



**FOTOTOXICIDAD DE ACETAZOLAMIDA.  
CARÁCTER FOTOSENSIBILIZADOR DE  $^1\text{O}_2$  Y REACTIVIDAD FRENTE AL  
OXÍGENO EXCITADO**

**EDUARD ALEJANDRO TOBÒN VARGAS**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE MEDELLÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUIMICA  
NOVIEMBRE 2010**



**FOTOTOXICIDAD DE ACETAZOLAMIDA.  
CARÁCTER FOTOSENSIBILIZADOR DE  $^1\text{O}_2$  Y REACTIVIDAD FRENTE AL  
OXÍGENO EXCITADO**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
Maestría en Ciencias-Química**

**Directora  
Doctora: Cristina Valencia Uribe**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE MEDELLÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA**



## **DEDICATORIA**

A todos los que me tuvieron paciencia, mi familia, esposa, amigos y profesores.

## AGRADECIMIENTOS

A la profesora Gloria Cristina Valencia, por su paciencia y colaboración, además de su contribución a mi formación académica.

Al Profesor Jair Gaviria y al Técnico Operativo Alejandro Díez por acompañar parte de las actividades del presente trabajo, en el Laboratorio de Análisis Instrumental.

A Carolina Castaño y Diana Henao por su inmensa colaboración

A la Universidad Nacional de Colombia (Sede Medellín), que me permitió el ingreso a la Maestría en Ciencias Químicas y me brindo sus espacios y laboratorios.

A la DIME por la financiación de proyecto: Fototoxicidad del diurético acetazolamida. Carácter fotosensibilizador de  $^1\text{O}_2$  y reactividad frente al oxígeno excitado y a La Dirección de Laboratorios por el respaldo en la compra de equipos que permitieron el desarrollo del presente trabajo.

A todos y cada uno de mis compañeros del Grupo de Investigación de Síntesis, Reactividad y Transformación de Compuestos Orgánicos, que me acompañaron y me apoyaron durante mis estudios de Maestría.

## CONTENIDO

Tabla de Contenido	pág. vii
Lista de Tablas	x
Lista de Figuras	xi
Lista de Anexos	Xiii
<b>RESUMEN</b>	1
<b>ABSTRACT</b>	3
1. <b>INTRODUCCIÓN</b>	5
1.1 Estado del arte	7
1.2 Planteamiento del Problema	17
2. <b>OBJETIVOS</b>	19
2.1 Objetivo General	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3 <b>MARCO TEÓRICO</b>	20
3.1 Proceso de Absorción y Emisión	20
3.2 Oxígeno Molecular	21
3.2.1 Estados electrónicamente excitados del Oxígeno Molecular	22
3.2.2 Generación de $O_2(^1\Delta_g)$ en solución	23
3.2.3 Desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ por interacción con sustratos reactivos	25
3.2.3.1 Mecanismos de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$	25
3.2.3.2 Reacción del $O_2(^1\Delta_g)$ con aminas	26
3.2.3.3 Adición de $O_2(^1\Delta_g)$ a compuestos aromáticos	28
3.3 Efecto del Solvente	31
3.4 Ley de Lambert Beer	33
4. <b>MATERIALES</b>	35
4.1 Solventes	35
4.2 Reactivos	35
5. <b>INSTRUMENTACION</b>	36
5.1 Espectroscopia de absorción	36
5.1.1 Absorción Ultravioleta-Visible	36
5.2 Cromatografía	36
5.2.1 Cromatografía Gaseosa	36
5.2.2 Cromatografía Líquida de Alta Presión	36
5.2.3 Cromatografía líquida de alta presión acoplada a masas	36
5.3 Fusiometro	37
5.4 PHmetro	37
5.5 Baño Termostatizado	37
5.6 Cálculos teóricos	37

