



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FISCOQUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FARMACOLÓGICA Y TOXICOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOELECTROQUÍMICA

CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE 4-NITROIMIDAZOLES EFECTO DEL SUBSTITUYENTE EN POSICIÓN 1

PROFESOR PATROCINANTE

Juan Arturo Squella Serrano

Depto. de Química Orgánica y
Fisicoquímica

DIRECTORES DE MEMORIA

Soledad Bollo Dragnic

Depto. Química Farmacológica y
Toxicológica

Juan Carlos Sturn Schaub

Depto. Química Inorgánica y Analítica

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

EDUARDO ANDRÉS CUTIÑO LÓPEZ

SANTIAGO DE CHILE

2007

Dedico esta memoria a mis padres

*Julio Cutiño Caucamán
Myriam López Lobos*

*Quiero agradecerles por el permanente apoyo, cariño y comprensión
que me han dado durante toda mi etapa formativa .*

Agradecimientos

Mis más sinceros agradecimientos a toda mi familia por su constante apoyo en lo referido a mi permanencia en la universidad. Además agradezco a mis amigos, sin los cuales el pasar por la universidad hubiese sido muy tortuoso, gracias por aceptarme como tal y ayudarme en los momentos difíciles que he vivido en este último tiempo..

Deseo agradecer también al profesor Arturo Squella por haber confiado en mi parte de su proyecto. A mi directora de tesis , profesora Soledad Bollo por su predisposición permanente e incondicional en aclarar mis dudas durante la realización de esta memoria.

También agradezco al profesor Juan Carlos Sturn por haberme siempre aconsejado durante la realización de esta memoria, especialmente en lo referido al funcionamiento de los equipos.

Agradezco también a los profesores y compañeros del laboratorio de Bioelectroquímica, especialmente a Paola Jara y Ricardo Salazar por su predisposición permanente en ayudarme cuando lo precisé y por ser unos excelentes compañeros de trabajo.

Por último deseo agradecer de forma especial a mi polola y amiga Patricia Echeverría , por haber sido un constante apoyo durante mi vida universitaria, por soportarme por más de 5 años y ayudarme cuando más lo necesite.

INDICE

Resumen.....	1
Summary.....	2
Introducción.....	3
Objetivos.....	5
Materiales y métodos.....	6
Resultados y Discusión	
Medio Prótico.....	18
Medio DMF/Citrato.....	40
Medio Aprótico.....	54
Conclusiones.....	66
Bibliografía.....	68

RESUMEN

Se realizó un estudio voltamétrico de dos compuestos 4-nitroimidazólicos los que presentan diferentes sustituyentes (-H, -CH₃) en la posición 1 del anillo imidazólico. Se determinó el comportamiento electroquímico en medio EtOH/Britton Robinson, DMF/Citrato y 100% DMF mediante técnicas de polarografía de pulso diferencial, polarografía tast y voltametría cíclica.

La reducción en medio EtOH/Britton Robinson produce a pHs básicos una señal de carácter reversible en ambos compuestos, la cual al ser estudiada por voltametría cíclica es atribuida a la formación del anión radical nitro, posibilitando medir las constantes de decaimiento de estos radicales. Además los potenciales de reducción del compuesto con el sustituyente metil en la posición 1 resultaron ser menos negativos.

En medio DMF/Citrato fue posible medir las constantes de decaimiento solamente del compuesto con el sustituyente metil en la posición 1, debido a la imposibilidad de aislar la señal correspondiente a la formación de anión radical nitro en el otro compuesto. Además, las constantes de decaimiento obtenidas para el compuesto en estudio resultaron ser mayores a las obtenidas por este mismo compuesto en medio EtOH/Britton Robinson.

Por otra parte, en medio 100% DMF se produce una señal notoriamente reversible en el compuesto con el sustituyente metil en la posición 1, lo que permitió determinar tanto la constante de decaimiento del anión radical nitro formado, como el potencial E_7^1 y la K_{O_2} . Además, para el compuesto sin el sustituyente en posición 1 se produjo una señal de carácter irreversible, la cual fue atribuida a la denominada reacción tipo padre-hijo que consta de una rápida autoprotónación del compuesto inicial.

SUMMARY**ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF 4-NITROIMIDAZOLE
“EFFECT OF THE SUBSTITUENT IN POSITION 1”**

The electrochemical behaviour of two 4-nitroimidazole compounds with different substituent in position 1 of the imidazole moiety (-H, -CH₃) was studied in three different media, EtOH/ Britton Robinson buffer, DMF/ citrate electrolyte and in pure DMF. The electrochemical study was carried out using Tast and Differential Pulse polarography and Cyclic Voltammetry.

Both compounds, in EtOH/ Britton Robinson medium and basic pHs showed a reversible redox couple for the reduction of nitro group which correspond to the formation of the nitro anion radical. By cyclic Voltammetry the decay constants of these radical anions were measured. The reduction potential of the compound with the methyl substituent in position 1 was less negative than the -H substituted.

In the DMF/citrate electrolyte, it was only possible to measure the decay constant of the 1 methyl substituted derivative, being the value of the constant greater than that obtained in EtOH/Britton Robinson buffer.

In DMF medium a reversible voltammogram of the 1-methyl derivative compound allowed the determination of the decay constant of the nitro anion radical, the E_7^1 potential and the K_{O_2} . The compound 1 H substituted showed an irreversible signal which was interpreted as a father-son type reaction which produced a fast autoprotection of the radical by the parent compound.

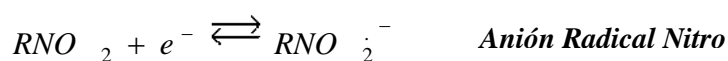
1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, también denominada tripanosomiasis americana, es una infección ocasionada por un protozoo llamado *Trypanosoma cruzi* el cual se transmite por medio de un insecto hematófago denominado vulgarmente vinchuca, que transfiere el parásito luego de defecar arriba de la picadura en la que previamente el insecto se alimentó. Se estima que al año son infectadas por la enfermedad de Chagas entre 15 y 17 millones de personas, de las cuales mueren unas 50.000, constituyéndose esta en un serio problema de salud pública a nivel mundial.[1]

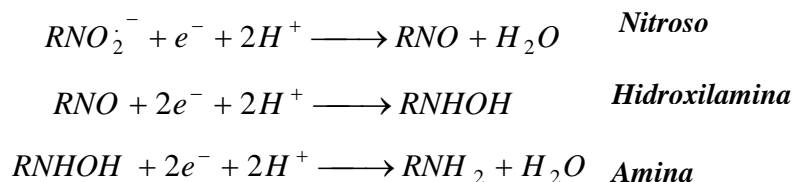
Para esta parasitemia ha sido muy difícil encontrar un tratamiento farmacológico satisfactorio, debido a que las drogas utilizadas actualmente en el tratamiento de la etapa aguda de esta enfermedad, presentan diversos efectos colaterales en el hombre, siendo necesaria la incorporación de nuevas alternativas farmacológicas más inocuas para el huésped.

Los nitroimidazoles constituyen un grupo de medicamentos ampliamente utilizados en el tratamiento de enfermedades infecciosas tanto en humanos como en animales [2] . La acción antimicrobiana de este grupo de fármacos se produce en el interior del microorganismo, donde algunas formas reducidas del grupo nitro interaccionan con el ADN microbiano causando un daño en su estructura e impidiendo así su reproducción[3, 4]. Es vital para el mecanismo de acción de los nitroimidazoles que los microorganismos tengan un sistema enzimático capaz de reducir el grupo nitro [5]. Es por ello que los parámetros que caracterizan la facilidad relativa de reducción, son muy importantes para definir el tipo de propiedades biológicas de los diferentes nitrocompuestos.

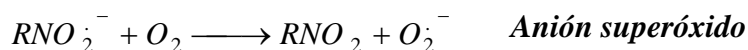
La reducción de los nitroimidazoles puede ser producida por dos diferentes vías según las condiciones del medio en que se encuentre el agente microbiano (aeróbico anaeróbico) [6,7,8], pero en ambas condiciones el requisito primario es la reducción vía un electrón para la formación del anión radical nitro:



Bajo las condiciones anaeróbicas, el anión radical nitro formado, puede sufrir una serie de reacciones produciendo los siguientes derivados:



Por otra parte, en condiciones aeróbicas el anión radical nitro formado sufre una reoxidación regenerando así el compuesto nitro inicial y produciendo el anión superóxido provocando el llamado "ciclo fútil".



Como se observa, el anión radical nitro juega un importante y crucial rol en el mecanismo de acción de este grupo de fármacos. Es por ello que el conocimiento de su comportamiento es un desafío permanente, para el posterior uso de los nitroimidazoles en la medicina moderna.

Estudios biológicos realizados a distintos nitroimidazoles muestran propiedades mutagénicas y carcinogénicas de ciertos derivados 2- y 5-Nitroimidazoles [9, 10]. Lo que ha dirigido el interés hacia los 4-Nitroimidazoles, reconocidamente menos mutagénicos. Este hecho, unido a que los estudios del comportamiento electroquímico de los derivados 4-Nitroimidazólicos son escasísimos, ha despertado nuestro interés, en el sentido de expandir las fronteras de este conocimiento.

Es por esto que el laboratorio de bioelectroquímica ha centrado su interés en el estudio electroquímico de los derivados sustituidos del 4-nitroimidazol. Caracterizando en esta memoria la influencia que tendría la sustitución en posición 1 del anillo imidazólico, sobre la reducción del grupo nitro en posición 4.

2. OBJETIVOS DE LA MEMORIA

2.1 Objetivo General

Caracterizar electroquímicamente el comportamiento catódico de dos compuestos Nitroimidazólicos, colocando especial énfasis en el estudio del efecto del sustituyente en posición 1, sobre la reducción del grupo nitro del anillo imidazólico y la formación de especies radicalarias del tipo anión radical nitro.

2.2 Objetivos Específicos

A) Dilucidación de procesos electródicos

- Analizar la respuesta electroquímica de 2 compuestos nitroimidazólicos frente a distintos solventes, buffers y electrolitos de soportes. Utilizando como electrodo de trabajo, el electrodo de gota de mercurio.
- Estudiar el comportamiento del pico u onda respecto a cambios de pH. Utilizándose para su determinación distintas técnicas electroquímicas, como son la Polarografía de Pulso Diferencial, Polarografía Tást y Voltametría cíclica, para luego aplicar razonamientos matemáticos y de cálculo.

B) Generación electroquímica y caracterización de intermediarios redox

- Estudiar el efecto del medio en la formación del anión radical nitro, el efecto del material del electrodo de trabajo a utilizar (Hg), el efecto de la concentración de la especie electroactiva y la velocidad de barrido en el caso de Voltametría cíclica.
- Realizar una determinación cuantitativa, para obtener valores de constante de decaimiento (k_2) y tiempo de vida media del radical formado.

C) Estudio de la Química en Solución

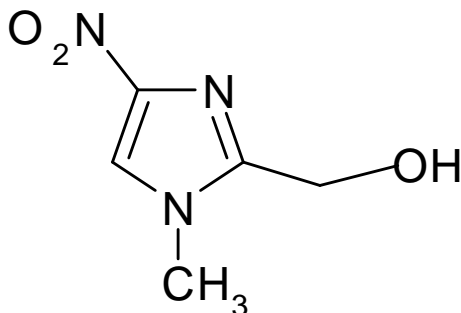
- Analizar la respuesta espectroscópica en medio acuoso mediante Espectroscopía UV-visible, analizando las bandas de absorción con respecto a las variaciones de pH. Con esto se podrán determinar equilibrios ácido-base y valores de pKa.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

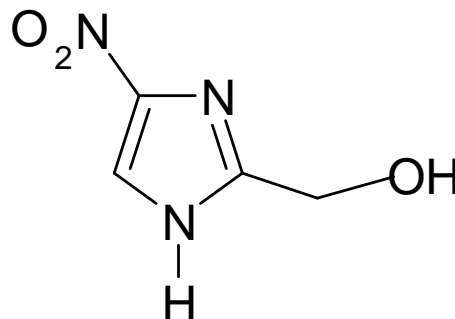
3.1.1 Compuestos estudiados: Se obtuvieron de la síntesis realizada anteriormente en el laboratorio

Compuesto I



1-metil-4-nitro-2-hidroximetilimidazol
(CH₃RNO₂)

Compuesto II



4-nitro-2-hidroximetilimidazol
(HRNO₂)

3.1.2 Reactivos Y Solventes

- Ácido Acético glacial (100%) p.a. Merck
- Acido Bórico (99%) p.a. Merck
- Acido Ortofosforico (85%) p.a. Merck
- Acido Clorhidrico (36%) p.a.
- Acido Cítrico anhidro (99.5%) p.a. Fluka Chemika
- Água desionizada pureza milli-Q (18.2 MΩ cm)
- Cloruro de Potasio (99.5%) p.a. Merck
- Etanol absoluto (99.8%) p.a. Merck
- Hidróxido de Sódio (pellets) p.a. Merck
- N,N-dimetilformamida (DMF) p.a. Merck
- Nitrógeno extra puro (99.9%) AGA Chile S.A.
- Perclorato de Tetrabutilamonio (PTBA) p.a. Fluka Chemika

3.1.3 Equipos

A) Equipos de uso general

- Agitador magnético Heidolph MR 3002
- Balanza analítica precisa 40SM-200A (sensibilidad 0.01mg)
- Medidor de pH WTW modelo pMx 3000.
- Sistema de purificación de agua Milli-Q *Ultra-Pure Water System*
- Sonicador Branson Branson

B) Sistema Voltamétrico y Computacional

- Analizador Voltamétrico BAS CV-100W
- Celda electroquímica BAS (10 mL.)
- Electrodo de trabajo: Goteante de Mercurio
- Electrodo de Referencia: Ag/AgCl BAS RE-5B KCl
- Electrodo Auxiliar: Alambre de Platino BAS MW-1032

C) Sistema Espectroscópico UV-vis

- Celda de Cuarzo 1 cm. de paso óptico
- Espectrofotómetro UV-vis UNICAM modelo UV-2
- Software VISION 2.1 para control de instrumento

3.1.4 Material de Vidrio

- Todo el material de vidrio utilizado fue clase A.

3.1.5 Tampones

- Buffer Britton Robinson 0.1M
- Buffer Citrato 0.015M + Ac. Bórico 0.03M
- Tampón calibrador pH 4.00 WTW.
- Tampón calibrador pH 7.00 WTW.
- Tampón calibrador pH 10.00 WTW.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Preparación de soluciones.

Soluciones Stock de los Nitrocompuestos

- Se prepararon soluciones stock de cada nitrocompuesto a una concentración de 0.02M en EtOH o DMF, dependiendo del medio de trabajo de la solución. Luego las soluciones se conservaron refrigeradas y aisladas de la luz para evitar su descomposición

A) Soluciones Tampón

- **Buffer Britton Robinson 0.1M:** En un matraz de 1000 mL se añaden 6.74 mL de H_3PO_4 , 5.76 mL de CH_3COOH glacial y 6.18g de H_3BO_4 . Posteriormente se aforo con agua tipo Milli-Q.
- **Buffer Citrato 0.015M + H_3BO_4 0.03M + KCl 0.3M:** En un matraz de 1000 mL se agregan 2.88 g de Ac. Cítrico, 1.85 g de H_3BO_4 y 22.4 g de KCl. Luego se aforo con agua tipo Milli-Q.

Soluciones de Trabajo

- **Medio Britton Robinson/EtOH (70/30):** Se toma una alícuota de la solución stock anteriormente preparada con EtOH, se añade a un matraz aforado de 10 mL, se agrega 3 mL de EtOH y luego se afora con buffer Britton Robinson.
- **Medio DMF/Citrato (60/40):** Se toma una alícuota de la solución madre anteriormente preparada con DMF y se añade a un matraz de 10 mL, se agregan 4 mL del Buffer Citrato 0.015M + Ácido Bórico 0.03M + KCl 0.3M, posteriormente se afora con solución de DMF + 0.1M de Perclorato de tetrabutyl amonio (PTBA).
- **Medio DMF:** Se toma una alícuota de solución stock preparada con DMF y se afora a 10 mL con la solución preparada anteriormente de DMF + 0.1M de Perclorato de tetrabutyl amonio (PTBA).

3.2.2 Técnicas Electroquímicas

3.2.2.1 Polarografía de pulso diferencial y polarografía Tast

Para desarrollar los estudios mediante estas técnicas se prepararon soluciones de trabajo a una concentración de 0.1mM del compuesto patrón. Se montó una celda electroquímica de 10 mL formada por electrodo goteante de mercurio como electrodo de trabajo, electrodo $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$ como electrodo de referencia y alambre de platino como electrodo auxiliar. Antes de cada medición se burbujeó con N_2 extra puro para eliminar el oxígeno presente, debido a que este se reduce a peróxido de Hidrógeno y agua interfiriendo en los polarogramas[11]. Luego se ajustó el pH con adiciones de pequeñas cantidades de $\text{NaOH}_{\text{conc.}}$ o $\text{HCl}_{\text{conc.}}$.

Se evaluó el comportamiento que presentó el potencial de pico (E_p), potencial de semionda ($E_{1/2}$), corriente de pico (I_p) y la corriente límite (I_{lim}) con respecto a la variación del pH, realizando un estudio de cada uno de estos parámetros cada media unidad de pH, desde 2 hasta 12.

3.2.2.2 Voltametría Cíclica

Para estos estudios, se trabajó con soluciones patrón a una concentración de 1mM de nitrocompuesto. Donde se montó una celda electroquímica de 10 mL formada por un electrodo goteante de mercurio como electrodo de trabajo, electrodo Ag/AgCl_(sat) como electrodo de referencia y alambre de platino como electrodo auxiliar y se burbujeó durante 10 minutos con N₂ extra puro.

Se estudió el comportamiento de la onda voltamétrica con respecto a la velocidad de barrido a distintos pH en los medios prótico y mixto. En medio aprótico sólo se varió la velocidad de barrido al igual que los medios anteriores. En todos los casos anteriormente citados se realizaron barridos cortos y amplios de potencial, con el objetivo de ver e identificar las distintas señales formadas.

De los experimentos voltamétricos se realizaron los siguientes estudios.

A) Análisis de procesos controlados por difusión o adsorción.

A partir de los valores de corriente de pico en función de la velocidad de barrido. Es posible distinguir si un determinado proceso es controlado por difusión o adsorción

Para procesos reversibles controlados por difusión se cumple la siguiente relación:

$$I_p = 2.69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot V_b^{1/2} \quad \text{Ec. 3.1}$$

Para procesos reversibles controlados por adsorción se cumple la siguiente relación

$$I_p = 2.69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot V_b \quad \text{Ec. 3.2}$$

En donde:

C = Concentración (mol/cm³)

A = Área del electrodo (cm²)

D₀ = Coeficiente de difusión (cm²/s)

V_b = Velocidad de barrido (Volts/s)

n = Numero de electrones

I_p = Intensidad de pico (A)

Por lo tanto al obtener la relación logarítmica entre I_p versus V_b tendremos:

$$\text{Log} (I_p) = \text{Log} (K) + \frac{1}{2} \text{Log} (V_b) \quad \text{Ec. 3.3}$$

$$\frac{\partial \text{Log} (i_p)}{\partial \text{Log} (V_b)} = 0.5 \quad \text{Ec. 3.4}$$

Así, un valor de pendiente igual a 0.5 de la ecuación 3.4 indica que el proceso está controlado por difusión y un valor igual a 1 indica un proceso controlado por adsorción.

Para procesos irreversibles, se tiene la siguiente expresión:

$$I_p = 2.99 \times 10^5 \cdot n \cdot (r \cdot n_a)^{1/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C \cdot V_b^{1/2} \quad \text{Ec. 3.5}$$

Donde,

n = Numero de electrones transferidos finales

n_a = Numero de electrones transferidos antes de la etapa determinante

B) Cálculo de razón de corriente anódica y catódica (I_{pa}/I_{pc})

Otro análisis que también se desarrolló fue determinar la razón de corrientes de pico anódica y catódica (I_{pa}/I_{pc}), para la transferencia electrónica, aumentando la velocidad de barrido desde 0.1 V/s a 10 V/s. Las razones de corrientes de pico I_{pa}/I_{pc} , fueron calculadas a partir de cada voltamograma cíclico correspondiente a una determinada velocidad de barrido, como se observa en la figura 1 mediante el procedimiento descrito por Nicholson [12]. En la figura pueden apreciarse las magnitudes que se miden y las formas en que se hacen dichas mediciones.

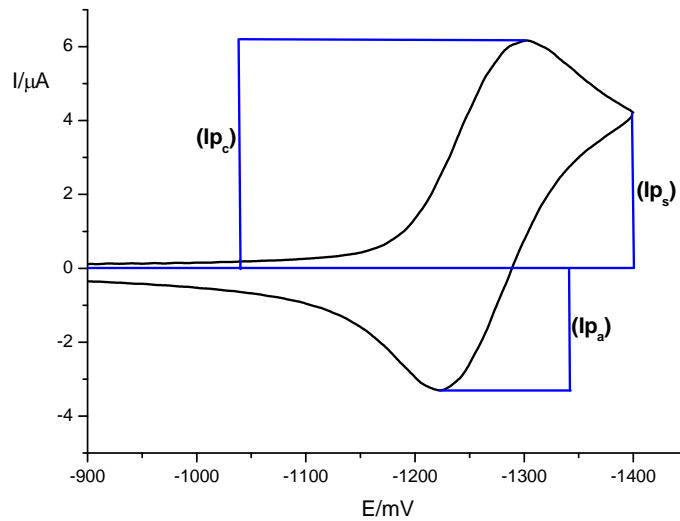


Figura 3.1: Valores de corriente que se utilizan para calcular las razones de corriente I_{pa}/I_{pc} de acuerdo al procedimiento descrito por Nicholson. El voltamograma cíclico corresponde a 1-metil-4-nitro-2-hidroximetilimidazol en medio aprótico a una concentración de 1mM y a la velocidad de 1V/s.

La razón I_{pa}/I_{pc} , además de indicar la tendencia de una especie generada electroquímicamente para dar reacciones químicas posteriores, es útil para determinar constantes cinéticas y las mejores condiciones para la formación del anion radical nitro.

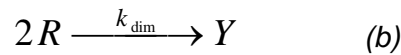
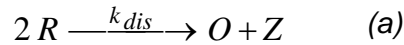
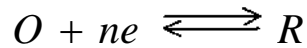
De esta forma con los tres valores mostrados en la figura 3.1, podemos calcular la razón I_{pa}/I_{pc} de acuerdo a la ecuación desarrollada por Nicholson [12].

$$\frac{I_{pa}}{I_{pc}} = \frac{(I_{pa})_1}{(I_{pc})_1} + 0.485 \frac{(I_{ps})_1}{(I_{pc})_1} + 0.086 \quad \text{Ec. 3.6}$$

Es importante señalar que en la ecuación 6 propuesta por Nicholson todas las corrientes son tomadas como valores absolutos.

C) Cálculo de la constante de decaimiento (k_2) del anión radical nitro proveniente de cada nitroimidazol

Para el cálculo de la constante de decaimiento se hizo uso de una teoría de Voltametría cíclica para las reacciones de disproporción y dimerización. Obteniéndose los distintos mecanismos descritos para una reacción de disproporción (a) y dimerización (b).



En primer lugar, a partir de los voltamogramas cíclicos obtenidos para cada nitrocompuesto a las distintas velocidades en estudio, se calcularon las respectivas razones I_{pa}/I_{pc} . Dichos valores fueron interpolados posteriormente en la ecuación propuesta por Olmstead para obtener el parámetro [13,16].

