



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica
Laboratorio de Cinética y Fotoquímica.

**FOTORREDUCCIÓN DE COMPUESTOS
HETEROCÍCLICOS POR N-FENILGLICINA Y OTROS
ACETIL-AMINOÁCIDOS**

Memoria para optar al título de Químico

Alberto Andrés Pérez Sanhueza

Patrocinador de Memoria

Dr. Claudio Saitz B

Director de Memoria

Dr. Julio De la Fuente U

Santiago – Chile

2021

Agradecimientos

Quisiera partir agradeciendo a mi madre y a mi padre por todo su esfuerzo, sacrificios y comprensión, sin ellos no hubiese podido elegir libremente este difícil camino por la ciencia ni ser quien soy en este momento, estaré eternamente agradecido por su amor incondicional.

Al profe Julio por su paciencia y por la confianza, realmente agradezco mucho la oportunidad que me brindo y todo lo que contribuyó a mi desarrollo como científico.

Al profe Germán por su buena onda y buena disposición a responder consultas o a compartir momentos fuera de la vorágine de la ciencia.

Al profe Claudio por su disposición y ayuda durante el proceso de titulación.

A la gente del laboratorio de cinética y fotoquímica por el respecto y la ayuda que me brindaron durante el tiempo de trabajo.

A mis grandes amigos Christian, Martin y Paula por su amistad, la camaradería, compañía y los buenos momentos que pasamos en estos años inacabables de universidad

A todos los compañeros y compañeras de carrera con los que compartí alguna conversación o momento durante estos años.

Y, por último, a toda la gente que ha pasado por mi vida de forma efímera o más prolongada en el tiempo y que de alguna u otra forma ha contribuido a forjar quien soy hoy.

Índice	
Índice de figuras.....	4
Índice de tablas.....	6
Resumen.....	7
1. Introducción.....	9
1.1 Estados excitados.....	11
1.2 Procesos Fotoinducidos.....	13
1.3 Caracterización de estados excitados.....	17
1.4 Azafluorenonas.....	19
1.5 Características fotoquímicas y fotofísicas.....	21
2. Hipótesis.....	27
2.2 Objetivo general.....	27
2.3 Objetivos específicos.....	27
3. Materiales y Métodos.....	28
3.1 Reactivos.....	28
3.2 Fotolisis Estacionaria.....	28
3.3 Rendimientos cuánticos de fotoconsumo.....	28
3.4 Caracterización de los transientes.....	29
3.5 Desactivación de los estados excitados.....	30
4. Resultados y Discusión.....	31
4.1 Fotolisis estacionaria.....	31
4.2 Espectros de absorción transiente.....	34
4.2.1 Absorción triplete-triplete.....	34
4.2.2 Desactivación de los estados tripletes excitados.....	35
4.2.3 Generación de los aniones radicales con DABCO y TPA.....	36
4.2.4 Reacción con TEA.....	41
4.2.5 Reacción con N-Fenilglicina, NPG.....	44
4.2.6 Reacción con N-Acetiltriptófano, NAT.....	52
5. Conclusiones.....	60
6. Referencias.....	61

Índice de figuras

Figura 1: Esquema representativo de los estados singulete y triplete excitado.....	11
Figura 2: Diagrama de Jablonski-Perrin.....	12
Figura 3: Diagrama del fenómeno de transferencia de carga o de electrones entre un triplete excitado y una molécula que actúa como dador de electrones.....	15
Figura 4: Esquema representativo del proceso de apagamiento de estados excitados o quenching.....	16
Figura 5: Compuestos heterocíclicos a estudiar: a) 1,8-diazafluorenona; b) 4,5-diazafluorenona; c) 1,4-benzodiazfluorenona y d) 4-azafluorenona.....	20
Figura 6: Reacción entre 1,8-DAF y L-alanina.....	20
Figura 7: Síntesis de derivados de 4-Azafluorenona mediante ciclación intramolecular de Heck.....	21
Figura 8: Mecanismo de reacción propuesto para la fotorreducción de 3-metilquinoxalinas en presencia de NPG. ⁵¹	23
Figura 9: N-acetil aminoácidos utilizados como fotorreductores: A) N-fenilglicina y B) N-acetiltriptofano.....	24
Figura 10: Aminas utilizadas para generar los aniones radicales y radicales hidrogenados de las aza y diazafluorenonas: A) 1,4-diazabicyclo [2,2,2] octano (DABCO); B) Trifenilamina (TPA) y C) Trietilamina (TEA).....	26
Figura 11: Fotólisis de 1,4-BenzoDAF 0.12 mM en presencia de NPG 0,34mM realizada durante 60 minutos. El inserto muestra el efecto de la concentración de [NPG] en el rendimiento cuántico de fotoconsumo.....	31
Figura 12: Fotólisis de 4,5-DAF 0,71 mM en presencia de NPG 2,3 mM realizada durante 60 minutos.....	32
Figura 13: Espectros de absorción transiente para 4,5-Diazafluorenona, 1A; 1,8-Diazafluorenona, 1B; 4-Azafluorenona, 1C y 1,4-Benzodiazfluorenona, 1D.....	34
Figura 14: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1,8-DAF en ausencia de amina. Inserto gráfico de Stern-Volmer para el apagamiento de la 1,8-DAF en presencia de DABCO. Panel B) Espectro de absorción transiente de la 1,8-DAF en presencia de DABCO 1.28mM.....	36
Figura 15: Panel A) Contiene el espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 4-AF en ausencia de TPA Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de TPA 0,4mM.....	38
Figura 16: Trazas cinéticas de formación del anión radical de 4,5-DAF en función de la concentración de TPA. Inserto gráfico del inverso del tiempo de vida vs concentración de TPA.....	39

Figura 17: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1,4-BenzoDAF en ausencia de TEA. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 0,4mM Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 0,99mM y Panel D) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 2.10mM.....	42
Figura 18: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 4,5-DAF en ausencia de amina. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de DABCO 0.75 mM Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de TPA 0.38 mM y Panel D) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 2.32 mM.....	43
Figura 19: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1.8-DAF en ausencia de NPG. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.15 mM Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.49 mM y Panel D) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.85 mM.....	44
Figura 20: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 4.5-DAF en ausencia de NPG. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.14 mM y Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.51 mM.....	47
Figura 21: Panel A) y Panel B) Trazas cinéticas de 4.5-DAF a 320 nm y 420 nm en presencia de NPG 0, 0.055, 0.201, 0.365 y 0,625 mM (negro, celeste, rojo, verde y azul respectivamente).....	48
Figura 22: Panel A) Espectro de absorción transiente de 1,4-BenzoDAF en ausencia de amina y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0,4 mM.....	49
Figura 23: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de 4-AF en ausencia de NPG y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 2 mM.....	51
Figura 24: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1.8-DAF en ausencia de NAT. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 0.44 mM y Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 1.78 mM.....	53
Figura 25: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de 4.5-DAF en ausencia de NAT y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 0.81 mM.....	55
Figura 26: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de 1,4-BenzoDAF en ausencia de NAT y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 0.79 mM.....	56
Figura 27: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete en ausencia de amina y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 2 mM.....	58

Índice de tablas

Tabla 1: Rendimientos cuánticos de fotoconsumo, Φ_{pc}	33
Tabla 2: Constantes de apagamiento de $^3\text{DAF}^*$ por diversas aminas en acetonitrilo.....	35
Tabla 3: Constantes de formación de las especies observadas en 550 nm y 650 nm a distintas concentraciones de TPA.....	39

Resumen

En este trabajo se estudió la fotorreducción de aza y di-azafluorenonas en presencia de N-Fenilglicina, NPG y N-Acetilriptofano, NAT mediante la técnica de laser flash fotolisis. Como primer paso para develar el posible mecanismo de fotorreducción antes mencionado, se monitoreo las fotolisis estacionarias de las aza y di-azafluorenonas en presencia de NPG y NAT, además de obtener los valores de los rendimientos cuánticos de fotoconsumo. Con esta información fue posible concluir que la primera etapa del mecanismo de fotorreducción ocurre desde el estado triplete excitado de los compuestos heterocíclicos estudiados.

La segunda etapa corresponde a la transferencia de electrón fotoinducida, que posibilita la formación de un anión radical o un par ion radical en contacto con carácter de triplete o un exciplego de transferencia de carga. Esto quedaba en evidencia gracias a los espectros de absorción transientes en presencia de aminas como DABCO y TPA que, junto con los parámetros cinéticos como las constantes de apagamientos, tiempos de vida y constantes de formación, permiten asignar y caracterizar los transientes antes mencionados.

Por último, la siguiente etapa de la fotorreduccion es la generación del radical hidrogenado de la aza y di-azafluorenona, junto con una etapa de descarboxilación de la NPG y NAT, lo cual generaría un radical que posiblemente reaccione con el radical hidrogenado o con moléculas de la aza y di-azafluorenona respectiva en estado basal. La asignación del radical hidrogenado fue posible gracias a los espectros en presencia de TEA, amina donante de H- α .

Summary

In this work, the photoreduction of aza and diazafluorenones in presence of N-Phenylglycine, NPG and N-Acetyltryptophan, NAT was studied using the laser flash photolysis technique.

As a first step to reveal the aforementioned possible photoreduction mechanism, the steady-state photolysis of aza and diazafluorenones in the presence of NPG and NAT was monitored, in addition to obtaining the values of photoconsumption quantum yields, with this information it was possible to conclude that the first step stage of photoreduction occurs from the excited triplet state of the heterocyclic compounds studied.

The second stage corresponds to the photoinduced electron transfer, which enables the formation of a radical anion or a triplet state radical ion pair in contact or a charge transfer exciplex, this was evident thanks to the transient absorption spectra in presence of amines such as DABCO and TPA, which together with kinetic parameters such as quenching constants, lifetimes, formation constants allowed to assign and characterize the aforementioned transients.

Finally, the next stage of photoreduction is the generation of the hydrogenated radical of aza and diazafluorenones, together with a decarboxylation stage of NPG and NAT, which would generate a radical that possibly reacts with the hydrogenated radical or with molecules of the aza and diazafluorenone respective in the basal state, the allocation of the hydrogenated radical was possible thanks to the spectra in the presence of TEA, H- α donor amine.

1. Introducción

La fotoquímica es conocida por ser la disciplina que estudia las transformaciones químicas producidas por la absorción de luz. Esta ciencia se rige por dos leyes fundamentales, la primera ley de la fotoquímica o ley de Grotthus-Draper (1818)¹ establece que solo la luz que es absorbida por una sustancia es capaz de producir una reacción fotoquímica y la segunda ley de Stark-Einstein (1905)² o ley de Foteoquivalencia plantea que, en la etapa inicial de un proceso fotoquímico, una molécula es activada por la absorción de un cuanto o de un fotón de luz.

Este concepto de fotón se estableció a principios del siglo XX, gracias a los estudios de Max Planck y Albert Einstein, quienes plantearon que la radiación no puede ser absorbida ni emitida de forma continua, sino en determinados momentos y en pequeñas cantidades denominadas cuantos de energía o fotones. Un fotón es una partícula elemental responsable de las manifestaciones cuánticas del fenómeno electromagnético, además de ser la partícula portadora de todas las formas de radiación electromagnética (rayos gamma, rayos x, UV, luz visible, luz infrarroja, microondas y ondas de radio) y presenta propiedades tanto de partícula como de onda (dualidad onda-corpúsculo). Al actuar como partícula, el fotón interactúa con la materia para transferir una cierta cantidad de energía que se calcula a partir de la expresión $E = hc/\lambda$, donde c es la velocidad de la luz y λ la longitud de onda. Dicha energía será el motor que posibilite los diversos fenómenos fotoquímicos.

Una reacción fotoquímica tiene lugar cuando una molécula en estado basal es irradiada con luz de una frecuencia correspondiente a la diferencia de energía entre el estado basal y el estado excitado, de forma que puede absorber un cuanto de energía lumínica, lo cual produce una transición electrónica que posibilita que la molécula pase a un estado de mayor energía o estado excitado. Esta transición electrónica ocurrirá desde un orbital molecular de baja energía hacia un orbital de mayor energía, estos orbitales son denominados HOMO (high occupied molecular orbital) y LUMO (low unoccupied molecular orbital). Por lo tanto, los electrones en el orbital HOMO pueden ser promovidos de su orbital si recibe la suficiente energía, yendo al siguiente orbital (en la escala de energía), el cual sería el orbital LUMO. La transferencia de un electrón desde el orbital HOMO hacia el orbital LUMO ocurrirá si la luz utilizada para excitar la molécula tiene un fotón con la misma energía que la transición HOMO-LUMO.

En la mayoría de los casos, los orbitales antes mencionados están asociados a una parte específica de la molécula como los grupos funcionales, los cuales absorben radiación UV ($\lambda > 200$ nm), que permite la transición electrónica desde un orbital molecular σ , n o π hasta un orbital molecular antienlazante, generando de esta manera un máximo de absorción en un rango espectral de 200-700 nm. A estos grupos químicos se les denomina cromóforos.

1.1 Estados excitados

Cuando una molécula absorbe un fotón produce un estado electrónicamente excitado, el cual se genera por la promoción de un electrón desde un orbital ocupado de baja energía hacia un orbital desocupado de mayor energía, de esta manera se forma una especie que tiene al menos dos electrones desapareados en distintos orbitales.

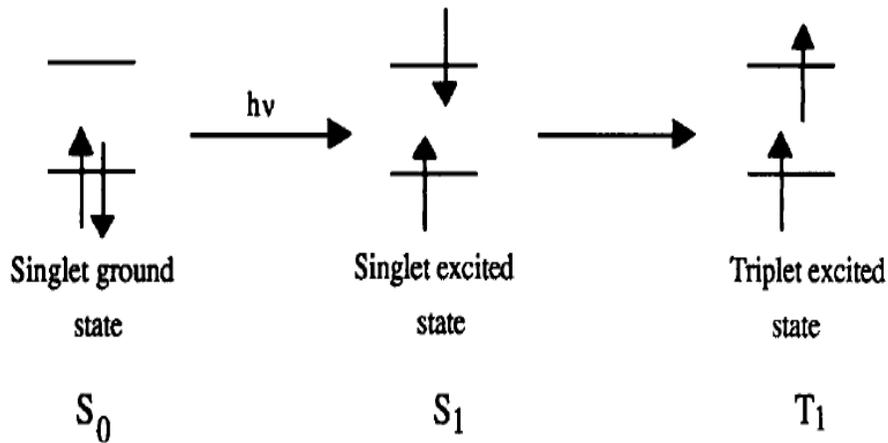


Figura 1: Esquema representativo de los estados singlete y triplete excitado.

Si la especie excitada tiene los electrones desapareados con spines antiparalelos, se tratará de un estado singlete excitado y si los electrones desapareados tienen spines paralelos se tratará de un estado triplete excitado (Figura 1), el cual se caracteriza por ser más estable energéticamente que el singlete debido a la repulsión electrostática de los electrones con el mismo spin, disminuyendo así su energía.³ Para regresar al estado basal se requiere un cambio de spin electrónico, por esta razón el estado triplete presentara tiempos de vida mucho más largos que el estado singlete, los cuales van desde los microsegundos para el triplete (10^{-6} s) y los nanosegundos para el singlete (10^{-9} s).

A través del diagrama de Jablonsky-Perrin ⁴⁻⁶ (Figura 2) es posible representar gráficamente los procesos físicos involucrados en la excitación y desactivación de los estados excitados. Donde los procesos físicos son aquellos en que se producen cambios en los estados

cuánticos de las moléculas sin alterar la estructura química, con el fin de alcanzar estados energéticos más estables. Son transiciones energéticas en las que se producen interconversiones entre estados excitados o un estado excitado y el estado basal.

En función de si durante la desactivación se emite radiación electromagnética, los procesos foto físicos se caracterizan a su vez en procesos radiativos (se produce emisión de radiación electromagnética desde el estado excitado para regresar al estado basal) o no radiativos (conversiones entre estados sin emisión de radiación electromagnética) y los procesos fotoquímicos hacen referencia a las transformaciones químicas que puede experimentar una molécula desde su estado excitado para dar lugar a estructuras más estables con una configuración distinta al de partida.

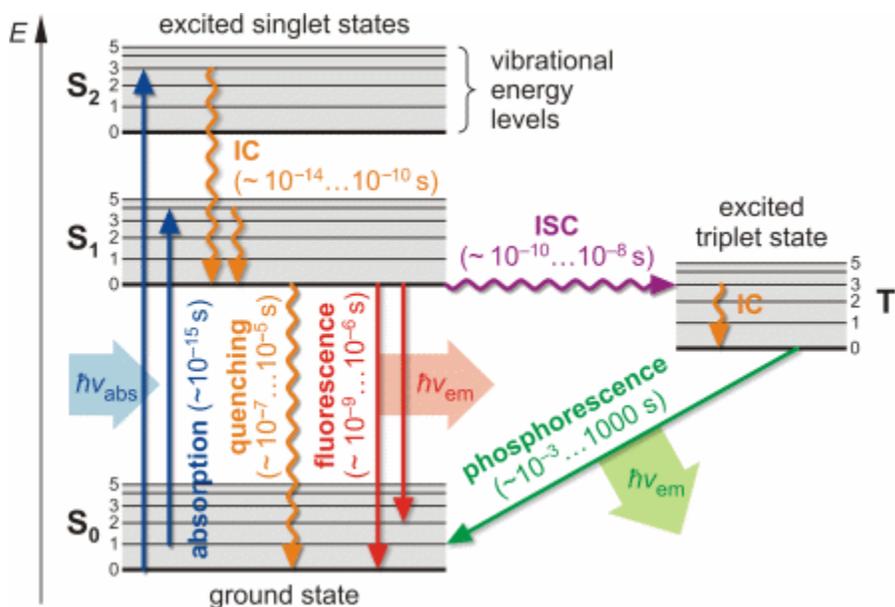


Figura 2: Diagrama de Jablonski-Perrin.

El proceso de excitación de una molécula comienza con la absorción de un fotón de luz en el estado basal (S_0) formando de esta manera el estado singlete excitado (S_1) el cual puede decaer térmicamente o puede ocurrir una desactivación de forma radiativa conocida como fluorescencia (F). Este proceso de absorción de luz permitirá poblar niveles vibracionales distintos al basal, los cuales se pueden desactivar por relajación vibracional si los niveles

vibracionales están dentro de un mismo estado electrónico o por conversión interna (IC), si ocurre entre estados vibracionales isoenergéticos de diferentes estados energéticos con la misma multiplicidad. Otra posibilidad es la inversión de spin de un electrón desapareado, formándose el triplete excitado (T_1) a través de un proceso conocido como cruce de sistemas (ISC), que corresponde a una transición isoenergética entre dos estados electrónicos de diferente multiplicidad. El triplete puede decaer de forma térmica o de forma radiativa por fosforescencia (P), además existe la posibilidad que el triplete de menor energía (T_1) continúe absorbiendo energía alcanzando un nuevo triplete excitado de mayor energía (T_n). Tanto los estados singuletes y tripletes excitados pueden ser desactivados o apagados mediante la acción de una molécula denominada apagador, volviendo al estado basal o puede ocurrir una fotorreacción entre ambas especies, generando un fotoproducto estable.