6	<b>METODOLOGÍA</b>	38
6.1	Obtención del medicamento acetazolamida	38
6.2	Determinación de la constante de velocidad total entre acetazolamida y $O_2(^1\Delta_g)$	38
6.3	Determinación de las constantes de velocidad para la reacción química	40
6.4	Determinación del rendimiento cuantico en la generación de $O_2(^1\Delta_g)$	42
6.5	Análisis del efecto del solvente	42
6.6	Cálculos teóricos	44
6.6.1	Análisis Conformacional	44
6.6.2	Optimización de geometrías	44
6.6.3	Análisis de MPA, NPA y Calculo de índices Fukui	45
6.6.4	Átomos en moléculas (Bader)	45
7	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	46
7.1	Obtención del medicamento acetazolamida	46
7.2	Análisis espectroscópico	46
7.2.1	Espectros de absorción UV-VIS y coeficientes de extinción molar	46
7.3	Generación del $O_2(^1\Delta_g)$ . Experimentos en estado estacionario	51
7.4	Desactivación del oxígeno molecular singulete, por acetazolamida	53
7.4.1	Constantes de velocidad total $k_T$	53
7.4.2	Ensayo de la azida de sodio	55
7.5	Constantes de velocidad para la reacción química entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y la acetazolamida	57
7.6	Rendimiento cuantico en la generación de $O_2(^1\Delta_g)$ Experimentos en estado estacionario	60
7.7	Análisis del efecto del solvente sobre la constante de velocidad total para la reacción entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y la acetazolamida	62
7.8	Comparación de la $k_T$ , $k_r$ y $k_q$	70
7.9	Cálculos teóricos	71
8	<b>CONCLUSIONES</b>	74
9	<b>ANEXOS</b>	77
10	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	79

## LISTA DE TABLAS

	pág.	
Tabla 1	Valores de $p_k$ y $\lambda$ máxima absorción para medicamentos sulfas, en solución acuosa	9
Tabla 2	Banda de absorción de la acetazolamida y el DMA	49
Tabla 3	Coeficientes de extinción para la acetazolamida	50
Tabla 4	Coeficientes de extinción molar del 9, 10 DMA	51
Tabla 5	Datos cinéticos para el ensayo de la azida de sodio	56
Tabla 6	Constantes de velocidad totales para la acetazolamida	56
Tabla 7	Constantes de velocidad físicas y químicas para la acetazolamida	59
Tabla 8	Constantes de velocidad totales para la acetazolamida y parámetros empíricos solvatocromicos	63
Tabla 9	Ecuación solvatocromica para la $k_t$	64
Tabla 10	Cargas de NBO para la molécula de acetazolamida y el catión, en fase gaseosa. Función de Fukui electrofílica $f^-(r)$	77



## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1 <i>Para</i> -aminobencensulfonamida como derivado sintético del prontosil.	7
Figura 2 Sulfa inhibidora de la anhidrasa carbónica.	8
Figura 3 Sulfas diuréticos.	8
Figura 4 Sulfas hipoglicemiantes-	8
Figura 5 Mecanismo de fotodegradación de la furosemida en metanol (anaeróbico).	10
Figura 6 Mecanismo de fotodegradación de la furosemida en solventes próticos.	11
Figura 7 Mecanismo de fotodegradación de la hidroclotiazida en metanol.	13
Figura 8 Mecanismo de fotodegradación de la acetazolamida.	15
Figura 9 Reacción de acetazolamida en estado excitado, con oxígeno molecular singulete.	17
Figura 10 Diagrama de energía orbital para el O <sub>2</sub> y distribución electrónica en el estado basal: <b>(A)</b> utilizando el modelo CLOA y <b>(B)</b> aplicando adicionalmente la hibridación orbital.	18
Figura 11 Diagrama de orbital molecular para el oxígeno molecular singulete O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ).	19
Figura 12 Mecanismo general de desactivación del O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ) por un sustrato Q.	25
Figura 13 Desactivación del O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ), por aminas.	26
Figura 14 Reacción de adición del O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ) al 1,4-dimetilnaftaleno.	27
Figura 15 Endoperóxido formado en reacciones de cicloadición [4+2] del O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ) a derivados quirales del naftaleno.	28
Figura 16 Mecanismo de reacción de fenol con O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ).	29
Figura 17 Mecanismo de reacción de anilina con O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ).	29
Figura 18 Montaje para la irradiación del sistema acetazolamida-rosa de bengala-metanol.	39
Figura 19 Espectro de absorción de la acetazolamida en Etanol.	46
Figura 20 Espectro de absorción del 9,10 dimetil antraceno en metanol.	47
Figura 21 Espectro de masas de la acetazolamida y fragmentación del medicamento.	48
Figura 22 Curvas de calibración absorbancia vs concentración, para la acetazolamida en pentanol y etanol.	48
Figura 23 Variación de los espectros de absorción para acetazolamida en acetonitrilo y para 9,10 DMA en etanol, en función de la concentración	49
Figura 24 Características de absorción del actinómetro (9, 10 DMA), del sensibilizador rosa de bengala (RB) y de la acetazolamida.	52