Luego se determinaron los valores de la constante de tiempo obtenidos a partir de la expresión descrita también por Olmstead.

$$\tau = \frac{(E_{1/2} - E_s)}{V_b} \quad \text{Ec. 3.7}$$

Donde: τ = Constante de tiempo

V_b = Velocidad de Barrido (Volts/s)

E_s = Potencial de inversión de barrido o Potencial de switching (Eps)

$E_{1/2}$ = Potencial de Semionda

En la que $E_{1/2}$ se obtiene,

$$E_{1/2} = \frac{(E_{pa} + E_{pc})}{2} \quad \text{Ec. 3.8}$$

Ecuación en la cual, E_{pa} = Potencial de pico anódico

E_{pc} = Potencial de pico catódico

El potencial de switching se define como:

$$E_{ps} = E_i + A \quad \text{Ec. 3.9}$$

Ecuación en la cual E_i = Potencial inicial
 A = Amplitud de barrido

Para la determinación de la constante de decaimiento de segundo orden se hizo uso de la ecuación descrita por Olmstead, la cual relaciona k_2 con los parámetros que a continuación se indican.

$$\text{Log } \check{S} = \text{Log} (k_2 \cdot C_0 \cdot \tau) + 0.047 (a\tau - 4) \quad \text{Disproporción} \quad \text{Ec. 3.10}$$

$$\text{Log } \check{S} = \text{Log} (k_2 \cdot C_0 \cdot \tau) + 0.034 (a\tau - 4) \quad \text{Dimerización} \quad \text{Ec. 3.11}$$

Ecuación en la cual:

- = Parámetro cinético obtenido de la curva teórica
- k_2 = Constante cinética de 2º orden [L mol⁻¹ s⁻¹]
- C_0 = Concentración de la especie en estudio
- = Constante de tiempo [s]
- a = Coeficiente dado por la expresión nFv/RT

Cuando k_2 corresponde a una velocidad que describe un proceso de segundo orden, el término a corresponde a 4. De esta forma la ecuación anterior se reduce a la siguiente expresión en la cual existe una relación lineal entre \check{S} y τ .

$$\check{S} = k_2 \cdot C_0 \cdot \tau \quad \text{Ec. 3.12}$$

Esta ecuación sirve de fundamento para el cálculo de k_2 , ya que esta constante se puede obtener a través de la pendiente del gráfico \check{S} vs τ .

Para la obtención de k_2 solo se utilizaron valores que den cuenta de una reacción de tipo reversible que cumplieran con la siguiente relación.

$$\Delta E_p = (E_{pa} - E_{pc}) \approx \frac{59}{n} mV \quad \text{Ec. 3.13}$$

E) Determinación del tiempo de vida media

Se determinó según la ecuación descrita para los procesos de segundo orden.

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 \cdot C_0} \quad \text{Ec. 3.14}$$

F) Determinación del potencial E_7^1 y $\text{Log } K_{O_2}$ en medio aprótico

Se determinó el potencial E_7^1 según la ecuación 3.15 descrita en estudios anteriores [14] para los nitrocompuestos que presentan la formación de la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ en medio aprótico.

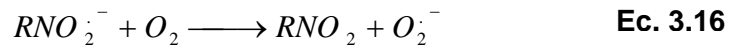
$$E_7^1 = E_{pc} - 643.7 \quad \text{Ec. 3.15}$$

Donde: E_7^1 = Parámetro que expresa la energía necesaria para transferir el primer electrón hacia un grupo electroactivo a pH 7 en medio acuoso. [mV]

E_{pc} = Potencial de pico catódico, obtenido por voltametría cíclica en medio aprótico para la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ [mV].

Ahora bien, los valores obtenidos para E_7^1 en la ecuación 3.15 se encuentran descritos para los estudios donde se utilizó el electrodo $\text{Ag/AgCl}_{(\text{sat})}$ como electrodo de referencia. Sin embargo para los estudios posteriores se requiere el E_7^1 con respecto al electrodo de Hidrogeno (H_2), por lo cual se deben realizar los ajustes matemáticos correspondientes, para la obtención del E_7^1 en relación al potencial normal de H_2 .

Del Valor E_7^1 con respecto al potencial normal de H_2 , se puede determinar la constante de equilibrio para la transferencia del electrón del anión radical nitro al oxígeno (K_{O_2}). Según indica la siguiente reacción:



Considerando el equilibrio anteriormente detallado y la ecuación de Nernst es posible obtener la ecuación 3.17 para el cálculo de K_{O_2} descrita por Wardman [15]

$$\text{Log}K_{O_2} = \frac{(-0.155 - E_7^1)}{0.059} \quad \text{Ec. 3.17}$$

Donde: K_{O_2} = Constante de equilibrio de la reacción 3.16

E_7^1 = Parámetro que expresa la energía necesaria para transferir el primer electrón hacia un grupo electroactivo a pH 7 en medio acuoso, en relación al potencial normal de H_2 . [Volt]

3.2.2.3 Espectroscopía UV-VIS

Para esta técnica se utilizaron soluciones de nitrocompuestos a una concentración de $5 \times 10^{-5} \text{M}$, en medio Britton Robinson. El blanco utilizado fue una solución de tampón Britton Robinson a una concentración de 0.1M. Todas las soluciones se añadieron a una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico para su posterior estudio.

El estudio espectrofotométrico de los compuestos nitroimidazólicos, se realizó en un rango de pH que fluctuaba, desde pH 2.0 hasta 12.0, incrementando este cada 0.5 unidades de pH, para lo cual se utilizó una solución concentrada de NaOH.

Para ambos compuestos se realizó un barrido con longitudes de onda entre los 220 nm. hasta los 450nm.

El pKa se determinó con la ecuación de Henderson Haselbach.

$$pH = pK_a + \text{Log} \left(\frac{A_{\max} - A}{A - A_{\min}} \right) \quad \text{Ec. 3.18}$$

Donde:

pKa = -Log de la constante de equilibrio ácido-base

A_{\max} = Absorbancia de la especie no ionizada, es decir, es la máxima absorbancia obtenida del gráfico pH vs Abs

A_{\min} = Absorbancia de la especie ionizada; es decir, es la mínima absorbancia obtenida del gráfico pH vs Abs.

A = Absorbancia a un pH determinado.

Con la ecuación 3.15 se obtiene una relación entre pH y la absorbancia, lo que nos permite obtener valores de pKa de los nitrocompuestos en estudio.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 MEDIO EtOH / BRITTON ROBINSON

Se utilizó como medio de trabajo tampón Britton Robinson 0.1M / EtOH (70/30) y se procedió a analizar el comportamiento electroquímico de los dos nitrocompuestos.

4.1.1 Estudio de estabilidad a la luz

Se utilizó la polarografía de pulso diferencial para estudiar la estabilidad de los nitrocompuestos a través del tiempo, en condiciones de luz y temperatura del laboratorio.

Se expuso la solución con la respectiva muestra a la luz de día en forma indirecta y a temperatura ambiente, a los pHs 3, 7 y 11 y se realizaron mediciones polarográficas a distintos tiempos. Los resultados obtenidos a pH 7.0 se presentan en la figura 4.1.1.

Cuando el procedimiento de exposición a la luz día fue aplicado durante un lapso de 120 minutos, los derivados CH_3RNO_2 y HRNO_2 no experimentaron cambios significativos en sus respectivos polarogramas, indicando que ambos nitrocompuestos permanecen inalterados en el tiempo de desarrollo normal de un experimento y por ello fue posible estudiar la influencia de pH con una misma solución, a la cual se le fue variando el pH en un rango entre 2-12.

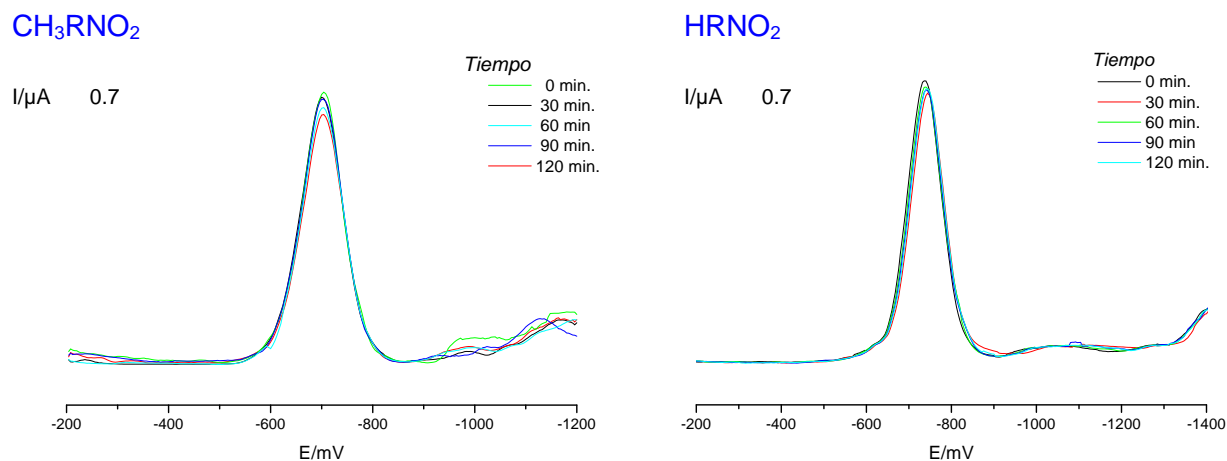


Figura 4.1.1: Polarogramas de pulso diferencial de CH_3RNO_2 y HRNO_2 en función del tiempo de preparación de la solución. Condiciones experimentales: T° ambiente, luz día, pH 7.00 y a una concentración de 0.1 mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

4.1.2 Polarografía de pulso Diferencial y Tast

Los experimentos realizados por las técnicas PPD y Tast muestran para ambos compuestos a pHs ácidos (Fig. 4.1.2 y 4.1.3) una señal inicial (I) bien definida. A medida que aumenta el pH de la solución, esta señal se desplaza a valores de potencial más negativos, junto con observarse a pHs básicos una segunda señal (II) la cual no se desplaza con el pH. Finalmente sobre pH 8.5 se advierte la formación de una tercera señal (III) la que para el caso del CH_3RNO_2 no se desplaza con el pH, a diferencia de la señal III del compuesto HRNO_2 la cual se desplaza a valores de potencial más negativos a medida que aumentamos el pH.

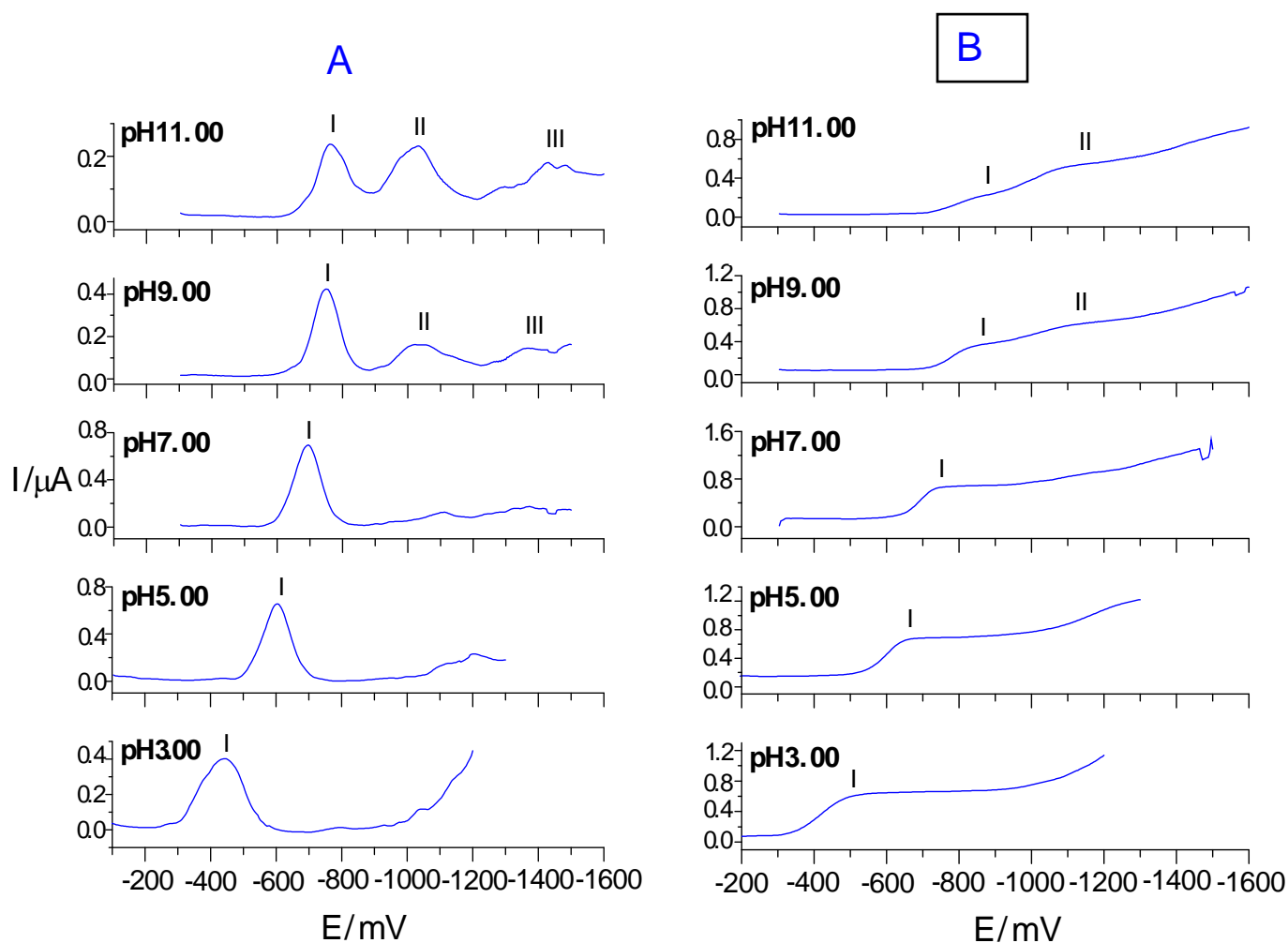


Figura 4.1.2: Polarografía de pulso diferencial (A) y Tast (B) de CH_3RNO_2 a una concentración de 0.1mM. Medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

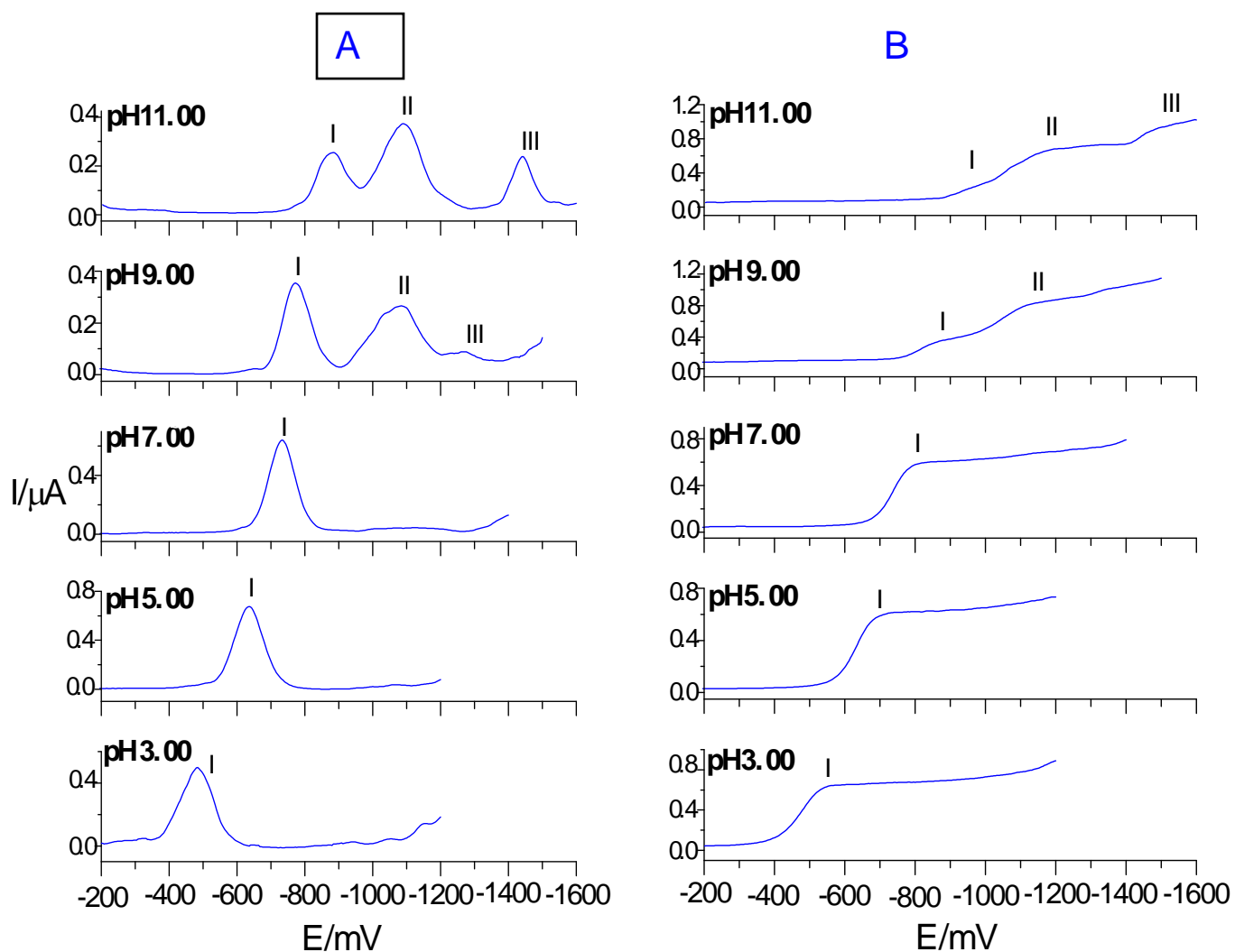


Figura 4.1.3: Polarografía de pulso diferencial (A) y Tast (B) de HRNO₂ a una concentración de 0.1mM. Medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

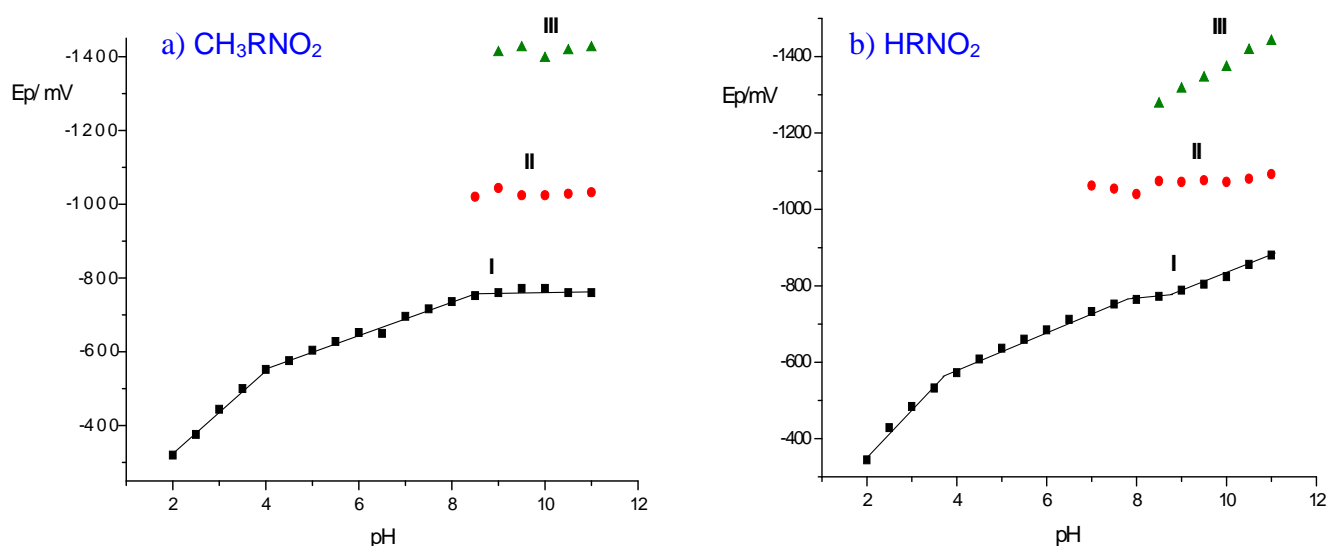


Figura 4.1.4: Variación del potencial de pico (E_p) en función del pH a una concentración de 0.1mM para el CH_3RNO_2 (a) y el HRNO_2 (b). En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

En la figura 4.1.4 se observa el comportamiento del potencial de cada señal con respecto al pH. Donde en el caso del CH_3RNO_2 la señal I aparece en todo el rango de pH estudiado, la cual sobre pH 9.0 mantiene su potencial catódico estable, luego sobre este mismo pH se observa la aparición de las señales II y III las cuales son independientes del pH. Se observan también en la figura 4.1.4a, dos quiebres de tendencia lo que podría indicar, la existencia de dos pKa polarográficos a pHs cercanos a 4.0 y 8.5.

En el caso del HRNO_2 se observa que el potencial de reducción de la señal I aumenta en todo el rango de pH estudiado, y a partir de pH 7.0 se observa la aparición de la señal II. Posteriormente sobre pH 9.0 se observa la aparición de la señal III la cual es fuertemente dependiente del pH de la solución en estudio. Además se observan 2 quiebres de tendencia en el compuesto HRNO_2 , lo que podría indicar la existencia de dos pKa polarográficos a pHs aprox. de 4.0 y 9.0.

Por otra parte, al comparar los potenciales de pico (E_p) y los potenciales de semionda ($E_{1/2}$) obtenidos para ambos nitrocompuestos (tabla 4.1.1) a pHs 3, 7 y 11, se observa que el compuesto CH_3RNO_2 presenta menores potenciales de reducción que el compuesto HRNO_2 , lo que tendría su explicación en que la presencia del sustituyente metil en la posición 1 del anillo imidazólico, produciría un bloqueo estérico parcial entre los electrones no enlazantes del N1 del anillo imidazólico, provocando que estos electrones no contribuyan al sistema del anillo, disminuyendo así la densidad de electrones sobre el grupo nitro. Todo lo detallado anteriormente tendría como resultado una mayor facilidad de reducción por parte del compuesto CH_3RNO_2 en medio EtOH/Britton Robinson.