1.2 Procesos Fotoinducidos

Como se mencionó con anterioridad los estados electrónicamente excitados pueden seguir diversas rutas de desactivación para volver al estado basal, ya sea de forma radiativa (Fluorescencia, Fosforescencia) o de forma no radiativa (Cruce entre sistemas, Conversión interna), pero también estas especies excitadas pueden ser desactivadas mediante interacciones con otras moléculas presentes en el medio como puede ser una transferencia de energía, transferencia de electrón o protón, formación de excíplejos o excímeros y por procesos de quenching o desactivación del estado excitado.

Transferencia de energía: Proceso fotofísico donde un estado electrónicamente excitado transfiere su energía a otra especie en estado basal, propiciando la generación de un estado excitado del aceptor de energía con la consiguiente desactivación del dador de energía. Cabe destacar que este proceso puede seguir distintos mecanismos dependiendo del tipo de interacción que exista entre el dador y el aceptor de energía, estas interacciones pueden ser de tipo coulombicas o puede ocurrir un solapamiento de orbitales intermoleculares.⁷

Las interacciones coulómbicas corresponden a interacciones dipolo-dipolo de largo alcance (mecanismo de Forster) ^{8,9}, que dependen del solapamiento entre los espectros de absorción y emisión del dador y aceptor, de la distancia entre dador y aceptor (distancias menores a 100 Å) y que permiten la transferencia de energía entre fluoróforos, mientras que el solapamiento de los orbitales intermoleculares corresponde a interacciones de corto alcance que permiten la transferencia de energía desde un estado triplete hacia un aceptor ($^3D^* + A \rightarrow D + ^3A^*$) y desde un estado singulete hacia un aceptor ($^1D^* + A \rightarrow D + ^1A^*$), como también puede ocurrir un intercambio de electrones (mecanismo de Dexter)¹⁰ entre un dador y aceptor cuando la distancia entre ambas especies es menor a 10Å.

Se pueden diferenciar dos tipos

- Intramolecular: Dador y aceptor de energía están separados por un espaciador
- Intermolecular: Dador y aceptor de energía son moléculas distintas.

Los procesos de transferencia de energía intramolecular ocurren en una escala de tiempo muy corta, en cambio los procesos intermoleculares ocurren en escalas de tiempo más largas lo cual posibilita su detección y cuantificación a través de un ajuste lineal del tipo Stern-Volmer (Ec 1).

Transferencia de carga: Proceso no radiativo que dependerá de los potenciales de oxidación de la especie excitada y del apagador que actuará como donador o aceptor de electrones, esto llevará a la generación de un par ion radical el cual puede conducir a la generación de otros productos.

En el siguiente diagrama (Figura 3) se puede representar el proceso de transferencia de carga entre un triplete excitado que actuara como aceptor de electrones y un apagador que actuara como dador de electrones, generando un catión radical del dador y un anión radical del aceptor de electrones. Estas especies pueden seguir otras rutas de reacción o regenerar las especies de partida mediante una retrotransferencia de electrones.

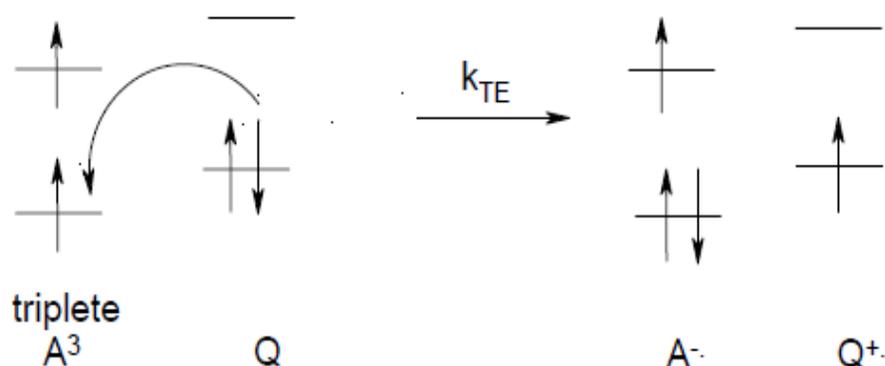


Figura 3: Diagrama del fenómeno de transferencia de carga o de electrones entre un triplete excitado y una molécula que actúa como dador de electrones.

Transferencia de protón: Las propiedades de acidez o basicidad de una molécula que absorbe luz difieren en el estado basal y en un estado electrónicamente excitado. Por ejemplo, un grupo hidroxilo en un compuesto aromático, tendrá un aumento en su carácter ácido al excitar la molécula, siendo el pK_a^* mucho menor que el pK_a de la molécula en el estado basal, en la misma línea, el pK_a^* de un grupo aceptor de protones como un nitrógeno en un compuesto heterocíclico será mucho mayor que el pK_a en el estado basal.⁷

Por último, existe un proceso intermolecular denominado apagamiento de los estados excitados o quenching (Figura 4). Este consiste en el decaimiento (disminución del tiempo de vida) del estado excitado debido a la colisión con otra molécula denominada apagador, este mecanismo de desactivación puede ser químico, en donde el apagador reacciona con el estado excitado formando una especie distinta a la de partida o puede ser físico, en donde el apagador desactiva al estado excitado mediante transferencia de energía, transferencia de carga o por desactivación de átomo pesado (decaimiento acelerado del estado excitado por la colisión con una molécula (por ejemplo de solvente) que contiene un átomo pesado en su estructura (tercera fila o superior de la tabla periódica)). El mecanismo de quenching está descrito de forma general en el siguiente esquema.



Figura 4: Esquema representativo del proceso de apagamiento de estados excitados o quenching.

Donde el decaimiento de la especie excitada A^* descrito por una constante K_f será en ausencia de apagador y el decaimiento en presencia de un apagador Q descrito por la constante K_q . La cinética de este proceso estará descrita por la ecuación de Stern-Volmer (Ec 1)

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} + k_q [Q] \quad (1)$$

Donde τ y τ_0 son los tiempos de vida en presencia y ausencia del apagador y corresponden al inverso de las constantes de decaimiento respectivas.

Esta expresión permitirá obtener las constantes de apagamiento o desactivación de las especies excitadas, calculando el valor de la pendiente de un gráfico del inverso del tiempo de vida del estado excitado en presencia de apagador vs concentración del apagador.

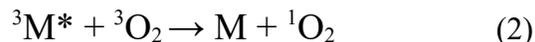
1.3 Caracterización de estados excitados

Los estados excitados pueden ser caracterizados mediante técnicas espectroscópicas de emisión. Registrando los espectros de emisión en estado estacionario de fluorescencia y fosforescencia es posible obtener información correspondiente a su energía, rendimientos cuánticos, presencia de excímeros (dímero de tiempo de vida corto que se forma por la colisión entre una molécula en estado excitado y una molécula idéntica en estado basal) y exciplexos (complejo excitado formado por la colisión entre una molécula en estado excitado que actúa como dador o aceptor de electrones con una molécula distinta en estado basal).

Por otra parte es posible caracterizar los estados excitados utilizando una técnica de absorción de transientes conocida como *laser flash fotolysis*, esta metodología permite realizar estudios cualitativos y cuantitativos de estados excitados e intermediarios con tiempos de vida de hasta 10^{-12} s en procesos fotoquímicos, para ello se irradia el sistema a estudiar con un pulso de luz de alta intensidad y corta duración, generando de esta manera una gran concentración de intermediarios en un tiempo muy corto a partir de concentraciones bajas de precursor, para luego seguir su variación en el tiempo usando algún método de detección adecuado, como espectrofotometría. En el caso de la caracterización del estado excitado singulete, es necesario hacer uso de un láser con resolución temporal en la escala de femtosegundos. Mientras que para caracterizar el estado triplete basta con utilizar un láser con resolución temporal de los nanosegundos, aunque debido a la presencia de diversas especies transientes que se solapan espectralmente, no siempre es fácil realizar asignaciones inequívocas.

Para realizar una correcta identificación del estado triplete, existen varias técnicas basadas en la transferencia de energía intermolecular, entre ellas destacan la desactivación con oxígeno, O_2 o la desactivación con beta caroteno, βC . Para el primer caso, el oxígeno es capaz de interactuar con el estado triplete excitado de una molécula por transferencia de energía (Ec 2), disminuyendo el tiempo de vida del estado excitado e incluso impidiendo su detección, esto se debe a que el oxígeno molecular presenta una distribución electrónica de

triplete en su estado basal, por lo cual reaccionara eficientemente con los estados excitados que presentan multiplicidad de spin de triplete. Cabe mencionar que el estado singulete también puede interactuar con el oxígeno molecular mediante una transferencia de energía, sin embargo, el proceso dependerá directamente con el tiempo de vida del singulete, si es demasiado corto puede volver al estado basal o cruzar al estado triplete, antes que ocurra una colisión con moléculas de oxígeno molecular. Ambos casos descritos con anterioridad corresponden a procesos de fotosensibilización de Tipo II,¹¹ en donde se genera oxígeno molecular singulete, esta especie es el estado excitado de menor energía del oxígeno molecular y cumple un rol importantísimo en áreas de la foto-oxidación, terapia fotodinámica de cáncer (PDT) y tratamientos de purificación de aguas.¹²



Para el segundo caso, el beta caroteno presenta un máximo de absorción triplete-triplete en los 520 nm muy característico,¹³ pero debido a que su rendimiento cuántico de cruce de sistemas ($\Phi_T = 0,001$) es prácticamente nulo, la única forma de que pueda alcanzar el estado triplete ${}^3\beta\text{C}^*$ es mediante la transferencia de energía intermolecular desde una molécula en estado triplete con energía superior (Ec 3).

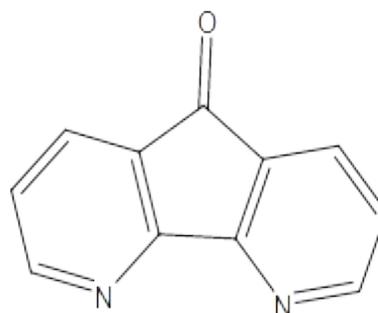
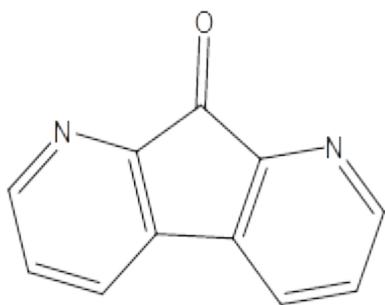


1.4 Azafluorenonas

Las aza y diazafluorenonas han recibido una considerable atención en las últimas décadas debido a sus numerosas aplicaciones farmacológicas y tecnológicas.¹⁴⁻¹⁶ En general se ha reportado que los derivados de azafluorenonas poseen actividad para inhibir la aldosa reductasa,¹⁷ inhibición de la trombina¹⁸ y son usados en diodos orgánicos de emisión de luz (OLED).¹⁹ Por su parte los derivados de diazafluorenonas son utilizados como compuestos transportadores de electrones, son buenos candidatos para pantallas planas y más.^{20,21}

1,8-Diazafluorenona

4,5-Diazafluorenona



1,4-BenzoDiazafluorenona

4-Azafluorenona

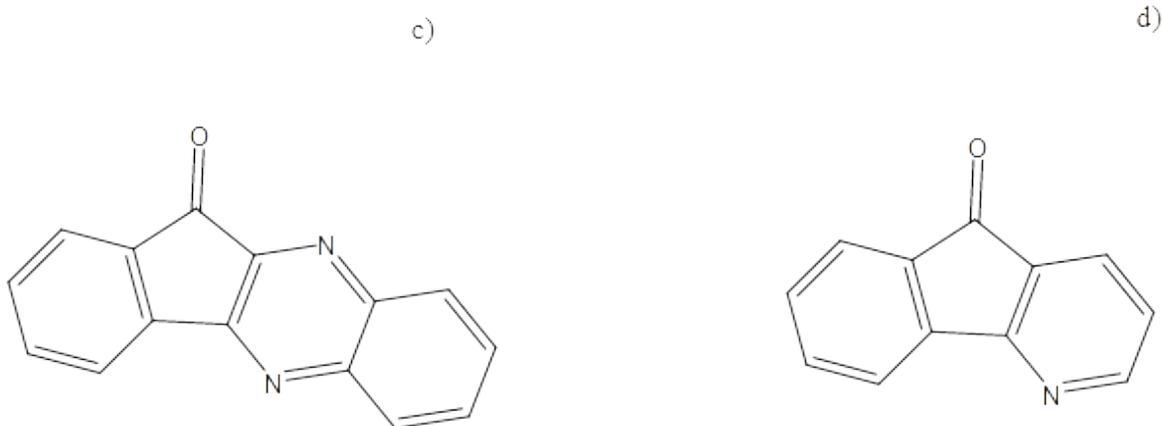


Figura 5: Compuestos heterocíclicos a estudiar: a) 1,8-diazafluorenona; b) 4,5-diazafluorenona; c) 1,4-benzodiazafluorenona y d) 4-azafluorenona.

Por ejemplo, la 1,8-diazafluorenona (figura 5, compuesto a) es utilizada en química forense para la revelar huellas dactilares en materiales porosos, debido a que este compuesto reacciona con algunos aminoácidos.^{14,22} El uso de metanol aumenta la eficiencia de la detección de huellas dactilares, debido a la formación de un hemiacetal con la 1,8-DAF, esta especie es mucho más reactiva y, por tanto, más sensible a los residuos de aminoácidos como L-alanina.²³ El producto de reacción (Figura 6) es de color rojo y presenta máximos de absorción entre los 450 nm y 560 nm, al irradiar dentro de ese rango de longitudes de onda, el compuesto es fuertemente fluorescente y emite a los 572 nm.²⁴

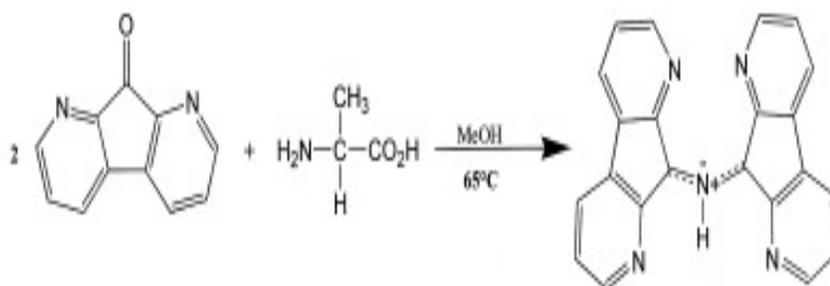


Figura 6: Reacción entre 1,8-DAF y L-alanina.

Algunos de los derivados del compuesto c) de la figura 5, han sido probados como inhibidores de la α -glucosidasa para el tratamiento de las diabetes tipo II,¹⁵ mientras que otros derivados muestran una excelente actividad inhibitoria de la topoisomerasa I y II.²⁵ Como otros compuestos heterocíclicos que contienen un átomo de nitrógeno en su estructura, las azafluorenas han sido identificadas como productos naturales de diferentes especies de plantas y su actividad biológica ha sido estudiada.²⁶⁻²⁸ Una de la más importantes son las Oniquinas, las cuales poseen la base estructural del compuesto d) de la figura 5. Sus derivados con sustituciones en el anillo aromático muestran actividad antimalárica, antimicrobiana, antifúngica y anticancerígena.²⁹⁻³⁴ Como también algunos de sus derivados han sido mencionados como relajantes musculares con actividad broncodilatadora para el tratamiento del asma.³⁵ Debido a la importancia biológica que presentan los derivados de la 4-Azafluorenona se han propuesto diversos métodos de síntesis estos últimos años, como por ejemplo, ciclaciones intramoleculares de Heck (Figura 7) ,³⁶ ciclaciones intramoleculares de Friedel-Crafts,³⁷ reacciones de Diels-Alders³⁸ y reacciones de acoplamiento de Suzuki.³⁹

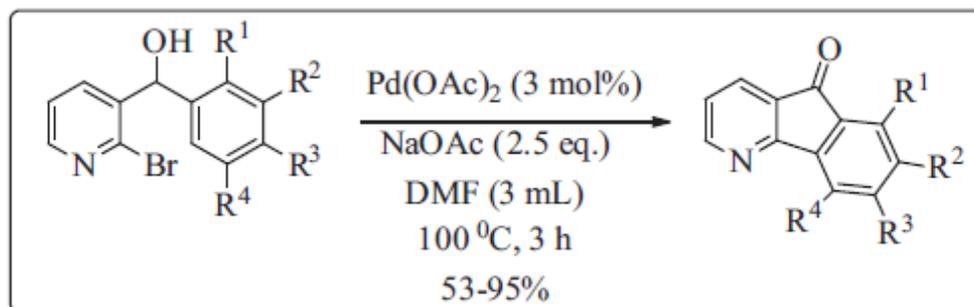


Figura 7: Síntesis de derivados de 4-Azafluorenona mediante ciclación intramolecular de Heck.