Figura 25	Comportamiento de la absorbancia ( $\lambda = 340\text{nm}$ ) con el tiempo durante la irradiación del sistema acetazolamida-rosa de bengala-metanol.	53
Figura 26	Inhibición de la velocidad de la reacción del $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ con 9,10 DMA, en presencia de diferentes concentraciones de acetazolamida (mm) en etanol	54
Figura 27	Foto degradación del actinómetro 9,10 DMA utilizando como sensibilizador rosa de bengala. (Constante total).	54
Figura 28	Reacción entre oxígeno molecular singulete y 9,10 DMA, RB como sensibilizador y etanol como solvente en ausencia y presencia de acetazolamida y azida de sodio.	55
Figura 29	Cromatografía por HPLC para la acetazolamida. Sin irradiar	58
Figura 30	Cromatografía por HPLC para la acetazolamida, con 48 horas de irradiación.	58
Figura 31	Foto oxidación del 9, 10 DMA (actinómetro) utilizando rosa de bengala. (Constante química).	59
Figura 32	Rendimiento cuántico de $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ de la acetazolamida en etanol.	61
Figura 33	Análisis exploratorio señala la relación no lineal entre las diferentes variables, tanto la dependiente $kt$ , como las independientes.	63
Figura 34	Grafica de Log de $kt$ vs parámetro Beta	65
Figura 35	Análisis de residuales vs $kt$ .	66
Figura 36	Mecanismo propuesto de interacción entre Acetazolamida y $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ .	68
Figura 37	Puntos críticos en la acetazolamida: de enlace (rosado) (3,-1) y de anillo (violeta) (3,+1).	73
Figura 38	Superficies de isopotencial electrostático para la Acetazolamida a) $V(r) = -0.05 \text{ au}$ y b) $V(r) = -0.0125 \text{ au}$	73

## LISTA DE ANEXOS

1. Cargas NBO para la molécula de acetazolamida y el catión, en fase gaseosa. Función electrofílica de reactividad local de Fukui  $f^-(r)$ . 76
2. Publicaciones y presentaciones a Congresos 77

## RESUMEN

Con el propósito de contribuir al estudio de los procesos fotooxidativos causados por la acetazolamida, en el presente trabajo, se evaluó el carácter fotosensibilizador del medicamento en la generación del  $O_2(^1\Delta_g)$  y el mecanismo de desactivación del oxígeno excitado, tanto en su componente físico como químico. Se incluyó el estudio cinético del carácter apagador del oxígeno excitado por parte del medicamento en un conjunto de solventes cuyo análisis se realizó mediante el uso de relaciones lineales de energía libre de solvatación (LSER), que correlacionan la constante de velocidad del proceso con parámetros empíricos del solvente, para contribuir al planteamiento del mecanismo. Adicionalmente, se calcularon los índices de reactividad local de Fukui, empleando las NBO a través de la Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT), estimando los sitios en el medicamento que luego de interactuar con un electrófilo, como el oxígeno excitado, muestran mayor cambio en su densidad de carga, presentándolos entonces como sitios probables de interacción. Se centró el interés sobre el anillo del tiodiazol, por presentar reactividad química reconocida en este segmento de la molécula. Paralelamente, también se abordó de forma preliminar el estudio de los mapas de potencial electrostático y de algunos parámetros relacionados con la teoría de Átomos en Moléculas de Bader.

Las constantes de reactividad química  $k_r$ , medidas en 4 solventes se ajustaron a cinéticas de primer orden encontrando valores muy moderados de  $k_r$ , del orden de  $10^5 M^{-1}s^{-1}$  que comparados a la velocidad total  $k_T$ , del orden de  $10^7 M^{-1}s^{-1}$  señalan como principal causa de desactivación del  $O_2(^1\Delta_g)$  por acetazolamida a un mecanismo de tipo físico. El análisis LSER (medidas de la reactividad total en 12 solventes) señalan una dependencia importante de  $k_T$  en solventes con valores altos de  $\beta$  y  $\pi^*$ . El rendimiento cuántico en la generación del oxígeno molecular singulete, determinado a través de experimentos en estado estacionario, son de 0.056, 0.097 y 0.015 en metanol, etanol y acetonitrilo respectivamente, y su eficiente carácter apagador de tipo físico, permite descartar como fuente esencial

de fototoxicidad del medicamento el carácter fotosensibilizador del oxígeno excitado.