		<i>pH 3.0</i>		<i>pH 7.0</i>		<i>pH 11.0</i>	
		<i>E_p / mV</i>	<i>$E_{1/2}$ / mV</i>	<i>E_p</i>	<i>$E_{1/2}$ / mV</i>	<i>E_p / mV</i>	<i>$E_{1/2}$ / mV</i>
CH_3RNO_2	Señal I	-447	-452	-694	-740	-759	-804
	Señal II					-1034	-1032
	Señal III					-1423	---
HRNO_2	Señal I	-484	-472	-740	-736	-880	-904
	Señal II				-1108	-1092	-1112
	Señal III					-1440	-1436

Tabla 4.1.1: Valores de los potenciales de pico (E_p) y potenciales de semionda ($E_{1/2}$) para los nitrocompuestos CH_3RNO_2 y HRNO_2 a pH 3, 7 y 11 a una concentración de 0.1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

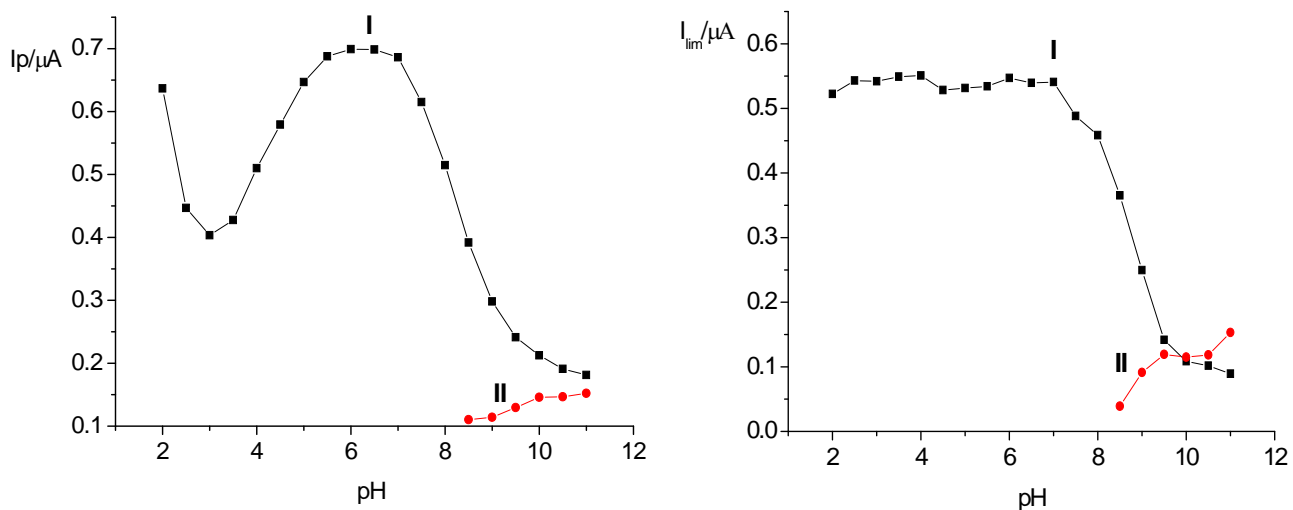


Figura 4.1.5: Dependencia de las corrientes de pico (A) y corrientes limite (B) vs pH. Para el compuesto CH_3RNO_2 a una concentración 0.1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

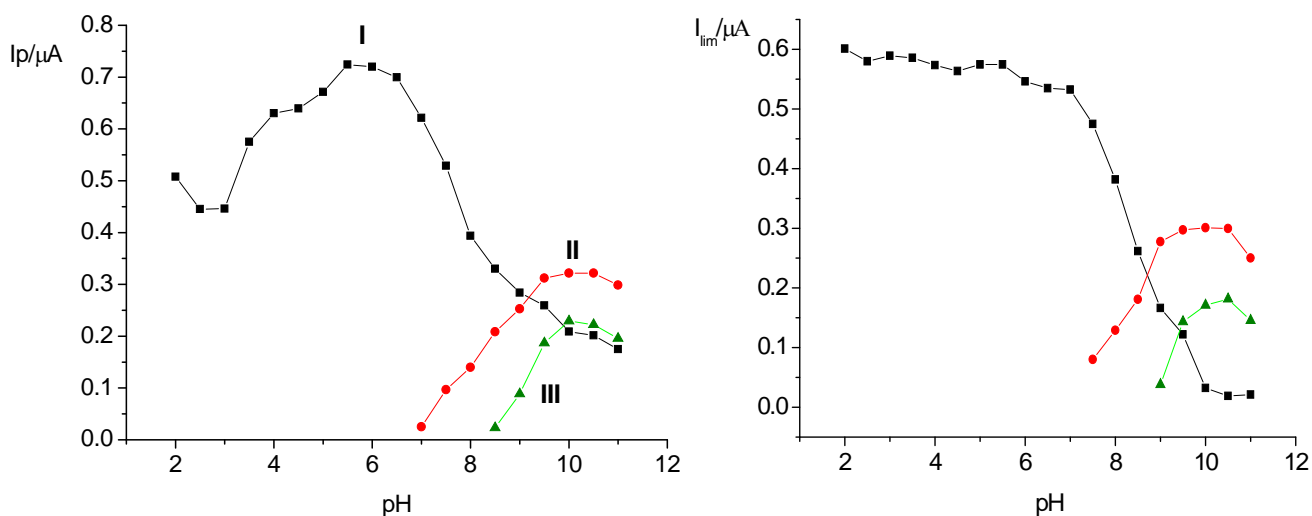


Figura 4.1.6: Dependencia de las corrientes de pico (A) y corrientes limite (B) vs pH . Para el compuesto HRNO_2 a una concentración 0.1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

Como se observa en las figuras 4.1.5 y 4.1.6 la corriente de pico de la señal I en ambos compuestos experimenta fuertes variaciones con el pH, observándose a pHs ácidos una señal que decae en intensidad hasta aproximadamente pH 3.0, luego esta señal incrementa hasta un valor máximo en la zona de pHs entre 5.0 - 7.0. Posteriormente a pHs básicos se presenta el mayor cambio con una fuerte caída en intensidad que se correlaciona con la aparición de las señales II y III.

Por otro lado, en el caso de corriente límite se observa que la señal I exhibe una independencia con el pH hasta pH 7.0 y presenta además la misma intensidad para ambos compuestos (aprox. 0.55 μA) lo que indica que a pHs ácidos se mantiene un mecanismo de difusión y que el número de electrones transferidos es el mismo para ambos compuestos.

A pHs básicos para ambos compuestos y en forma análoga a lo observado por PPD, la intensidad de la I_{lim} decae de forma concomitante a la aparición de nuevas señales.

4.1.2 Voltimetría cíclica

Por esta técnica se analizó la reducción de los dos compuestos nitroimidazólicos a tres pHs (3, 7 y 11) y a diferentes velocidades de barridos, las cuales oscilaron entre 0.1V/s a 10V/s , a fin de ahondar en el mecanismo de reducción de estos compuestos.

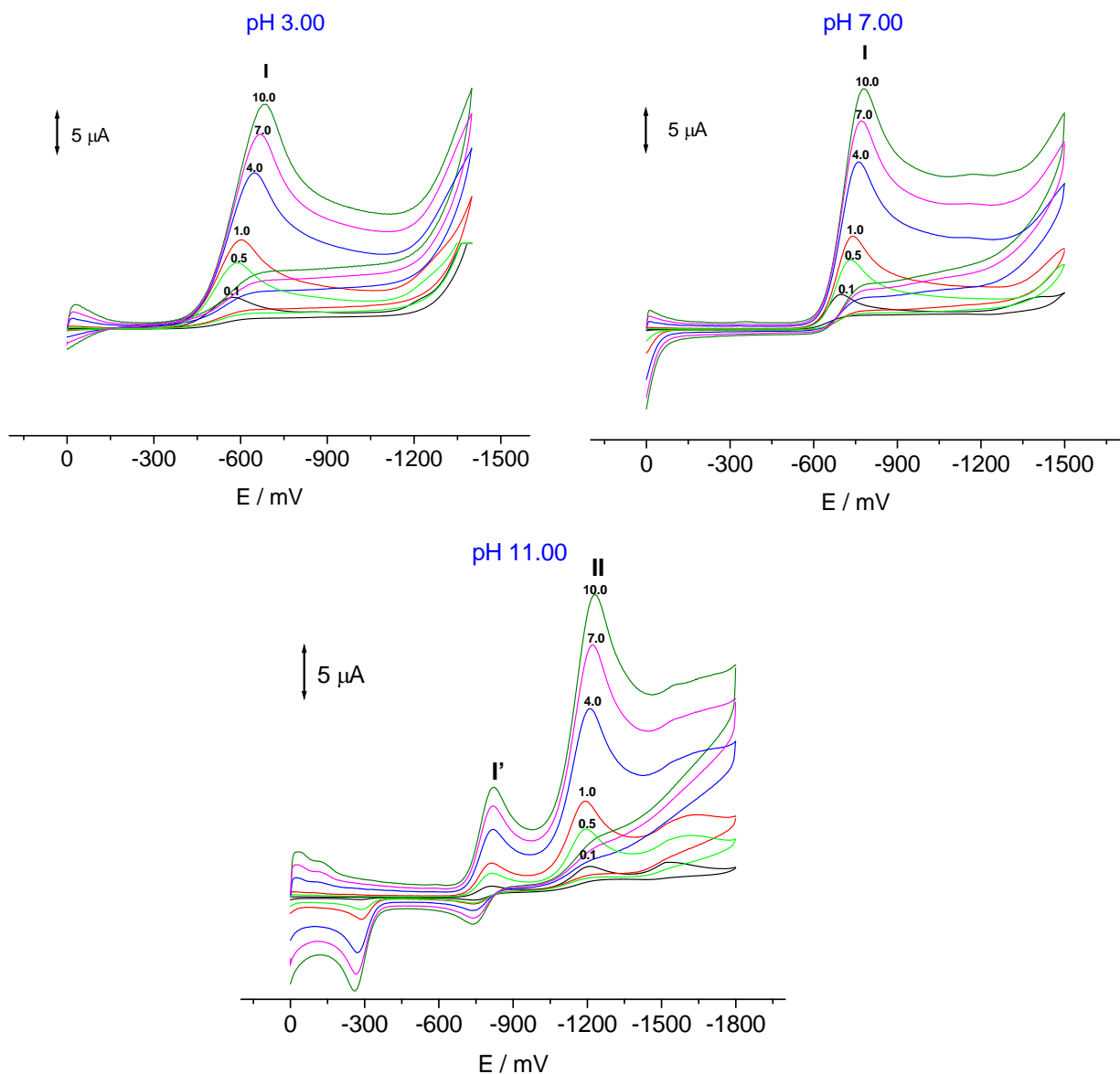


Figura 4.1.7: Voltimetría cíclica a diferentes pH y a distintas velocidades de barrido (0.1; 0.5; 1.0; 4.0; 7.0; 10.0 V/s) para el CH_3RNO_2 a una concentración 1mM. En medio EtOH/Britton Robinsón 0.1M (30/70).

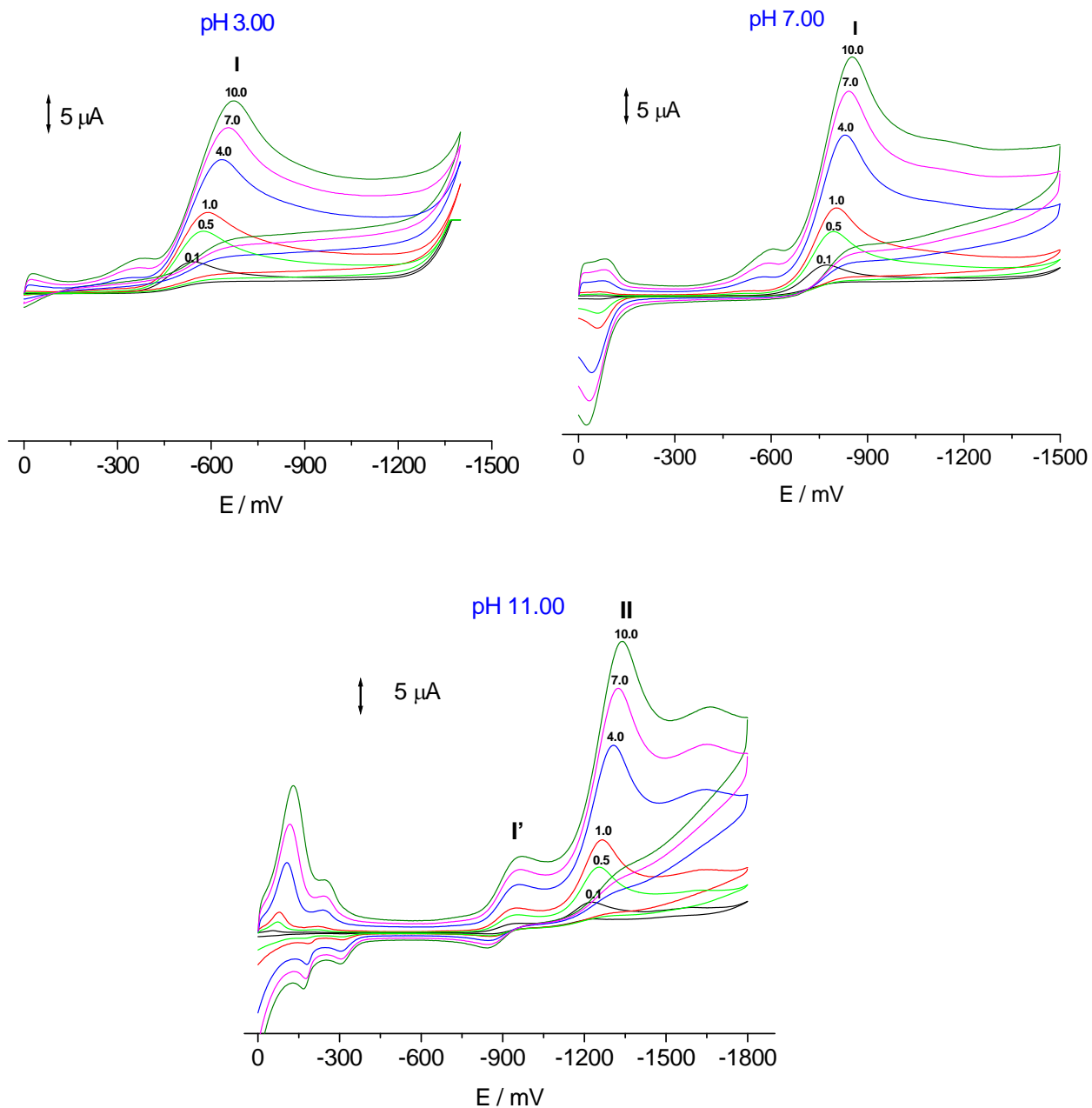
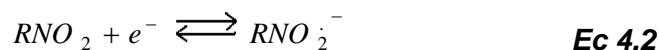


Figura 4.1.8: Voltametría cíclica a diferentes pH y a distintas velocidades de barrido (0.1; 0.5; 1.0; 4.0; 7.0; 10.0V/s) para el HRNO_2 a una concentración 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

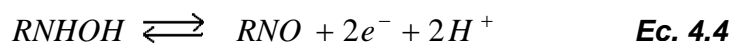
De los resultados presentados en las figuras 4.1.7 y 4.1.8 se pudo concluir que para ambos compuestos la señal I es de carácter irreversible a pHs menores o igual a 7.0, no observándose pico de vuelta y percibiéndose un desplazamiento en el potencial catódico a medida que se aumenta la velocidad de barrido. De acuerdo a esta información y a los estudios realizados por polarografía se puede concluir que esta señal irreversible corresponde a la reducción del grupo nitro a su derivado hidroxilamínico vía 4 electrones de acuerdo a la siguiente reacción (Ec. 4.1).



Sin embargo a pHs sobre 7.00 y en concordancia con lo observado en polarografía, se observa el desarrollo de una nueva señal, en este caso la señal I', que es de carácter reversible, por lo que correspondería a la reducción del grupo nitro vía 1 electrón para formar el correspondiente anión radical nitro (Ec. 4.2). Además se observa que la señal II es irreversible correspondiendo ésta última a la reducción del anión radical nitro al derivado hidroxilamínico (Ec. 4.3).



Además se observa una segunda señal de oxidación a potenciales cercanos a cero la cual aumenta su potencial a medida que aumenta el pH del medio. Esta señal correspondería a la oxidación del derivado hidroxilamínico a su derivado nitroso (Ec. 4.4):



La figura 4.1.9 resume el comportamiento de los nitrocompuestos a diferentes pHs y a una velocidad de barrido de 1V/seg. Observándose que la señal correspondiente a la reducción del grupo nitro a su derivado hidroxilamínico tiende a desplazarse a valores de potencial más negativos a medida que se aumenta el pH y que existe un desdoblamiento de esta señal principal en la zona de pHs básicos.

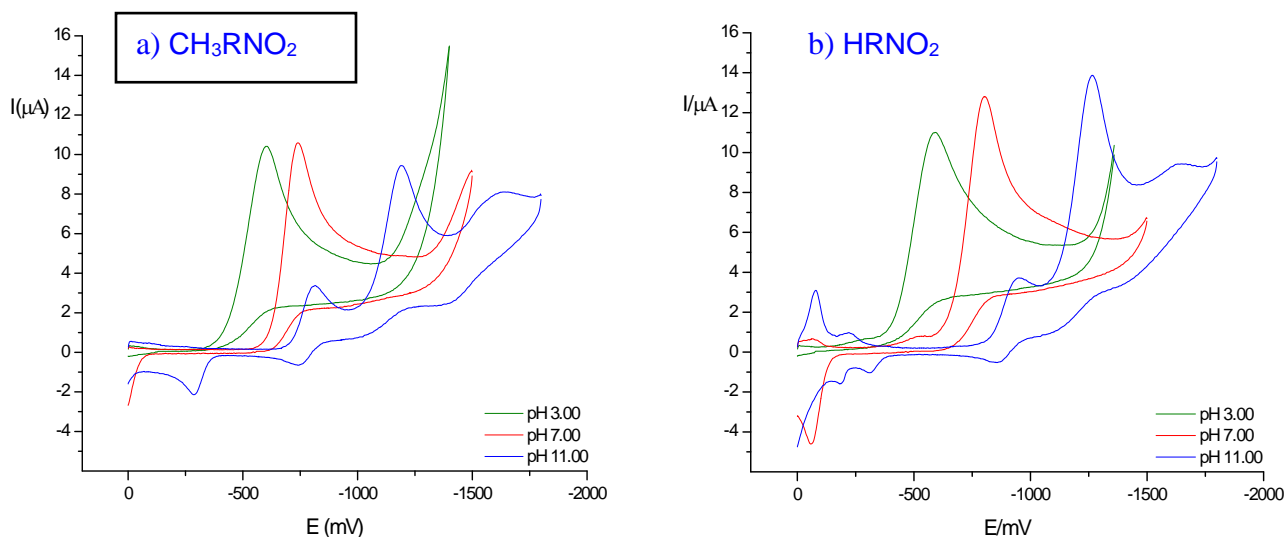


Figura 4.1.9: Voltamogramas cíclicos realizados a pH 3 , 7 y 11 , a una velocidad de barrido de 1 V/s para los compuestos CH_3RNO_2 (a) y HRNO_2 (b) a una concentración 1 mM. En medio EtOH/Britton Robinsón 0.1 M (30/70).

Por otro lado, al comparar los potenciales de pico catódico correspondientes a la reducción del grupo nitro según se indica en la tabla 4.1.2. Se observa que el compuesto CH_3RNO_2 es más fácilmente reducible que el compuesto HRNO_2 en pHs neutros y básicos. Estos resultados concuerdan con lo observado anteriormente en polarografía y tendrían la misma explicación detallada para este estudio en lo relacionado al efecto que produciría el sustituyente metil en la posición N1 del anillo imidazólico sobre la reducción del grupo nitro.

	<i>pH 3.0</i>		<i>pH 7.0</i>		<i>pH 11.0</i>	
	CH_3RNO_2	HRNO_2	CH_3RNO_2	HRNO_2	CH_3RNO_2	HRNO_2
Epc / mV señal I	-601	-594	-738	-804	--	--
Epc / mV señal I'					-814	-946
Epc / mV señal II					-1190	-1265

Tabla 4.1.2: Valores de los potenciales de pico catódicos (Epc / mV) para los nitrocompuestos CH_3RNO_2 y HRNO_2 a pH 3, 7 y 11 a una concentración de 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

Ahora bien, visto el comportamiento que tienen los compuestos CH_3RNO_2 y HRNO_2 en medio EtOH/Britton a distintos pHs, se procedió a comparar los mecanismos de reducción para estos nitrocompuestos a los tres pHs en estudio, según se indica a continuación.

1) Diferencia entre los potenciales catódicos y anódicos (Ep): Según se indica en la Figura 4.1.10, los valores obtenidos para el compuesto CH_3RNO_2 se acercaron al valor de 60 mV descrito para los procesos reversibles en los que esta involucrada una transferencia monoelectrónica, lo que indicaría que la formación del anion radical nitro es reversible. En el caso del HRNO_2 se observa que a velocidades de barridos bajas los valores de Ep son cercanos a 60mV, pero a medida que aumenta la velocidad de barrido este valor crece, lo que indicaría que la transferencia electrónica es de carácter cuasireversible.

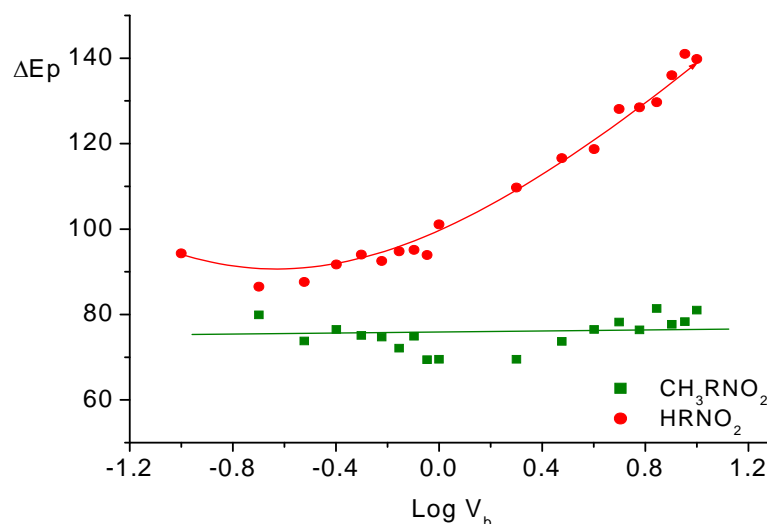


Figura 4.1.10: Dependencia del ΔE_p con la velocidad de barrido del experimento, para CH_3RNO_2 y HRNO_2 a pH 11 en medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

2) Dependencia entre Log i_{pc} y Log V_b : En la figura 4.1.11. se observa que existe una dependencia lineal entre ambos parámetros con pendientes cercanas a 0.5 (tabla 4.1.3), lo que indica que el proceso redox esta controlado por difusión del nitrocompuesto a la superficie del electrodo.

