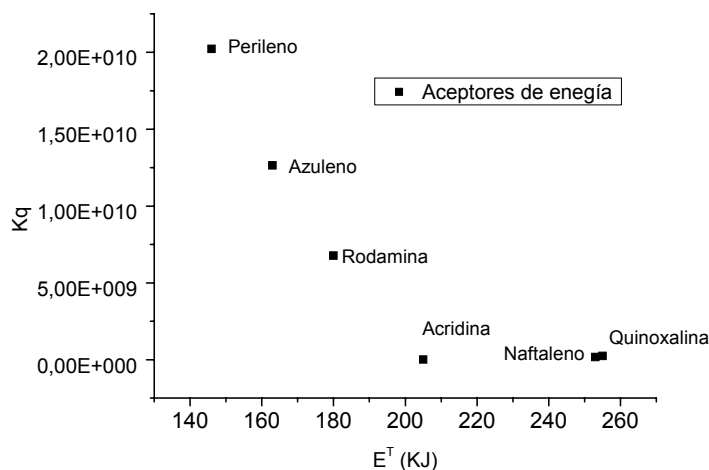


Figura 11: Gráfico de energía de tripletes versus k_q de los aceptores de energía para la oxoisoaporfina.

Tabla 3: Aceptores de energía utilizados, energía de triplete y respectivas constantes.

Aceptores de energía	E^T (KJ) ²⁰	Kq $M^{-1}s^{-1}$
Perileno	146	$2,023 \times 10^{10}$
Azuleno	163	$1,265 \times 10^{10}$
Rodamina 6G	180	$6,769 \times 10^9$
Acridina	205	$7,607 \times 10^8$
Naftaleno	253	$1,703 \times 10^8$
Quinoxalina	255	$2,372 \times 10^8$

4.1.4 Apagamiento del estado triplete de 5-metoxi- y oxoisoaporfina.

El apagamiento del estado triplete excitado de las 5-metoxi- y oxoisoaporfina se realizó con distintas aminas terciarias, midiendo a la longitud de onda de absorción máxima del estado triplete (450 nm). Para determinar las constantes de apagamiento bimolecular k_{TE} , se utilizó el gráfico de Stern-Volmer modificado, ecuación (10),

midiendo el tiempo de vida del triplete a distintas concentraciones de amina. A modo de ejemplo se muestran en la siguiente figura de los apagamientos típicos obtenidos.

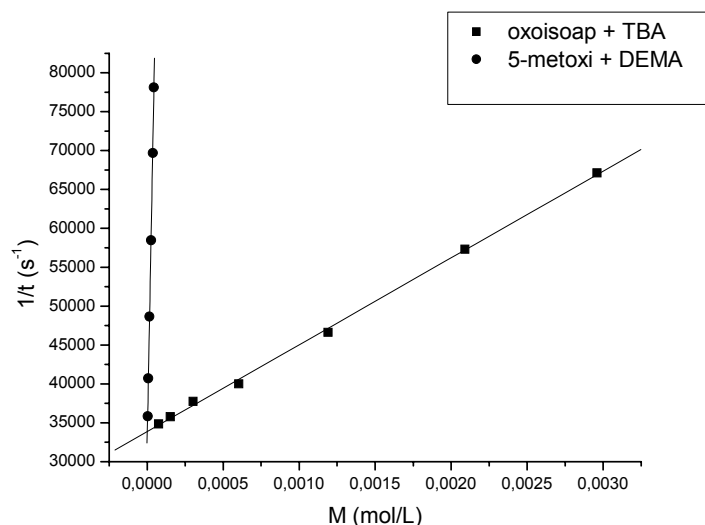


Figura 12: Ejemplo de apagamiento de oxoisoaporfina con TBA: $k_{TE} = 1.12 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $r = 0,9994$. y 5-metoxi-oxoisoaporfina con DEMA: $1.02 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; $r = 0,9992$ respectivamente.

En la **tabla 4** se encuentran resumidas las k_{TE} encontradas para el apagamiento por aminas donoras y no donoras de $H\alpha$, de distintos potenciales de oxidación.

Tablas 4: Valores de k_{TE} para las oxoisoaporfina con distintas aminas.

Amina	Pot. Ox. (V)*	$H\alpha$	$k_{TE}/ \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 5-metoxi-oxoisoaporfina	$k_{TE}/ \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ Oxoisoaporfina
TMP		No	$9,58 \times 10^6$	$8,91 \times 10^6$
TBA		Sí	$1,18 \times 10^7$	$1,12 \times 10^7$
TAA		Sí	$9,21 \times 10^6$	$1,37 \times 10^7$
TPhA	0,92	No	$1,02 \times 10^8$	$9,45 \times 10^7$
DEMA		Sí	$1,02 \times 10^9$	$1,39 \times 10^9$
DMEA		Sí	$1,02 \times 10^9$	$1,27 \times 10^9$
TEA	0,78	Sí	$1,24 \times 10^9$	$1,08 \times 10^9$
DABCO	0,6	No	$3,19 \times 10^9$	$3,77 \times 10^9$

*Versus electrodo de Calomelano^{23,24}

De estos valores, se puede observar que la capacidad donora de **H** no se relaciona con la capacidad de apagamiento, pero se espera que las constantes k_{TE} correlacionen con el potencial de oxidación de las aminas, que indican la facilidad con que estas donan sus electrones.

La capacidad donora de electrones va a depender de si la amina es alifática o aromática, de su grado de sustitución, y si el N es cabeza de puente en bicyclo, entonces el **DABCO**, que tiene el N como cabeza de puente, será la especie con menor valor de potencial de oxidación y es la amina con la cual se obtuvo mayor valor de k_{TE} con ambas oxoisoaporfinas. El valor de k_{TE} obtenido para **DABCO**, **TEA**, **DEMA** Y **DMEA** se acercan al límite controlado por difusión ($\sim 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para reacciones en acetonitrilo a T ambiente), que depende principalmente de la temperatura y de la viscosidad del medio.