1.5 Características fotoquímicas y fotofísicas

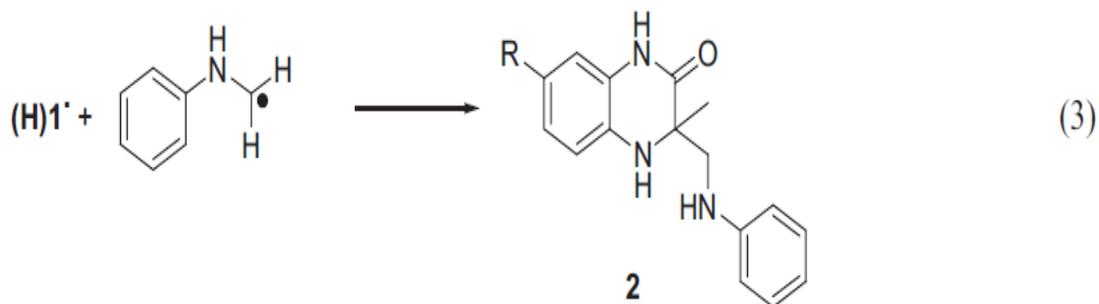
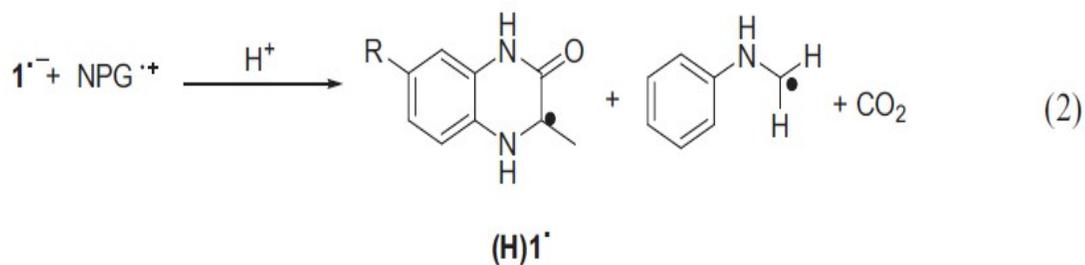
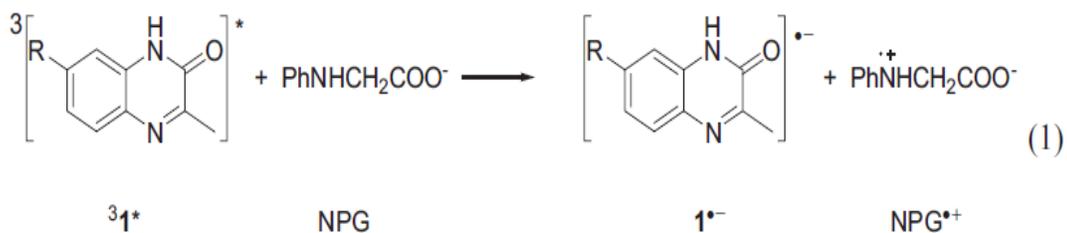
Respecto a la fotofísica de las azafluorenonas y diazafluorenonas hay reportes que indican que los rendimientos cuánticos de fluorescencia bordean los 10^{-2} en solventes polares y son

mucho menores en solventes apolares y los rendimientos cuánticos de triplete van desde 1 a 0,1 en solventes no polares y polares.⁴⁰⁻⁴⁵ Estos altos rendimientos de triplete permitirían el estudio de la aza (4-Aza) y las diazafluorenonas (1,8-DAF, 4,5-DAF y 1,4-BenzoDAF) por absorción triplete-triplete.

Sobre la fotoquímica del estado triplete de estos compuestos no existe mucha literatura al respecto, solo cabe mencionar los trabajos realizados por el grupo de investigación de J.C.Netto Ferreira en el año 2009 y 2015,^{46,47} quienes estudiaron la fotorreducción de los estados tripletes excitados de los compuestos 4,5-diazafluorenona y 1,4-benzodiazafluorenona usando acetonitrilo como solvente, en presencia de donores de electrones como DABCO, TEA y como donores de protones 2-propanol, 1,4-ciclohexadieno, fenol y derivados de fenol. Para realizar estos estudios utilizaron la técnica de laser flash fotólisis con un láser Nd-Yag con el generador del tercer armónico a 355 nm, pudiendo identificar los estados excitados generados y los transientes generados en la foto reacción como son el estado triplete de las azafluorenonas estudiadas, los aniones radicales y los radicales cetilos, además de reportar valores para los rendimientos cuánticos de triplete de 0,28 y 0,41 para la 1,4-diazafluorenona y 4,5-diazafluorenona respectivamente, con energías de triplete que están entre las 50 y 55 kcal/mol.^{46,47}

Todas las aza y diazafluorenonas de este estudio tienen cierta similitud estructural con compuestos previamente estudiados,⁴⁸⁻⁵¹ como son las quinoxalin-2-onas y las oxoisoaporfinas, las cuales poseen un grupo carbonilo conjugado con un grupo imino en una estructura rígida y planar. En ambos casos la fotorreducción de los estados tripletes excitados con aminas ocurre a través un mecanismo (Figura 8) que sigue la siguiente secuencia de eventos: 1) generación del anión radical del compuesto debido a la abstracción de un electrón de la amina donora; 2) transferencia de un protón desde el catión radical de la amina hacia el átomo de nitrógeno u oxígeno del compuesto estudiado, generando de esta manera un radical hidrogenado y por último, para el caso de los derivados de 3-metil quinoxalin-2-onas y 3-esteril quinoxalin-2-ona se reportó la formación de un fotoproducto de anulación con los radicales descarboxilados de la NPG y un fotoproducto de adición con el radical descarboxilado de la NAT en una reacción radicalaria en cadena^{50,51} y para el

caso de las oxoisoaporfinas ocurre una segunda transferencia de electrón desde la amina donora, lo cual origina un fotoproducto metaestable, el cual revierte a la oxoisoaporfina original en la oscuridad o bajo la admisión de O₂.^{48,49}



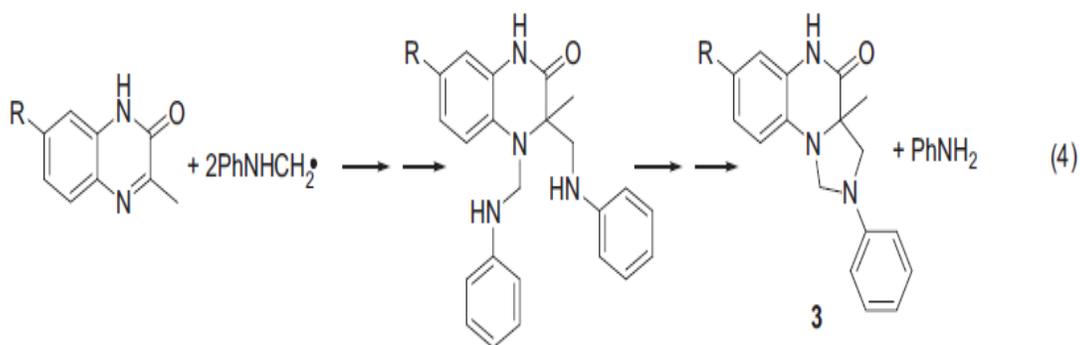


Figura 8: Mecanismo de reacción propuesto para la fotorreducción de 3-metilquinoxalinas en presencia de NPG.⁵¹

Esta secuencia de reacciones debiese ocurrir entre los N acetil aminoácidos y las aza y diazafluorenonas permitiendo la caracterización espectroscópica y cinética de las especies transientes. La N-Fenilglicina, NPG, puede ser utilizada como modelo de aminoácido reductor, su catión radical, $\text{NPG}^{+\bullet}$, absorbe a los 460 nm⁵² y se descarboxila con una velocidad de 10^8 s^{-1} ,⁵³⁻⁵⁵ generando el radical α -aminoalquil PhNHCH_2^\bullet el cual es identificable espectroscópicamente debido a su absorción en 300-320 nm,^{50,51} además esta rápida descarboxilación evitaría la retrotransferencia de electrón una vez generado el anión radical de la azafluorenona, $\text{AF}^{\bullet-}$, esto permitiría otras rutas de reacción para este radical. Esta misma situación se esperaría con N-Acetilriptófano, NAT, este N-acetil aminoácido ha sido utilizado en estudios anteriores, en donde es posible observar un comportamiento similar a lo visto en fotorreacciones con NPG, una vez generado el catión radical de la NAT, NAT este se descarboxila y forma productos de adición con la molécula en estudio, además del dímero del catión radical de la NAT.⁵⁰

El uso de estos N-acetil aminoácidos, NPG y NAT (Figura 9), como fotorreductores se debe a que este conjunto de moléculas son el mejor modelo de residuos de aminoácidos en proteínas, ya que el uso de los aminoácidos o sus esteres derivados está excluido debido a la reacción que ocurre entre el α -NH del aminoácido y las azafluorenonas que generan bases de Schiff.^{14,22,56,57}

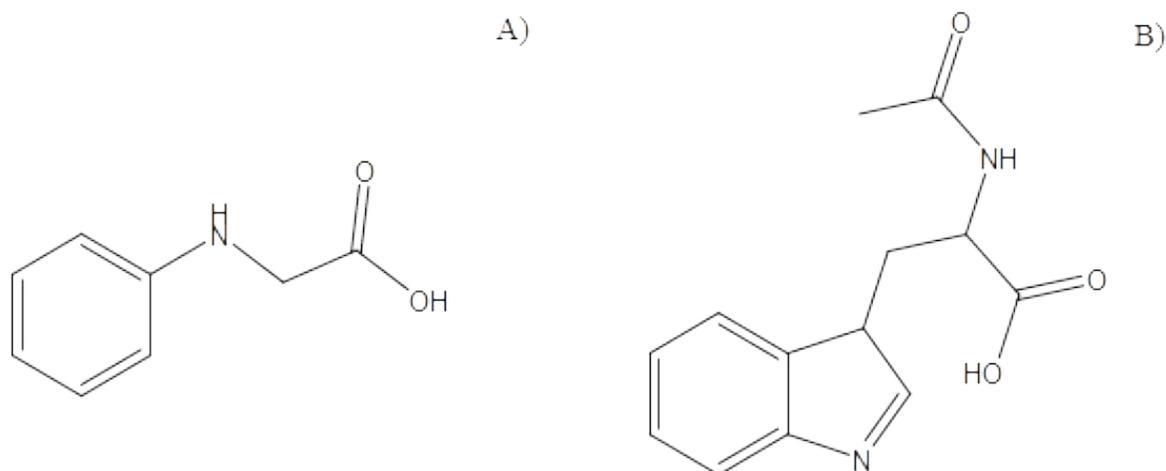


Figura 9: N-acetil aminoácidos utilizados como fotorreductores: A) N-fenilglicina y B) N-acetiltryptofano.

Las propiedades de las enzimas inhibidoras de varios de los derivados de aza y diazafluorenas muestran que la interacción con residuos de aminoácidos que son potencialmente reductores en proteínas puede tener interés desde el punto de vista de la química medicinal.⁵⁸⁻⁶² Sin embargo, no hay literatura respecto de la química de los radicales de estos compuestos. Por tanto, el siguiente trabajo experimental tendrá como finalidad caracterizar e identificar cinética y espectroscópicamente las especies transientes generadas durante la fotorreacción entre aza y diazafluorenas y N acetil aminoácidos como NPG y NAT. Para ello se compararán los espectros de absorción transiente obtenidos mediante la técnica de laser flash fotolisis, esta comparación será entre espectros realizados en presencia de aminas cuyas propiedades químicas permitan generar una especie transiente en específico, como son los aniones radicales y los radicales hidrogenados de las azafluorenas, y los espectros resultantes de la fotorreacción entre los N-Acetil-aminoácidos y los compuestos heterocíclicos a estudiar.

Para identificar y caracterizar los aniones radicales es muy común utilizar una amina no donora de hidrógeno alfa como 1,4-Diazabicyclo[2,2,2]octano, más conocido como DABCO (Figura 10), la cual permite obtener los aniones radicales respectivos debido a la

transferencia de electrón desde DABCO hacia el estado triplete de la molécula en estudio. El par ion radical obtenido revierte a los sustratos vía retrotransferencia de electrón. Otra opción muy viable es la utilización de Trifenilamina, TPA, la cual no presenta H- α , por tanto, la fotorreacción solo conducirá a la formación del anión radical y el catión radical respectivos (par ion radical). Además, hay reportes que señalan que el catión radical de la TPA, TPA absorbe en los 650 nm,⁶³ por tanto, si las distribuciones espectrales están lo suficiente separadas es posible identificar el par ion radical generado por la transferencia de electrón entre TPA y el triplete excitado.

Para la identificación del radical hidrogenado se utiliza una amina donora de H- α como es la Trietilamina, TEA, el catión radical de la trietilamina presenta carácter ácido ($pK_a = 5,7$),⁶⁴ por tanto una vez generado el par ion radical debido a la transferencia de electrón desde la amina hacia un triplete excitado, será posible la protonación del anión radical permitiendo la obtención de un radical hidrogenado. Este protón puede localizarse tanto en el átomo de nitrógeno de la azafluorenona, como se reportó para el caso de la quinoxalinonas^{50,51} o en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la azafluorenona, formando un radical cetilo.^{46,47}

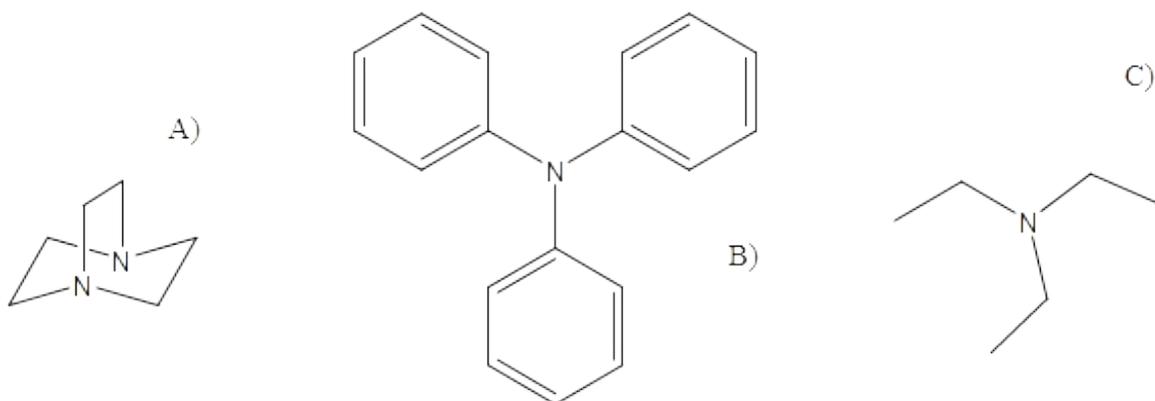


Figura 10: Aminas utilizadas para generar los aniones radicales y radicales hidrogenados de las aza y diazafluorenonas: A) 1,4-diazabicyclo [2,2,2] octano (DABCO); B) Trifenilamina (TPA) y C) Trietilamina (TEA).

2. Hipótesis

Debido a la similitud estructural de las aza y diazafluorenonas con compuestos imino ceto conjugados como las quinoxalin-2-onas y las oxoisoaporfinas, los cuales fotorreducían en presencia de aminas y N-acetil aminoácidos siguiendo un mecanismo de transferencia de electrón-protón-electrón, en donde se genera un par ion radical, seguido se forma un radical hidrogenado y por último, puede ocurrir una segunda transferencia de electrón o también la adición de algún radical generado durante la fotorreducción, formado de esta manera un fotoproducto estable. Por tanto, se espera que los compuestos a estudiar sigan un mecanismo de fotorreducción similar a lo visto para las quinoxalin-2-onas y las oxoisoaporfinas, lo cual posibilitaría la caracterización de los transientes.

2.2 Objetivo general

Caracterizar e identificar cinética y espectroscópicamente las especies transientes generadas en la fotorreducción de compuestos heterocíclicos denominados aza (4-Azafluorenona) y diazafluorenonas (1,8-Diazafluorenona, 4,5-Diazafluorenona y 1,4-Benzodiazfluorenona) con aminas y N-acetil triptófano y N-fenilglicina usando la técnica de laser flash fotolisis.

2.3 Objetivos específicos

1. Identificar los tripletes excitados.
2. Identificar los aniones radicales de estas especies en presencia de 1,4-biazabicyclo [2,2,2] octano, TPA y trietilamina.
3. Identificar los intermediarios transientes en presencia de NPG y NAT.

3. Materiales y Métodos

3.1 Reactivos

Acetonitrilo (Merck) grado HPLC y se utilizó tal como fue recibido. La 4,5-azafluorenona y la 1,4-benzodiazfluorenona (Aldrich) fueron recristalizadas en metanol antes de su uso, la 1,8-diazfluorenona y la 4-azafluorenona (Sigma-Aldrich y Aldrich respectivamente) fueron usadas tal como se recibieron.

La N-Fenilglicina (Aldrich, 97%) se recristalizo dos veces en agua antes de su uso, N-Acetil triptófano (Sigma-Aldrich, > 99%), Trifenilamina (Sigma-Aldrich, 98%), Trietilamina (Sigma-Aldrich, >99,5%) y 1,4-Diazabicyclo [2,2,2]octano (Aldrich, 98%) fueron usados tal como se recibieron. En todos los experimentos se usaron soluciones frescas preparadas justo antes de usar.

3.2 Fotolisis Estacionaria

Las fotolisis estacionarias se realizaron en un espectrofotómetro de arreglo de diodos UV-visible 8453 Agilent que permite seguir la evolución espectral durante la fotolisis. Para ello se irradiaron soluciones de las azafluorenonas en presencia de NPG y NAT usando acetonitrilo como solvente y se procuró que en toda las fotolisis hubiese un exceso de la amina y que la absorbancia de los sustratos estuviese en un rango de absorbancia entre 0,7-1.

Para la irradiación se usó un LED de diodo de 365 nm M365LP1 con una fuente de poder DC4100 y controlador LED de cuatro canales DC4014 de Thorlabs.

3.3 Rendimientos cuánticos de fotoconsumo

Los rendimientos cuánticos de fotoconsumo de los sustratos en presencia de NPG y NAT fueron medidos usando Aberchrome 540 como actinómetro, utilizando el mismo equipo descrito anteriormente.

Para ello se irradiaron soluciones del sustrato en presencia de amina con distintas relaciones molares entre ambos compuestos [Azafluorenona/Amina] procurando que la absorbancia de las azafluorenonas estuviese entre 0.2-0.5 en las longitudes de onda monitoreadas y para cuantificar el valor del rendimiento cuántico de fotoconsumo se utilizó la siguiente expresión (Ec 4).

$$\Phi_{pc} = \frac{\left| \frac{dA}{dt} \right| / \epsilon_{365}}{I_o (1 - 10^{-|A_{365}|})} \quad (4)$$

Donde dA/dt es la velocidad inicial de consumo de los sustratos; ϵ_{365} es el coeficiente de absortividad molar en 365 nm y I_o es el flujo de fotones (Einstein s^{-1}), el cual depende de la potencia del LED utilizado para irradiar los sustratos, este parámetro fue previamente calibrado usando Aberchrome 540 en las mismas condiciones antes expuestas.

3.4 Caracterización de los transientes

3.4.1 Laser flash fotolisis

El equipo de laser flash fotolisis esta provisto de un Q-Switched Nd: YAG láser con el generador del segundo y tercer armónico emitiendo a 355 nm y la potencia del láser fue atenuada a aproximadamente 15mJ/pulso usando láminas de vidrio. Las señales producidas son capturadas por un fotomultiplicador Hamamatsu 928 en un osciloscopio Lecroy WaveSurfer de 600 MHz. El software escrito en lenguaje gráfico de National Instrument LabViews 8.0 controla el láser, el monocromador y los shutters. Los datos obtenidos se introducen en un programa, escrito en Igor Pro 6.3, para realizar su posterior tratamiento.

Se prepararon soluciones de 3ml de los sustratos en una celda de cuarzo, con una absorbancia de 0.3-0.5 a la longitud de onda de excitación del láser (355nm) y fueron purgadas durante 20 minutos con Argón para eliminar el oxígeno del medio. Luego, se agrega una alícuota de la amina pura o de una solución de esta a través de un septa usando una jeringa Hamilton para la obtención y caracterización de los espectros de absorción de

los transientes y para la realización de los experimentos de apagamiento de los estados excitados.