El cálculo de los índices de reactividad local de Fukui (DFT), utilizando las cargas NBO, señala un cambio importante en la densidad de carga sobre varios átomos en la molécula que incluyen uno de los nitrógenos y el azufre del anillo tiodiazol y el nitrógeno del grupo amido. El estudio preliminar de la topología molecular a través de las superficies de isopotencial electrostático señala también, varios sitios ricos en densidad electrónica, incluyendo los nitrógenos del anillo y otros segmentos de la molécula que pueden contribuir al apagamiento de tipo físico.

## SUMMARY

With the aim of contributing to the study of photo-oxidative processes caused by acetazolamide in this study, the photosensitizing nature of the drug in the generation of  $O_2(^1\Delta_g)$  and the mechanism of excited oxygen deactivation are evaluated, both in its component physical and chemical. We included the kinetic study of the quenching character of excited oxygen by the drug using a set of solvents whose analysis was performed using linear relationships solvation free energy (LSER), which correlate the rate constant of the process with empirical parameters solvent, to contribute to the mechanism approach. Additionally, we calculated the local reactivity indexes of Fukui, using the NBO charges through the Density Functional Theory (DFT), considering the places where the medicine after interacting with an electrophile as excited oxygen, show greater change in its density charge, then presenting them as likely sites of interaction. We focused on the ring tiodiazol, because of the chemical reactivity recognized in this segment of the molecule. In parallel, we also discussed a preliminary study the maps of electrostatic potential and some parameters related to the theory of atoms in molecules of Bader.

Chemical reactivity constants  $k_r$ , measured in 4 solvents were adjusted to first-order kinetics, and we found very moderate values of  $k_r$ , the order of  $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  that compared to the total rate  $k_T$  of the order of  $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  point as the main cause of deactivation of by  $O_2(^1\Delta_g)$  a mechanism acetazolamide physical. LSER analysis (total reactivity measures in 12 solvents) indicate a significant dependence of  $k_T$  in solvents with high values of  $\beta$  and  $\pi^*$ . The quantum yield in the generation of singlet oxygen determined through steady-state experiments show values of 0.056, 0.097 and 0.015 in methanol, ethanol and acetonitrile, respectively, and their efficient quencher character by physical nature, can rule as a vital source of phototoxicity photosensitizing medication status of excited oxygen.

The calculation of the local reactivity indexes of Fukui (DFT) using the Mulliken and NBO charges, showed a major change in the density charge on the sulfur atom of the thiazol ring. Moreover, the preliminary study of molecular topology by electrostatic isopotential surfaces, showed other sites rich in electron density, including the nitrogens from the ring, and others segments of the molecule that may contribute to the quenching by the physical way.

## 1. INTRODUCCIÓN

Muchos de los medicamentos utilizados actualmente tienen la capacidad de absorber radiación electromagnética en el rango ultravioleta visible, desencadenando procesos fotoquímicos y fotofísicos, que pueden ser los causantes de los efectos secundarios observados e involucran desde la descomposición del medicamento con la consecuente pérdida de actividad farmacológica, hasta la generación de productos potencialmente tóxicos para el organismo<sup>1</sup>.

Especialmente la familia de medicamentos sulfas utilizados en el tratamiento de diversas patologías, entre las que cabe destacar la acción antibacteriana, diurética, de inhibidor de la anhidrasa carbónica e hipoglicemiante<sup>2</sup>, en algunos casos conduce al desarrollo de alergias, dermatitis, urticaria y fotosensibilidad<sup>1, 3, 4</sup>.

Entre los procesos que pueden dar lugar a la fototoxicidad se encuentra la fotosensibilización, que implica inicialmente la absorción de luz electromagnética por parte de un agente exógeno acumulado en tejidos expuestos a la luz y su posterior transferencia de energía a otras moléculas, como por ejemplo al oxígeno molecular en estado basal con la formación del oxígeno en estado excitado, especie activa del oxígeno, responsable de generar un alto estrés oxidativo<sup>3, 4</sup>.