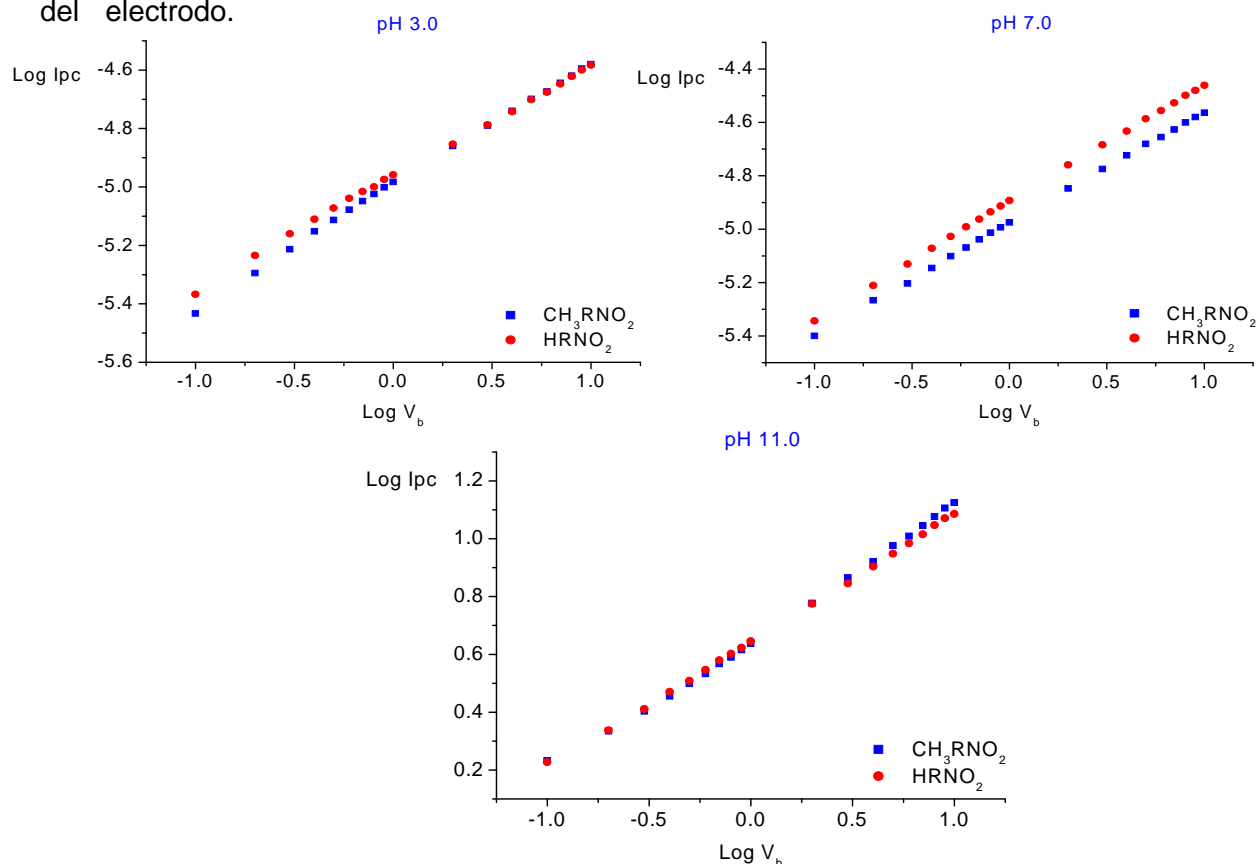


Figura 4.1.11: Análisis de la dependencia entre Log i_{pc} y Log V_b para CH_3RNO_2 y $HRNO_2$ a una concentración de 1mM a pHs 3, 7 y 11 en medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

	<i>pH 3.0</i>		<i>pH 7.0</i>		<i>pH 11.0</i>	
	CH_3RNO_2	$HRNO_2$	CH_3RNO_2	$HRNO_2$	CH_3RNO_2	$HRNO_2$
Log i_{pc} / Log V_b	0.42 ($r=0.9994$)	0.38 ($r= 0.9995$)	0.42 ($r= 0.9999$)	0.44 ($r= 0.9999$)	0.46 ($r = 0.9986$)	0.43 ($r=0.9997$)

Tabla 4.1.3: Valores de pendiente del grafico Log i_{pc} vs Log V_b para las cuplas de los nitrocompuestos CH_3RNO_2 y $HRNO_2$ a una concentración de 1mM a pHs 3, 7 y 11 en medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

Dado la reversibilidad observada a pHs básicos en los dos compuestos nitroimidazólicos en estudio, se procedió a analizar la formación y estabilidad de los correspondientes aniones radicales nitro a pHs 9, 10, 11.

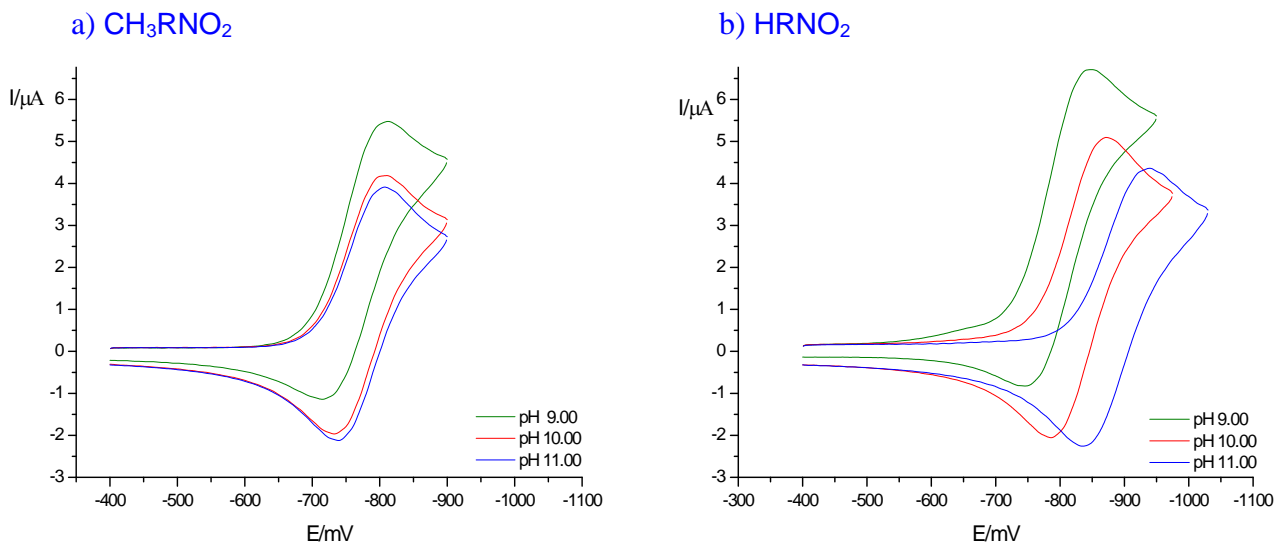


Figura 4.1.12: Voltamogramas cíclicos del par redox reversible realizados a pH 9 , 10 y 11 , a una velocidad de barrido de 1V/s para los compuestos CH_3RNO_2 (a) y HRNO_2 (b) a una concentración 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

En la figura 4.1.12 se observa como el cambio de pH afecta notoriamente los voltamogramas cíclicos de la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$, especialmente en lo que se refiere, primero, al corrimiento de las señales a valores más negativos de potencial (en el caso del HRNO_2) y segundo, al cambio de la intensidad de corriente observando un decrecimiento en la corriente de pico catódico (I_{pc}) y un incremento en la corriente de pico anódica (I_{pa}) a medida que aumentamos el pH. Estos cambios probablemente se deben a reacciones químicas que estos radicales libres tienen en este medio [16]. Al cambiar la velocidad de barrido del experimento (Fig. 4.1.13.) se observa que al aumentar la velocidad de barrido aumenta la intensidad de las corrientes en ambos compuestos estudiados.

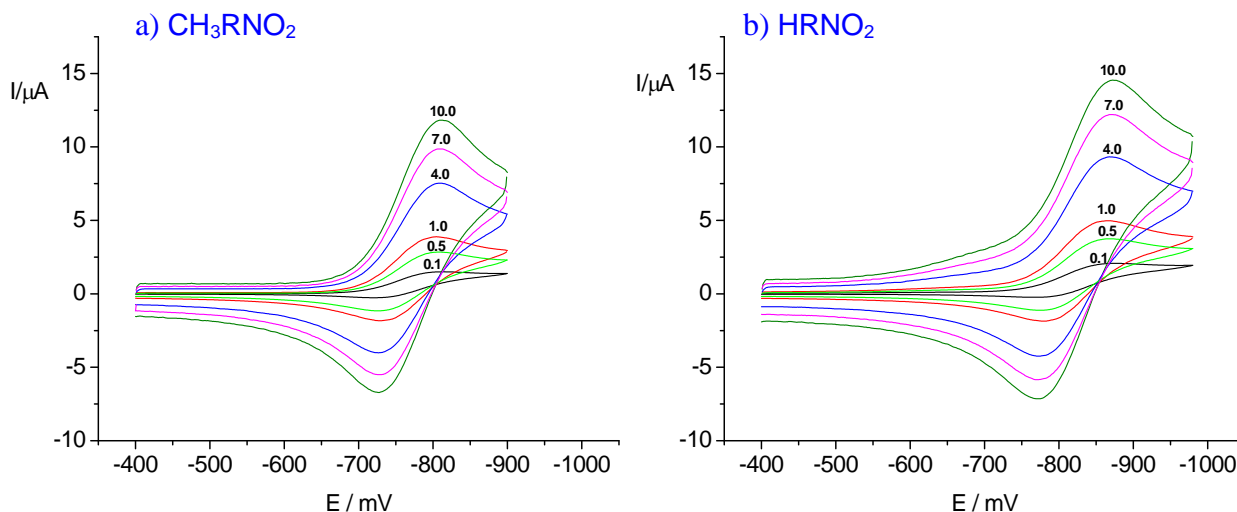


Figura 4.1.13: Voltamogramas cíclicos a pH 11, a distintas velocidades de barrido (0.1; 0.5; 1.0; 4.0; 7.0; 10.0V/s) para los compuestos CH_3RNO_2 (a) y HRNO_2 (b) a una concentración 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

Si bien ambas corrientes aumentan sus valores, la razón entre ellas no se mantiene constante (Fig. 4.1.14) observándose que los valores de I_{pa}/I_{pc} tienden a 1.0 a medida que aumenta la velocidad de barrido. El compuesto CH_3RNO_2 a pHs 9 y 10 presenta valores de I_{pa}/I_{pc} más cercanos a 1.0 a velocidades de barrido menor que el compuesto HRNO_2 .

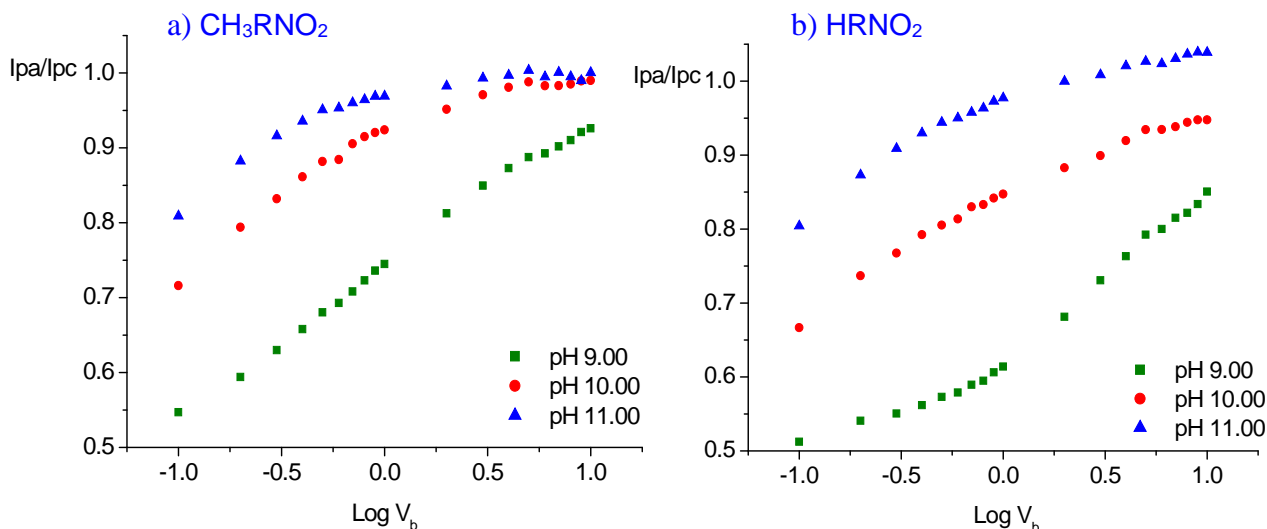
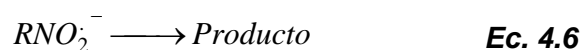
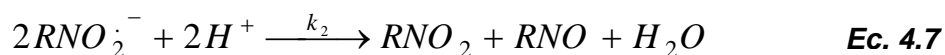


Figura 4.1.14: Gráfico de la razón de corrientes (I_{pa}/I_{pc}) versus el logaritmo de la velocidad de barrido ($\text{Log } V_b$) a pH 9, 10 y 11, para los compuestos CH_3RNO_2 (a) y HRNO_2 (b) a una concentración 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

Observado el comportamiento anterior y considerando el criterio de Nicholson y Shain [12] se puede afirmar que el proceso involucrado para ambos nitrocompuestos estudiados corresponde a un mecanismo de tipo Eci, es decir, que a la transferencia electrónica se encuentra acoplada una reacción química.



Según trabajos anteriores [16] el proceso de decaimiento de la mayoría de los radicales nitro a pHs mayores que 7.0 sigue un mecanismo de disproporción (segundo orden) según la siguiente ecuación:



De acuerdo a lo anterior se utilizó el procedimiento descrito por Olmstead [13] para el cálculo de la constante de degradación de los aniones radicales nitro generados en esta memoria.

Para el cálculo de la constante de degradación del anión radical nitro (k_2), se graficó el parámetro omega () versus tau () obteniéndose una relación lineal (Fig. 4.1.15) a los diferentes pH en estudio, confirmándonos que el proceso es de segundo orden. Es así como a través de la pendiente de la ecuación propuesta por Olmstead [13] se obtuvo k_2 y a su vez a través de esta última el tiempo de vida media para cada uno de los nitrocompuestos en estudio. Los valores de las constantes con sus respectivos tiempos de vida media se indican en la tabla 4.1.4.

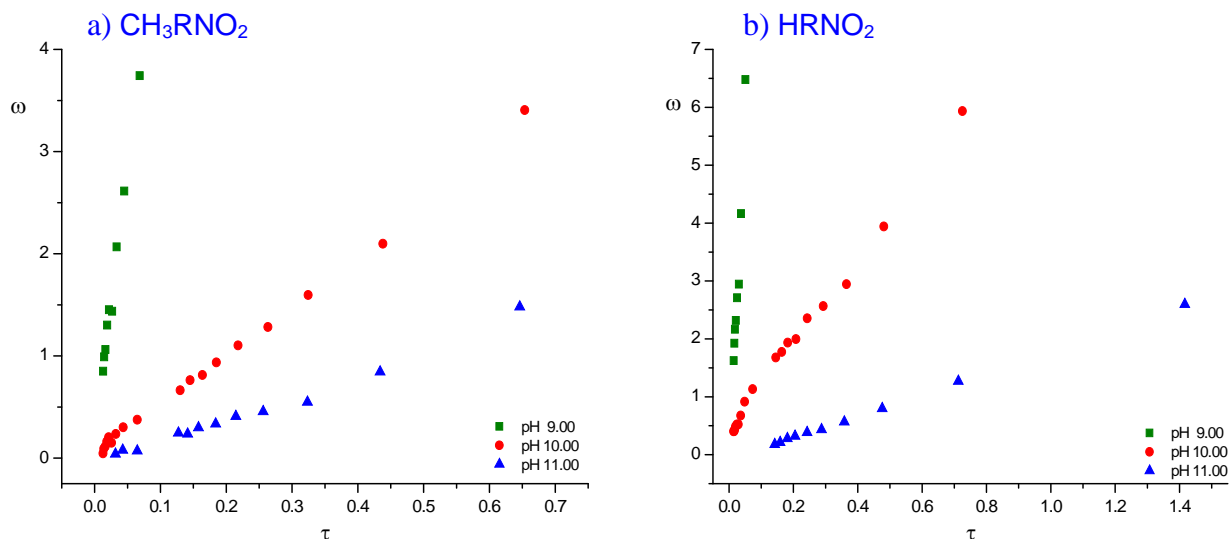


Figura 4.1.15: Gráfico de omega (ω) versus tau (τ) en medio EtOH/Britton a pH 9, 10 y 11. A una concentración de 1mM para los nitrocompuestos CH_3RNO_2 y HRNO_2 respectivamente.

pH	Compuesto	$k_2 \cdot 10^{-3} / \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	$t_{1/2} / \text{s}$
pH 9.00	CH_3RNO_2	50.6 +/- 14.2	0.019
	HRNO_2	126.3 +/- 5.6	0.008
pH 10.00	CH_3RNO_2	4.21 +/- 0.1	0.237
	HRNO_2	7.23 +/- 1.2	0.138
pH 11.00	CH_3RNO_2	1.70 +/- 0.1	0.588
	HRNO_2	1.98 +/- 0.2	0.505

Tabla 4.1.4: Valores de las constantes de decaimiento (k_2) y tiempos de vida media ($t_{1/2}$), para los nitrocompuestos CH_3RNO_2 y HRNO_2 a pH 9, 10 y 11 a una concentración de 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson 0.1M (30/70).

Al analizar los valores obtenidos para las constantes de decaimiento del anión radical nitro en medio EtOH/Britton Robinson, se observa que el nitrocompuesto CH_3RNO_2 presenta un menor valor de k_2 que el HRNO_2 , principalmente a pHs 9 y 10, indicándonos que el anión radical nitro formado a estos pHs es más estable, a pH 11 se puede observar que prácticamente las constantes k_2 de ambos compuestos se equiparan. Por otra parte los $t_{1/2}$ son mayores para el compuesto CH_3RNO_2 en todo los pHs estudiados, observándose un equiparamiento de estos por parte del compuesto HRNO_2 a pH 11.

En la figura 4.1.16 se observa la relación lineal que existe entre la constante de decaimiento y el pH del medio, lo que permite extrapolar el valor a pH fisiológico (pH 7.4), observándose que el anión radical nitro formado es más estable en el compuesto CH_3RNO_2 . Ahora bien, es importante dejar en claro que experimentalmente no se pueden obtener valores de k_2 a pH fisiológico, por lo cual la extrapolación de este valor es muy útil.

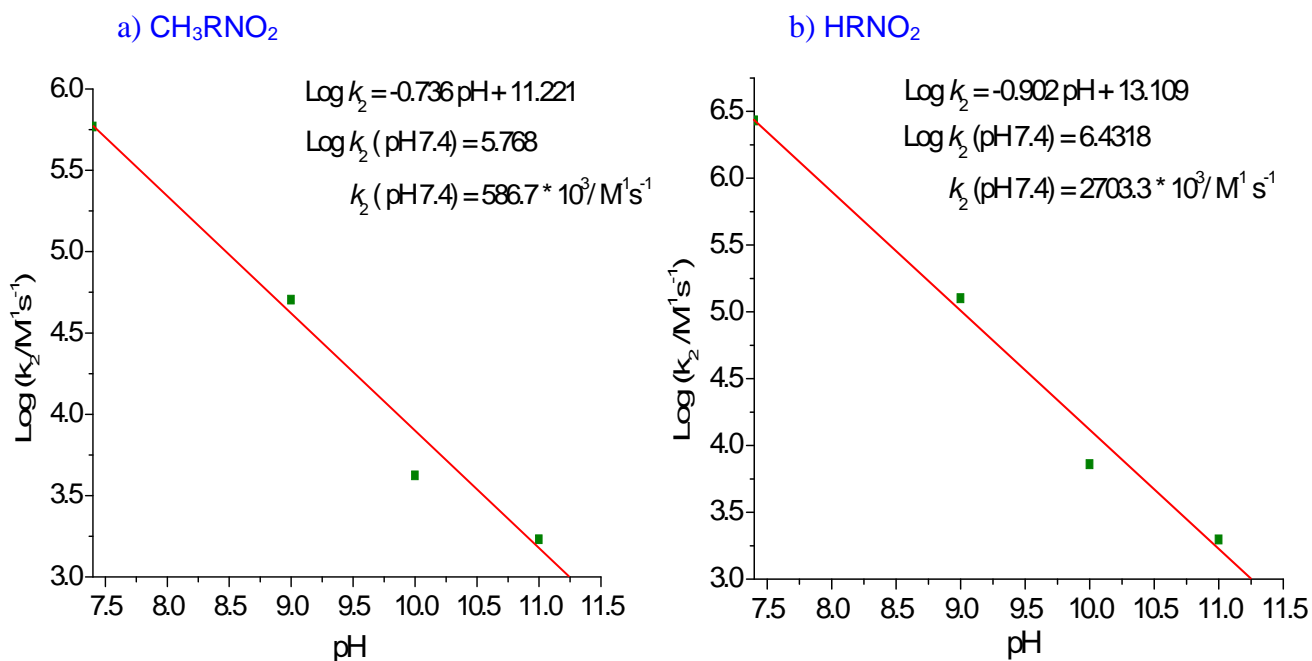


Figura 4.1.16: Gráfico pH versus logaritmo de la constante de decaimiento k_2 , para los compuestos CH_3RNO_2 y HRNO_2 a una concentración de 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson (30/70) 0.1M

Al comparar los resultados obtenidos a pH fisiológico para ambos nitrocompuestos con los obtenidos para el 4-nitroimidazol en el mismo medio[14] según detalla la tabla 4.1.5, se puede observar que el compuesto CH_3RNO_2 tiene una constante de decaimiento menor a este pH, indicando una mayor estabilidad por parte del anión radical nitro formado.

Por otra parte el compuesto HRNO_2 presenta una constante de decaimiento significativamente mayor que el 4-Nitroimidazol a pH fisiológico, lo que tendría su explicación en la sustitución $-\text{CH}_2\text{OH}$ que tiene este en la posición 2 del anillo imidazólico, el cual podría formar puentes de hidrógeno con el oxígeno del grupo nitro intermolecularmente, originando así una inestabilidad en el anión radical nitro formado.

	CH₃RNO₂	HRNO₂	4-Nitroimidazol
$k_2 \cdot 10^{-3} / M^{-1}s^{-1}$	586.7	2703.3	748.0
$t_{1/2} / s$	$1.70 \cdot 10^{-3}$	$3.69 \cdot 10^{-4}$	$1.34 \cdot 10^{-3}$

Tabla 4.1.5: Constantes de decaimiento (k_2) y tiempos de vida media ($t_{1/2}$) para los compuestos CH₃RNO₂, HRNO₂ y 4-Nitroimidazol a pH 7.4, en medio EtOH/Britton.

Por consiguiente se puede concluir en medio EtOH/Britton que a medida que aumentamos el pH, los dos nitrocompuestos estudiados tienden a disminuir la reacción química acoplada a la transferencia electrónica, siendo esta más prominente en el compuesto CH₃RNO₂ que en el compuesto HRNO₂. Produciendo así que el anión radical nitro formado sea más estable en el compuesto CH₃RNO₂.

4.1.3 Espectrofotometría de absorción UV-visible

El estudio espectrofotométrico del compuesto CH_3RNO_2 obtuvo como resultado un espectro de absorción dependiente del pH de la solución, observándose dos bandas de absorción a 245nm y 304nm. La primera banda de absorción (I) se observa una absorbancia mínima a pH 6.0 donde posteriormente comienza a aumentar hasta llegar a un máximo a pH 12.0. Por otro parte el segundo pico de absorción (II) presenta una absorbancia mínima a pH 2.5, punto en el cual comienza a aumentar hasta llegar a un máximo a pH 8.0, donde posteriormente se mantiene en niveles de absorbancia constantes (Fig. 4.1.17a).

Para el compuesto HRNO_2 se obtuvo un espectro de absorción el cual también es dependiente del pH, observándose dos bandas de absorción a 298nm a pH ácido y 354nm a pH básico respectivamente (Fig. 4.1.17b). El segundo pico de absorción se debería a la existencia de un equilibrio ácido-base que el compuesto HRNO_2 sufriría a pH básicos (Fig. 4.1.20). Por otra parte es importante señalar que las bandas de absorción observadas para el compuesto HRNO_2 por espectrofotometría concuerdan con lo observado por Gallo [17] para el compuesto 4-nitroimidazol, donde se observan tres picos de absorción para este compuesto, esto debido a que bajo 250 nm en el compuesto HRNO_2 se observa un pico de absorción poco definido que correspondería al anillo imidazólico protonado en el N3 a pHs ácidos.