En cambio, con trietilamina, TAA, trifenilamina, TPhA, tribencilamina, TBA, y tetrametilpiperidina, TMP, las reacciones dependerán principalmente de los potenciales de oxidación y no de la difusión ya que sus constantes cinéticas son mucho menores que la constante difusional.

4.2 Anión radical de 5-metoxi y oxoisoaporfina

El anión radical de las 5-metoxi- y oxoisoaporfina se obtienen cuando un solo electrón es transferido desde un dador. Para generarlo, se utilizaron aminas sin capacidad donora de hidrógeno α : **DABCO**, tetrametilpiperidina **TMP** y trifenilamina **TPhA**.

Los espectros, medidos a distintos tiempos después del disparo del láser, en soluciones de oxoisoa porfina, en presencia de estas aminas, muestran la aparición de una nueva banda a 480 nm atribuible al anión radical, $A^{\cdot-}$. Sin embargo, dada la baja concentración de la amina apagadora usada en estos experimentos, también es posible observar la presencia de la absorción atribuida al triplete.

Las figuras siguientes muestran los espectros resueltos en el tiempo en presencia de **DABCO** y **TMP** observándose la aparición del anión radical correspondiente a 480 y 490 nm para la oxoisoa porfina y la 5-metoxi-oxoisoa porfina, respectivamente. En estos espectros también se evidencia la desaparición de la absorción del triplete a 450 nm, desde el cual proviene el anión radical que absorbe a 480 o 490 nm.

A bajas concentraciones relativas de las aminas es posible observar simultáneamente ambas especies, es decir el triplete y el anión radical, como se muestra en el espectro resuelto en el tiempo de la oxoisoa porfina parcialmente apagada por **DABCO**, en el que se observa la aparición de la nueva señal mencionada antes, a 480 nm.

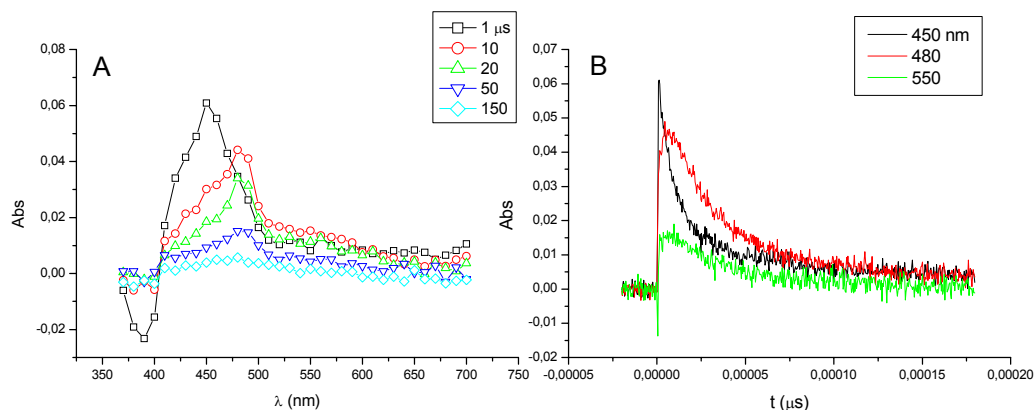


Figura 13: Espectro de oxoisoa porfina en presencia de DABCO $1,53 \times 10^{-5} M$.

Los tiempos de vida de las absorciones observadas en estas condiciones, ($[DABCO]= 1,53 \times 10^{-5} \text{ M}$) a 450, 480 y 550 nm son respectivamente 9,7 ; 31,7 y 40 μs . Es interesante notar que a esta concentración de DABCO, el tiempo de vida del triplete ha bajado aproximadamente a un 30% del valor original de aproximadamente 35 μs en ausencia de amina. El tiempo de vida cercano a 32 μs de la absorción a 480 nm es bastante mayor al del triplete en estas condiciones, aproximadamente 10 μs , sugiriendo que esta absorción, corresponde al anión radical de la oxoisoaporfina. El decaimiento de la señal a 550 nm ocurre con un $\tau = 40 \mu\text{s}$ y podría corresponder a la absorción del catión radical del DABCO²⁵. Todos los decaimientos son monoexponenciales y se muestran en la figura 13B.

Al aumentar la concentración de DABCO a $1,19 \times 10^{-2} \text{ M}$, el estado triplete está prácticamente apagado por completo, observándose claramente la señal a 480 nm atribuida al anión radical. Se puede observar también, mucho mejor definida que a bajas concentraciones, la presencia de una banda ancha de absorción entre 530 y 600 nm atribuible al catión radical del DABCO.

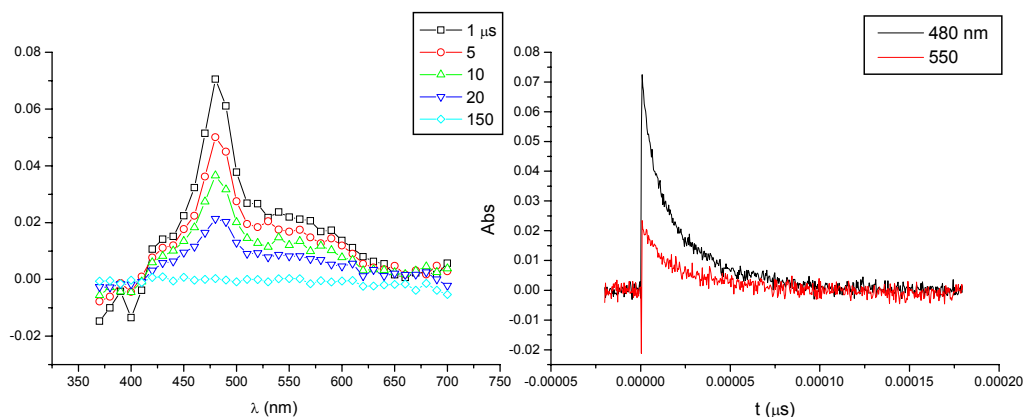


Figura 14: *Oxoisaporfina* en presencia de DABCO $1,19 \times 10^{-2} M$.