Para el caso específico de la acetazolamida, utilizado como diurético, antiepiléptico y contra el glaucoma<sup>6</sup>, se han observado algunos efectos adversos como fotosensibilidad, fotoalergias y urticarias entre otros. Este medicamento absorbe luz en la región ultravioleta ( $\lambda_{\text{máx}} \cong 264 \text{ nm}$ ), radiación que es capaz de penetrar algunos tipos de piel y que puede ser transmitida a través de tejidos como la retina<sup>4</sup>.



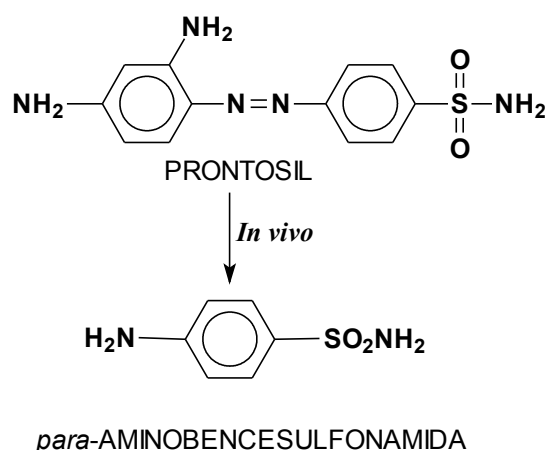
Por lo anterior, es posible relacionar al menos parcialmente los efectos laterales adversos, cutáneos y oculares, asociados al tratamiento de las enfermedades con este fármaco, con su habilidad para generar especies activas del oxígeno como el oxígeno molecular singulete y/o con la fototoxicidad de los productos generados tras la interacción química de la acetazolamida con  $O_2(^1\Delta_g)$ <sup>6</sup>. Algunos estudios citan como causante de esta fototoxicidad, la formación de radicales libres y al ion superoxido, que intervienen en el mecanismo de fotodegradación del medicamento y a la participación de la acetazolamida en procesos dañinos a nivel biológico como peroxidación lipídica y destrucción de células sanguíneas<sup>7,8</sup>.

Con el propósito de obtener mayor información acerca de la interacción que genera la fototoxicidad de la acetazolamida, se evaluó el carácter fotosensibilizador del  $O_2(^1\Delta_g)$  por parte de la acetazolamida y su desactivación por interacción con el oxígeno molecular singulete. Se incluye el análisis cinético del efecto del solvente, mediante el uso de relaciones lineales de energía libre de solvatación (LSER) que permiten relacionar la dependencia de la velocidad de reacción con parámetros empíricos del solvente y así obtener información que permita contribuir al estudio del mecanismo de reacción.

Por otra parte y dada la diversidad de grupos funcionales en la acetazolamida y en general en los medicamentos sulfas, es muy interesante evaluar sus tendencias de reactividad local frente a especies electrofílicas como el oxígeno excitado a través de modelos teóricos<sup>9</sup>. Con este propósito se incluye el cálculo de los índices de reactividad de Fukui, descriptores de reactividad local a la luz de la Teoría de Funcionales de densidad, empleando análisis de población natural, NBO.

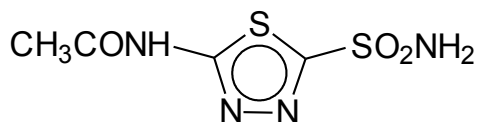
## 1.1 ESTADO DEL ARTE

Las sulfas son derivados estructurales del *para*-amino bencensulfonamida (Figura 1) con actividad farmacológica reconocida como antimicrobiano, diurético y antidiabético. Particularmente su actividad antibacteriana es reconocida desde principio de la década de los 30, cuando el bioquímico alemán Domagk descubrió una tintura de color anaranjado rojizo que fulminaba a un tipo morfológico de bacteria llamada cocos. Para 1932 aparecen los primeros reportes de ensayos de tratamiento con Prontosil en ratas infectadas y en 1934 para el tratamiento de estreptococos en humanos. Debido a su trabajo con las sulfas, el doctor Domagk recibió el premio Nóbel de medicina en 1939, el cual no pudo aceptar por razones de tipo político y le fue otorgado posteriormente en Suecia en 1947<sup>2,10</sup>.