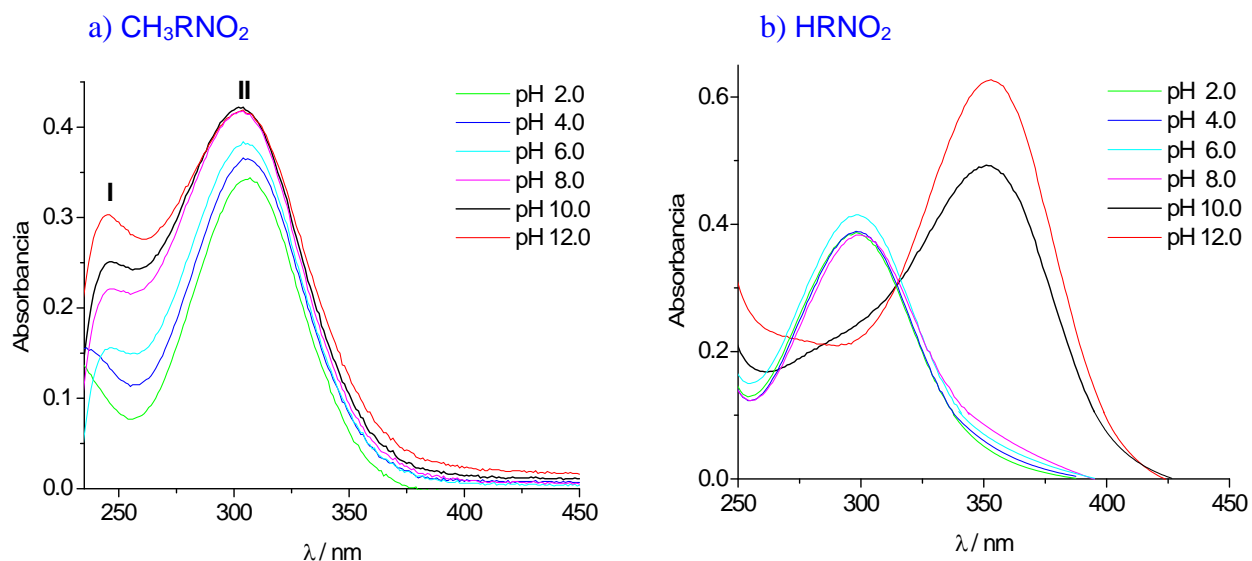


Figura 4.1.17 Espectro UV-visible de los compuestos CH_3RNO_2 (a) y HRNO_2 (b) a una concentración de $5 \times 10^{-5}\text{M}$ en medio Britton Robinson 0.1M

Los datos obtenidos en el estudio de pH permitieron calcular un pKa aparente para el compuesto CH_3RNO_2 y dos pKa para el compuesto HRNO_2 , según lo detallan las figura 4.1.18 y 4.1.19, cuyos resultados fueron obtenidos utilizando la ecuación 3.18 anteriormente referida.

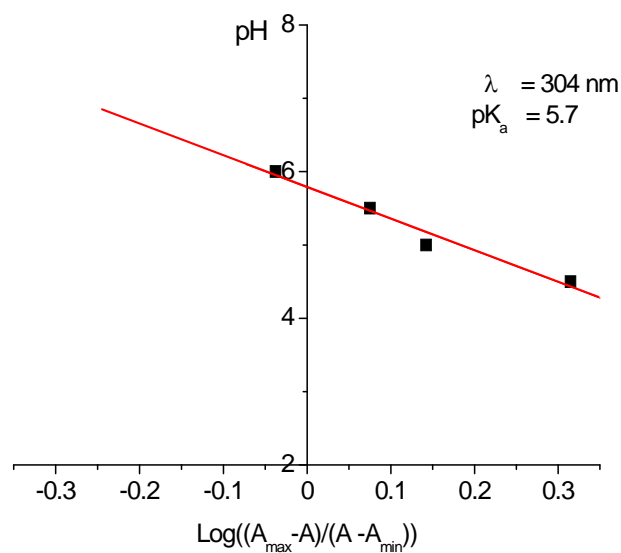


Figura 4.1.18: Determinación de pKa compuesto CH_3RNO_2 a una concentración de $5 \times 10^{-5}\text{M}$, en medio Britton Robinsón 0.1M.

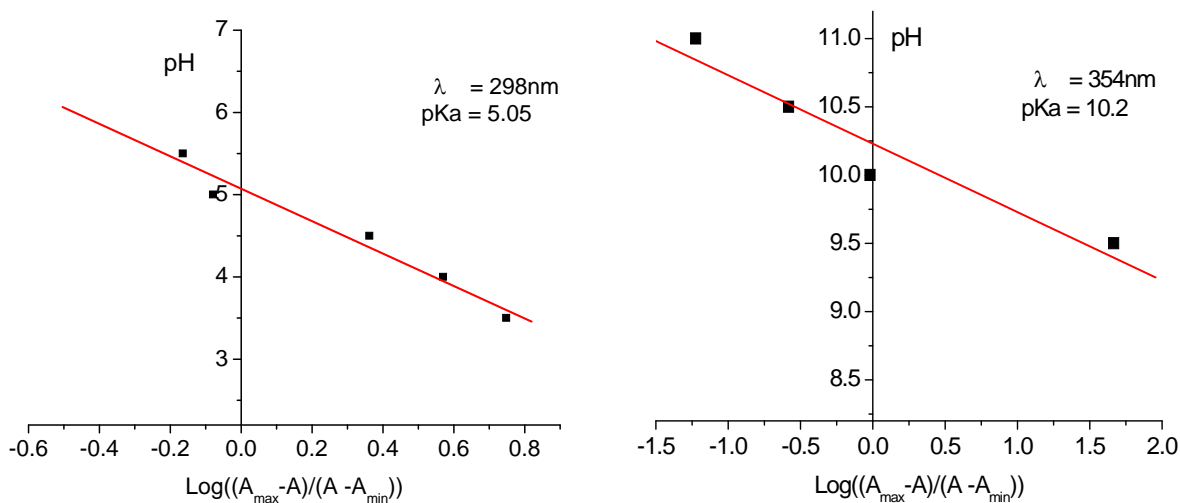


Figura 4.1.19: Determinación de pKa compuesto HRNO_2 a una concentración de $5 \times 10^{-5}\text{M}$, en medio Britton Robinsón 0.1M.

El valor de $pK_a \approx 5.0$ observado para los dos nitrocompuestos estudiados tendrían su explicación en la desprotonación que sufre el N3 del anillo imidazólico a pHs ácidos (Fig. 4.1.20a). Además el valor de $pK_a \approx 10.2$ para el compuesto $HRNO_2$, se debería a la desprotonación que sufriría el N1 a pHs básicos en este medio (Fig. 4.1.20b).

Apreciando así que los valores de pK_a obtenidos por este estudio son semejantes a los apreciados en polarografía de pulso diferencial para ambos compuestos.

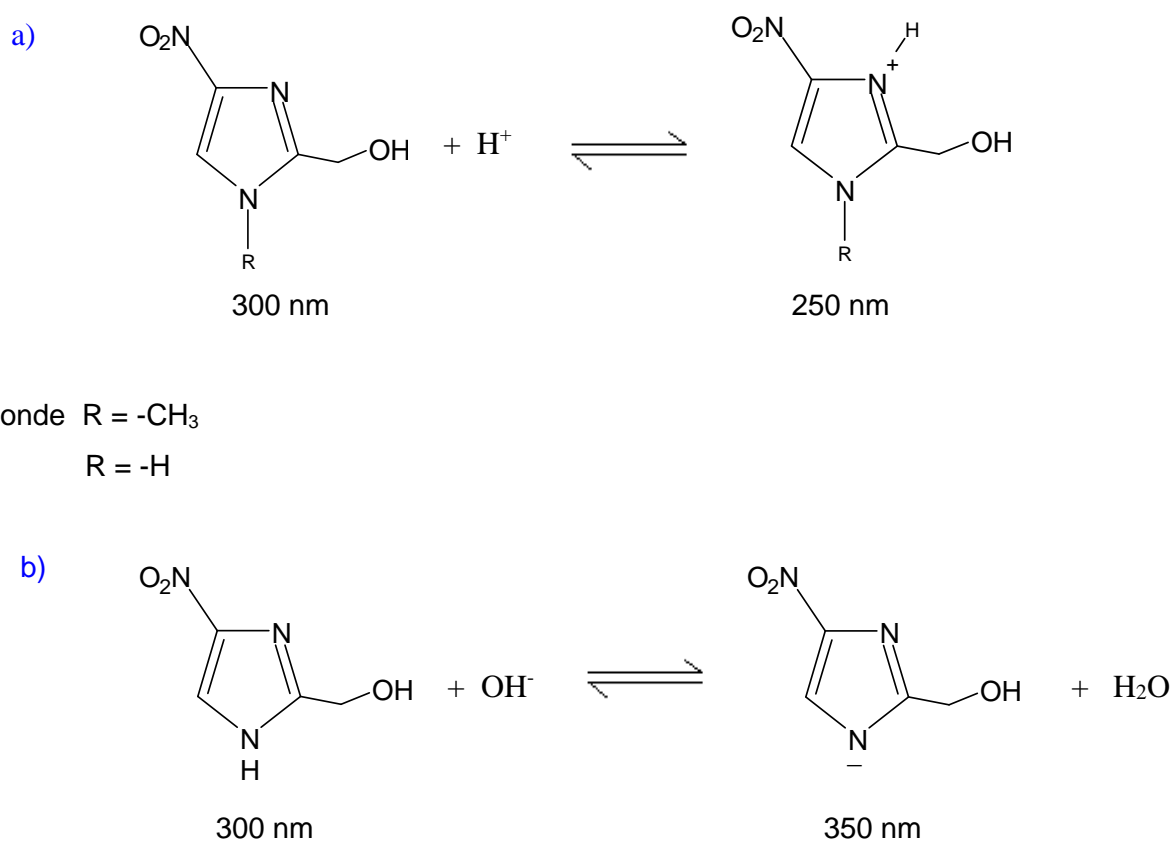


Figura 4.1.20: Equilibrios ácido base involucrados a pHs ácidos (a) y básicos (b), para los compuestos CH_3RNO_2 y $HRNO_2$ en medio Britton Robinson 0.1M.

4.2 MEDIO DMF/ CITRATO

4.2.1 Polarografía de pulso diferencial y Tast

Se utilizó como medio de trabajo el medio mixto DMF/ tampón Citrato (60/40) y como segundo electrolito de soporte Perclorato de tetrabutil amonio (PTBA) tal como se describió anteriormente.

En las figuras 4.2.1 y 4.2.2, se presenta el comportamiento de los dos nitrocompuestos en medio DMF / Citrato para PPD y Tast, observándose en ambos compuestos una señal principal (I) bien definida, la cual se desplaza a potenciales más catódicos a medida que aumenta el pH, lo que indica que esta señal es dependiente del pH. Por otro lado a pH sobre 9.0 se observa una segunda señal (II) la cual no se desplaza con el pH.

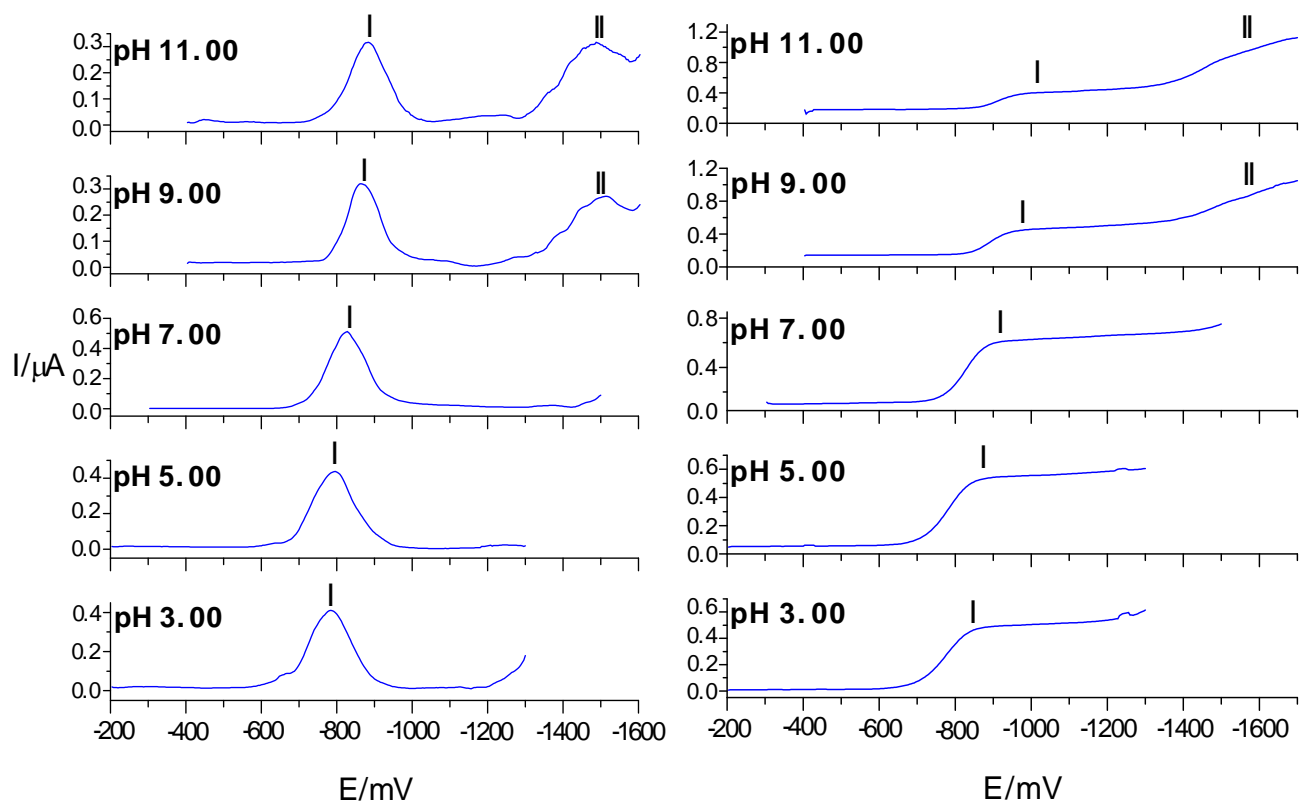


Figura 4.2.1: Polarografía de pulso diferencial y Tast a una concentración de 0.1mM de CH_3RNO_2 . En medio DMF / Citrato (60/40).

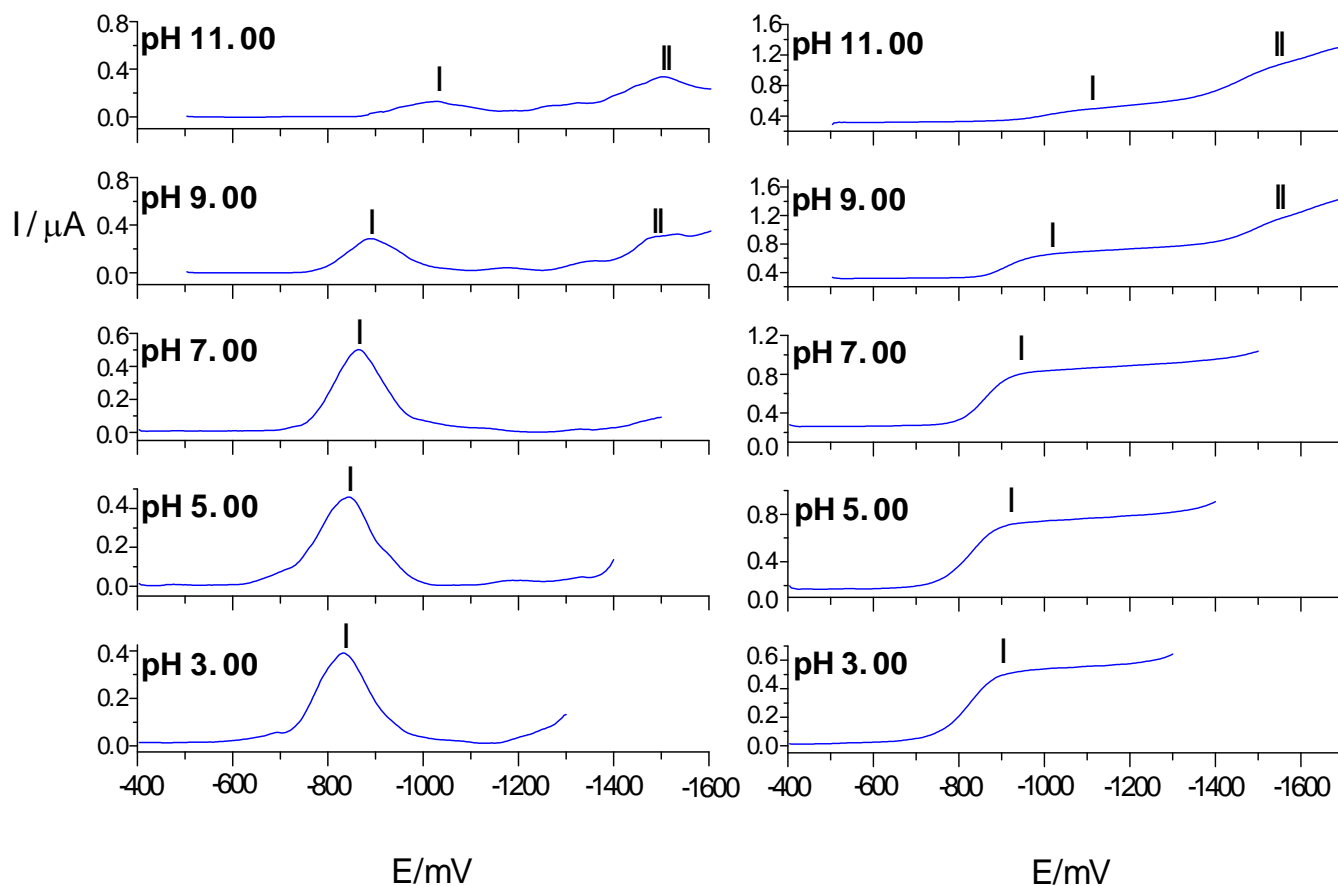


Figura 4.2.2: Polarografía de pulso diferencial y Tast a una concentración de 0.1mM de HRNO₂. En medio DMF / Citrato (60/40).

En la figura 4.2.3 se observa el comportamiento del potencial de cada señal con respecto al pH, donde en ambos nitrocompuestos se observa una señal principal I que aparece en todo el rango de pH estudiado, la cual sobre pH 8.00 en el caso del CH₃RNO₂ y sobre pH 9.0 para el HRNO₂, da lugar a un desdoblamiento el cual tiende a mantener el potencial catódico constante e independiente del pH.

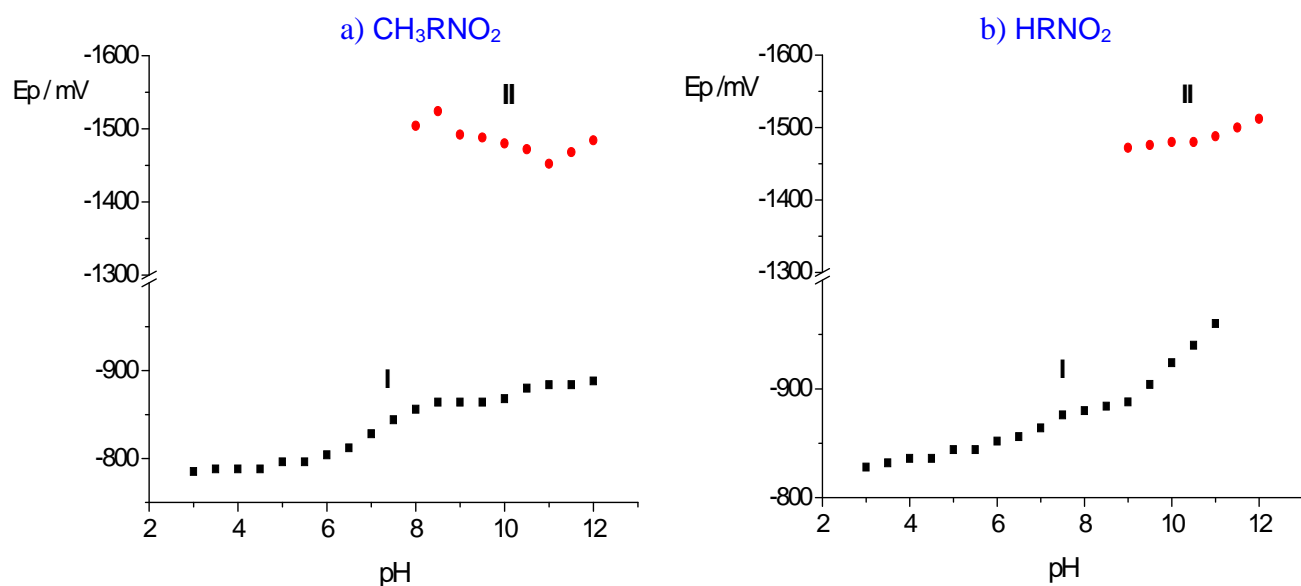


Figura 4.2.3: Variación del potencial de pico (E_p) en función del pH a una concentración de 0.1mM. Para el CH_3RNO_2 (a) y el HRNO_2 (b). En medio DMF / Citrato (60/40).

	<i>pH 4.0</i>		<i>pH 7.0</i>		<i>pH 11.0</i>	
	CH_3RNO_2	HRNO_2	CH_3RNO_2	HRNO_2	CH_3RNO_2	HRNO_2
Ep / mV señal I Citrato/DMF	-790	-838	-830	-865	-886	-960
Ep / mV señal I EtOH/Britton	-553	-573	-698	-733	-761	-882

Tabla 4.2.1: Valores de los potenciales de pico (E_p) para los nitrocompuestos CH_3RNO_2 y HRNO_2 a pH 3, 7 y 11 a una concentración de 0.1mM. En medio EtOH/Britton Robinson (30/70) 0.1M y DMF / Citrato (60/40).

En la tabla 4.2.1 se comparan los potenciales de pico (E_p) de ambos nitrocompuestos en medio DMF/Citrato y en medio EtOH/Britton. La facilidad de reducción que presenta el compuesto CH_3RNO_2 con respecto al compuesto HRNO_2 en medio DMF/Citrato, se debería al efecto que tiene el sustituyente metil en la posición 1 sobre el anillo imidazólico, el cual sigue el mismo comportamiento detallado en medio EtOH/ Britton Robinson .

Por otra parte al comparar los potenciales de reducción de ambos nitrocompuestos en medio DMF/Citrato con los obtenidos para estos mismos compuestos en medio Britton Robinson, se observa que en medio DMF/Citrato se necesita mayores potenciales de reducción para ambos compuesto. Esto debido a que la presencia de DMF causaría una disminución de en la conductividad electrónica, produciendo así que el grupo nitro necesite mayores potenciales para su reducción.