A esta concentración de DABCO, los tiempos de vida de las señales a 480 y 550 nm son ambos de $20,0 \pm 0,7 \mu s$, lo que sugiere que ambos iones radicales decaen en conjunto como una sola especie, posiblemente como un par ión radical.

Este decaimiento, monoexponencial, ocurre por la retrotransferencia de electrón (“back electron transfer”) desde A^- al catión radical del DABCO, de este tiempo de vida, se puede estimar una constante de retrotransferencia de $5 \times 10^{-4} s^{-1}$. El decaimiento monoexponencial implica que las especies decaen como un par ión radical en contacto. El bajo valor para esta constante es compatible con la naturaleza de la retrotransferencia electrónica que involucra la inversión de espín.

Para otra amina no donora de H, TMP, para la cual se observan espectros transientes muy parecidos a los obtenidos con DABCO, sorprendentemente, el decaimiento de las señales a 450 y 480 nm muestra un comportamiento cinético diferente, como se muestra en la siguiente figura.

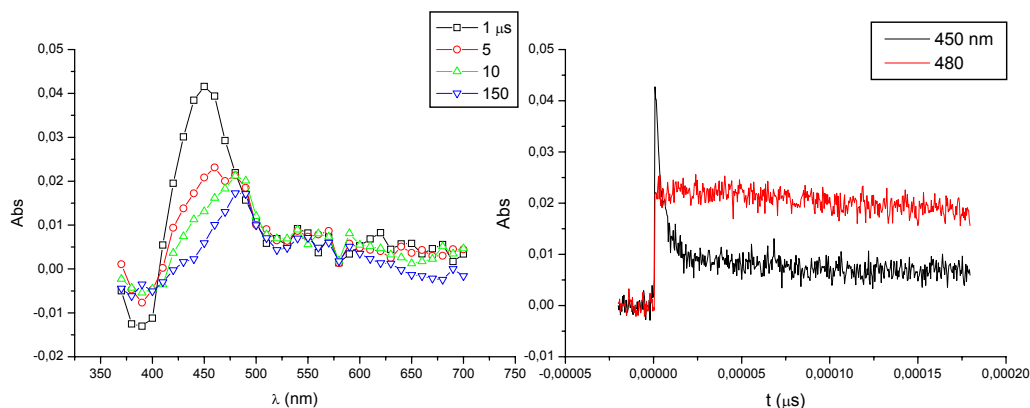


Figura 15: Oxoisoaerofina en presencia de TMP $1,18 \times 10^{-2}$ M.

Dado que la k_{TE} de TMP, es mucho menor que la de DABCO es posible observar la señal correspondiente al triplete aún a $[TMP] = 10^{-2}$ M, junto con la de 480 nm atribuida al anión radical, $A^{\cdot-}$. En estas condiciones el tiempo de vida del triplete es de 4,6 μ s, es decir un 13% del original en ausencia de amina y la absorción a 480 nm decae con un tiempo de vida de 130 μ s, mucho más largo que en el caso del DABCO. Esto sugiere que en el caso de TMP, no hay una asociación entre los iones radicales, con lo cual el decaimiento correspondería a la cinética de decaimiento del $A^{\cdot-}$ con el solvente y no como un par ión radical.

El mismo comportamiento descrito para la oxoisoaerofina a bajas y altas concentraciones de DABCO se observa para la 5-metoxi-oxoisoaerofina, con la sola diferencia de la aparición de la nueva banda, ocurre ahora a 490 nm, lo que se puede ser consecuencia de la sustitución con el grupo metoxilo. También en este caso se observan decaimientos paralelos a 490 y 550 nm, con tiempos de vida de $24,0 \pm 0,5$ μ s, evidenciando nuevamente la presencia de un par ión radical que decae con una constante

de retrotransferencia de $4,2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. En la siguiente figura se muestran los espectros transientes y decaimientos correspondientes a esta situación.

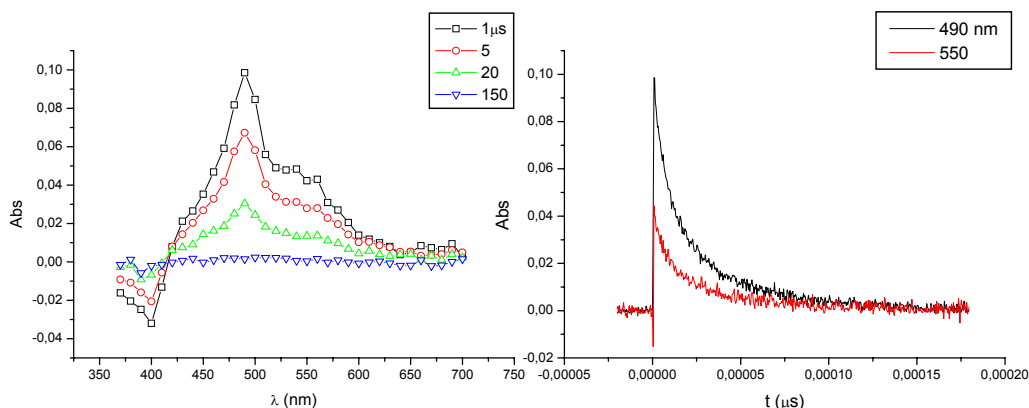


Figura 16: Espectro de 5-metoxi-oxoisoaeroporfina en presencia de DABCO $1,19 \times 10^{-2} \text{ M}$.

Para la 5-metoxi-oxoisoaeroporfina en presencia de TMP, se observa el mismo fenómeno descrito para la oxoisoaeroporfina no sustituida, con un largo tiempo de vida de $143 \mu\text{s}$ para la absorción a 490 nm atribuida al anión radical, figura 17. Este tiempo de vida indica que la constante de retrotransferencia de electrón para el anión radical aislado es de $7 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$, la que es un orden de magnitud menor que la observada para el par ión radical formado con el DABCO^+ . También es destacable que el tiempo de crecimiento de la señal a 490 nm corresponde al tiempo de decaimiento del triplete de $\sim 8 \mu\text{s}$, del cual proviene el anión radical $\text{A}^{\cdot-}$.