Alternativamente se utilizó una celda de flujo, provista de una bomba peristáltica, que permite renovar continuamente la muestra en la celda y posibilita la obtención de los espectros de absorción transiente en presencia de los aminoácidos, NPG y NAT y la caracterización cinética de los aniones radicales con TPA.

Los espectros de absorción de las especies transientes se obtuvieron barriendo desde los 300 nm hasta los 700 nm (límite instrumental), tomando la densidad óptica (ΔOD) a un tiempo determinado después del pulso de excitación y graficando ΔOD vs λ . De este modo se puede seguir el curso de la reacción en el orden de los microsegundos.

3.5 Desactivación de los estados excitados

El tiempo de vida de los transientes, τ , se midió a distintas concentraciones de apagador, a una longitud de onda predeterminada y de la pendiente de las gráficas $1/\tau$ vs [Apagador] se obtuvo la constante de apagamiento bimolecular (k_q).

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} + k_q [Q] \quad (1)$$

Donde $1/\tau^0$ es la constante de la velocidad de decaimiento del triplete en ausencia de apagador; $1/\tau$ es el inverso del tiempo de vida del triplete en presencia de diferentes concentraciones de apagador [Q], y k_q es la constante cinética bimolecular de desactivación o apagamiento.

4. Resultados y Discusión

4.1 Fotólisis estacionaria

La Azafluorenona (4-Aza) y las Diazafluorenonas (1,8-DAF, 4,5-DAF y 1,4-BenzoDAF) estudiadas son fotoestables en soluciones aireadas con oxígeno molecular, sin embargo, en soluciones saturadas con argón y en presencia de aminas como la NPG y NAT ocurre una rápida fotorreacción con cambios espectrales significativos. En gran parte de los casos se observan puntos isobéuticos durante las fotólisis estacionarias que sugerirían la formación de un solo fotoproducto o una mezcla en una relación molar constante.

La ausencia de fotoconsumo en soluciones saturadas con oxígeno sugiere la posibilidad de que las fotorreacciones ocurran desde el estado triplete excitado de las azafluorenonas.

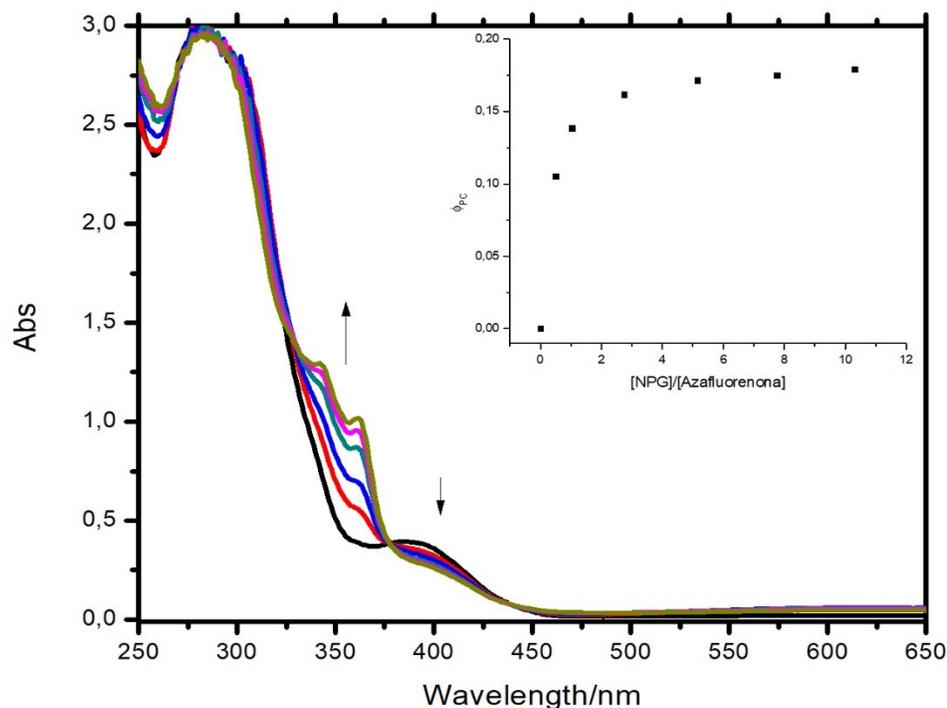


Figura 11: Fotólisis de 1,4-BenzoDAF 0.12 mM en presencia de NPG 0,34mM realizada durante 60 minutos. El inserto muestra el efecto de la concentración de [NPG] en el rendimiento cuántico de fotoconsumo.

En la mayoría de fotólisis estudiadas en presencia de NPG y NAT, solo es posible observar un consumo de la Aza o Diazafluorenona estudiada, sin embargo, hay casos como el de la 1,4-BenzoDAF en presencia de NPG (Figura 11), en donde aparece una banda de absorción entre los 350 nm y 370 nm, un consumo en el máximo de 390 nm y un punto isobéptico en los 380 nm. Esta situación es similar a la ocurrido entre 4,5-DAF y NPG (Figura 12), en donde existe un consumo casi total de la banda en 340 nm, la aparición de una pequeña banda en 450 nm y un punto isobéptico en 400 nm. En ambos casos posiblemente exista la formación de un fotoproducto estable generado durante la fotorreducción.

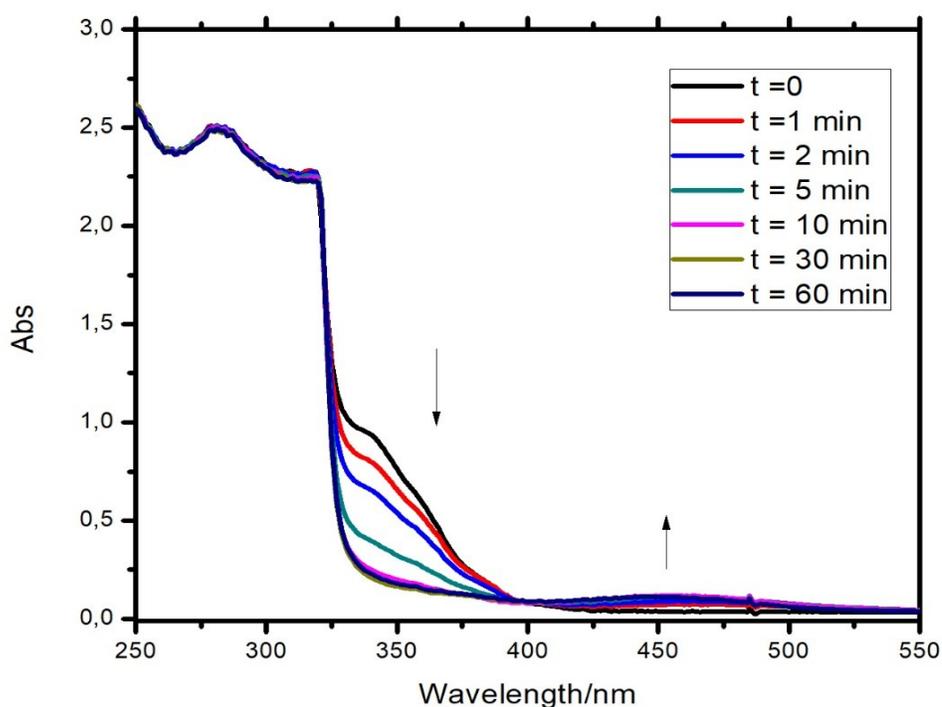


Figura 12: Fotólisis de 4,5-DAF 0,71 mM en presencia de NPG 2,3 mM realizada durante 60 minutos.

Los rendimientos cuánticos de fotoconsumo fueron obtenidos determinando las velocidades iniciales de fotoconsumo, usando Aberchrome 540 como actinómetro.⁶⁵ Los valores obtenidos se resumen en la tabla 1,

Tabla 1: Rendimientos cuánticos de fotoconsumo, Φ_{pc} .

	NPG	NAT
1,8-DAF	-	0,13
4,5-DAF	0,5	1
4-AF	> 1	>1
1,4-BenzoDAF	0.18	0,04

En el caso de la fotólisis entre 1,8-DAF y NPG, apenas comenzada la medición, aparece una banda de absorción en los 430 nm, la cual interfiere en la obtención de las velocidades iniciales del consumo de 1,8-DAF en los 381 nm (máximo en donde se monitoreo la fotólisis), por tanto, no fue posible obtener el rendimiento cuántico de fotoconsumo.

Para los demás casos, se observó una fuerte dependencia del fotoconsumo inicial con la concentración de NPG y NAT como se ve en el inserto de la figura 9, hasta llegar a un plateau cuando la relación molar entre DAF/ amina es mayor o igual a 10. Los valores de rendimiento cuántico de fotoconsumo obtenidos y los cambios espectrales observados durante las fotólisis estacionarias darían cuenta de una posible reacción entre las DAF y algún radical generado de los N-acetil aminoácidos. Los posibles intermediarios de estas fotorreacciones se caracterizarán mediante laser flash fotólisis, sin embargo, los valores de rendimiento cuántico de fotoconsumo mayores a 1, para las fotorreacciones de 4-AF y los N-acetil aminoácido, pueden ser explicados mediante una reacción radicalaria en cadena, como se ha reportado en estudios anteriores y con estructuras químicas similares, en donde, los radicales generados de la NPG y NAT reaccionan con el sustrato en el estado basal.²⁴

4.2 Espectros de absorción transiente

4.2.1 Absorción triplete-triplete

Los espectros de absorción triplete-triplete determinados en acetonitrilo como solvente decaen con cinética de primer orden y con tiempos de vida de 10 a 15 μs , estos tiempos de vida disminuyen considerablemente al admitir oxígeno molecular al sistema. Además, existe transferencia de energía entre los tripletes de las DAF y β -caroteno, esto se refleja en la generación de la banda en los 520 nm característica del triplete excitado del β -caroteno, lo cual implicaría la transferencia de energía entre las especies antes mencionadas.

Estos resultados permiten asignar inequívocamente los espectros de absorción triplete-triplete observados en la Figura 13, $^3\text{DAF}^*$.

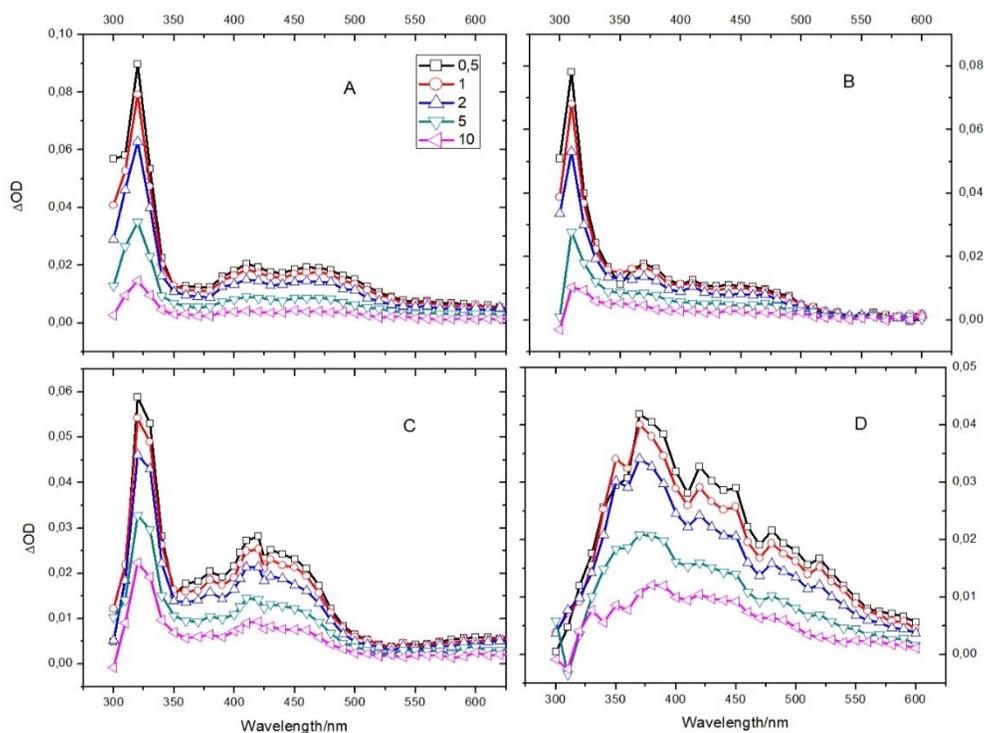


Figura 13: Espectros de absorción transiente para 4,5-Diazafluorenona, 1A; 1,8-Diazafluorenona, 1B; 4-Azafluorenona, 1C y 1,4-Benzodiazfluorenona, 1D.

4.2.2 Desactivación de los estados tripletes excitados

Tabla 2: Constantes de apagamiento de $^3\text{DAF}^*$ por diversas aminas en acetonitrilo

$K_{\text{ET}}/10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	NPG	NAT	TPA	DABCO	TEA
1,8-DAF	$6,57 \pm 0,21$	$7,05 \pm 0,22$	$16,0 \pm 0,98$	$8,14 \pm 0,31$	$6,28 \pm 0,21$
4,5-DAF	$1,28 \pm 0,04$	$3,25 \pm 0,09$	$14,0 \pm 0,82$	$4,57 \pm 0,16$	$3,07 \pm 0,22$
4-AF	$2,28 \pm 0,06$	$1,87 \pm 0,08$	$5,89 \pm 0,17$	$3,93 \pm 0,12$	$1,28 \pm 0,02$
1,4-BenzoDAF	$4,26 \pm 0,34$	$5,03 \pm 0,19$	$1,49 \pm 0,61$	$6,37 \pm 0,26$	$6,09 \pm 0,23$

Para todas las azafluorenonas estudiadas se observó un comportamiento del tipo Stern-Volmer en donde los tiempos de vida de los tripletes excitados disminuyen a medida que aumenta la concentración de amina.

Estas constantes pueden ser atribuidas a la transferencia de electrón fotoinducida desde la amina hacia el estado triplete de azafluorenona, $^3\text{DAF}^*$, aunque no se puede descartar el apagamiento del estado excitado por una transferencia de hidrogeno desde las aminas donoras de H- α como TEA, NPG y NAT. Estos valores son próximos al límite difusional.

No se observa dependencia entre el valor de la constante de apagamiento y el potencial redox de las aminas (0.84, 0.89 y 1,23 V vs electrodo normal de hidrógeno para DABCO⁷⁴, NPG,⁵² y NAT⁶⁹) y la 1,8-DAF presenta los valores más altos de constante de apagamiento lo cual tendría relación con su capacidad oxidante.

4.2.3 Generación de los aniones radicales con DABCO y TPA

Para la generación de los aniones radicales se utilizaron aminas no donoras de H- α como son DABCO y Trifenilamina (TPA).

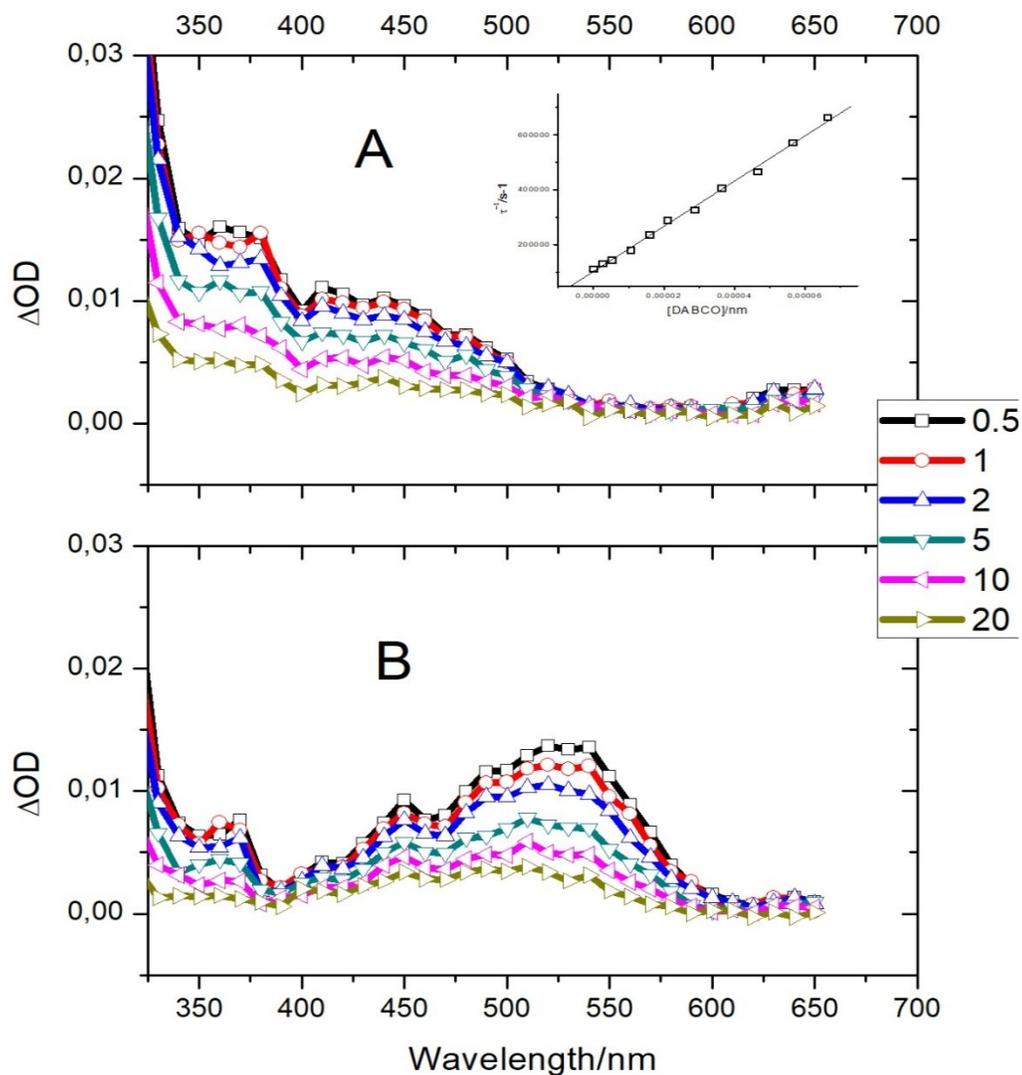


Figura 14: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1,8-DAF en ausencia de amina. Inserto gráfico de Stern-Volmer para el apagamiento de la 1,8-DAF en presencia de DABCO. Panel B) Espectro de absorción transiente de la 1,8-DAF en presencia de DABCO 1.28mM

Como se observa en la figura 14, en presencia de una concentración 1,28 mM de DABCO ocurre un cambio espectral considerable en los 550 nm, este fenómeno ocurre con todas la azafluorenonas estudiadas, lo cual indicaría que la banda de absorción observada a dicha longitud de onda, puede ser asignada a la generación del anión radical de la azafluorenona, DAF^{•-} debido a la transferencia fotoinducida de un electrón desde DABCO hacia el estado triplete excitado de la azafluorenona (Ec 5) y decae de forma monoexponencial con tiempo de vida de 10 μs, además es posible observar una pequeño hombro a una longitud de onda de 450 nm, cuya absorción corresponde a la formación del catión radical de DABCO, DABCO^{•+}.⁶⁶



Un comportamiento similar se observa en la fotorreacción de las azafluorenonas con TPA, en donde se genera una banda de absorción en los 550 nm y otra en los 650 nm. En el caso de 4-AF y TPA visto en la figura 15, la banda de absorción en 550 nm se atribuye a la formación del anión radical 4-AF^{•-} y la banda de absorción a una longitud de onda de 650 nm corresponde al catión radical de la Trifenilamina, TPA^{•+},⁶⁷ el aumento de la absorción en la banda entre los 320 y 350 nm, puede deberse a la dimerización del catión radical de la TPA o a la reacción entre TPA^{•+} y TPA en estado basal,⁴² por tanto, los resultados espectrales de esta fotorreacción permiten estudiar el par ion radical generado por la transferencia de electrón entre la amina y la azafluorenona.