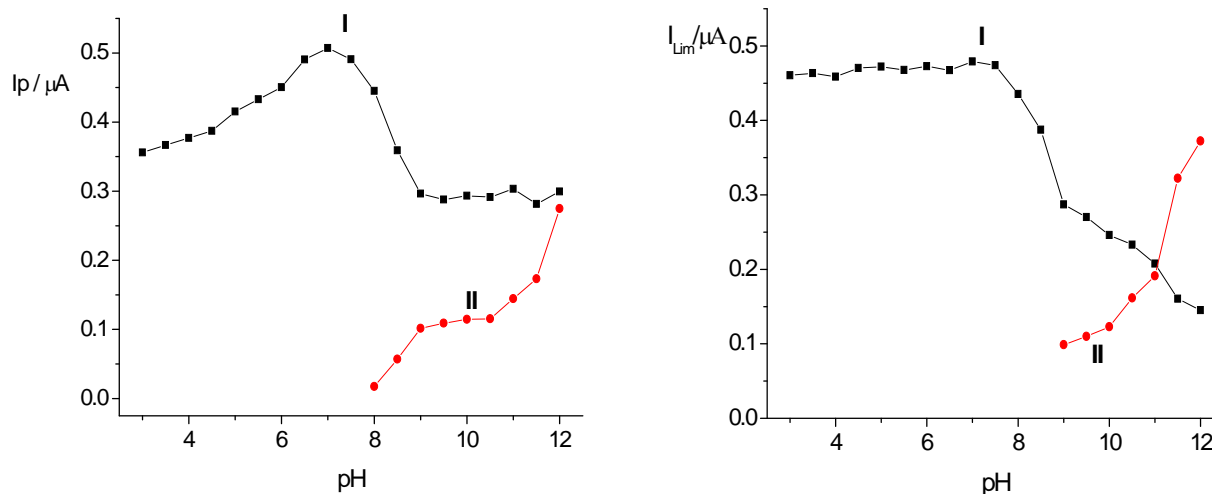


Figura 4.2.4: Dependencia de las corrientes de pico (A) y corriente límite (B) vs pH del compuesto CH_3RNO_2 a una concentración de 0.1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

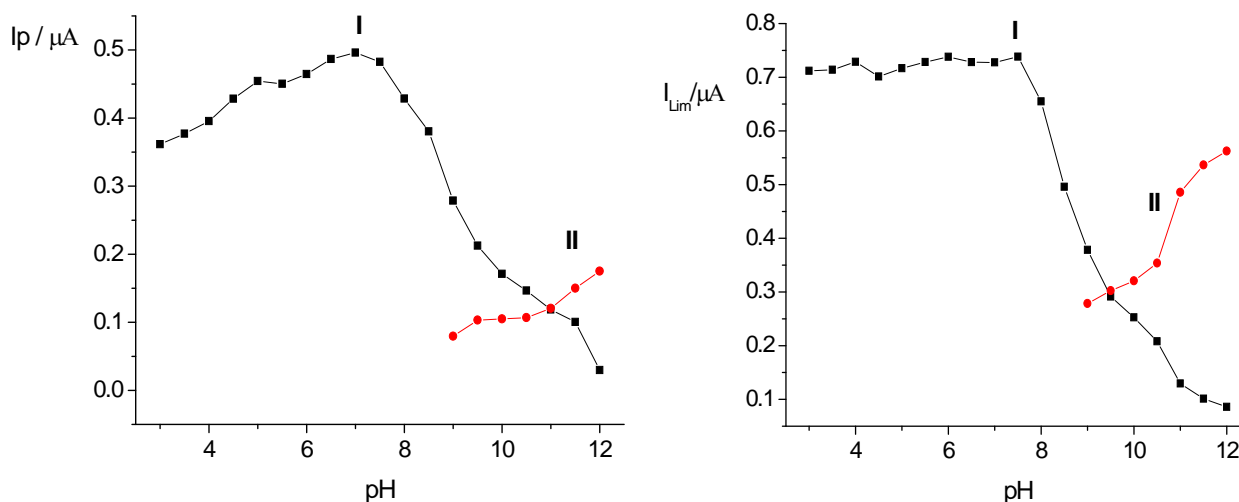


Figura 4.2.5: Dependencia de las corrientes de pico (A) y corriente límite (B) vs pH del compuesto HRNO_2 a una concentración de 0.1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

Como se observa en las figuras 4.2.4 y 4.2.5 la corriente de pico de la señal I en ambos nitrocompuestos presenta importantes variaciones con el pH estudiado. A pHs ácidos la señal I incrementa hasta un valor máximo a pH 7.0. A pHs básicos se presenta el mayor cambio con una fuerte caída en su intensidad que se correlaciona con la aparición de la señal II.

Por otra parte en el caso de las corrientes límites se observa que la señal I exhibe una independencia con el pH hasta pH 7.0, presentando similares intensidades para ambos compuestos (aprox. 0.55 μA), indicando que a pHs ácidos se mantiene un mecanismo de difusión y que el número de electrones transferidos es el mismo para ambos compuestos.

A pH básicos se observa para ambos compuestos y en forma similar a lo observado en polarografía de pulso que la intensidad de la corriente límite decae concomitante a la aparición de la señal II.

4.2.2 Voltametría cíclica

Los voltamogramas cíclicos de la figura 4.2.6, muestran el comportamiento que tienen los dos nitrocompuestos a pHs 3, 7 y 11 a una velocidad de 1 V/s. Observando para ambos compuestos que la señal I es de carácter irreversible a pHs menores o igual a 7.0, no observándose pico de vuelta y percibiéndose solo un desplazamiento en el potencial catódico a medida que se aumenta el pH. De acuerdo a esta información y a los estudios realizados por polarografía se puede concluir que esta señal irreversible correspondería a la reducción del grupo nitro en su derivado hidroxilamínico vía 4 electrones según se explicó ecuación 4.1 anteriormente referida.

Por otro lado, a pHs sobre 7.0 y en concordancia con lo observado en polarografía, se observa el desarrollo de una nueva señal de tipo reversible (en este caso la señal I'), que para el compuesto CH_3RNO_2 se encuentra bien definida, a diferencia del HRNO_2 donde esta segunda señal es muy poco clara cuestionando así la reversibilidad de esta. La señal I' correspondería a la reducción del grupo nitro vía 1 electrón para formar el correspondiente anión radical nitro. Además a pHs básicos se observa que la señal II es irreversible correspondiendo ésta última a la reducción del anión radical nitro a hidroxilamina, según se detallo en la ecuación 4.2 y 4.3 anteriormente indicadas.

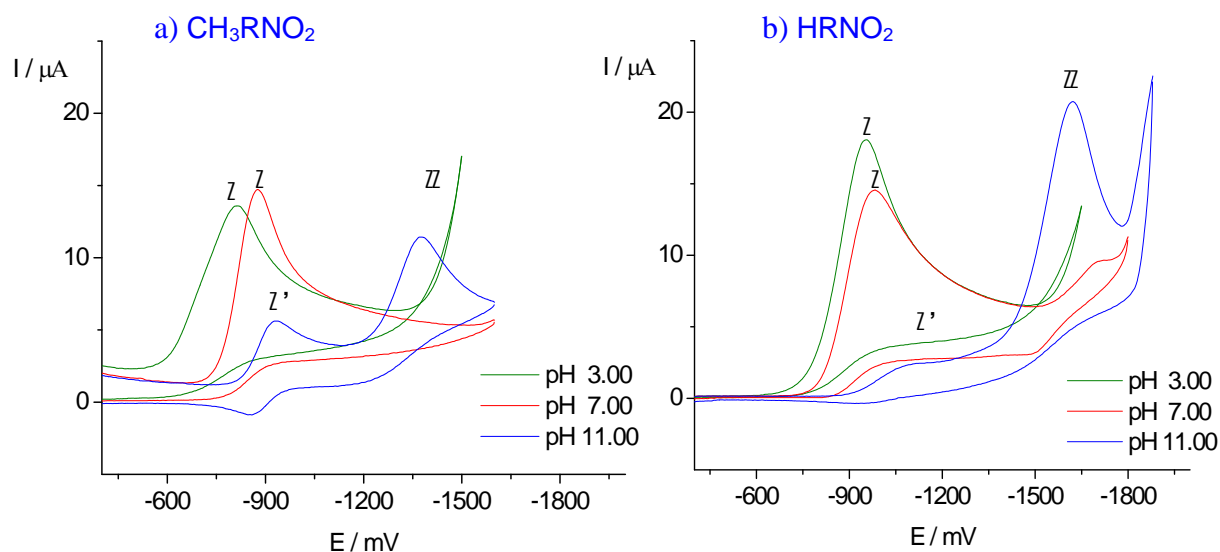


Figura 4.2.6: Voltamogramas cíclicos realizados a pH 3, 7 y 11, a una velocidad de barrido de 1V/s para el CH_3RNO_2 (a) y CH_3RNO_2 (b) a una concentración de 1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

Posteriormente se procedió a comparar los mecanismos de reducción para estos nitrocompuestos a pH 3, 7 y 11, según se indica a continuación.

1) Análisis de la dependencia entre Log i_{pc} y Log V_b : Se observó una dependencia lineal para el compuesto CH_3RNO_2 en los tres pH estudiados cuya pendiente es cercana a 0.5 como se percibe en la tabla 4.2.2, lo que indica que el proceso redox esta controlado por difusión del compuesto a la superficie del electrodo. No se obtuvieron resultados para el compuesto $HRNO_2$ a pH 11 debido a la imposibilidad de poder analizar la corriente de pico catódica formada. Los gráficos respectivos se muestran en la figura 4.2.7.

	<i>pH 3.0</i>		<i>pH 7.0</i>		<i>pH 11.0</i>	
	CH_3RNO_2	$HRNO_2$	CH_3RNO_2	$HRNO_2$	CH_3RNO_2	$HRNO_2$
Log V_b / Log i_{pc}	0.51 ($r=0.9998$)	0.42 ($r= 0.9991$)	0.49 ($r= 0.9999$)	0.40 ($r= 0.9994$)	0.44 ($r = 0.9987$)	---

Tabla 4.2.2: Análisis de la dependencia entre el Log i_{pc} y Log V_b para CH_3RNO_2 y $HRNO_2$ a pH 3, 7 y 11 a una concentración de 1mM . En medio DMF / Citrato (60/40).

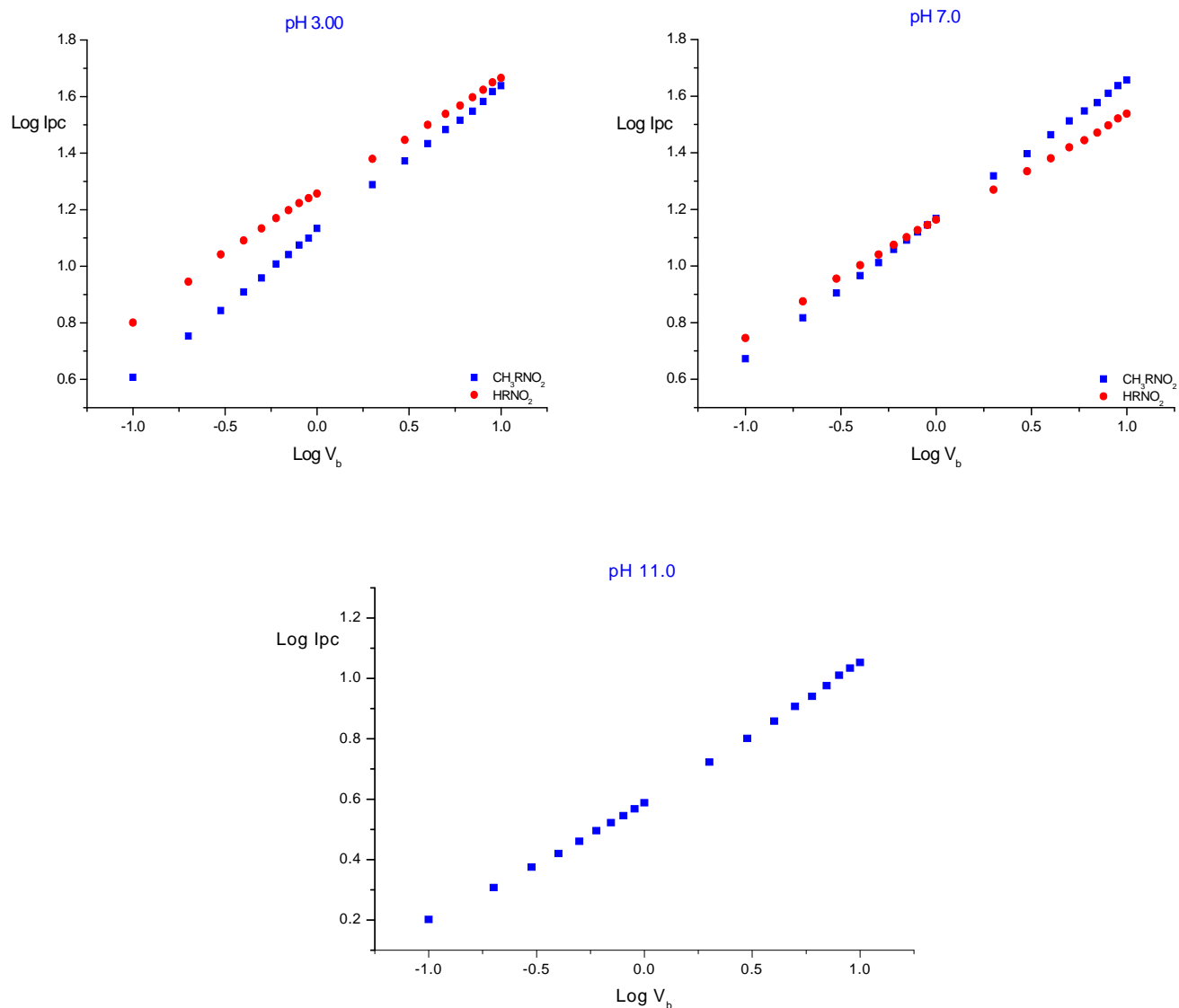


Figura 4.2.7: Análisis de la dependencia entre el Log Ipc y Log V_b para CH₃RNO₂ y HRNO₂ a pH 3, 7 y 11 a una concentración de 1mM . En medio DMF / Citrato (60/40).

2) Diferencia entre los potenciales catódicos y anódicos (E_p): La Figura 4.2.8 , muestra los valores obtenidos solo para el compuesto CH_3RNO_2 a pH 11, debido que para el compuesto HRNO_2 no fue posible aislar el par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ formado a este mismo pH. Los valores de E_p para el CH_3RNO_2 a velocidades de barridos bajas se acercaron al valor de 60mV descrito para los procesos reversibles, pero a medida que la velocidad de barrido aumentaba el valor de E_p creció, lo que nos indica que la transferencia electrónica involucrada es de carácter cuasireversible.

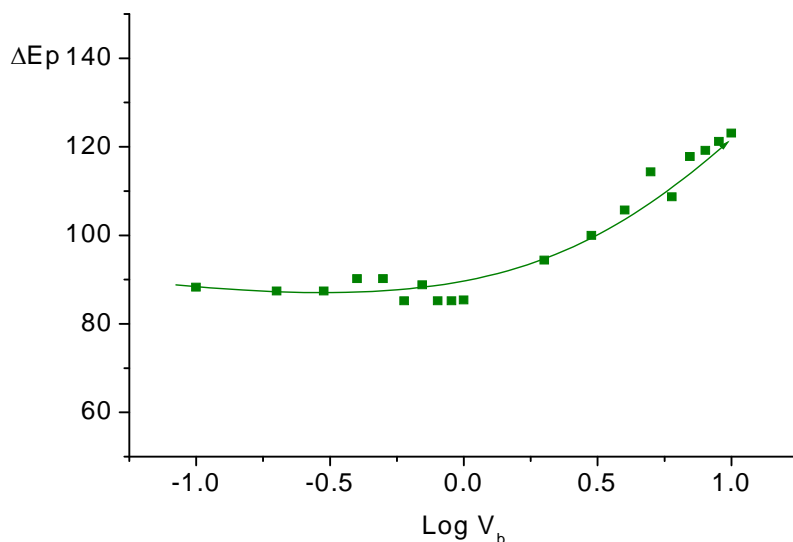


Tabla 4.2.7: Gráfico que relaciona $\text{Log } V_b$ versus E_p para CH_3RNO_2 a pH 11. En medio DMF / Citrato (60/40).

Dado la reversibilidad observada, se procedió a graficar cada una de las señales correspondientes a la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ a los pHs básicos 9, 10, 11 y 12 según muestra la Figura 4.2.9.

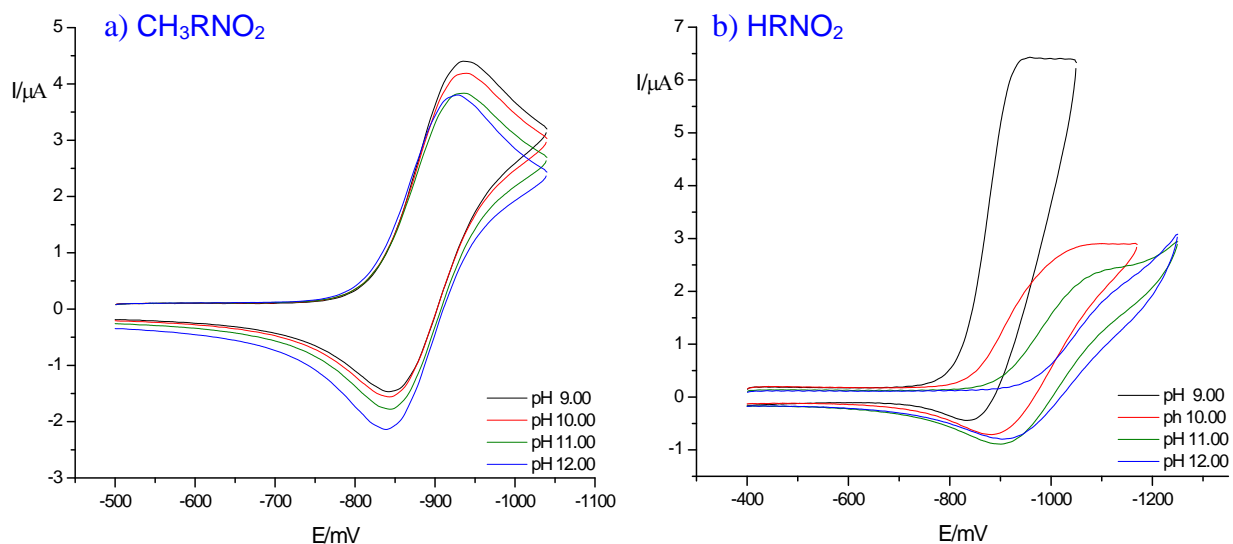


Figura 4.2.9: Cupla reversible de los voltamogramas cíclicos realizados a pH 9 , 10 ,11 y 12, a una velocidad de barrido de 1V/s para el CH_3RNO_2 y HRNO_2 a una concentración de 1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

En la figura 4.2.9 se observa para el caso del CH_3RNO_2 una señal correspondiente a la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ bien definida a los pHs en estudio, donde se produce un decrecimiento de la corriente de pico catódica y un incremento en la corriente de pico anódica a medida que se aumenta el pH. Entendiendo así que aquí también se produciría una reacción química acoplada a la transferencia de electrones tal cual mencionábamos para este mismo compuesto en medio EtOH/Britton Robinson.

Por otra parte en la figura 4.2.9 se observa para el compuesto HRNO_2 una señal de tipo reversible muy poco definida, observándose una gran diferencia entre la corriente de pico catódica y la corriente de pico anódica. A pHs 10, 11 y 12 se presenta una señal difícil de aislar, imposibilitándonos así el análisis apropiado de la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ formada en este medio.

La figura 4.2.10 muestra el comportamiento que tiene la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ a diferentes velocidades de barrido a pH 11, donde se observa un aumento en la intensidad de corriente a medida que se aumenta la velocidad de barrido en ambos nitrocompuestos. No obstante es prácticamente imposible aislar el par redox formado en el compuesto HRNO_2 , por lo cual solamente se podrá determinar los parámetros cinéticos para el compuesto CH_3RNO_2 en medio DMF/Citrato.

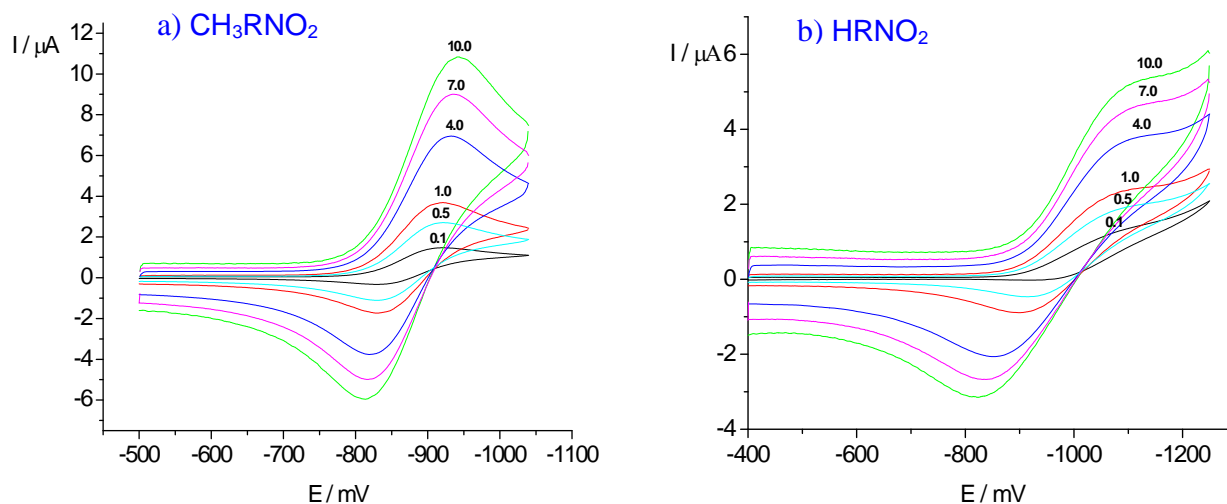


Figura 4.2.10: Cupla reversible de los voltamogramas cíclicos realizados a pH 11 , a distintas velocidades de barrido (0.1; 0.5; 1.0; 4.0; 7.0; 10.0V/s) para el CH_3RNO_2 y HRNO_2 a una concentración de 1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

Luego se procedió a calcular las razones I_{pa}/I_{pc} a pH 9, 10, 11 y 12 como se observa en la figura 4.2.11

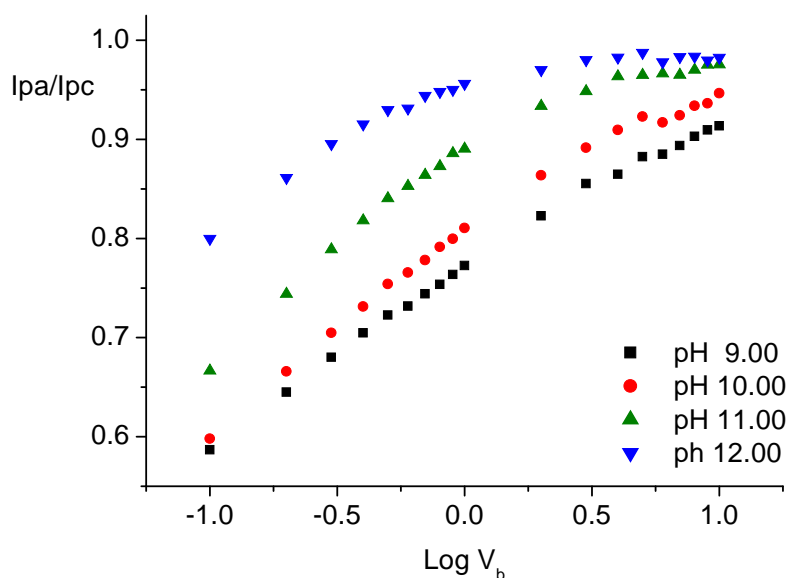


Figura 4.2.11: Gráfico de la razón de corrientes (I_{pa}/I_{pc}) versus el logaritmo de la velocidad de barrido ($\text{Log } V_b$) a pH 9, 10, 11 y 12, para el CH_3RNO_2 a una concentración 1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

En la figura 4.2.11 se puede observar que los valores de I_{pa}/I_{pc} tienden a 1 a medida que se aumenta la velocidad de barrido y el pH. Esto permite deducir que la reducción del compuesto CH_3RNO_2 en medio DMF/Citrato obedece a un comportamiento tipo Eci.