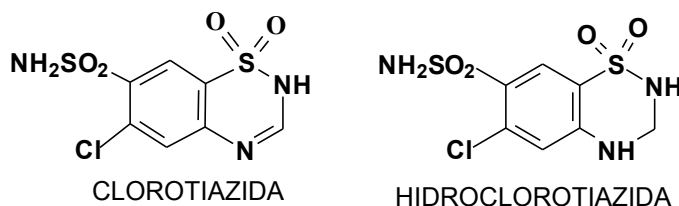
**Figura 1.** *Para*-aminobencensulfonamida como derivado sintético del prontosil.

Sin embargo, el consumo de medicamentos sulfas ha sido asociado de forma sistemática con reacciones fototóxicas y fotoalérgicas, especialmente desarrolladas en tejidos expuestos a la luz, por lo que se relaciona con la inestabilidad fotoquímica del medicamento, la cual puede derivarse de interacciones tanto de tipo físico como químico<sup>1,3,5</sup>.

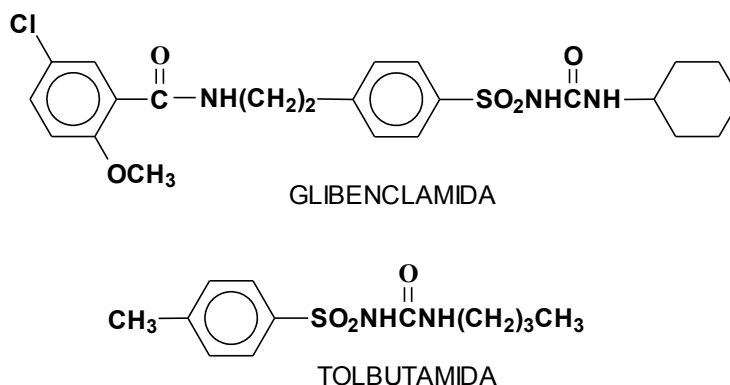


ACETAZOLAMIDA

**Figura 2.** Sulfa inhibidora de anhidrasa carbónica.



**Figura 3.** Sulfas diuréticas



**Figura 4.** Sulfas hipoglicemiantes

Como se observa en la Figuras 2, 3 y 4, varios de los medicamentos sulfas poseen una amplia variedad de sustituyentes los cuales afectan sus propiedades básicas, haciendo que las propiedades fotofísicas, fotoquímicas y fotosensibilizadoras sean dependientes de la estructura del medicamento y de las propiedades fisicoquímicas del medio en que se localizan, por ejemplo el pH. Así, los cambios en la estructura de estos medicamentos producen diferencias en la distribución de densidad de cargas, por lo que podría esperarse diferentes caminos de reacción por la interacción de otros sustratos, con los distintos grupos funcionales presentes en las sustancias. En la siguiente Tabla se muestran

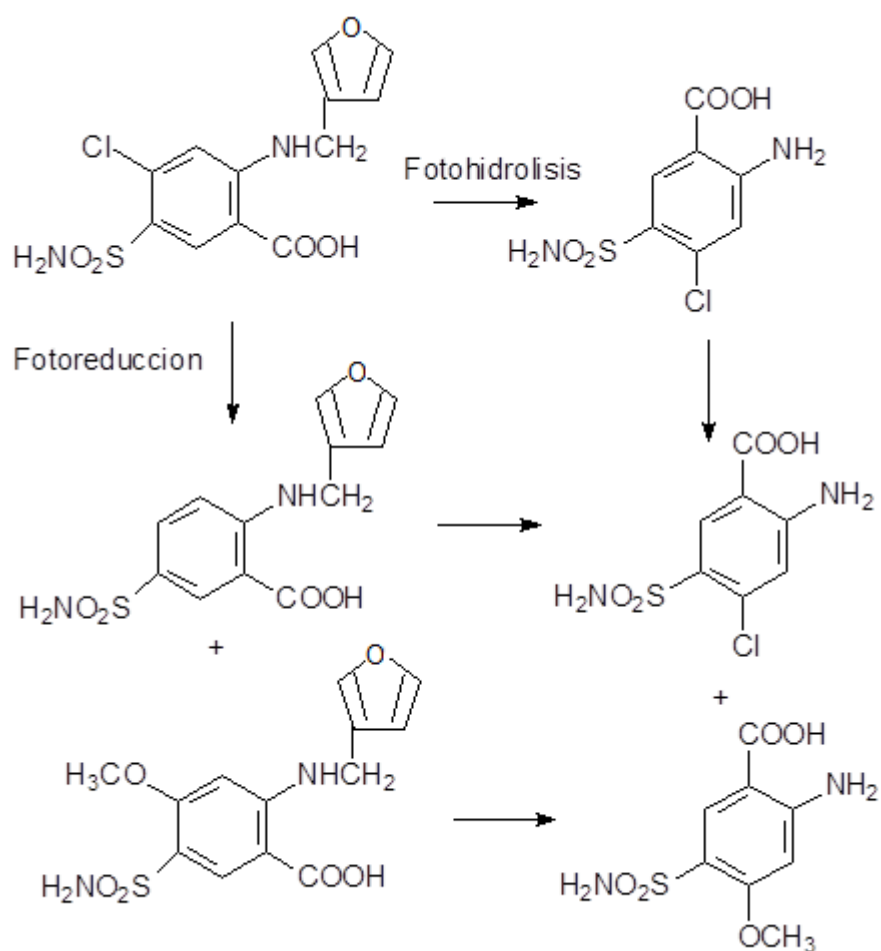
algunos valores de pKa y longitud de máxima absorción de algunos medicamentos sulfas, donde se quiere resaltar diferentes propiedades fisicoquímicas de estos medicamentos derivadas de diferencias estructurales<sup>3, 10</sup>.