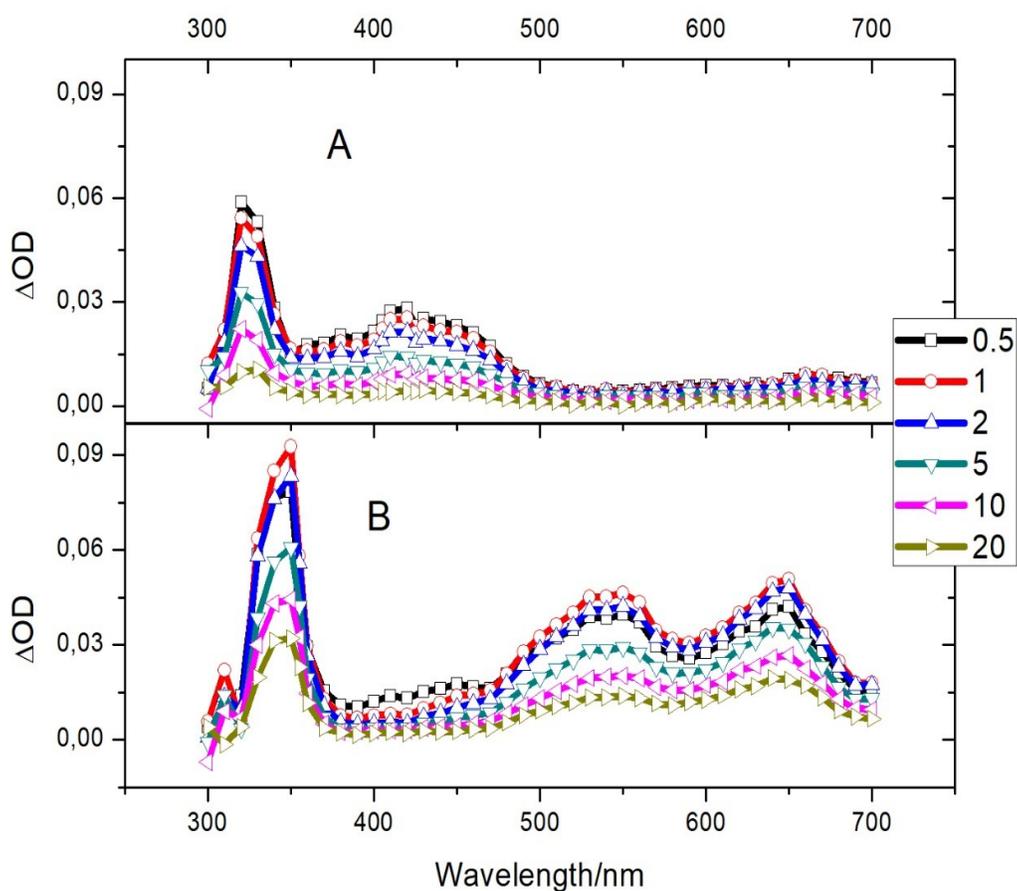


Figura 15: Panel A) Contiene el espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 4-AF en ausencia de TPA Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de TPA 0,4mM.

Como es posible observar las bandas de absorción atribuibles al anión radical de la azafluorenona (550 nm) y el catión radical de la TPA (650 nm), se pueden estimar las constantes de formación de ambas especies transientes a distintas concentraciones de TPA, En la figura 16 es posible observar la dependencia de las trazas cinéticas de formación del anión radical de la 4,5-DAF en 550 nm con la concentración de TPA, a partir de estas trazas cinéticas es posible obtener los tiempos de vida de formación del transiente haciendo un ajuste monoexponencial y mediante un gráfico del inverso del tiempo de vida vs la concentración de TPA, es posible obtener las constantes de formación, las cuales se resumen en la tabla 3.

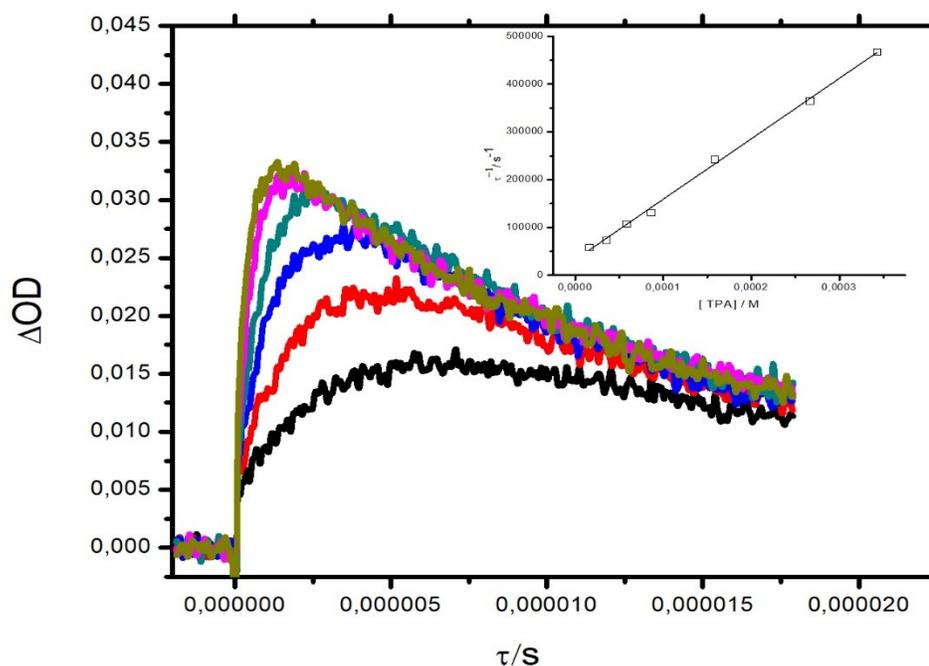


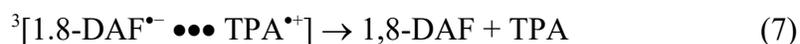
Figura 16: Trazas cinéticas de formación del anión radical de 4,5-DAF en función de la concentración de TPA. Inserto gráfico del inverso del tiempo de vida vs concentración de TPA.

Tabla 3: Constantes de formación de las especies observadas en 550 nm y 650 nm a distintas concentraciones de TPA.

$K/10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	Banda en 550 nm	Banda en 650 nm
1,8-DAF	1.8 ± 0.06	1.57 ± 0.06
4,5-DAF	1.26 ± 0.03	1.17 ± 0.03
4-AF	1.37 ± 0.04	1.37 ± 0.06
1,4-BenzoDAF	-	2.34 ± 0.07

En el caso de la 1,8-DAF, los valores obtenidos para las constantes de formación a longitudes de onda de 550 nm y 650 nm, coinciden con la constante de apagamiento, esto indicaría que la primera etapa de la fotorreacción corresponde a una transferencia de electrón fotoinducida entre el estado triplete de la 1,8-DAF y la TPA (Ec 6).

Las especies generadas en 550 nm y 650 nm, anión radical de la azafluorenona y el catión radical de la TPA respectivamente, decaen de forma monoexponencial y con tiempos de vida similares que van disminuyendo a medida que aumenta la concentración de amina, lo cual implicaría que el par ion radical generado está en contacto y decae dentro de la caja del solvente. (Ec 7)



Este comportamiento también se observa en el caso de la 4,5-DAF y la 4-AF, en donde ambas especies decaen en paralelo y de manera monoexponencial dando cuenta de un par ion radical en contacto y que decae en la caja del solvente. Esta situación observada para las tres DAF estudiadas puede atribuirse a la capacidad de ciertas aminas aromáticas a formar exciplejos,⁷¹⁻⁷³ lo cual posibilitaría la interacción entre el par ion radical y su consecuente decaimiento en paralelo.

Para la 1.4-BenzoDAF no fue posible estimar la constante de formación en 550 nm debido a la superposición espectral de más una especie transiente.

4.2.4 Reacción con TEA

Se realizó el estudio de la fotorreacción de estas azafluorenonas con TEA, esta última es una amina donora de H- α , por tanto, sería posible observar el anión radical y el radical hidrogenado de la azafluorenona.

Los espectros de absorción de los transientes obtenidos a distintas concentraciones de amina para la 1,4-BenzoDAF se muestran en la figura 17. En el panel A se puede observar el triplete excitado de la diazafluorenona respectiva, mientras que en los paneles siguientes es posible distinguir un comportamiento similar a lo observado en presencia de DABCO y TPA, en donde a una longitud de onda de 550 nm aproximadamente, absorbe el anión radical de la 1,4-BenzoDAF, 1,4-BenzoDAF $^{\bullet-}$, pero además es posible asignar una segunda banda en 420 nm que podría atribuirse a la formación del radical hidrogenado de la diazafluorenona, DAFH \bullet generado posiblemente por la desprotonación del catión radical de la TEA, esta especie transiente presenta carácter ácido ($pK_a = 5,7$),⁶⁴ lo cual permitiría la transferencia de protón desde el catión radical de la TEA, TEA $^{\bullet+}$ hacia el anión radical de la diazafluorenona, DAF $^{\bullet-}$.

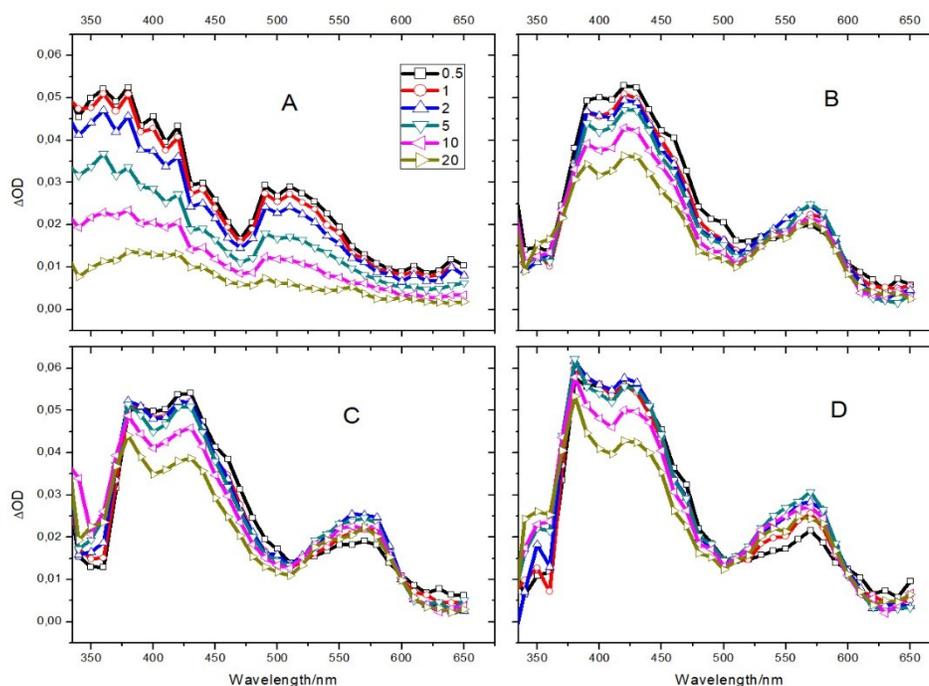


Figura 17: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1,4-BenzoDAF en ausencia de TEA. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 0,4mM Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 0,99mM y Panel D) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 2.10mM.

Un comportamiento similar se observa con las otras azafluorenonas estudiadas, en la región de 550-580 nm se observa la absorción del anión radical de la respectiva azafluorenona, $\text{DAF}^{\bullet-}$ originada por la transferencia fotoinducida de un electrón y alrededor de los 420 nm es posible ver otro cambio espectral que puede ser atribuido a la generación del radical hidrogenado, $\text{DAFH}\bullet$, originado por la transferencia de un protón un H- α del catión radical de la TEA, $\text{TEA}^{\bullet+}$ hacia el anión radical de la azafluorenona (Ec 8).



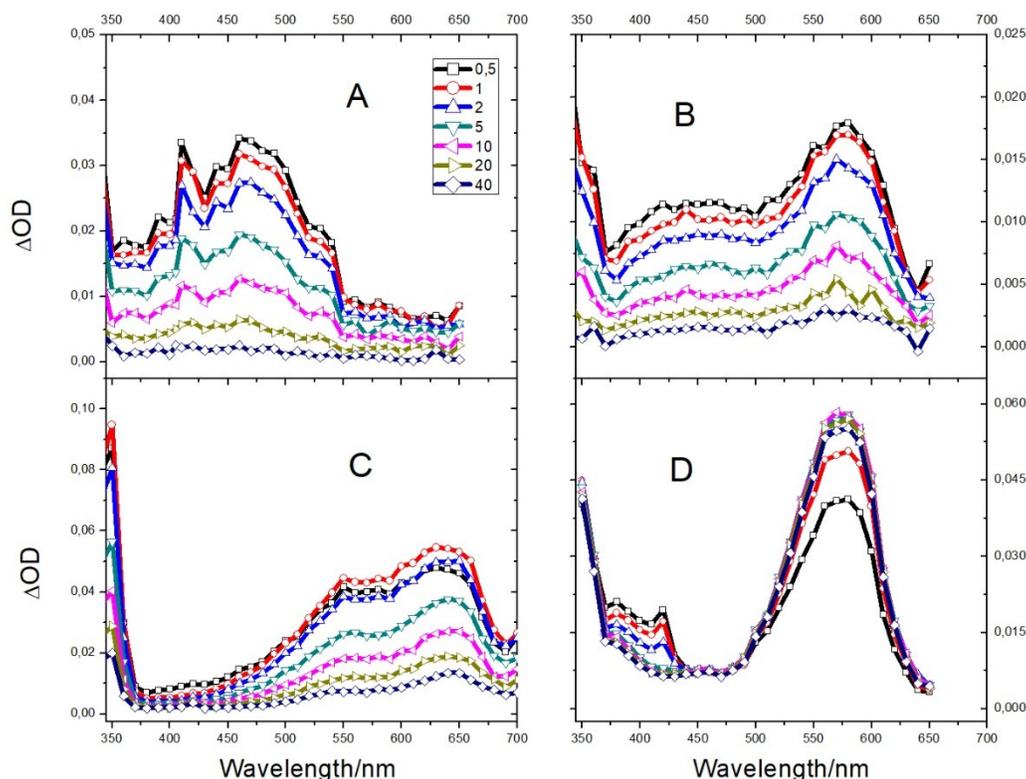


Figura 18: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 4,5-DAF en ausencia de amina. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de DABCO 0.75 mM Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de TPA 0.38 mM y Panel D) Espectro de absorción transiente en presencia de TEA 2.32 mM.

A modo de resumen, en la figura 18, es posible observar los cambios espectrales generados al agregar aminas como DABCO, TPA y TEA, a partir de estos resultados es posible concluir que el anión radical $\text{DAF}^{\bullet-}$ absorbe en la zona de 550-580 nm, especie generada por la transferencia de electrón desde las aminas al triplete excitado y es posible asignar el radical hidrogenado en los 420 nm debido a la transferencia de un protón del catión radical de la TEA, $\text{TEA}^{\bullet+}$ hacia el anión radical $\text{DAF}^{\bullet-}$, estas conclusiones son importantes, pues permitirán entender mejor los espectros de absorción transiente obtenidos en presencia de los N-acetil aminoácidos y realizar las asignaciones correspondientes.

4.2.5 Reacción con N-Fenilglicina, NPG.

La reacción entre la 1.8-DAF y NPG es el caso en donde se pueden observar todas especies transientes esperadas, el triplete excitado (Panel A), el anión radical de la azafluorenona (520 nm) y el radical hidrogenado de la azafluorenona (420 nm) como se observa en la figura 19.

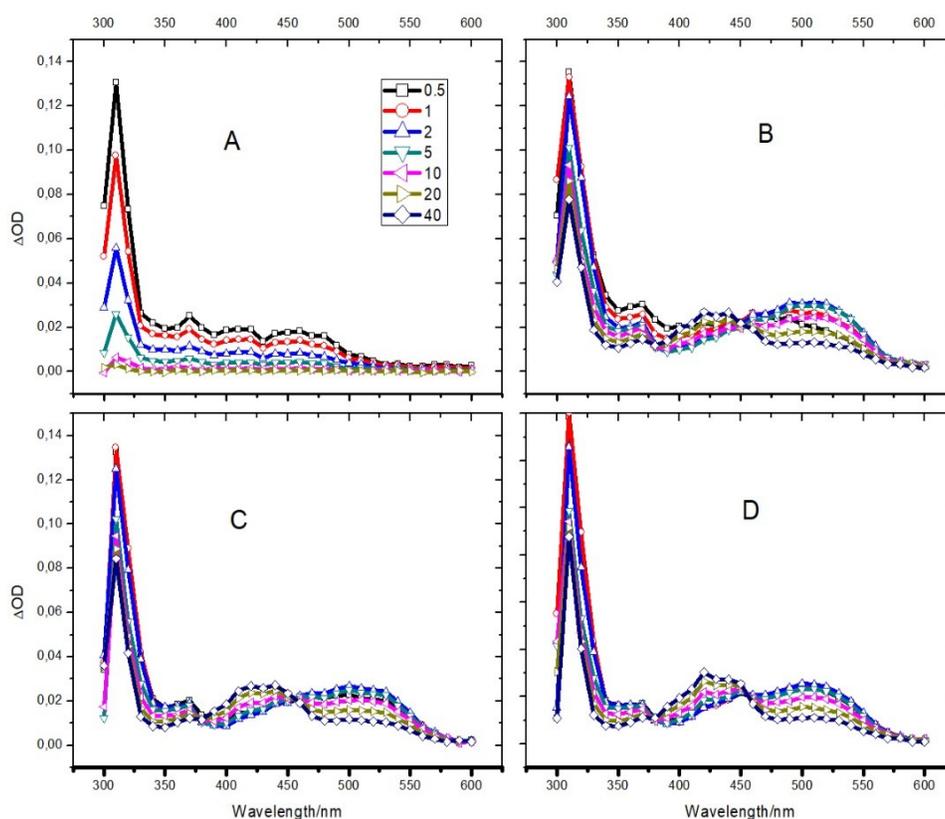


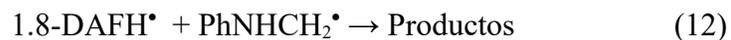
Figura 19: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1.8-DAF en ausencia de NPG. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.15 mM Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.49 mM y Panel D) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.85 mM

En la figura 19 se pueden distinguir cambios espectrales similares a lo visto con TEA, sin embargo, en este caso particular se puede establecer que al inicio de la reacción se genera una especie que absorbe alrededor de los 520 nm y a medida que avanza la fotorreacción se observa una segunda especie (40 μ s después del disparo del láser) que absorbe en los 420 nm, mientras que la especie que absorbe en los 520 nm se va consumiendo, esto se confirma al analizar los tiempos de vida de formación de la especie en 420 nm y los tiempos de decaimiento de la banda en 520 nm, los cuales coinciden y son del orden de los 40 μ s.