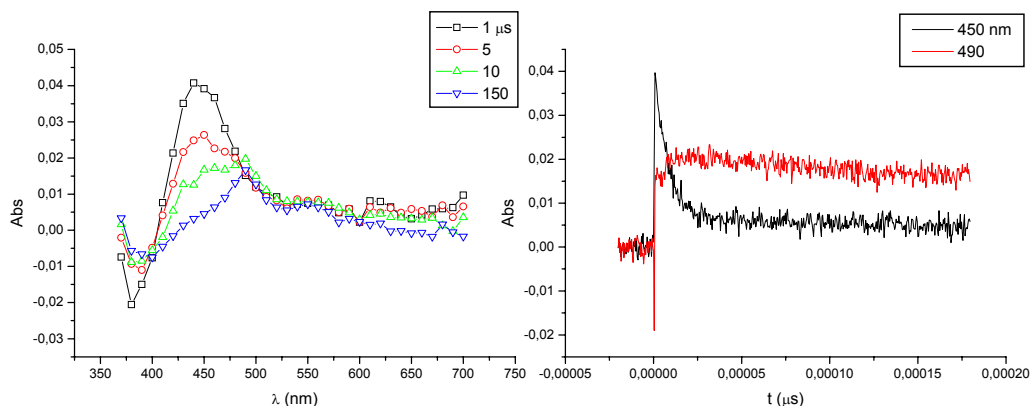


Figura 17: 5-metoxi-oxoisoa porfina en presencia de TMP $1,18 \times 10^{-2} M$. $\tau^T = 7,8 \pm 0,2 \mu s$.

Como estas reacciones no ocurren con O_2 presente en el medio, y considerando que las aminas no absorben más allá de 300 nm y que sólo puede existir transferencia electrónica entre las aminas no donadoras de hidrógeno y las oxoisoa porfinas excitadas, la absorción a 490 nm para la 5-metoxi- y 480 nm para la oxoisoa porfina sólo pueden atribuirse al anión radical respectivo. Sin embargo, los resultados cinéticos de los decaimientos en presencia de DABCO, sugieren que al menos con esta amina, se forma el par ión radical en contacto, mientras que con TMP se generarían los iones radicales separados por el solvente, los que decaerían independientemente con una constante cinética un orden de magnitud menor que la del par ión radical. Asimismo, experimentos realizados en presencia de trifetilamina (TPhA), la cual tampoco posee $H\alpha$, presenta un comportamiento muy similar a la TMP para ambas oxoisoa porfinas, notándose al aumentar la concentración el rápido decaimiento de la señal correspondiente al triplete y la aparición de las señales atribuidas a los respectivos aniones radicales de cada una, sin reportarse otras señales de mayor relevancia como en el caso del DABCO.

La diferencia de comportamiento entre la TMP y TPhA en comparación con el DABCO podría deberse a efectos estéricos provocados por los 4 grupos metilos vecinos al nitrógeno presentes en la TMP o al volumen de los grupos fenilos en el caso de la TPhA, que no permitirían una interacción eficaz entre los iones radical.

4.3 Radicales neutros hidrogenados de 5-metoxi- y oxoisoaporfina

4.3.1 Generación de radicales neutros hidrogenados de 5-metoxi- y oxoisoaporfina por aminas

La generación del radical hidrogenado se realizó con aminas capaces de donar el $H\alpha$ tales como TEA, DMEA, DEMA, TAA y TBA.

Con estas aminas debería ser posible observar todas las especies transientes generadas durante la fotorreducción; es decir: el triplete, el anión radical y los radicales hidrogenados. Por esta misma razón, al momento de hacer análisis de los espectros de absorción resueltos en el tiempo para las oxoisoaporfinas en presencia de estas aminas donoras de $H\alpha$, es de esperar que algunas de las bandas de absorción de las especies se superpongan sobre las de otras especies transientes, siendo especialmente complejo el caso de las radicales hidrogenados, para los cuales, se espera que exista más de una especie.

Experimentos realizados con todas las aminas mencionadas muestran resultados muy similares en cuanto a los espectros transientes y a los decaimientos a distintas longitudes de onda. De entre las aminas usadas, la TBA y TAA, tienen constantes de transferencia de electrón fotoinducida, k_{TE} , bajas del orden de $10^7 M^{-1}s^{-1}$, se deben ocupar

a altas concentraciones para generar concentraciones detectables de los intermediarios transientes, lo que provoca una serie de problemas asociados a reacciones colaterales debido a las altas concentraciones de amina presente en el sistema, de modo que se prefirió trabajar con las más eficientes en el apagamiento, requiriéndose concentraciones 100 veces menores que con las anteriormente mencionadas, se usaron entonces: TEA, DEMA y DMEA, a concentraciones tales que el τ^T correspondiese al 50% del τ^T_0 . Los resultados se muestran en los espectros transientes presentes en la figura 18.