El comportamiento que tuvo el compuesto CH_3RNO_2 en medio DMF/Citrato, nos permitió aplicar el método de Olmstead para el cálculo de la constante de degradación del anión radical nitro.

Para el cálculo de la constante de decaimiento del anión radical nitro (k_2) en medio DMF/Citrato, se graficó el parámetro omega (ω) versus tau (τ) obteniéndose una relación lineal (figura 4.2.12) a los diferentes pHs en estudio. Es así como a través de la pendiente de este gráfico se obtuvo el k_2 y a su vez a través de esta última, el tiempo de vida media para el compuesto CH_3RNO_2 . Los valores de las constantes con sus respectivos tiempos de vida media se indican en la tabla 4.2.3.

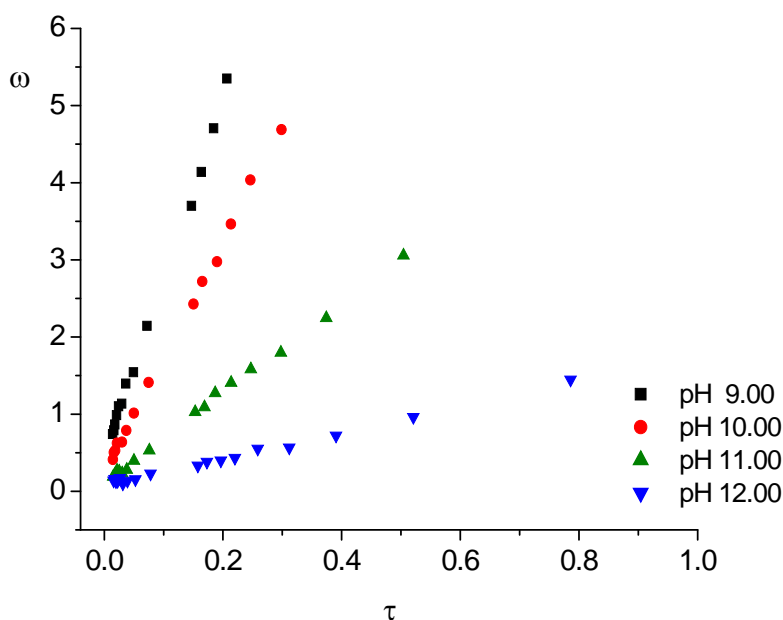


Figura 4.2.12: Gráfico de omega (ω) versus tau (τ) a pH 9,10 ,11 y 12. Para el CH_3RNO_2 a una concentración 1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

	pH 9.0	pH 10.0	pH 11.0	pH 12.0
$k_2 \cdot 10^{-3}/\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	22.4 +/- 0.6	15.2 +/- 0.3	6.1 +/- 0.2	1.8 +/- 0.2
$t_{1/2}/\text{s}$	0.045	0.066	0.164	0.556

Tabla 4.2.3: Valores del las constantes de decaimiento (k_2) y tiempos de vida media ($t_{1/2}$), para el compuesto CH_3RNO_2 a pH 9, 10 ,11 y 12 a una concentración de 1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

La tabla 4.2.3 muestra la evolución de la constante de decaimiento para el compuesto CH_3RNO_2 en medio DMF/Citrato. Observando que a medida que aumenta el pH esta constante tiende a disminuir, lo que coincide con lo visto para este mismo compuesto en medio EtOH/Britton. Esto implica que el anión radical nitro formado se vuelve más estable a medida que se aumenta el pH, disminuyendo así la reacción química acoplada a esta.

Al comparar los valores de la tabla 4.2.3 con los obtenidos en medio EtOH/Britton para la constante de decaimiento del anión radical nitro (tabla 4.2.4), se aprecia que a pH 9.0 la etapa química se encuentra más favorecida en medio EtOH/Britton, debido a que posee un valor de constante de disproporción de segundo orden mayor. Sin embargo a los pH 10 y 11 la etapa química se encuentra más favorecida en el medio DMF/Citrato.

	pH 9.0	pH 10.0	pH 11.0
$k_2 \cdot 10^{-3}/M^{-1}s^{-1}$ EtOH/Britton	50.6 +/- 14.2	4.21 +/- 0.1	1.70 +/- 0.1
$k_2 \cdot 10^{-3}/M^{-1}s^{-1}$ DMF/Citrato	22.4 +/- 0.6	15.2 +/- 0.3	6.1 +/- 0.2

Tabla 4.2.4: Valores de las constantes de decaimiento (k_2) para el compuesto CH_3RNO_2 a pH 9, 10 y 11 a una concentración de 1mM. En medio EtOH/Britton Robinson (30/70) y DMF / Citrato (60/40).

La figura 4.2.13 muestra la constante de decaimiento aproximada del compuesto CH_3RNO_2 a pH fisiológico (pH 7.4), observando que el anión radical nitro formado es más estable en medio DMF/Citrato al compararlo con el obtenido anteriormente en medio EtOH/Britton Robinson ($586.7 \cdot 10^3 M^{-1}s^{-1}$). Esto tendría su explicación en que en medio DMF/Citrato la concentración de protones es menor que en medio EtOH/Britton Robinson debido a la presencia de DMF, por lo cual la etapa química se encontraría menos favorecida, produciendo así que el anión radical nitro formado sea más estable a este pH.

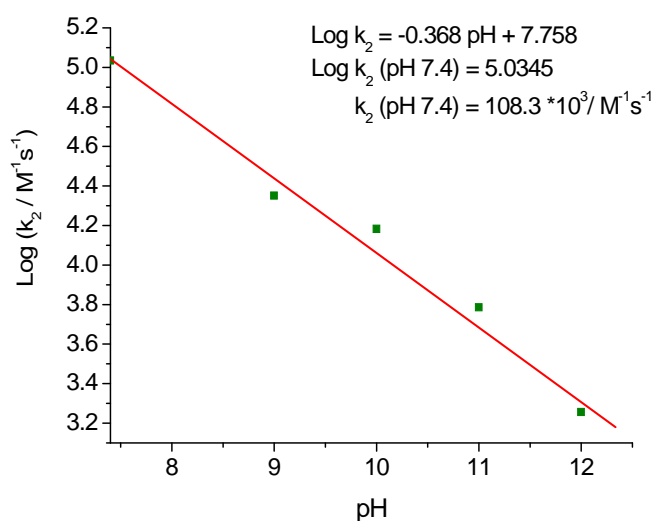


Figura 4.2.13: Gráfico logarítmico de la constante de decaimiento k_2 versus pH, para el compuesto CH_3RNO_2 a una concentración de 1mM. En medio DMF / Citrato (60/40).

Otro punto importante que mencionar es la imposibilidad de obtener una constante de decaimiento para el compuesto HRNO_2 en medio DMF/Citrato a diferencia del medio EtOH/Britton donde si se tuvo valores de la constante. Esto sería debido a que hay antecedentes de que la presencia de DMF en el medio afecta significativamente el comportamiento electroquímico de este compuesto, produciéndose la denominada reacción tipo padre-hijo, la cual consta de una rápida autoprototonación del compuesto inicial [18].

4.3 MEDIO DMF

4.3.1 Polarografía de pulso diferencial y Tast

Se utilizó para este medio DMF como solvente y perclorato de tetrabutil amonio (PTBA) como electrolito de soporte observándose los siguientes polarogramas.

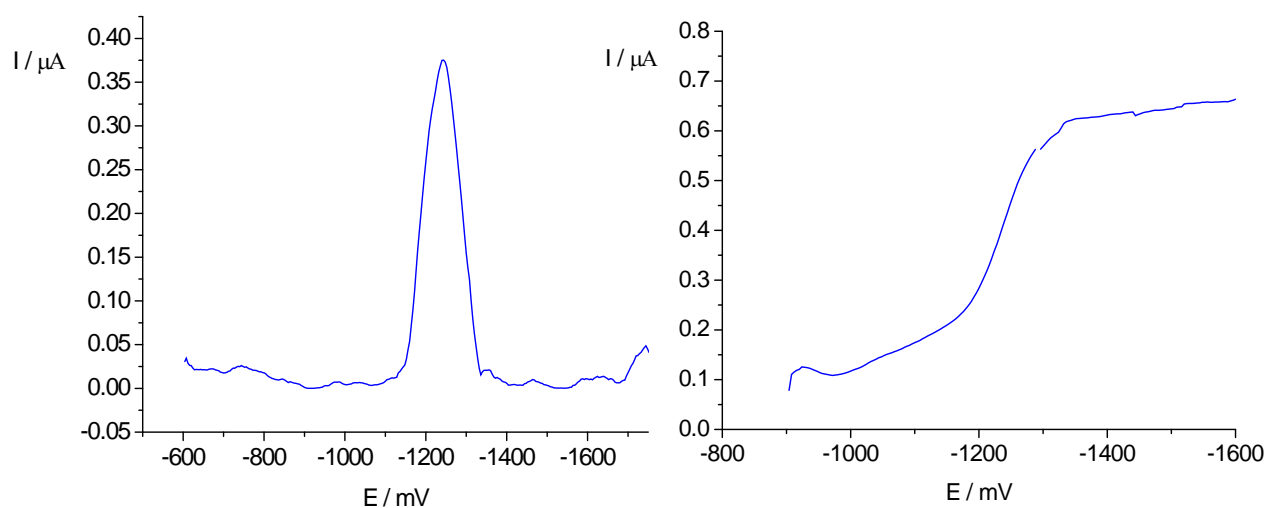


Figura 4.3.1: Polarografía de pulso diferencial (A) y polarografía Tast (B) para el compuesto CH_3RNO_2 . En medio DMF.

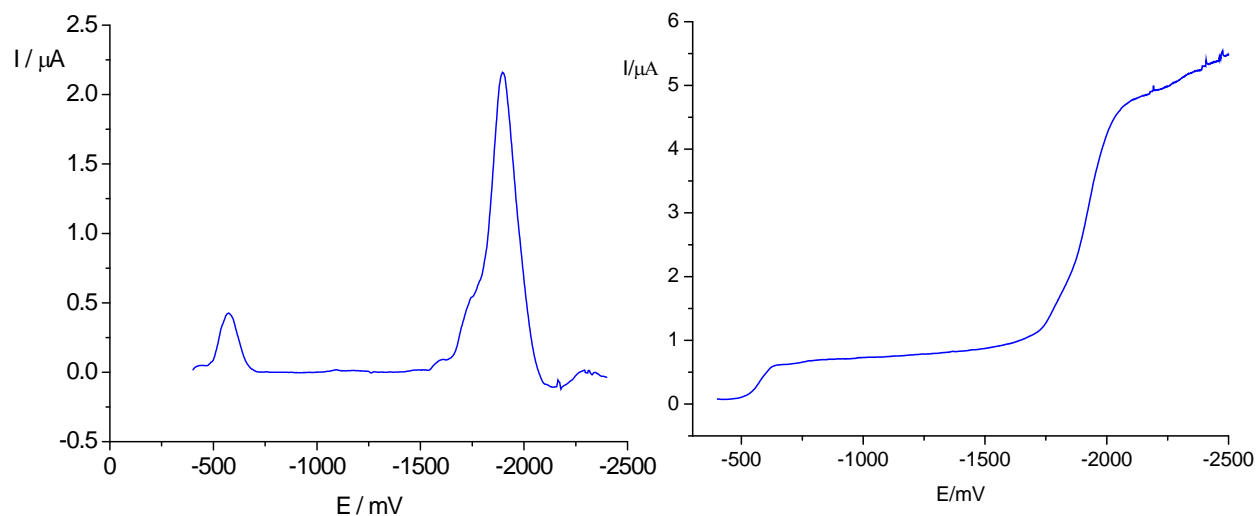


Figura 4.3.2: Polarografía de pulso diferencial (A) y polarografía Tast (B) para el compuesto HRNO_2 . En medio DMF.

Los gráficos anteriores muestran un comportamiento polarográfico distinto para cada uno de los nitrocompuestos en este medio, esto debido a los diferentes potenciales de reducción que presentan, observándose un potencial de reducción cercano a -1250mV para el compuesto CH_3RNO_2 y de -1950mV para el compuesto HRNO_2 .

4.3.2 Voltametría cíclica

Los voltamogramas cíclicos para los dos compuestos en estudio se aprecian en la figura 4.3.3.

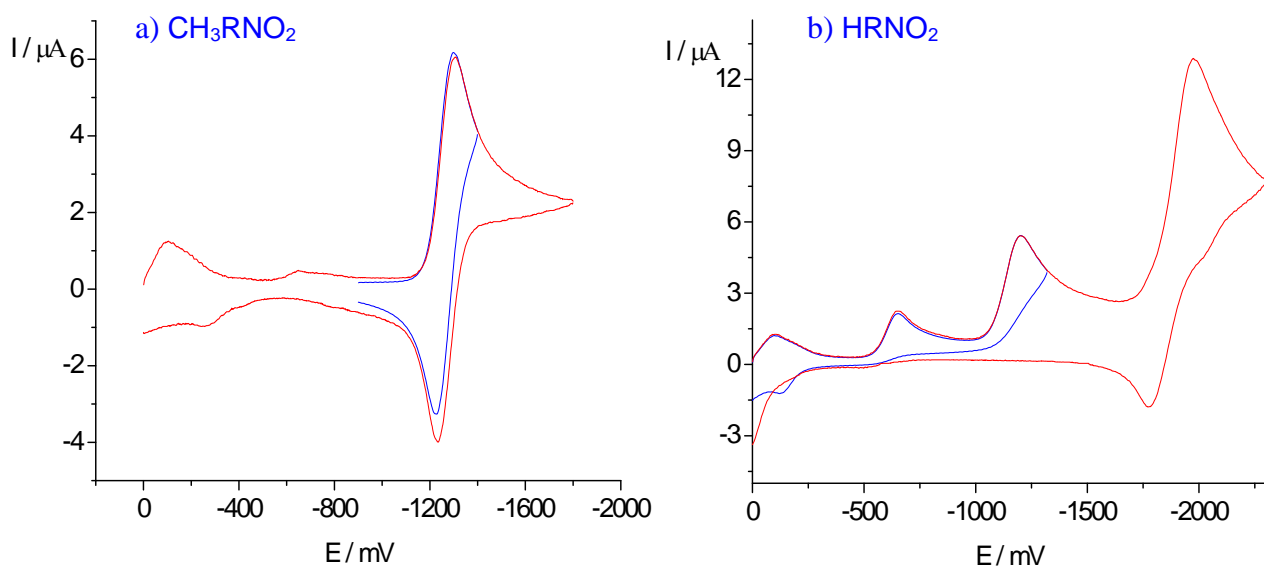


Figura 4.3.3: Voltamogramas cíclicos a 1V/s , de los compuestos CH_3RNO_2 (a), HRNO_2 (b), en medio DMF y a una concentración de 1mM .

Los voltamogramas cíclicos de los nitrocompuestos en medio DMF ratifican lo observado anteriormente en Polarografía, debido a que se ve una diferencia en el comportamiento de cada uno de ellos en este medio.

Otro punto importante de mencionar es la aparición de otras señales en los voltamogramas, lo que podría deberse a la reducción del electrolito de soporte utilizado para este estudio, por lo cual se procedió a analizar el blanco constituido solamente por DMF y PTBA, para así poder descartar las señales correspondientes a este blanco en los análisis posteriores. Figura 4.3.4

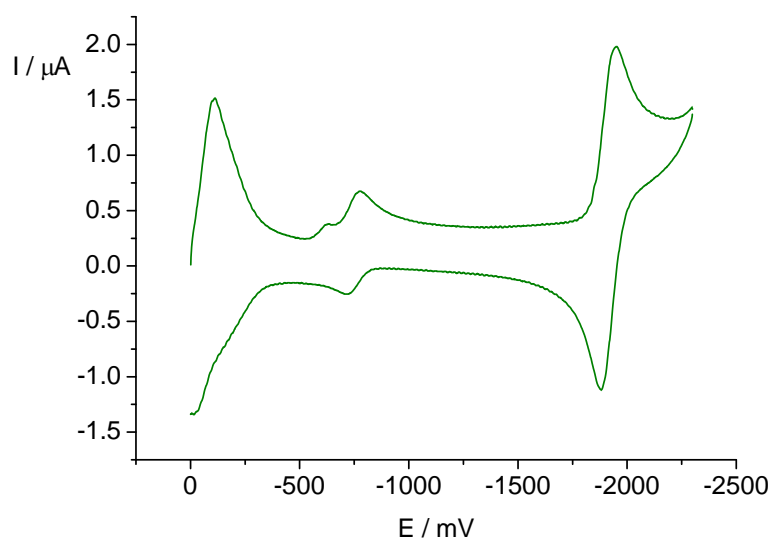


Figura 4.3.4: Voltamograma cíclico a 1V/s, del DMF + PTBA

Como se puede observar en la figura 4.3.4 el electrolito de soporte sufre varias reducciones en este medio, lo cual podría afectar el estudio de los dos nitrocompuestos, por lo cual se procedió a graficar los voltamogramas de cada uno de los nitrocompuestos con las señales obtenidas del blanco, para así poder detectar las señales propias de cada nitrocompuesto en este medio. Figura 4.3.5.

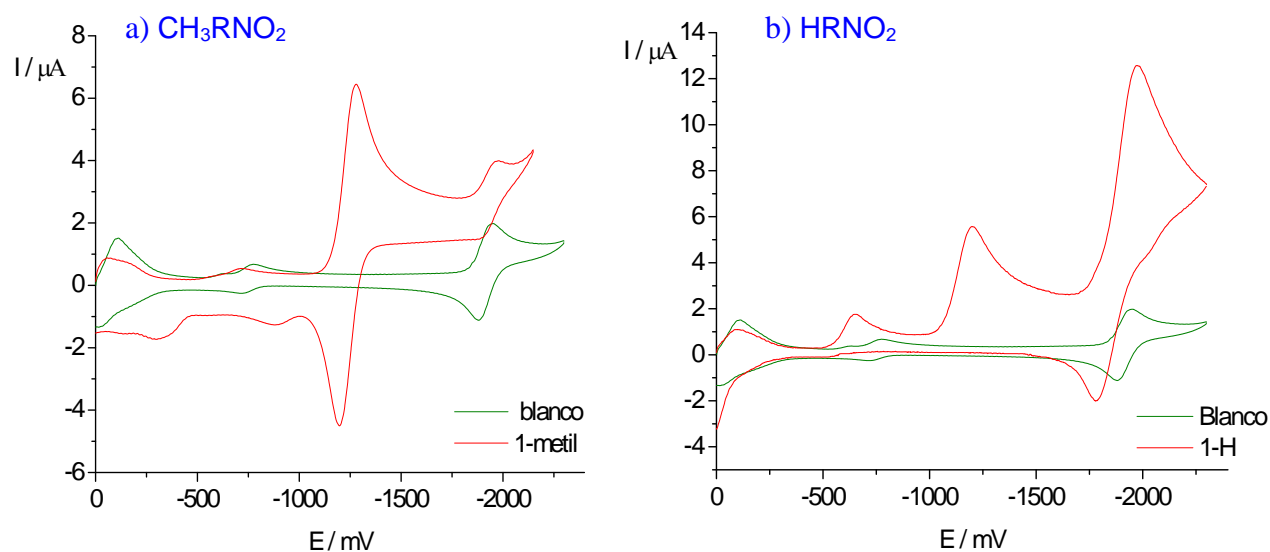


Figura 4.3.5: Voltamogramas cíclicos a 1V/s, del los compuestos CH_3RNO_2 (a) , HRNO_2 (b) con el blanco .En medio DMF y a una concentración de 1mM.

Según lo observado en la figura 4.3.5, se puede decir que el compuesto CH_3RNO_2 en medio aprótico, solo muestra una señal correspondiente a un proceso reversible, la cual da cuenta de la reducción del grupo nitro a su anión radical nitro. Esto difiere con lo observado para el compuesto HRNO_2 en este mismo medio, donde se ve una señal correspondiente a la reducción del grupo nitro a su anión radical nitro la cual no presenta reversibilidad. Además, el compuesto HRNO_2 presenta una señal reversible a potenciales cercanos a -2000mV, lo que según estudios anteriores [18], se debería a la oxidación que sufriría el derivado hidroxilamínico formado.

La figura 4.3.6 muestra el comportamiento que tiene el anión radical nitro formado a diferentes velocidades de barrido en ambos compuestos, dónde para el caso del compuesto CH_3RNO_2 se observa un aumento en la intensidad de las corrientes de pico catódicas y anódicas a medida que se aumenta la velocidad de barrido. Por otra parte el anión radical nitro formado para el compuesto HRNO_2 experimenta un aumento en la intensidad de corriente de pico catódico a medida que aumentamos la velocidad de barrido, no observándose corrientes de pico anódicas, corroborando así la irreversibilidad que presenta este radical para el compuesto HRNO_2 en medio aprótico.