**Tabla 1.** Valores de pKa y  $\lambda$  de máxima absorción para medicamentos sulfas, en solución acuosa.

Medicamento	pKa	$\lambda$ máxima absorción (nm)
Acetazolamida	7,2 y 9.2	264
Hidroclorotiazida	8,6 y 9,9	318
Clorotiazida	6.8	315
Sulfamethazina	6,1	321
Torasemida	3.9	283
Furosemida	3,9	330
Sulfadiacina	6,5	345
Sulfapiridina	8,4	342
Dorzolamida	7,8	327
Sufanilamida	10.1	285
Sulfametazaxol	6.0	268

Sobre los daños fotobiológicos originados por los medicamentos sulfas se destacan los estudios realizados por Selvaag y colaboradores. Estos estudios determinaron la fototoxicidad de varias sulfas antidiabéticas y diuréticas a través de diferentes ensayos de fototoxicidad *in vitro*, como son el *test* de fotohemólisis sobre eritrocitos humanos<sup>7</sup>, el de células cultivadas<sup>8</sup> y la capacidad de oxidar el ADN en células HaCaT<sup>11</sup>. En el primer *test* los medicamentos corpropamida, glipizide, acetazolamida, gliquidona y tolbutamida se mostraron fototóxicos, en el segundo se observó fototoxicidad de bemetanida, butizida, hidroclorotiazida, bencilhidroclorotiazida, bemetizida, bendroflumethiazida, hidroflumetizida, acetazolamida, politiazida, tricormetiazida, glibenclamida y gliquidona. En el tercer *test*, los medicamentos fototóxicos fueron bendroflumethiazida, furosemida, hidroclorotiazida, acetazolamida, triclothiazida, tolbutamida, bendroflumetiazida y glibenclamida. Estos fotoprocesos fueron inhibidos en presencia de antioxidantes como azida de sodio, ácido ascórbico y alfa tocoferol, demostrando que la