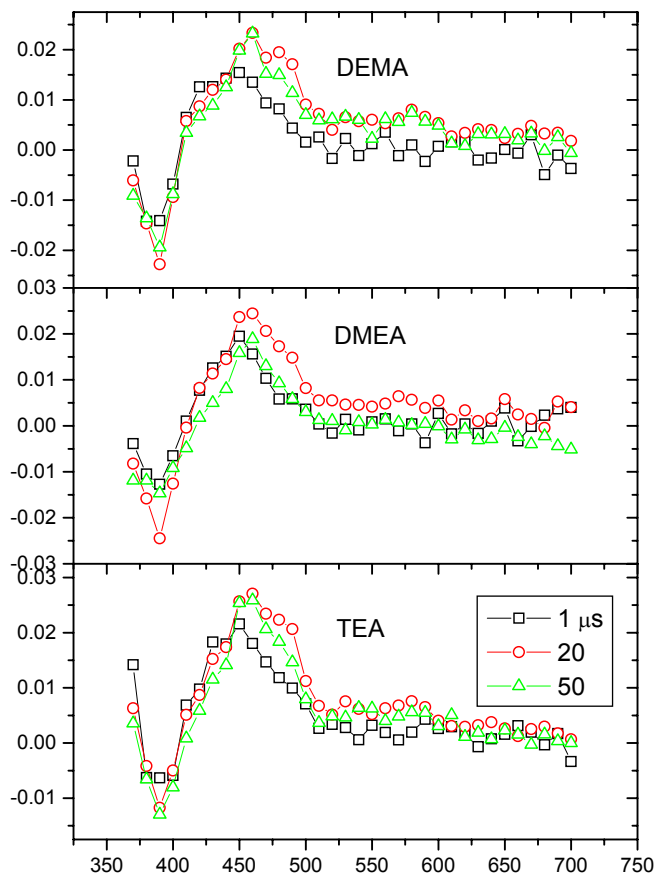


Figura 18: Espectros de absorción transientes de oxoisoporfina en presencia de aminas donoras de $H\alpha$.; $[DEMA]= 4,58 \times 10^{-4} M$; $[DMEA]= 4,19 \times 10^{-4} M$; $[TEA]= 2,34 \times 10^{-4} M$.

Estos espectros son muy parecidos entre si, observándose algunas características importantes, por ejemplo, se esperaría la absorción del triplete con $\tau \sim 15 \mu\text{s}$ a 450 nm, pero el tiempo de vida de esta absorción es del orden de 100 μs , es entonces aparente que algunas de las especies radicalarias hidrogenadas, formadas a partir del anión radical, absorben cerca del máximo de absorción del triplete, como se muestra en la figura anterior para la oxoisoaporfina en presencia de distintas aminas donoras. También se observa una absorción ancha y poco definida centrada en 580 nm que podría ser atribuida a alguno de los radicales hidrogenados presentes en el medio. Esta señal tiene tiempos de vida del orden de 170 μs , compatibles con absorciones de radicales libres de vida relativamente larga.

A 480 nm, donde se esperaría la absorción del anión radical A^- , la señal observada tiene un tiempo de vida del orden de los 90 μs , para las tres amina usadas. Este tiempo de decaimiento es compatible con el decaimiento del anión radical, en presencia de TMP ($\tau \sim 120\text{-}140 \mu\text{s}$), probablemente acelerado por las aminas terciarias con $\text{H}\alpha$.

Las cinética de crecimiento de la absorción a 480 nm ocurre con un $\tau \sim 13 \mu\text{s}$, muy cercano al tiempo de vida esperado para el triplete en estas condiciones, por lo tanto esta absorción debe corresponder al anión radical. Algo similar ocurre con la señal a 580 nm que tiene un tiempo de crecimiento de $\sim 10 \mu\text{s}$ y decae con $\tau \sim 170 \mu\text{s}$, siendo asignada a uno de los radicales hidrogenados. En la siguiente figura 19 se muestran curvas cinéticas típicas para oxoisoaporfina en presencia de TEA. Los resultados presentados aquí son compatibles con la presencia de, a lo menos, 2 especies radicalarias

hidrogenadas, una que absorbe mayoritariamente a 450 nm y otra con absorción sobre los 550 nm y que decaen con tiempos de vida de 100 y 170 μs respectivamente. La diferencia de los τ permite suponer que se trata de especies distintas.

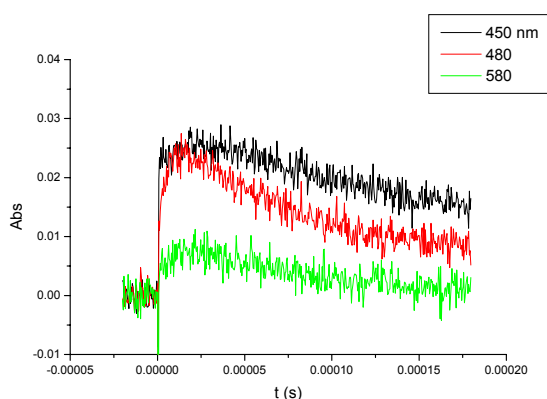


Figura 19: Curvas cinéticas para transientes de oxoisoaporfina con $[TEA] = 2,34 \times 10^{-4} M$ a 450, 480 y 580 nm.

Para la 5-metoxi-oxoisoaporfina se observa un comportamiento similar con la aparición de una banda de absorción centrada a 500 nm y una banda estructurada con máximos en 410 y 430 nm para el caso de DEMA y TEA. La señal a 410 nm decae con una cinética biexponencial, con tiempos de vida del orden de los 180 y 70 μs mientras la de 430 nm muestra un decaimiento monoexponencial con $\tau = 72 \mu\text{s}$, similar al decaimiento de la señal a 450 nm, sugiriendo que entre 400 y 450 nm absorben dos especies distintas con tiempos de vida también muy diferentes. Mientras a 490 nm donde se esperaría apareciera el anión radical, se observa una señal intensa con tiempo de vida del orden de 140 μs , que se genera más lentamente, sugiriendo una tercera especie radicalaria con bandas de absorción a menor energía. En las figuras siguientes, se muestran los espectros transientes y un ejemplo de los decaimientos:

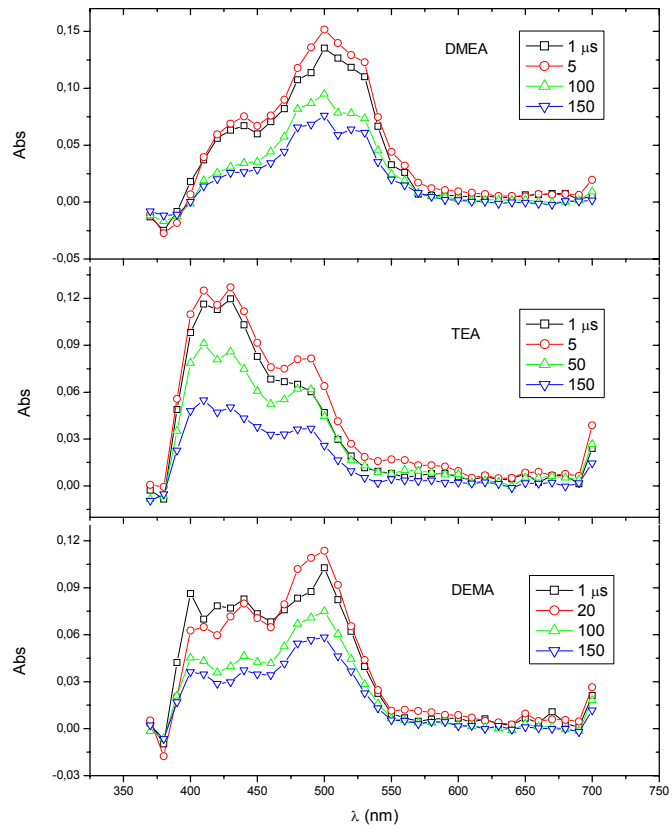


Figura 20: Espectros de absorción transientes de 5-metoxi-oxoisoaorpfina en presencia de aminas donoras de H α ; [DMEA] = $1,04 \times 10^{-4} M$; [TEA] = $7,58 \times 10^{-5} M$; [DEMA] = $9,95 \times 10^{-5} M$.

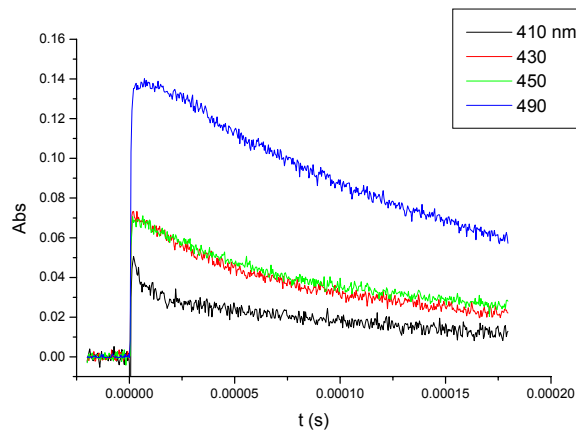


Figura 21: Curvas cinéticas para 5-metoxi-oxoisoaorpfina con [TEA] = $7,58 \times 10^{-5} M$ a 410, 430, 450 y 490 nm.

4.3.2 Cálculos mecano cuánticos semi-empíricos

Se minimizaron los iones radicales de las oxoisoaporfinas, usando cálculos mecano-cuánticos PM3, para determinar las densidades de espín sobre los diferentes centros, a fin de generar los radicales neutros hidrogenados, que se formarían por protonación del anión radical. En la figura siguiente, se muestran las densidades de espín para los aniones radicales de ambas oxoisoaporfinas.

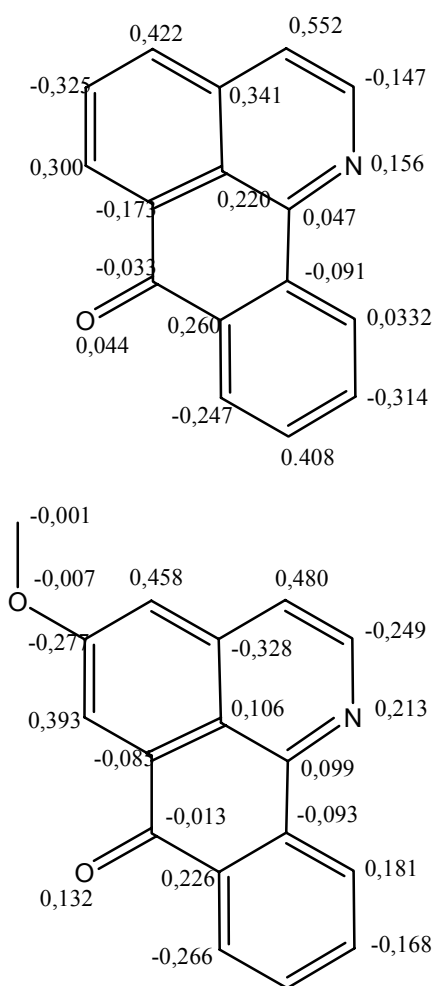


Figura 22: Densidades de espín para los aniones radicales de ambas oxoisoaporfinas.

Además del N y O que parecen ser los centros naturales para la protonación, los carbonos C3, C4, y C9 para la oxoisoaporfina y C3, C4 y C6 para 5-metoxi-

oxoisoaporfina, son los que tienen la mayor densidad de espín y por lo tanto los con mayor probabilidad de ser protonados. Considerando entonces todos los posibles radicales, se procede a calcular los calores de formación de cada uno de ellos, considerando como factibles los de menor ΔH_f , para calcular sus respectivos espectros de absorción usando el método ZINDO/S como se describió en la sección métodos. La siguiente tabla resume los resultados de entalpías de formación.

Tabla 5: *Entalpías de formación de los radicales hidrogenados.*

Radical	Oxoisoaporfina ΔH_f (kcal/mol)	5-metoxi-oxoisoaporfina ΔH_f (kcal/mol)
AOH·	29,01	-9,21
ANH·	34,66	-3,15
AC3H·	36,83	-1,13
AC4H·	39,43	0,65
AC6H·	---	2,47
AC9H·	43,40	---

Si bien los valores de entalpías de formación calculados no son absolutos, son un muy buen indicador de la estabilidad de los posibles radicales hidrogenados, por lo tanto, termodinámicamente los radicales de menor ΔH_f son los con mayor probabilidad de formarse y estos son el hidrogenado en el O carbonílico, en el N y en el C3 de la respectiva oxoisoaporfina. Sin embargo, dado el bajo nivel de los cálculos, no podría descartarse la formación de los otros radicales hidrogenados.