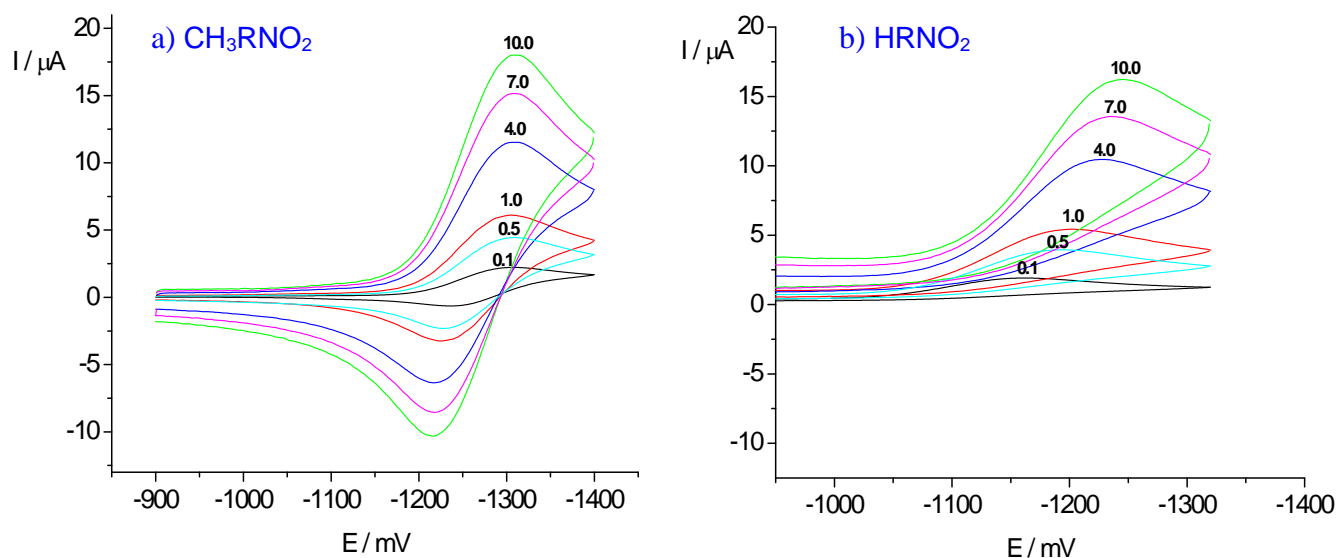
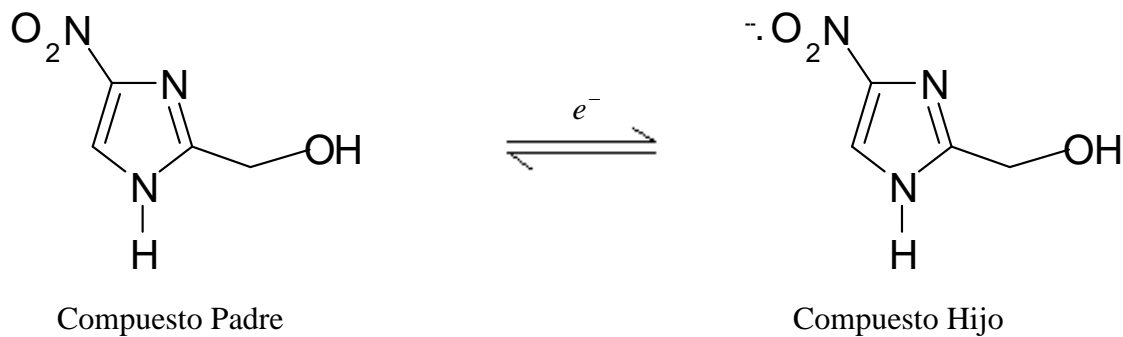


Figura 4.3.6: Voltamogramas cíclicos realizados a distintas velocidades de barrido (0.1; 0.5; 1.0; 4.0; 7.0; 10.0V/s) para los compuestos CH_3RNO_2 (a) y HRNO_2 (b). En medio DMF.

Ahora bien, el comportamiento observado para el HRNO_2 en medio aprótico es similar al observado por Vianello [18] para el 4-nitroimidazol en DMF, donde los resultados muestran que no es posible aislar el par redox $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ en DMF debido a una rápida reacción de autoprotonación que involucra la participación del 4-nitroimidazol inicial en lo que se denomina una reacción de tipo padre-hijo. La figura 4.3.7 muestra las reacciones que dan cuenta de esta autoprotonación.



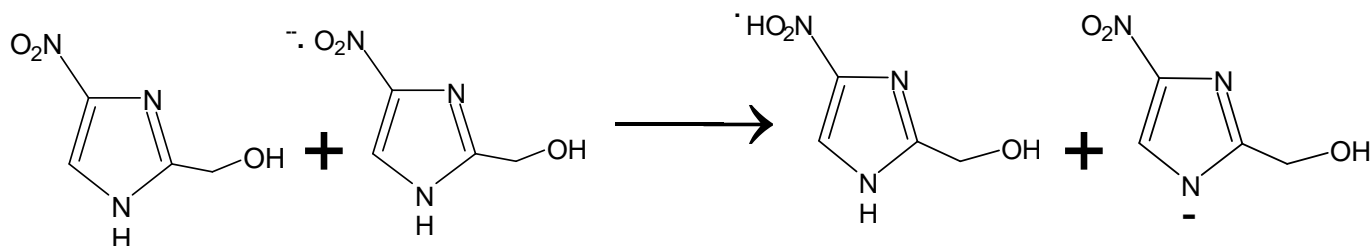
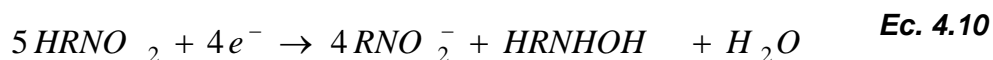


Figura 4.3.7: Reacciones involucradas en la denominada reacción padre-hijo del compuesto $HRNO_2$. En medio DMF.

Donde posteriormente los derivados nitrosos e hidroxilaminicos son intermediarios y productos en la reducción del grupo nitro, según los detallan los siguientes mecanismos [18]



Todo lo anteriormente detallado explica la causa de la irreversibilidad que el compuesto $HRNO_2$ experimenta en DMF. Resumiéndose todo el comportamiento en la siguiente ecuación



Ahora bien, visto el comportamiento que tiene el compuesto CH_3RNO_2 en medio aprótico, se procedió a analizar los criterios de reversibilidad para este nitrocompuesto, según se indica a continuación.

1) Diferencia entre los potenciales catódicos y anódicos (Ep): Los valores obtenidos se acercaron al valor de 60mV descrito para los procesos reversibles en los que esta involucrada una transferencia monoelectrónica, indicando así que la transferencia electrónica es reversible.

	<i>CH₃RNO₂</i>
Velocidad Barrido (V/s)	Epc-Epa / mV
0.1	68.4
0.5	78.4
1.0	76.6
4.0	87.3
7.0	89.2
10.0	88.4

Tabla 4.3.1: Valores de la diferencia entre el potencial de pico catódico (Epc) y el potencial de pico anódico (Epa), para el compuesto CH₃RNO₂, en medio DMF y a una concentración de 1mM.

2) Análisis de la dependencia entre Log Ipc y Log V: Se observó una dependencia lineal como se muestra en la figura 4.3.8., lo que indica que el proceso redox sobre la superficie del electrodo para el compuesto CH₃RNO₂ esta controlado por difusión.

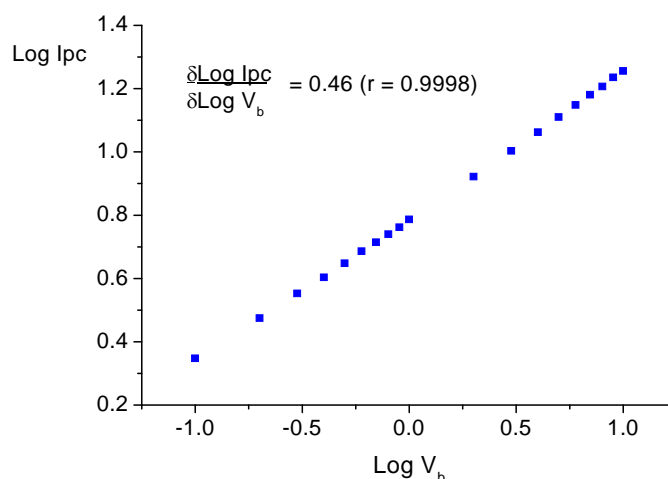


Figura 4.3.8: Análisis de la dependencia entre el Log Ipc y Log V para CH₃RNO₂ en medio aprótico y a una concentración de 1mM.

Luego de lo observado en los criterios de reversibilidad para el compuesto CH_3RNO_2 en medio aprótico, se procedió a utilizar el método propuesto por Olmstead para el cálculo de las razones I_{pa}/I_{pc} , para luego graficar el comportamiento de esta razón a diferentes velocidades de barrido Figura 4.3.9.

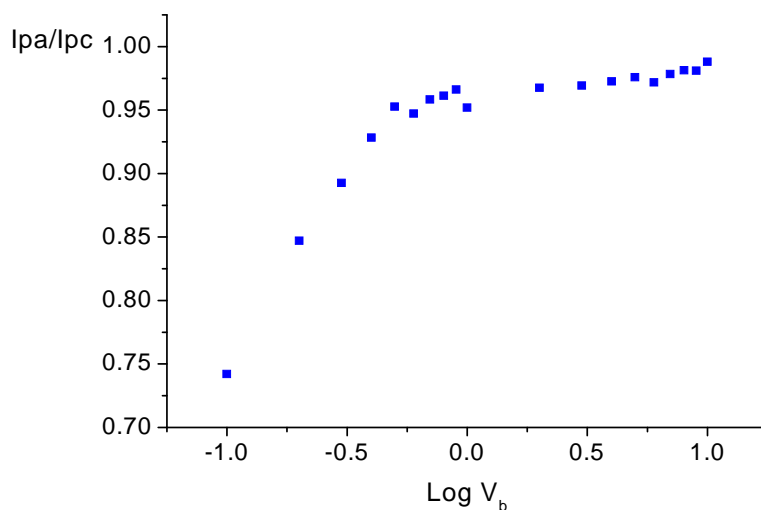


Figura 4.3.9: Gráfico de la razón de corrientes (I_{pa}/I_{pc}) versus el logaritmo de la velocidad de barrido ($\text{Log } V_b$) para el CH_3RNO_2 a una concentración 1mM. En medio aprótico.

Es importante señalar que a diferencia de los medio EtOH/Britton y DMF/Citrato donde el anión radical nitro formado sufría reacciones de decaimiento químico debido a la disponibilidad de protones en el medio, en este caso se planteó la dimerización como la reacción más probable en medio aprótico, debido a la no disponibilidad de estos en el medio[19].

Considerando las condiciones dadas en la sección 3.2.2.1, podemos obtener para la reacción química de tipo dimerización [16], el valor de la constante $k_{2 \text{ dim}}$.

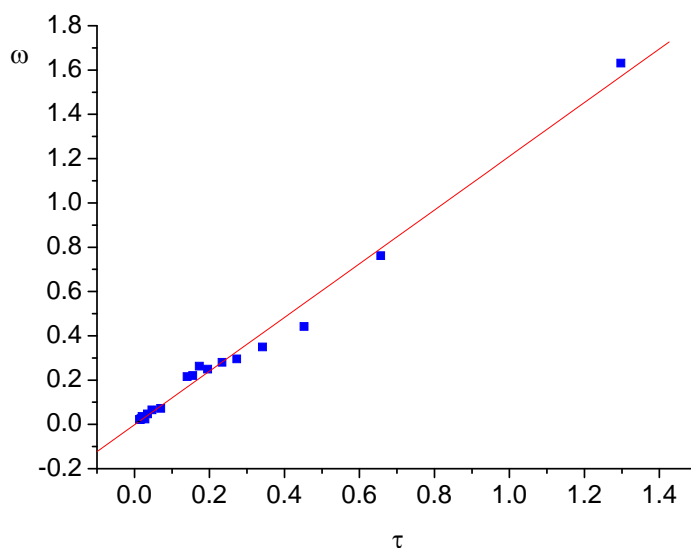


Figura 4.3.10: Gráfico de ω versus τ para el CH_3RNO_2 a una concentración 1mM. En medio aprótico.

	CH_3RNO_2
$k_2 \cdot 10^{-3}/\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	1.1 +/- 0.1
$t_{1/2}/\text{s}$	0.88

Tabla 4.3.2: Valor de la constante de decaimiento (k_2) y tiempo de vida media ($t_{1/2}$), para el nitrocompuesto CH_3RNO_2 en medio aprótico y a una concentración de 1mM

Al comparar el comportamiento de ambos nitrocompuestos en DMF con lo visto para el 4-Nitroimidazol en el mismo medio [20], se puede mencionar que el compuesto CH_3RNO_2 presenta un comportamiento totalmente diferente al 4-nitroimidazol, debido a que la presencia del sustituyente metil en la posición del anillo imidazólico impide la reacción de autoprotonación que sufre tanto el 4-nitroimidazol como el HRNO_2 en medio DMF.

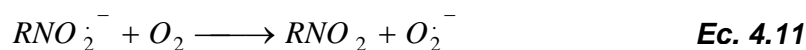
Por otra parte al comparar el comportamiento que tiene el compuesto HRNO_2 con respecto al 4-nitroimidazol, se puede observar que se encuentran presentes las mismas señales de reducción para ambos compuestos tanto en polarografía como en voltametría, lo que ratifica la reacción de autoprotonación que sufren los derivados 4-nitroimidazólicos cuando la posición N1 del anillo imidazólico no presenta sustituyentes.

Ahora bien los datos obtenidos hasta ahora para el compuesto CH_3RNO_2 , describe la capacidad que tiene este nitrocompuesto de formar el correspondiente anión radical nitro en medio aprótico. Sin embargo como se ha descrito en estudios anteriores [14], existe una buena correlación entre el potencial de pico catódico (Epc) obtenido en este medio, con el valor de potencial E_7^1 obtenido por radiólisis de pulso. Donde el valor de E_7^1 es un parámetro el cual expresa la energía necesaria para transferir el primer electrón hacia un grupo electroactivo a pH 7 en medio acuoso para así formar el correspondiente anión radical. Este valor es considerado como un indicativo de la formación del anión radical nitro in vivo, por lo tanto con los valores de Epc obtenidos en medio aprótico podemos calcular el E_7^1 para el compuesto CH_3RNO_2 , el cual al compararlo con los valores obtenidos para el Nifurtimox y el Benznidazol [21,22], que son los fármacos más extensamente utilizadas en la enfermedad de Chagas, muestra un E_7^1 significativamente menor (tabla 4.3.3.).

	CH_3RNO_2	Nifurtimox	Benznidazol
E_7^1	-877	-242	-380

Tabla 4.3.3: Valores de potencial E_7^1 , para el nitrocompuesto CH_3RNO_2 , Nifurtimox y Benznidazol en medio acuoso.

Por otra parte, los valores de E_7^1 para la cupla $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^-$ pueden ser utilizados no solo para determinar la viabilidad termodinámica de la reducción vía un electrón del CH_3RNO_2 por cualquier nitroreductasa in vivo, sino también para determinar la probabilidad de la donación del electrón del anión radical nitro formado hacia los aceptores potenciales. En este contexto el aceptor biológicamente más importante es el oxígeno, donde en condiciones aeróbicas puede producirse el denominado ciclo fútil del anión radical nitro según indica la siguiente ecuación:



Ahora bien, con los valores obtenidos para E_7^1 se determinó la constante de equilibrio para la transferencia del electrón del anión radical nitro al oxígeno (K_{O_2}) según indica la ecuación 3.17 anteriormente referida. Donde los resultados obtenidos para el compuesto CH_3RNO_2 fueron comparados con los obtenidos para el Nifurtimox y Benznidazol según detalla la tabla 4.3.4.

	CH_3RNO_2	Nifurtimox	Benznidazol
K_{O_2}	6.09×10^{11}	166	6400

Tabla 4.3.4: Valores de la constante de equilibrio K_{O_2} , para los compuestos CH_3RNO_2 , Nifurtimox y Benznidazol.

Como se observa en la tabla 4.3.4, el compuesto CH_3RNO_2 presenta un K_{O_2} significativamente mayor que las otras dos drogas, lo cual indicaría que el ciclo fútil se vería favorecido para este compuesto. Además, el valor de K_{O_2} obtenido para el CH_3RNO_2 no aseguraría la formación del anión radical nitro producido por la enzima nitroreductasa.

Resumiendo los resultados obtenidos para los dos nitrocompuestos en estudio con el 4-nitroimidazol en todos los medios estudiados (tabla 4.3.5), se puede apreciar que el compuesto CH_3RNO_2 en medio EtOH/Britton presenta menores potenciales de reducción, lo que se debería tanto a bloqueo estérico parcial que produciría el sustitución $-CH_3$ en el N1 del anillo imidazólico, como a la no presencia de DMF en el medio.. Lo que derivaría a que el grupo nitro se encuentre más expuesto a sufrir una reducción.

Por otra parte, al comparar las constantes de decaimiento (k_2) para los tres nitrocompuestos, se aprecia que la constante del 4-nitroimidazol en medio EtOH/Britton presenta un menor valor, lo que nos da a entender que para este compuesto la etapa química se encuentra menos favorecida en este medio, produciendo así que el anión radical nitro formado sea más estable.

		CH ₃ RNO ₂	HRNO ₂	4-Nitroimidazol
Medio EtOH/Britton pH 11	E _{pc} / mV	-814	-946	-850
	k ₂ ·10 ⁻³ /M ⁻¹ s ⁻¹	1.70 +/- 0.1	1.98 +/- 0.2	0.33 +/- 0.1
Medio DMF/Citrato pH 11	E _{pc} / mV	-927.7	No medible	Sin antecedentes
	k ₂ ·10 ⁻³ /M ⁻¹ s ⁻¹	6.1 +/- 0.2	No medible	Sin antecedentes
Medio DMF	E _{pc} / mV	-1302	-1202	-1140
	k ₂ ·10 ⁻³ /M ⁻¹ s ⁻¹	1.1 +/- 0.1	No medible	No medible

Tabla 4.3.5: Valores de potencial de pico catódico (E_{pc}) y constantes de decaimiento (k₂) para los compuestos CH₃RNO₂, HRNO₂ y 4-Nitroimidazol. En los medios EtOH/Britton Robinson (30/70), DMF/Citrato (60/40) y 100%DMF.

Como conclusión en relación al compuesto CH₃RNO₂, se observa que este presentó reversibilidad en todos los medios estudiados, por lo cual fue posible aplicar el método de obtención de las constantes de decaimiento en estos tres medios. Lo que al compáralas, se obtuvo como resultado que el CH₃RNO₂ en medio DMF presenta un k₂ significativamente menor, esto debido a que se impide el decaimiento químico en este medio al existir una nula concentración de protones en el medio.

Por otra parte el compuesto HRNO₂ presentó reversibilidad tanto en medio EtOH/Britton como en DMF/Citrato, pero solo fue posible obtener el valor de la constante de decaimiento en medio EtOH/Britton, esto debido a la imposibilidad de aislar la cupla RNO₂/RNO₂⁻ en medio DMF/Citrato. Además, otro punto importante que mencionar con respecto a este compuesto, tiene relación con la reacción de autoprotonación que sufre este en presencia de DMF, debido a que esto podría explicar el comportamiento obtenido para este compuesto en medio mixto, debido a que se observa una señal, en la cual es imposible aislar el par redox RNO₂/RNO₂⁻ para su posterior estudio.

CONCLUSIONES

1. Se generó el anión radical nitro en ambos compuestos , tanto a pHs básicos en los medios EtOH/Britton(30:70) y Citrato/DMF(40:60) como en medio aprótico DMF, los que se pudieron detectar por polarografía de pulso diferencial y por voltametría cíclica.
2. Se determinaron valores de constantes de decaimiento del anión radical nitro formado en los tres medios de estudio , resultando ser el anión radical nitro más estable el que se genera en medio aprótico correspondiendo al compuesto CH_3RNO_2 . Además al comparar las constantes obtenidas para ambos compuestos a las mismas condiciones de estudio se observó que la sustitución del grupo metil en posición 1 aumenta la estabilidad del anión radical nitro.
3. La sustitución del anillo imidazólico en posición 1 produjo una disminución en los potenciales de pico en los tres medios estudiados, concluyendo que la reducción del grupo nitro ocurre más fácilmente en este tipo de compuestos a diferencia de los que no presentan sustitución (HRNO_2).
4. Se determinó que los mecanismos por los cuales se reduce el grupo nitro ocurre por medio de 4 electrones y 4 protones totales involucrados en los medios acuoso y mixto. A diferencia del medio aprótico donde el compuesto CH_3RNO_2 experimenta una reducción del grupo nitro vía 1 electrón y el compuesto HRNO_2 experimenta una reacción de autoprotónación del compuesto inicial que involucra 4 electrones.
5. Se obtuvo valores de pKa por medio de espectroscopia UV-visible en ambos compuestos, donde se presentó en el caso del CH_3RNO_2 un pKa correspondiente a la desprotonación que sufre éste a pH ácidos en el nitrógeno en posición 3 del anillo imidazólico, a diferencia del compuesto HRNO_2 el cual presenta dos pKa correspondientes a la desprotonación en posición 3 del anillo imidazólico y a un equilibrio ácido-base.

6. Además, se pudo concluir que en medio EtOH/Britton tanto el HRNO_2 como el CH_3RNO_2 presentan constantes de decaimiento del anión radical nitro notoriamente mayores al que presenta el 4-nitroimidazol en este mismo medio, dando a entender así que el anión radical nitro formado es más estable en este compuesto.

7. Por otra parte en medio aprótico para el compuesto CH_3RNO_2 fue posible obtener K_{O_2} el cual al ser comparado con nifurtimox y benznidazol resultó ser significativamente mayor, lo cual concluye que el ciclo fútil para este nitrocompuesto in vivo, se encontraría notoriamente favorecido.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- J. Aldunate, A. Morello, Free Radicals in tropicals Medicine, Harwood Press, Switzerland v137,(1993) 165
- 2- D.I. Edwards, J. Antimicrob. Chemother. v31 (1993) 9
- 3- D:I: Edwars, R.C. Knight, A. Zahoor, Int. J. Radiat, Oncol. Biolog. Phys. v12 (1986) 1207
- 4- J.H. Tocher, D.I. Edwards Biochem. Pharmacol. v48 (1994) 1089
- 5- J. D. Maya, S. Bollo, L. J. Nuñez, J. A. Squella, Y. Repetto, A. Morello, Biochemical Pharmacology v65 (2003) 999
- 6- D:I. Edwards, Biochem. Pharmacol. v35 (1986) 53
- 7- C.viodé, N. Bettache, N. Cenas, L. Krauth-Siegel, Biochem. Pharmacol. v57 (1999) 549
- 8- D. Dumanovic, J. Volke V. Vajgand, J. Pharm. Pharmacol.,v18 (1966) 507
- 9- J.A. Castro, E.G. Diaz de Toranzo, Toxic Effects of Nifurtimox and Benznidazol, two drugs used against tripanosomiasis (Chagas disease). Biomed Env Sci 1 (1988) 19
- 10- N.B. Gorla, O.S. Ledesma, G.P. Barbieri, I.B. Larripa. Thirteen-fold increase of of Chromosomal aberration nonrandomly distributed chagasic children treated with Nifurtimox, mutat res v224 (1989) 263
- 11- USP 23/NF 18. United Status Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville. D. USA, (1995)
- 12- R.S. Nicholson, I. Shain, Anal. Chem. , v36(1964) 706
- 13- Olmstead, M., Hamilton, R., Nicholson; R..Anal Chem., v41, (1969) 260

-
- 14- A. Breccia, G. Berrilli, S. Roffia, *Int. J. Radiat. Biol.*, v63 (1979) 85
- 15- P Wardman, *Environmental Health Perspectives* v64 (1985)309
- 16- J. Carbajo, S. Bollo, L.J. Núñez-Vergara, A. Campero, J.A. Squella. *Journal of Electroanal. Chem.* v531 (2002) 187
- 17- G.G. Gallo, C. Pasqualucci, P. Radaelli, G. Lancini. *Inorg.Chem.* v29 (1964) 862
- 18- E.Vianello, S.Roffia and C.Gottardi "Electrochemical Behaviour os 4-Nitroimidazole and 2-Methyl-5-Nitroimidazole.Autoprotonation of Radical and Redox-Catalysed Reducction of the Supportin Electrolyte Cation" *J.Electroanal.Chem.* (1982) 263
- 19- M.L. Olmstead, R.S. Nicholson, *Anal Chem* v41(1969) 862
- 20- J.A. Squella, A. Campero, J. Maraver, J. Carvajo *Electrochimica Acta* 52 (2006) 511.
- 21- J. Arg ello, L.J. Nuñez, S. Bollo. J.A. Squella, *Bioelectrochemistry* v69 (2006) 104.
- 22- S. Bollo, L.J. Nuñez, C. Martinez, G.Chauviere, J.Perie, J.A. Squella, *Electroanalysis* v15 (2003) 19.