La especie observada en 520 nm se forma con una constante de velocidad igual a $7 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, este valor coincide con lo obtenido para la desactivación del estado triplete, lo cual indicaría que esa especie excitada observada a dicha longitud de onda puede ser atribuida a la formación del anión radical de la azafluorenona 1.8-DAF $^{\bullet-}$ (Ec 9), además posiblemente exista contribución de otra especie transiente de la NPG generada en la fotorreducción, como es el catión radical de la NPG, el cual absorbe entre los 440 y 480 nm.^{50,52} La absorción de la especie que se observa en los 420 nm, la cual crece a medida que se consume la especie monitoreada en 520 nm, puede ser asignada al radical hidrogenado de la azafluorenona 1.8-DAFH $^{\bullet}$ (Ec 11), el cual se forma con una constante de velocidad igual a $1,35 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

El radical PhNHCH $_2^{\bullet}$, el cual se genera por la descarboxilación del catión radical de la NPG, NPG $^{+\bullet}$ que absorbe en los 320 nm,⁵⁰ no puede ser observado con facilidad en los espectros, debido a la banda de absorción que ya presenta el espectro de triplete excitado en esa zona, sin embargo, a medida que aumenta la concentración de NPG, las trazas cinéticas en los 320 nm exhiben una dependencia con este cambio de concentración, indicando la presencia de una especie distinta al triplete y que posiblemente corresponda al radical PhNHCH $_2^{\bullet}$ (Ec 10), el cual podría reaccionar con el radical hidrogenado de la azafluorenona para generar un fotoproducto estable (Ec 12).





Para la reacción entre la 4,5-DAF y NPG, el único cambio espectral observado ocurre en la región de los 420 nm como se ve en la figura 20, lo cual indicaría la generación del radical hidrogenado cuyo tiempo de vida de formación es de 2 μs y decae monoexponencialmente con tiempos de vida de 70 μs . En la figura 21, se pueden observar las trazas cinéticas a la longitud de onda antes mencionada, la dependencia entre la concentración de NPG y la formación de una especie a dicha longitud de onda, permite asignarla dicha especie al radical hidrogenado de la 4,5-DAF, 4,5-DAFH $^{\bullet}$.

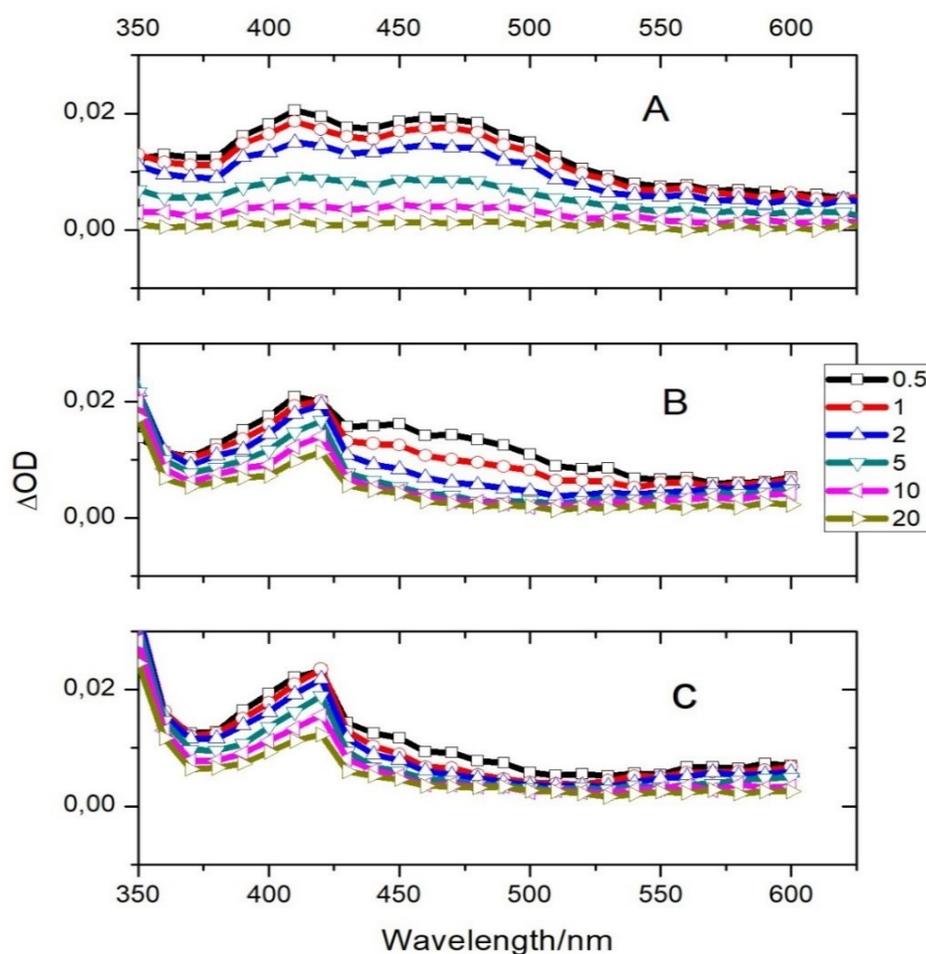


Figura 20: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 4.5-DAF en ausencia de NPG. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.14 mM y Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0.51 mM.

La traza cinética obtenida a 320 nm decae biexponencialmente con tiempos de vida de 6 μ s y 36 μ s, indicando la posible presencia de otra especie transiente distinta al triplete, además a concentraciones altas de NPG se observa una pequeña traza cinética de formación con un tiempo de 1 μ s aproximadamente, asignable a la presencia del radical $\text{PhNHCH}_2\bullet$ en esta zona (Ec 14), el cual posiblemente pueda reaccionar con el radical hidrogenado como se ha visto en otros estudios realizados con este aminoácido.^{50,51,70}

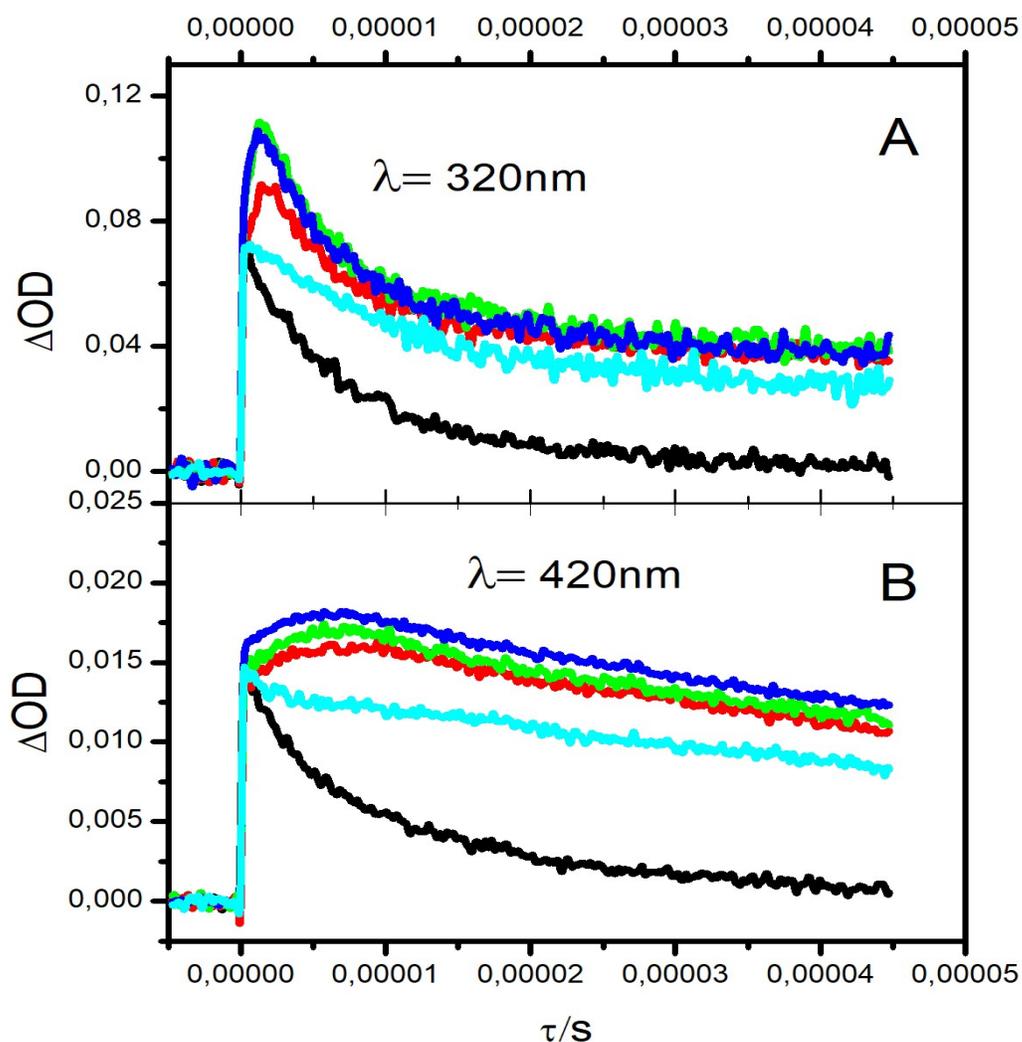


Figura 21: Panel A) y Panel B) Trazas cinéticas de 4.5-DAF a 320 nm y 420 nm en presencia de NPG 0, 0.055, 0.201, 0.365 y 0,625 mM (negro, celeste, rojo, verde y azul respectivamente).

Sin embargo, no es posible observar la banda característica del anión radical (con absorción en los 550 nm aproximadamente), por tanto, posiblemente se genere el radical hidrogenado por una transferencia de hidrogeno directa desde la NPG hacia el estado triplete de la azafluorenona.

Este comportamiento se replica en el caso de la reacción entre NPG y la 1,4-BenzoDAF, figura 20, en donde se observa una banda de absorción entre 350 nm y 500 nm, la cual decae de forma biexponencial con tiempos de vida del orden de los 2 μ s y 50 μ s, señalando la presencia de al menos dos especies transientes que absorben en esta zona, siendo una de estas el radical hidrogenado de la azafluorenona y donde no es posible asignar la banda correspondiente a la generación del anión radical de la 1,4-BenzoDAF.

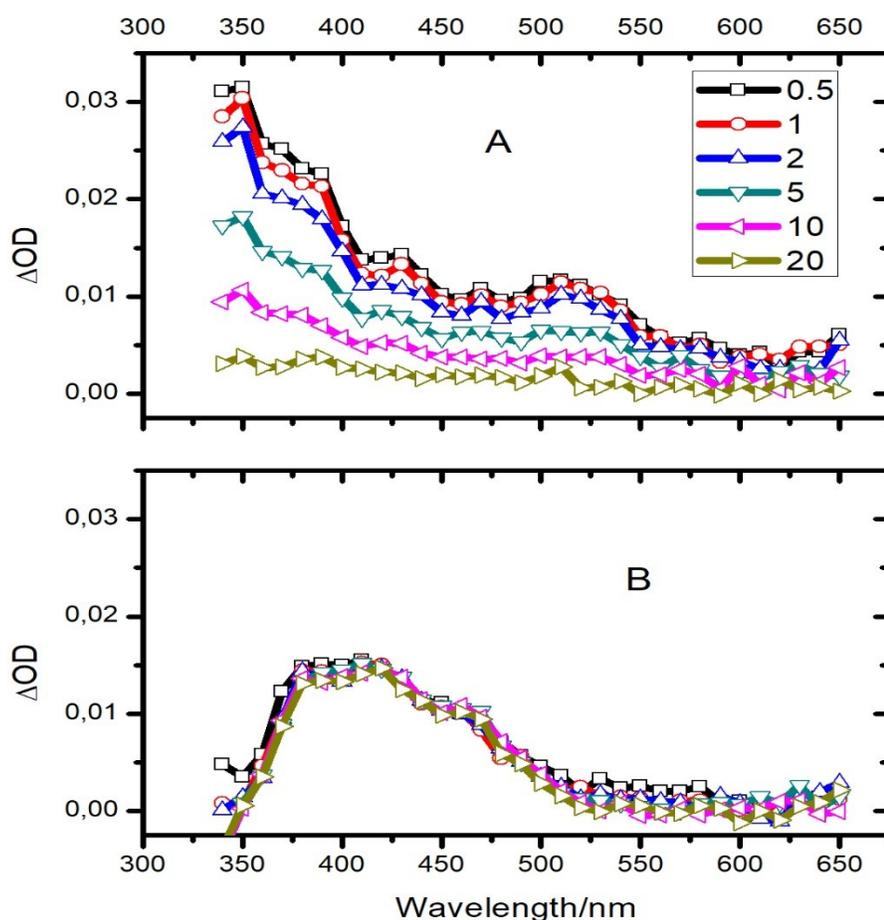
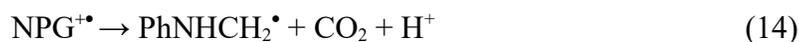


Figura 22: Panel A) Espectro de absorción transiente de 1,4-BenzoDAF en ausencia de amina y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 0,4 mM.

Los resultados obtenidos para estas dos azafluorenonas, que no permiten detectar la banda correspondiente al anión radical de la azafluorenona, podrían explicarse mediante la formación de un par ion radical en contacto o un excíplejo de transferencia de carga con carácter de triplete (Ec 13),⁷⁰ esto se corrobora al analizar los tiempos de vida de los transientes generados en presencia de NPG, los cuales viven mucho más que el triplete (6 μ s en ausencia de amina, 70 μ s en presencia de NPG en el caso de la 4,5-DAF), por tanto, este par ion radical o excíplejo, se protonaría rápidamente generando el radical hidrogenado (Ec 15) que es detectable y observable en los espectros de absorción transiente obtenidos.



Para la reacción entre 4-AF y NPG no se observan cambios espectrales (Figura 23) que puedan ser asignados a la formación del anión radical o del radical hidrogenado de la azafluorenona, pero si es posible ver una pequeña banda en los 360 nm, la cual se forma a tiempos cortos y decae de forma biexponencial con una fuerte dependencia con la concentración de NPG, además se observa un aumento en la absorción en la banda en 320 nm, lo cual indicaría la presencia del radical descarboxilado de la NPG, $\text{PhNHCH}_2^{\bullet}$ tal como se ha explicado en los casos anteriores.

El hecho de no poder detectar los transientes correspondientes al anión radical y el radical hidrogenado puede deberse a una desactivación del estado triplete de la 4-AF por otras vías, como la generación de un excímero de la azafluorenona o a la generación de una especie distinta a las ya mencionadas, la evidencia experimental exhibe la presencia del radical $\text{PhNHCH}_2^{\bullet}$, el cual puede interactuar con la azafluorenona en estado basal o en estado triplete, posibilitando la formación de una nueva especie con absorción en la zona de los 360 nm y que depende de la concentración de NPG.

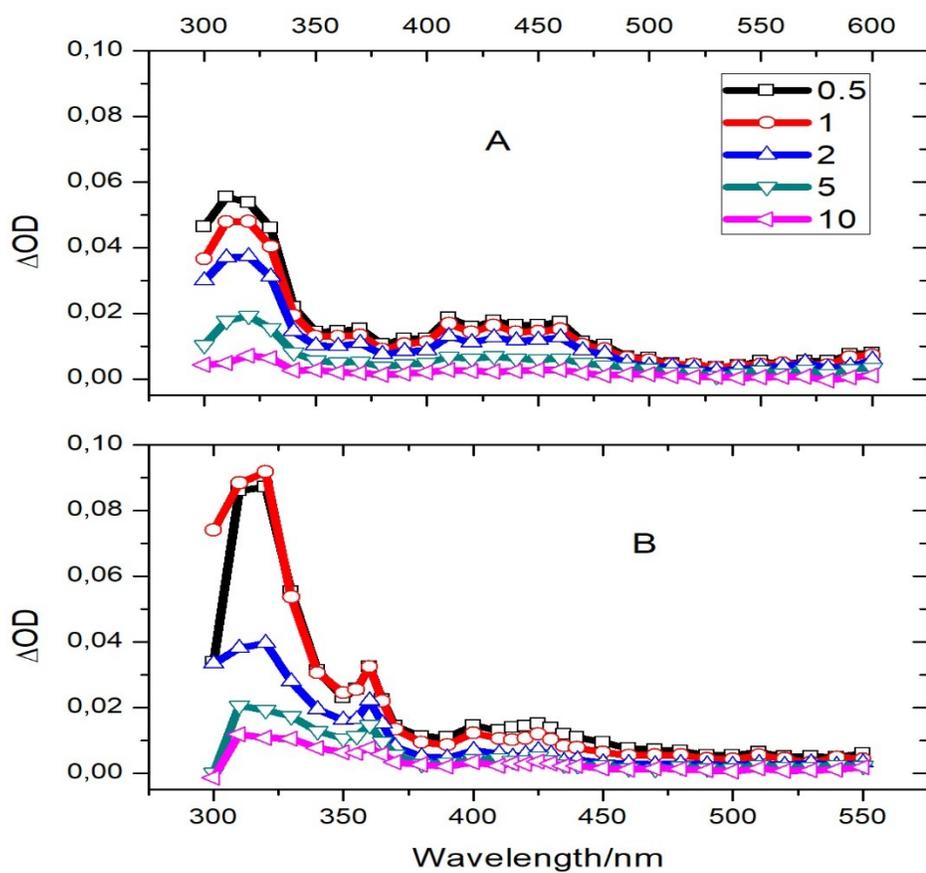


Figura 23: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de 4-AF en ausencia de NPG y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NPG 2 mM.