Entonces, con estos antecedentes, se procedió al cálculo teórico de los espectros de los posibles transientes de la fotorreducción por aminas, es decir de los tripletes, aniones radicales y de los tres radicales hidrogenados para ambas oxoisoaporfinas.

4.4 Cálculo teórico de los espectros de los posibles transientes de la fotorreducción por aminas

Los valores, señalados en la tabla siguiente, calculados para los tripletes se encuentran a 455 y 463 nm respectivamente para la oxoisoaporfina y 5-metoxi-, reproduciendo bastante bien los valores encontrados experimentalmente de 450 nm para ambas.

Tabla 6: Cálculo teórico de los espectros de los posibles transientes.

Especie transiente	Oxoisoaporfina		5-Metoxi-oxoisoaporfina	
	λ nm	Fuerza Oscilador	λ nm	Fuerza Oscilador
³ A	778,6	0,024	766,5	0,024
	634,6	0,069	654,7	0,065
	481,6	0,188	570,1	0,018
	455,3	0,326	494,3	0,185
	399,9	0,193	463,4	0,305
	349,0	0,034	403,9	0,215
	329,8	0,012	347,2	0,036
			330,3	0,019
A ⁻	739,1	0,068	752,2	0,07
	642,8	0,038	634,8	0,030
	624,0	0,063	475,8	0,169
	482,6	0,191	412,5	0,296
	409,1	0,281	357,4	0,012
	385,5	0,001	330,9	0,021
	359,0	0,016	324,5	0,068
	330,0	0,058		
AOH [·]	1031,3	0,097	612,1	0,002
	542,5	0,023	479,0	0,024
	400,1	0,018	437,7	0,017
	386,7	0,012	403,4	0,179
	358,9	0,147	384,2	0,165
	349,7	0,152	337,9	0,210
	332,8	0,034		
	326,7	0,007		
ANH [·]	645,7	0,041	661,6	0,038
	548,1	0,028	598,2	0,035
	471,6	0,012	432,4	0,006
	436,0	0,009	419,0	0,133
	424,8	0,118	389,8	0,330
	384,4	0,292	374,5	0,031
	379,4	0,072	346,3	0,081
	363,2	0,003		
	349,3	0,083		
	316,1	0,006		
AC3H [·]	653,5	0,058	563,4	0,130
	579,8	0,002	495,9	0,001
	424,4	0,089	458,8	0,017
	405,5	0,142	401,8	0,008
	394,4	1E-3	386,4	0,018
	372,8	0,110	370,8	0,032
	357,9	0,205	355,0	0,421
	347,1	0,018	318,0	0,065
	327,1	0,051		

Los valores, señalados en la tabla anterior, calculados para los tripletes se encuentran a 455 y 463 nm respectivamente para la oxoisoaporfina y 5-metoxi-, reproduciendo bastante bien los valores encontrados experimentalmente de 450 nm para ambas.

Asimismo se obtuvieron valores calculados para las absorciones de los aniones radicales, cercanos a los 480 nm para ambas oxoisoaporfinas, absorciones que también se relacionan coherentemente con los valores experimentales obtenidos para estas especies. Cabe señalar que las transiciones calculadas para los aniones radicales cercanos a 410 nm en ambos casos, no son observadas claramente en los resultados experimentales. Esto se puede explicar, como ya fue dicho con anterioridad, por el fenómeno de “ground depletion” que podría enmascarar la absorción de estas especies transientes bajo los 400 nm

Los cálculos teóricos de las transiciones muestran señales a 385, 425 y 550 nm para los tres distintos radicales hidrogenados de la oxoisoaporfina. Las que concuerdan adecuadamente con las observadas experimentalmente a 450, 550 y 580 nm. Bajo 400 nm no es posible discernir bien las absorciones experimentales debido al “ground depletion” y a la absorción de especies oxidadas de las aminas.

En el caso de la 5-metoxi-oxoisoaporfina, los análisis experimentales previos mostraron la formación de dos especies radicalarias hidrogenas entre 400 y 450 nm que se distinguían por sus τ , además de una tercera a 490 nm. Los valores calculados muestran transiciones intensas en esas regiones del espectro de modos que las

observadas experimentalmente pueden atribuirse a estas especies radicalarias, sin descartar que puedan existir otras.

Se debe recordar también que, a pesar de que los resultados de los cálculos confirman las asignaciones espectrales experimentales, no se puede descartar la presencia de otras absorciones de radicales hidrogenados en la misma zona espectral.

5. CONCLUSIONES

El estudio de la 5-metoxi- y oxoisoaporfina demuestra que su comportamiento no difiere mayormente de las especies similares saturadas entre los C2 y C3, reportándose un proceso de transferencia electrón-protón-electrón cuya mayor diferencia radica en la formación de varios radicales hidrogenados, lo que dificulta la completa caracterización de estos.

A pesar de esto, la técnica de láser-flash fotólisis resulta ser efectiva para la identificación de las especies transientes triplete y anión radical, cuyos espectros de absorción fueron asignados. Estas especies transientes lograron ser identificadas y caracterizadas inequívocamente en la presente tesis gracias a la técnica antes descrita, obteniéndose tiempos de vida, rendimientos cuánticos, energías del triplete, constantes de apagamiento bimoleculares y, en menor medida debido a las dificultades descritas, fueron asignadas las absorciones atribuibles a los radicales hidrogenados, a lo menos tres especies distintas para cada oxoisoaporfina, sin descartar la presencia de otras.