4.2.6 Reacción con N-Acetiltriptófano, NAT

Para la fotorreacción de la 1.8-DAF con NAT se observa un comportamiento similar al descrito con NPG, los resultados mostrados en la figura 24 permiten concluir que a una longitud de onda de 500 nm se observa una especie generada a tiempos cortos que puede ser asignada al anión radical de la azafluorenona [1.8-DAF]^{-•} (Ec 16), en esa misma región es posible que además absorba el radical desprotonado del NAT, [NAT-H][•], El catión radical de la NAT, NAT^{+•} debiese presentar un pK_a similar al reportado para el triptófano (4.3),⁶⁹ por tanto, es muy probable que ceda un protón que luego interactúe con el anión radical de la azafluorenona [1.8-DAF]^{-•}, la presencia de estas especies se confirma con la traza cinética a 500 nm, la cual decae de forma biexponencial con tiempos de vida del orden de los 40 μs y 7 μs, lo cual indicaría la presencia de al menos dos especies que absorben en esa zona, siendo uno de ellos el ya mencionado anión radical, el cual se forma con una constante de velocidad similar a la constante de apagamiento y la otra especie correspondería al radical desprotonado de la NAT, [NAT-H][•] (Ec 17), el cual absorbe en los 510 nm.⁵⁰

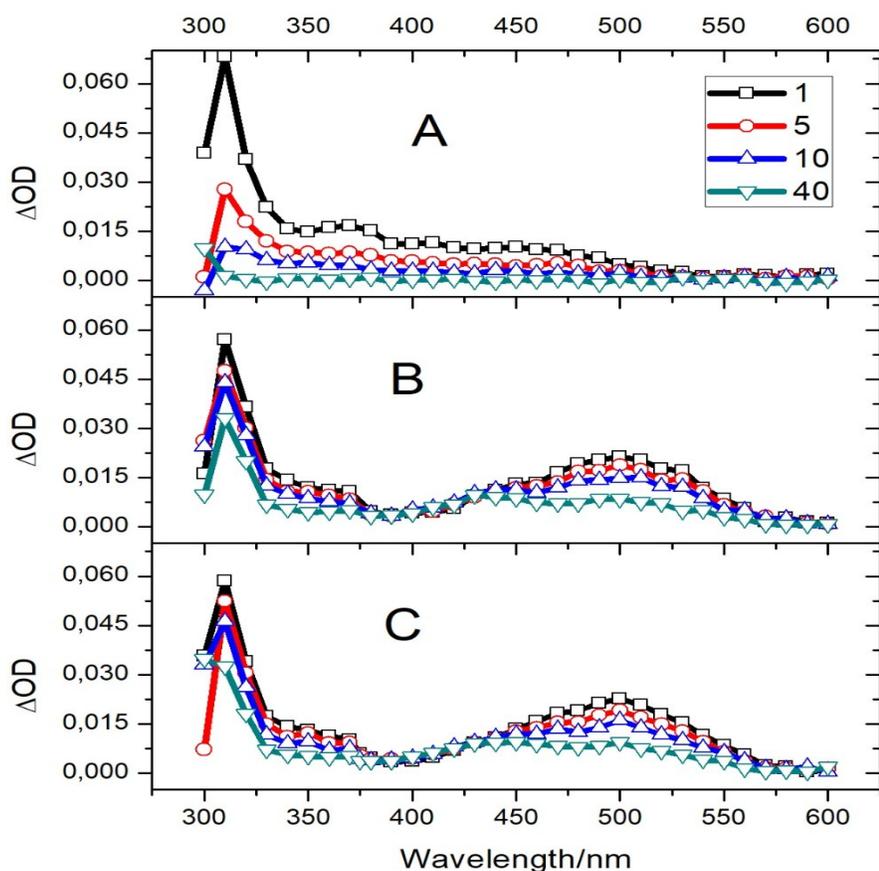
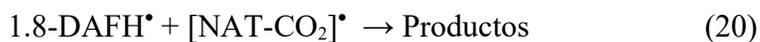


Figura 24: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de la 1,8-DAF en ausencia de NAT. Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 0.44 mM y Panel C) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 1.78 mM.

Entre 420 nm y 450 nm se observa otro cambio espectral a tiempos largos, el cual de acuerdo al análisis de los experimentos realizados con aminas, puede ser atribuido al radical hidrogenado de la azafluorenona 1,8-DAFH[•] (Ec 18), el cual decae de forma monoexponencial con tiempos de vida de 20 μ s y se genera de forma muy rápida con tiempo de vida de 1 μ s, además las trazas cinéticas a esa longitud de onda presentan dependencia con la concentración de NAT, lo cual indicaría que existe interacción entre algún H- α del NAT y el anión radical de la 1,8-DAF.

Por último, en 320 nm es posible observar que a medida que aumenta la concentración de NAT, habría contribución de alguna especie distinta a las ya mencionadas, esta posiblemente corresponda al radical descarboxilado de NAT, $[\text{NAT-CO}_2]^\bullet$ (Ec 19), el cual puede reaccionar con el radical hidrogenado de la 1,8-DAF, 1.8-DAFH $^\bullet$ o con 1,8-DAF en estado basal para formar un fotoproducto estable (Ec 20).



El comportamiento observado corresponde con la reacción entre NAT y 4,5-DAF, en la figura 25 podemos ver que aproximadamente en 500 nm y 420 nm hay bandas de absorción de especies generadas durante la fotorreducción, las cuales corresponderían al anión radical, 4.5-DAF $^{\bullet-}$ (Ec 21) y al radical hidrogenado 4,5-DAFH $^\bullet$ (Ec 23) respectivamente, en el caso de la banda en 500 nm, esta decae de manera biexponencial con tiempos de 1 μs y 20 μs , por tanto al igual que lo observado con la 1.8-DAF se puede establecer la presencia de al menos dos especies transientes donde una de ellas sería el anión radical y otra el radical NAT desprotonado, $[\text{NAT-H}]^\bullet$. El aumento en la absorción de la banda en 330 nm puede ser atribuida al radical descarboxilado de la NAT, $[\text{NAT-CO}_2]^\bullet$ (Ec 22) o a la dimerización de este N-acetil aminoácido, por tanto, al igual que el caso anterior existe la posibilidad de una reacción de adición entre el radical hidrogenado de la diazafluorenona, 4,5-DAF $^{\bullet-}$ y el radical descarboxilado de la NAT, $[\text{NAT-CO}_2]^\bullet$ (Ec 25).

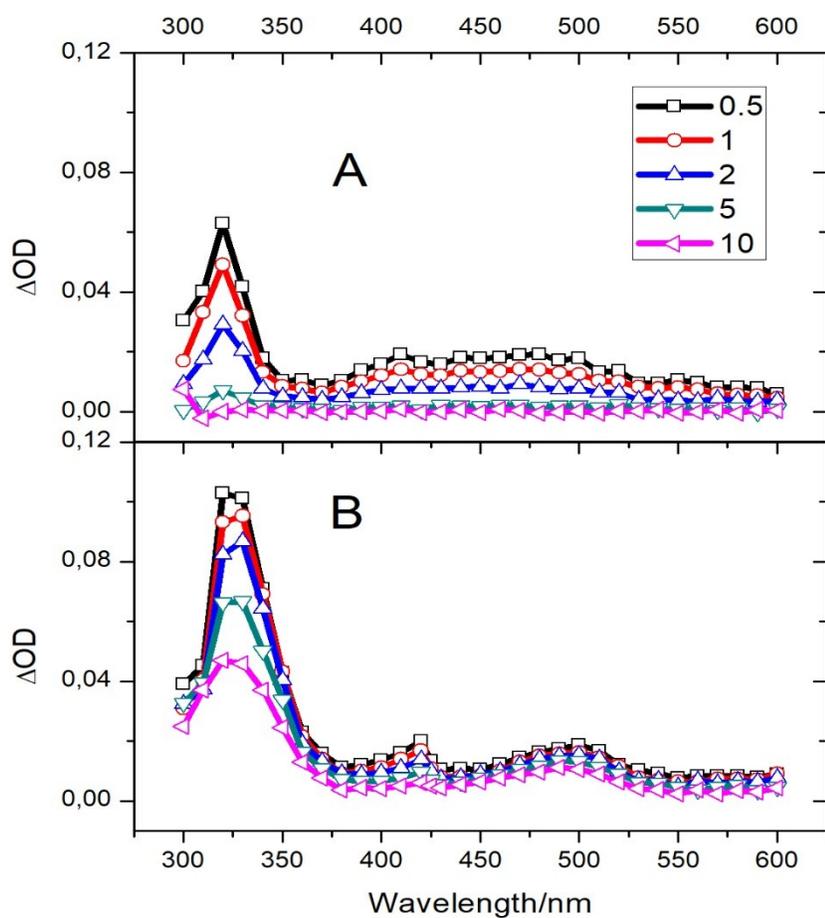
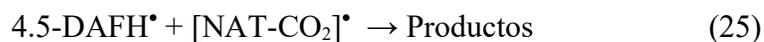


Figura 25: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de 4.5-DAF en ausencia de NAT y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 0.81 mM.

Para la fotorreacción entre 1,4-BenzoDAF y NAT, ocurre una situación distinta a la observada en los casos anteriores. En el espectro de absorción transiente (Figura 26) en presencia de este N-acetil aminoácido se observa una banda ancha entre los 370 y 480 nm, con máximos en 420 y 460 nm, los cuales decaen biexponencialmente con tiempos de vida similares del orden de los 2 μ s y 35 μ s, esto indicaría que la especie que absorbe en esta zona del espectro corresponde al radical hidrogenado de la diazafluorenona estudiada, además no es posible observar la banda característica del anión radical en los 550 nm.

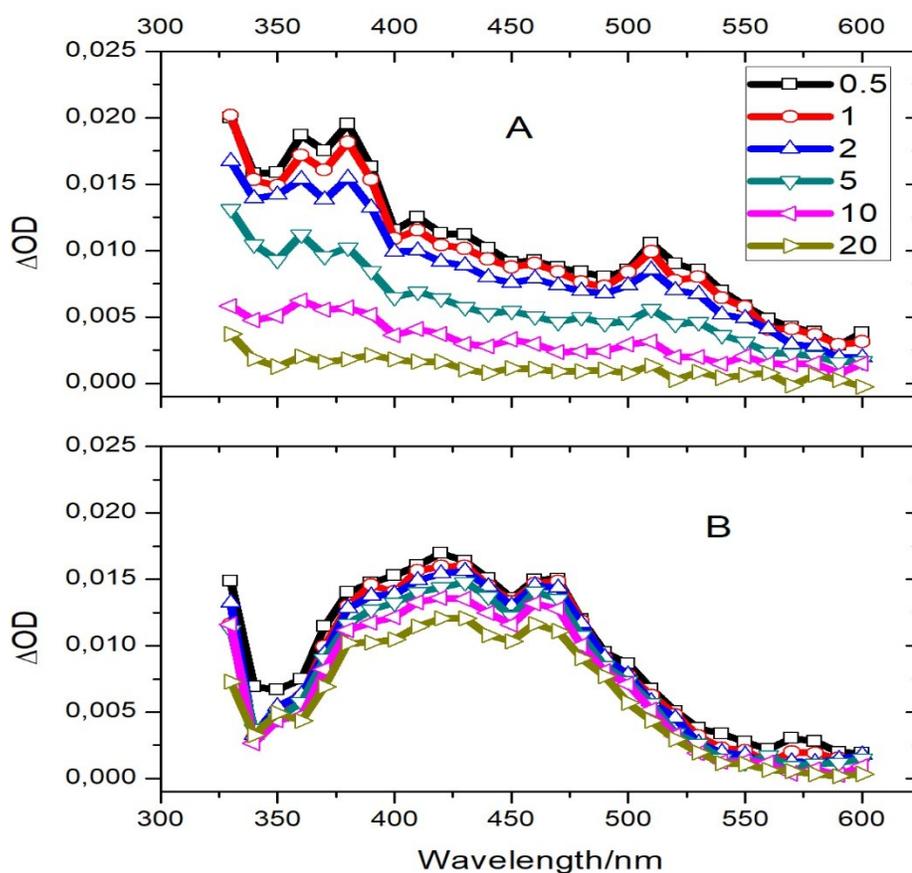


Figura 26: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete de 1,4-BenzoDAF en ausencia de NAT y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 0.79 mM.

Por último, en la fotorreacción de 4-AF y NAT es posible observar un comportamiento similar a lo visto con 4,5-DAF y el N-acetil aminoácido antes mencionado, en el espectro de la figura 27 podemos ver bandas generadas a tiempos cortos en 500 nm y 430 nm, que pueden ser atribuidas al anión radical y al radical hidrogenado respectivamente, sin embargo, las especies observadas a dichas longitudes de onda decaen de forma biexponencial con tiempos de vida similares, por tanto, ambas bandas corresponderían a la misma especie.

En la zona de los 310-350 nm se observa un aumento en la absorción, lo cual puede ser atribuido a la formación del radical descarboxilado de la NAT, $[\text{NAT-CO}_2]^*$ (Ec 27) o a la dimerización del NAT,

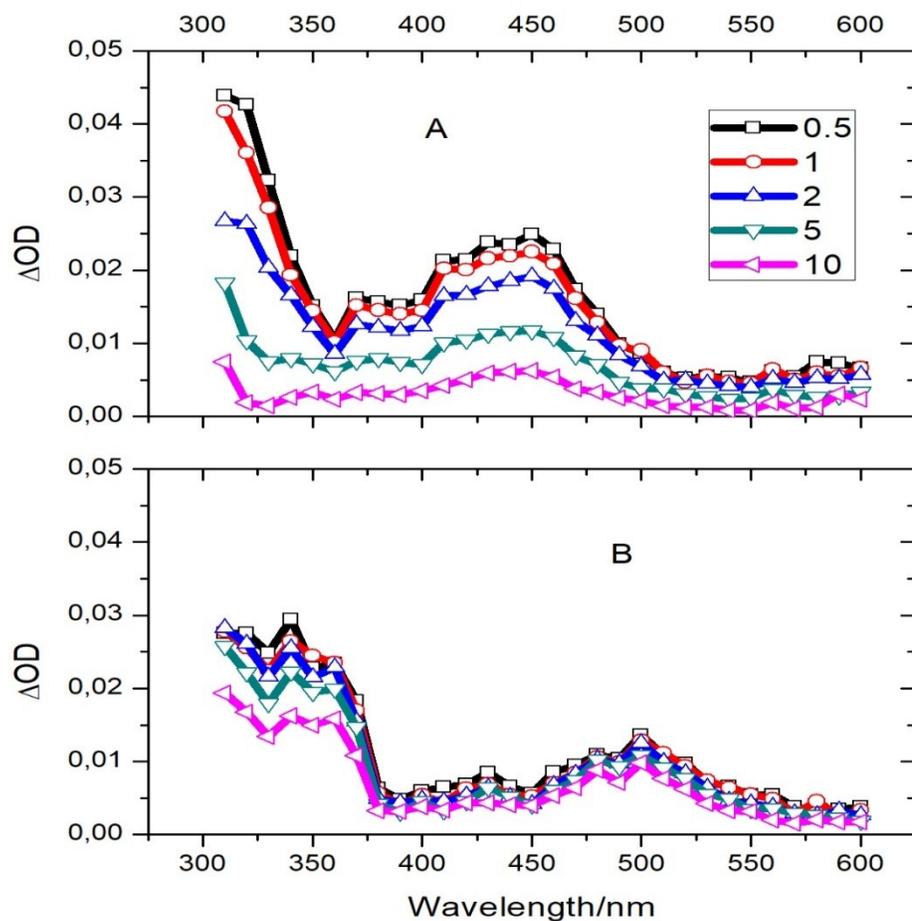
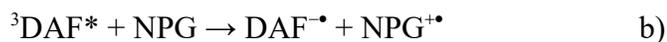


Figura 27: Panel A) Espectro de absorción transiente triplete-triplete en ausencia de amina y Panel B) Espectro de absorción transiente en presencia de NAT 2 mM.

Los tiempos de vida determinados en las bandas de 430 nm y 500 nm son del orden de los 3 μ s y 22 μ s, lo cual indicaría una situación similar a lo descrito en la fotorreacción entre 1,4-BenzoDAF y NAT, en donde no es posible la detección del anión radical (550 nm), pero es posible asignar el radical hidrogenado 4-AFH \cdot , por tanto, las azafluorenonas antes mencionadas fotorreducen en presencia de NAT posiblemente mediante un mecanismo en donde se forme un par ion radical en contacto o un exciplexo de transferencia de carga con carácter de triplete (Ec 26), luego ocurra una rápida protonación del átomo de Nitrógeno u Oxígeno de las DAF (Ec 28), además posiblemente ocurra una reacción de adición entre algún radical del NAT y DAF en estado basal o con el radical hidrogenado 4-AFH \cdot (Ec 29)



Con los resultados obtenidos es posible plantear dos posibles mecanismos de fotorreducción de las DAF en presencia de NPG y NAT, en algunos casos como por ejemplo el de la 1,8-DAF en presencia de ambos N-acetil aminoácidos, la fotorreacción sigue la siguiente secuencia de reacciones: a) excitación de la DAF para la generación del triplete excitado de la DAF, b) formación del anión radical de la DAF y el catión radical respectivo de la amina (par ion radical separado por solvente), c) descarboxilación del N-acetil aminoácido para dar lugar a un radical que posiblemente interactúe con la DAF en estado excitado o en estado basal y d) protonación del anión radical para dar forma al radical hidrogenado de la DAF.



El otro posible mecanismo comienza con a) la generación del triplete excitado b) formación de un par ion radical en contacto con carácter de triplete o un exciplexo de transferencia de carga con carácter de triplete c) descarboxilación del N-acetil aminoácido y d) rápida protonación con formación del radical hidrogenado.



5. Conclusiones

La evidencia experimental obtenida permite establecer las siguientes conclusiones al trabajo realizado.

- Fue posible identificar y caracterizar los estados tripletes excitados de las aza y diazafluorenonas estudiadas, obteniendo sus tiempos de vida y las constantes de apagamientos bimoleculares en presencia de diversas aminas.
- Fue posible identificar y caracterizar los aniones radicales y radicales hidrogenados de las aza y diazafluorenonas en presencia de DABCO, TPA y TEA, atribuyendo las absorciones observadas en los espectros a las respectivas especies transientes antes mencionadas.
- Se pudo establecer dos posibles mecanismos de fotorreducción de la aza y diazafluorenonas en presencia de NPG y NAT, dependientes de la estructura de la aza o diazafluorenona analizada, por ejemplo, la 1,8-DAF fotorreduce en presencia de los N acetil aminoácidos utilizados mediante la siguiente secuencia de eventos: formación de un par ion radical debido a la transferencia de carga, separación difusional del par ion radical, generación del radical hidrogenado debido a la protonación del anión radical, en cambio, la 1,4-BenzoDAF fotorreduce siguiendo otro posible mecanismo: generación de un par ion radical en contacto o exciplexo de transferencia de carga con carácter de triplete y la consiguiente protonación desde el catión radical hacia el anión radical para formar el radical hidrogenado.