Se puede afirmar que el mecanismo propuesto con sus respectivos intermediarios transientes fue ratificado por las asignaciones espectrales de estas especies, comprobándose también la formación de más de un radical neutro hidrogenado.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Bing-Wu Yu, Ling-Hua Meng, Jian- Yong Chen, Tian-Xi Zhou, Kin-Fai Cheng, Jian Ding y Guo-Wei Qin. 2001. Cytotoxic Oxoisoaporphine Alkaloids from *Menispermum dauricum*. J. Nat. Prod. (64):968-970
- (2) J. Kunitomo, M. Satoh y T. Shingu. 1983. Structure and síntesis of menisporphine. A new type of isoquinoline alkaloid. Tetrahedron 39(20):3261-3265.
- (3) Z. H. Du, H. G. Lin y C. Y. Chai. 1987. Antiinflammatory effects of total alkaloids, polihidroxyphenolalkaloids, and non-phenolalkaloids of the rizome of *Menispermum dauricum* D.C. Zhong Yao Thong Bao 12(8):43-45, 64.
- (4) L.Tong, T.L. Yue. 1989. Effect of Dauricine on rat and human platelet aggregation and metabolism of arachidonic acid in washed rat platelets. Yao Xue Xue Bao. 24(2):85-8
- (5) S.M. Hu, X. Xu, X. S. Yao, C. B. Cui, Y. Tezuka. T. Kikuchi 1993. Dauricoside, a new glycosidal alkaloid having an inhibitory activity against blood-platelet aggregation. Chem. Pharm. Bull 41(10):1866-1868
- (6) Bing-Wu Yu, Jian-Yong Chen, Kin-Fai Cheng, X.Y. Li, Guo-Wei Qin. 2002. 61(4):439-42
- (7) Y.Q. Li, X.Y. Yang, S.C. Zhou, P.L. Gong. 2003. Effects of phenolic alkaloids of *Menispermum dauricum* on the hemodynamics and coronary circulation in anesthetized dog. Xao Xue Xue Bao. 38(9):658-60
- (8) S.J. Shi, H. Chen, S.F. Gu, F.D. Zeng 2003. Acta Pharmacol Sin. 24(10):1011-5

- (9) J.Q. Qian 2002. Cardiovascular pharmacological effects of bisbenzylisoquinoline alkaloids derivatives. *Acta Pharmacol Sin.* 23(12):929-32
- (10) B.W. Yu, J.Y. Chen, T.X. Zhou, K.F. Cheng, G.W. Qin. 2002. Nitrotyrasacutuminieeee from *Menispermum dauricum*. *Nat. Prod. Lett* 16(3):155-9
- (11) N. Yasuda, Y. Sugimoto, M. Kato, S. Inanaga, K. Yoneyama. 2003. (+)-Strigol, a withweed seed germination stimulant from *Menispermum dauricum* root culture. *Phytochemistry.* 62(7):1115-9
- (12) X. Zhang, W. Ye, S. Zhao, C.T. Che. 2004. Isoquinoline and isoindole alkaloids from *Menispermum dauricum*. *Phytochemistry* 65(7):929-32
- (13) Z.J. Zhang, X. Q. Zhang, W.C. Ye, Y. Wang, C.T. Che, S.X. Zhao. 2004. A new 1,4-phenanthraquinone from *Menispermum dauricum*. *Nat. Prod. Res.* 18(4):301-4
- (14) E. Sobarzo-Sánchez, C. Olea-Azar, J. Alarcón, L. Opázo, B.C. Cassels. 2003. Chatodic behavoir of 2,3-dihydrooxoisoaporphines. *J. Chil. Chem. Soc.* 48(2):79-83
- (15) J. De la Fuente, C. Jullian M., C. Saitz B., E. Sobarzo S., V. Neira P., C. González, C. González, R. López y H. Pessoa M. 2004. Photoreduction of oxoisoaporhines. Another example of a formal hydride transfer mechanism. *Photochem. Photobiol. Sci.* 1(3):194-9.
- (16) J. De la Fuente, V. Neira, C. Sainz, C. Jullian, E. Sobarzo S. 2005. Photoreduction of Oxoisoaporphine Dyes by Amine: Transient-Absortion and Semiempirical Quantum-Chemical Studies. *J. Phys. Chem.* 109,5897-5904
- (17) J. De la Fuente, C. Jullian, C. Sainz, V. Neira, O. Poblete and E. Sobrazo. 2005. Unexpected Formation of 1-Diethylaminobutadiene in Photosensitized Oxidation

- of Triethylamine Induced by 2,3-dihydro-oxoisoaporphine Dyes. A ^1H NMR and Isotopic Exchange Study. *J. Org. Chem.* 70,8712-8716.
- (18) E.M Sobarzo S. 2003. Síntesis y reactividad en el ámbito de las 7H-dibenzo[*de,h*]quinolinas. Tesis para optar al grado de Doctor en Química. Universidad de Chile. Santiago.. p.6-11.
- (19) R.V. Bensasson, E.A. Dawe, D.A. Long, E.J. Land. 1977. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1(73):1319-25.
- (20) S.L. Murov. I. Carmichael, G.L. Hug. 1993. *Handbook of Photochemistry.* Marcel Dekker. Vol 1. p.378.
- (21) J. De la Fuente, V. Neira P., C. Saitz B., C. Jullian M.y E. Sobarzo S. 2005. Photoreduction of oxoisoaporphines Dyes by Amines: Transient-absorption and Semiempirical quantum-chemical studies. *J. Phys. Chem. A.*70(26):5897-5904.
- (22) *Handbook of Organics Photochemistry* Vol. 1.1989.J.C. Scaiano editor.CRC Press.Págs. 369-403.
- (23) S.F. Nelsen, P.J. Hintz. 1972. Electrochemical oxidation of tertiary amines. The effect of structure upon reversibility. *Journal of the American Society* (94):7114-19
- (24) Eddie T. Seo, Robert F. Nelson, John M. Frotzsch, Lynn S. Marcoux, Donald W. Leedy, Ralph N. Adams. 1966. Anodic oxidation pathways of aromatic amines. Electrochemical and Electron Paramagnetic Resonance studies. *Journal of the American Society* (88):3498-503.

- (25) D.A. Dunn . D.I. Schuster, R. Bonneau. 1985. Characterization of transient intermediates on laser flash excitation of cyclohexenones in the presence of amines. *J. Am. Chem. Soc.* 107(9):2802-4