6. Referencias

- 1) Grotthuss.T, Sitzungberichte der kurländischen Gesellschaft für Literatur und Kunst, **1819**, *I*, 119-189.
- 2) Cox, A., Kemp, T.J., 1971. Introductory Photochemistry. McGraw-Hill, London.
- 3) Halstead. J.A. Teaching the Spin Selection Rule: An Inductive Approach. *J. Chem. Educ.* **2013**, *90*, 1, 70–75.
- 4) Perrin. F. La fluorescence des solutions. *Ann. Phys. (Paris)*.**1929**, *10*, 169-275,
- 5) Jablonski.A. Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes. *Nature*. **1933**, *131*, 839-840.
- 6) Jablonski.A.Über den Mechanismus der Photolumineszenz von Farbstoffphosphoren. *Physik*.**1935**, *94*, 38-46.
- 7) Valeur.B. Molucular Fluorescence: Principles and Applications. 1st Ed. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **2002**.
- 8) Forster, Th., Intramolecular energy migration and fluorescence, *Ann. Phys.* **1948**, *2*, 55-75
- 9) Forster, Th., Transfer mechanisms of electronic excitation, *Disc. Far. Soc.* **1959**, *27*, 7-17.
- 10) Dexter, D.L., A theory of sensitized luminescence in solids, *J. Chem. Phys.* **1953**,*21*, 836- 850.
- 11) Foote, C. S., Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochemistry and Photobiology* **1991**, *54* (5), 659-659.
- 12) DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J., Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, 233-234, 351-371.
- 13) R.V. Bensasson, E.A. Dawe, D.A. Long, E.J. Land. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1977**.*1*(73),1319-1325.
- 14) Pounds, A.; Grigg, R.; Mongkolaussavaratana, T. The Use of 1,8-Diazafluoren-9-One (Dfo) for the Fluorescent Detection of Latent Fingerprints on Paper. A Preliminary Evaluation. *J. Forensic Sci.* **1990**, *35*, 7-13.
- 15) Khan, M. S.; Munawar, M. A.; Ashraf, M.; Alam, U.; Ata, A.; Asiri, A. M.; Kousar, S.; Khan, M. A. Synthesis of Novel Indenoquinoxaline Derivatives as Potent A-Glucosidase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 1195-1200.
- 16) Gomes CRB, de Souza MVN, Facchinetti V. A Review on Onychine and its Analogs: Synthesis and Biological Activity. *Curr Org Synth.* **2020**;17(1):3-22.
- 17) Wang, H.-L.; Wei, J.-W. Effects of 2-Azafluorenones on Phosphatidyl-Inositol Specific Phospholipase C Activation in C6 Glioma Cells. *Chin. J. Physiol.* **2012**, *55*, 101–107.

- 18) Stauffer, K. J.; Williams, P. D.; Selnick, H. G.; Nantermet, P. G.; Newton, C. L.; Homnick, C. F.; Zrada, M. M.; Lewis, S. D.; Lucas, B. J.; Krueger, J. A.; Pietrak, B. L.; Lyle, E. A.; Singh, R.; Miller-Stein, C.; White, R. B.; Wong, B.; Wallace, A. A.; Sitko, G. R.; Cook, J. J.; Holahan, M. A.; Stranieri-Michener, M.; Leonard, Y. M.; Lynch, J. J., Jr.; McMasters, D. R.; Yan X, Y. 9-Hydroxyazafluorenes and Their Use in Thrombin Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2282–2293.
- 19) Kosuge; Tetsuya U. S. Patent Appl. 2,008,015,4040 A1 **2008**.
- 20) Ono, K.; Yanase, T.; Ohkita, M.; Saito, K.; Matsushita, Y.; Naka, S.; Okada, H.; Onnagawa, H. Synthesis and Properties of 9,9'-Diaryl-4,5-diazafluorenes. A New Type of Electron-Transporting and Hole-Blocking Material in EL Device. *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 276-277.
- 21) Wong, K.-T.; Chen, R.-T.; Fang, F.-C.; Wu, C.-C.; Lin, Y.-T. 4,5-Diazafluorene-Incorporated Ter(9,9-diarylfluorene): A Novel Molecular Doping Strategy for Improving the Electron Injection Property of a Highly Efficient OLED Blue Emitter. *Org. Lett.* **2005**, *7*(10), 1979-1982.
- 22) Grigg, R.; Mongkolaussavaratana, T.; Anthony Pounds, C.; Sivagnanam, S. 1,8-Diazafluorenone and Related Compounds. A New Reagent for the Detection of (A-Amino Acids and Latent Fingerprints. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 7215-7218.
- 23) Wilkinson, D. Study of the reaction mechanism of 1,8-diazafluoren-9-one with the amino acid, l-alanine. *Forensic Sci Int*, **2000**, *109* (2000), 87–103.
- 24) Stoilovic, M. Improved method for DFO development of latent fingerprints. *Forensic Science International*. **1993**, *60*(3), 141–153.
- 25) Tseng, C.-H.; Chen, Y.-R.; Tzeng, C.-C.; Liu, W.; Chou, C.-K.; Chiu, C.-C.; Chen, Y.-L. Discovery of Indeno[1,2-B]Quinoxaline Derivatives as Potential Anticancer Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *108*, 258-273.
- 26) Faizi, S.; Khan, R. A.; Azher, S.; Khan, S. A.; Tauseef, S.; Ahmad, A. New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifolia* var. *pendula*. *Planta Med.* **2003**, *69*, 350–355.
- 27) Wu, Y.-C.; Duh, C.-Y.; Wang, S.-K.; Chen, K.-S.; Yang, T.-H. Two new natural azafluorene alkaloids and a cytotoxic aporphine alkaloid from *Polyalthia longifolia*. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 1327–1331.
- 28) Gabr, M. T.; Abdel-Raziq, M. S. Structure-Based Design and Synthesis of Fluorene Derivatives as Novel ROR γ t Inverse Agonists. *Chem. Biodivers.* **2018**, *15*, No. e1800244.
- 29) Prachayasittikul, S.; Manam, P.; Chinworrungsee, M.; Isarankura-Na-Ayudhya, C.; Ruchirawat, S.; Prachayasittikul, V. Bioactive Azafluorenone Alkaloids from *Polyalthia Debilis* (Pierre) Finet & Gagnep. *Molecules* **2009**, *14*, 4414-4424.
- 30) Kraus, G. A.; Kempema, A. Synthesis of Azafluorenone Antimicrobial Agents. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 1967-1968.

- 31) Addla, D.; Bhima; Sridhar, B.; Devi, A.; Kantevari, S. Design, Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Novel 1-Benzyl 2-Butyl-4-Chloroimidazole Embodied 4-Azafluorenones Via Molecular Hybridization Approach. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 7475-7480.
- 32) Koyama, J.; Morita, I.; Kobayashi, N.; Osakai, T.; Usuki, Y.; Taniguchi, M. Structure-Activity Relations of Azafluorenone and Azaanthraquinone as Antimicrobial Compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1079-1082.
- 33) Tugrak M, Inci Gul H, Sakagami H, Gulcin I, Supuran CT. New azafluorenones with cytotoxic and carbonic anhydrase inhibitory properties: 2-Aryl-4-(4-hydroxyphenyl)-5H-indeno[1,2-b]pyridin-5-ones. *Bioorg Chem.* **2018**, *81*, 433-439.
- 34) Gomes CRB, de Souza MVN, Facchinetti V. A Review on Onychine and its Analogs: Synthesis and Biological Activity. *Curr Org Synth.* **2020**;17(1), 3-22.
- 35) Girgis, A. S.; Aziz, M. N.; Shalaby, E. M.; Saleh, D. O.; Mishriky, N.; El-Eraky, W. I.; Farag, I. S. A. Molecular Structure Studies of Novel Bronchodilatory-Active 4-Azafluorenones. *Z. Kristallogr.* **2016**, *231*, 179-187.
- 36) Dhara, S.; Ahmed, A.; Nandi, S.; Baitalik, S.; Ray, J.K. Synthesis of azafluorenone via oxidative intramolecular Heck cyclization. *Tetrahedron Lett.*, **2013**, *54*, 63-65.
- 37) Arita, M.; Yokoyama, S.; Asahara, H.; Nishiwaki, N. Facile Synthesis of onychines. *Synthesis*, **2019**, *51*, 2007-2013.
- 38) Taneichi, Y.; Shimada, K.; Korenaga, T. A short-step synthesis of onychine and the related 4-azafluorenones via hetero Diels-Alder reaction of 5-substituted isotellurazoles. *Heterocycles*, **2018**, *96*(3), 440-451.
- 39) Laha, J.K.; Patel, K.V. Saima; Pandey, S.; Solanke, G.; Vashisht, V. Scope of regioselective Suzuki reactions in the synthesis of arylpyridines and benzylpyridines and subsequent intramolecular cyclizations to azafluorenones and azafluorenones. *New J. Chem.*, **2018**, *42*, 16069-16074.
- 40) Biczok, L.; Berces, T.; Marta, F. Substituent, Solvent, and Temperature Effects on Radiative and Nonradiative Processes of Singlet Excited Fluorenone Derivatives. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 8895-8899.
- 41) Biczok, L.; Berces, T. Temperature Dependence of the Rates of Photophysical Processes of Fluorenone. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 3842-3845.
- 42) Murphy, R. S.; Moorlag, C. P.; Green, W. H.; Bohne, C. Photophysical Characterization of Fluorenone Derivatives. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1997**, *110*, 123-129.
- 43) Biczok, L. Photophysical Properties of 3-Azafluorenone. *React. Kinet. Catal. Lett.* **1997**, *61*, 57-62.
- 44) Biczok, L.; Berces, T.; Inoue, H. Effects of Molecular Structure and Hydrogen Bonding on the Radiationless Deactivation of Singlet Excited Fluorenone Derivatives. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 3837-3842.

- 45) Biczok, L.; Cser, A.; Nagy, K. Substituent and Solvent Effects on the Photophysical Properties of 3-Azafluorenone Derivatives. *J. Photochem. Photobiol., A:Chem.* **2001**, *146*, 59-62.
- 46) Takaizumi, A. A. C.; Dos Santos, F. R.; da Silva, M. T.; Netto-Ferreira, J. C. The Reactivity of the Triplet Excited State of 1,4-Diaza-9-Fluorenones Towards Hydrogen and Electron Donors. *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1799-1804.
- 47) Bertoti, A. R.; Guimaraes, A. K.; Netto-Ferreira, J. C. Laser Flash Photolysis Study of the Photochemistry of 4,5-Diaza-9-Fluorenone. *J. Photochem. Photobiol., A* **2015**, *299*, 166-171.
- 48) De la Fuente, J. R., C. Aliaga, C. Poblete, G. Zapata, C. Jullian, C. Saitz, A. Cañete, G. Kciuk, E. Sobarzo-Sanchez. K. Bobrowski. Photoreduction of Oxoisoaphorfines by Amines: Laser Flash and Steady-State Photolysis, Pulse radiolysis, and TD-DFT studies. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 7737-7747.
- 49) De la Fuente, J. R., C. Jullian, C. Saitz, E. Sobarzo-Sanchez, V. Neira, C. Gonzalez, R. Lopez, H. Pessoa-Mahana. Photoreduction of Oxoisoaphorfines. Another example of a formal hydride-transfer mechanism. *Photoch. Photobiol. Sci.* **2004**, *3*, 194-199.
- 50) De la Fuente, J. R.; Cañete, Á.; Carathanassis, N.; Bernazar, L.; Saitz, C.; Díaz-Hernández, D. Spectral and Kinetic Study of 3-Methylquinoxalin-2-Ones Photoreduced by Amino Acids: N-Phenylglycine Radical Chain Reactions and N-Acetyltryptophan Decarboxylation. *J. Phys. Chem. A* **2016**, *120*, 2797-2807.
- 51) De la Fuente, J. R.; Cañete, Á.; Jullian, C.; Saitz, C.; Aliaga, C. Unexpected Imidazoquinoxalinone Annulation Products in the Photoinitiated Reaction of Substituted-3-Methylquinoxalin-2-Ones with N-Phenylglycine. *Photochem. Photobiol.* **2013**, *89*, 1335-1345.
- 52) Canle, M.; Santaballa, J. A.; Steenken, S. Photo- and Radiation-Chemical Generation and Thermodynamic Properties of the Aminium and Aminyl Radicals Derived from N-Phenylglycine and (N-Chloro,N-Phenyl)Glycine in Aqueous Solution: Evidence for a New Photoionization Mechanism for Aromatic Amines. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1192-1201.
- 53) Ikeda, S.; Murata, S. Photolysis of N-Phenylglycines Sensitized by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - Effects of Sensitizers and Substituent Groups and Application to Photopolymerization. *J. Photochem. Photobiol. A-Chem.* **2002**, *149*, 121-130.
- 54) Ikeda, S.; Murata, S.; Ishii, K.; Hamaguchi, H. Mechanistic Studies of the Pyrene-Sensitized Photodecomposition of N-Phenylglycine: Acceleration of the Photodecomposition by the Addition of an Electron Acceptor. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **2000**, *73*, 2783-2792.
- 55) Hug, G. L.; Bonifacic, M.; Asmus, K. D.; Armstrong, D. A. Fast Decarboxylation of Aliphatic Amino Acids Induced by 4-Carboxybenzophenone Triplets in Aqueous Solutions. A Nanosecond Laser Flash Photolysis Study. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 6674-6682.
- 56) Jelly, R.; Patton, E. L. T.; Lennard, C.; Lewis, S. W.; Lim, K. F. The Detection of Latent Fingermarks on Porous Surfaces Using Amino Acid Sensitive Reagents: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *652*, 128-142.

- 57) D'Elia, V.; Materazzi, S.; Iuliano, G.; Niola, L. Evaluation and Comparison of 1,2-Indanedione and 1,8-Diazafluoren-9-One Solutions for the Enhancement of Latent Fingerprints on Porous Surfaces. *Forensic Sci. Int.* **2015**, *254*, 205-214.
- 58) Fujimoto, S. Promising Antitumor Activity of a Novel Quinoline Derivative, Tas-103, against Fresh Clinical Specimens of Eight Types of Tumors Measured by Flow Cytometric DNA Analysis. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, *30*, 1923-1929.
- 59) Torigoe, T.; Izumi, H.; Wakasugi, T.; Niina, I.; Igarashi, T.; Yoshida, T.; Shibuya, I.; Chijiwa, K.; Matsuo, K.-I.; Itoh, H.; Kohno, K. DNA Topoisomerase I Poison Tas-103 Transactivates Gc-Box-Dependent Transcription Via Acetylation of Sp1. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 1179-1185.
- 60) Byl, J. A. W.; Fortune, J. M.; Burden, D. A.; Nitiss, J. L.; Utsugi, T.; Yamada, Y.; Osheroff, N. DNA Topoisomerases as Targets for the Anticancer Drug Tas-103: Primary Cellular Target and DNA Cleavage Enhancement. *Biochemistry* **1999**, *38*, 15573-15579.
- 61) Hoshi, A.; Castaner, J. Tas-103: Antineoplastic Topoisomerase I and II Inhibitor. *Drugs Fut.* **1998**, *23*, 513.
- 62) Liu, Y.-P.; Chen, H.-L.; Tzeng, C.-C.; Lu, P.-J.; Lo, C.-W.; Lee, Y.-C.; Tseng, C.-H.; Chen, Y.-L.; Yang, C.-N. Tch-1030 Targeting on Topoisomerase I Induces S-Phase Arrest, DNA Fragmentation, and Cell Death of Breast Cancer Cells. *Breast Cancer Res. Treat.* **2013**, *138*, 383-393.
- 63) Shkrob, I. Reactions of Photoexcited Aromatic Radical Cations with Polar Solvents. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 4976-4989.
- 64) Martin Goez; Ingo Sartorius. CIDNPJ Determination of the rate of In-Cage Deprotonation of the Triethylamine Radical Cation. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 8539-8546
- 65) Boule, P.; Pilichowski, J. F. Comments about the use of Aberchrome 540 in chemical actinometry. *J. Photochem. Photobiol. A-Chem.* **1993**, *71*, 51-53.
- 66) Dunn, D. A.; Schuster, D. I.; Bonneau, R. Photochemistry of ketones in solution. 74. Characterization of transient intermediates on laser flash excitation of cyclohexenones in the presence of amines. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2802-2804.
- 67) Oyama, M.; Nozaki, K.; Okasaki, S. Pulse-electrolysis stopped-flow method for the electro spectroscopic analysis of short-lived intermediates generated in the electrooxidation of Triphenylamine. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1387-1392
- 68) Oyama, M.; Higuchi, T.; Okasaki, S. An Intermediate State of the Triphenylamine Cation Radical Revealed Using an Electron-Transfer Stopped-Flow Method. *Electrochem. Solid State Lett.* **2002**, *5*, E1-E3.
- 69) Solar, S.; Getoff, N.; Surdhar, P. S.; Armstrong, D. A.; Singh, A. Oxidation of Tryptophan and N-Methylindole by N_3^\bullet , $Br_2^{\bullet-}$, and $SCN_2^{\bullet-}$ Radicals in Light- and Heavy-Water Solutions: A Pulse Radiolysis Study. *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 3639-3643.

- 70) Diaz-Hernández, D; Cañete, A; Pavez, L; Pérez-Sanhueza, A; Günther, G; Szreder, T; De la Fuente, J. Spectral and Kinetic Study of 3-Styrylquinoxalin-2(1*H*)-ones Photoreduced by *N*-Phenylglycine and Amines. *J. Phys. Chem. B* **2019**, 123, 3688–3698.
- 71) Lewis, F. D.; Cohen, B. E. Solvent-Dependence Behavior of Phenanthrene-Amine Intramolecular Exciplexes. *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 10591-10597.
- 72) Burkhart, R. D.; Jhon, N.-I. Triplet Excimer Formation of Triphenylamine and Related Chromophores in Polystyrene Films. *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 7189-7196.
- 73) Kiyota, T.; Yamaji, M.; Shisuka, H. Hydrogen-Bonding-Induced Electron Transfer from Triplet *N*, *N*-Dialkyl-1-naphthylamines to Benzophenone via Triplet Exciplexes. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 672-679.
- 74) Liu, W. Z.; Bordwell, F. G. Gas-Phase and Solution-Phase Homolytic Bond Dissociation Energies of H-N Bonds in the Conjugate Acids of Nitrogen Bases. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 4778.