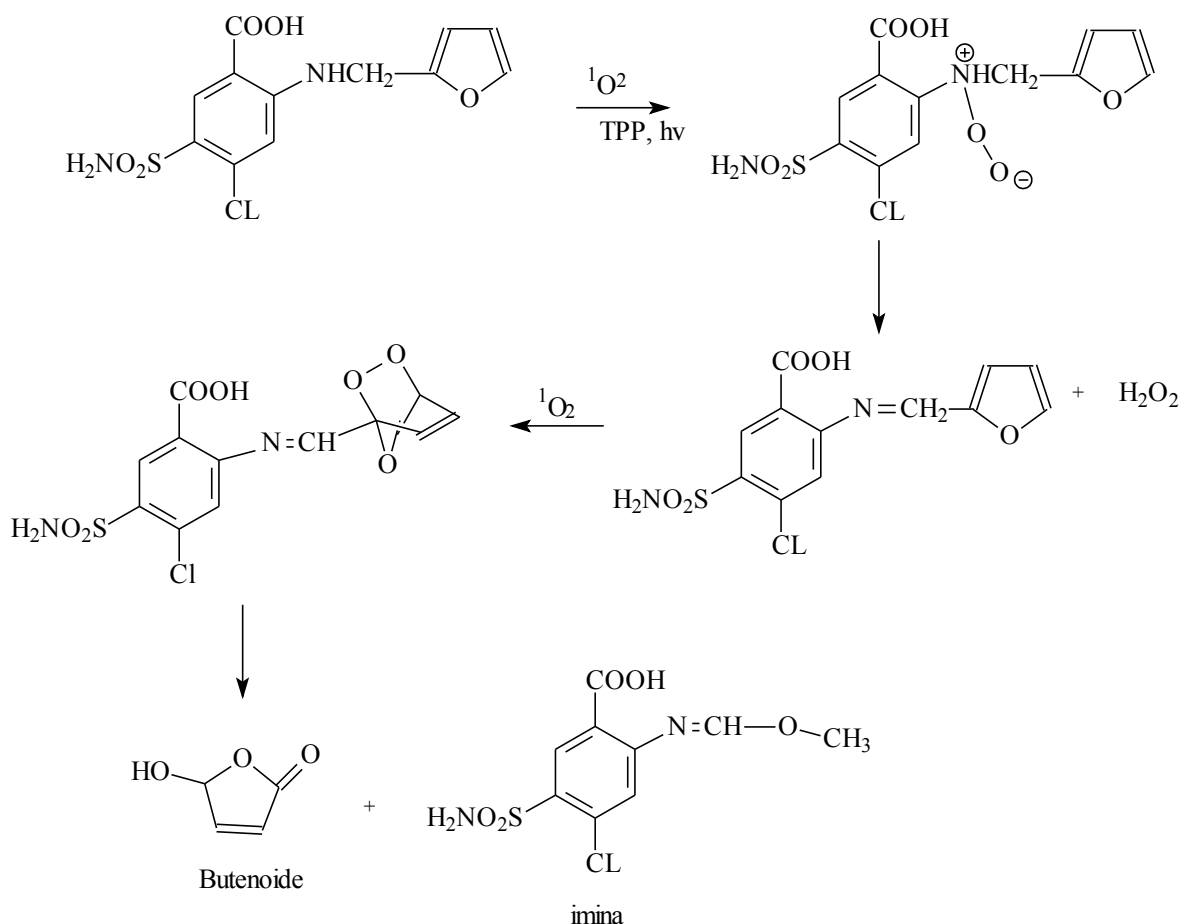
foto toxicidad y fotogenotoxicidad de estos medicamentos es mediado por especies reactivas de oxígeno como peróxido, oxígeno molecular singulete e hidróxido, o por radicales libres como el súperoxido o el radical hidróxido<sup>11</sup>.



**Figura 5.** Mecanismo de foto degradación de la furosemda en metanol (anaeróbico).

Varios estudios se han realizado sobre los procesos de degradación en presencia de luz de los medicamentos sulfas. Por ejemplo la fototoxicidad de la furosemda ha sido evaluada *in vivo*, observando efectiva producción de oxígeno molecular singulete y radicales libres en metanol. En soluciones libres de oxígeno en metanol y solución acuosa de metanol al 25%, se producen iones cloro e hidrogeno con un rendimiento cuántico  $\phi_{rxn} = 0.40 \pm 0,08$ . En esta ocasión se

identificó como foto producto en solución alcalina por irradiación continua (48 horas), al 4-amino-4carboxi-2-cloro-ácidobencensulfónico<sup>3</sup>. Este medicamento exhibe efectos fototóxicos similares en condiciones aeróbicas y anaeróbicas en metanol y buffer acuoso a pH 7.4, generando tres foto productos con rendimiento cuántico  $\phi_{rxn}=0.38$ , que incluyen pérdida de cloro, descarboxilación y la sustitución del grupo carboxilo<sup>3</sup>. El mecanismo de fotodegradación se muestra en la Figura 5.



**Figura 6.** Mecanismo de fotodegradación de la furosemda en solventes próticos.

Zanocco y colaboradores,<sup>12</sup> plantean un mecanismo de fotodegradación diferente al presentado por Moore y Sithipitaks, el cual se presenta en la Figura 6, con un rendimiento cuántico en la producción de oxígeno molecular singulete de 0,047 y

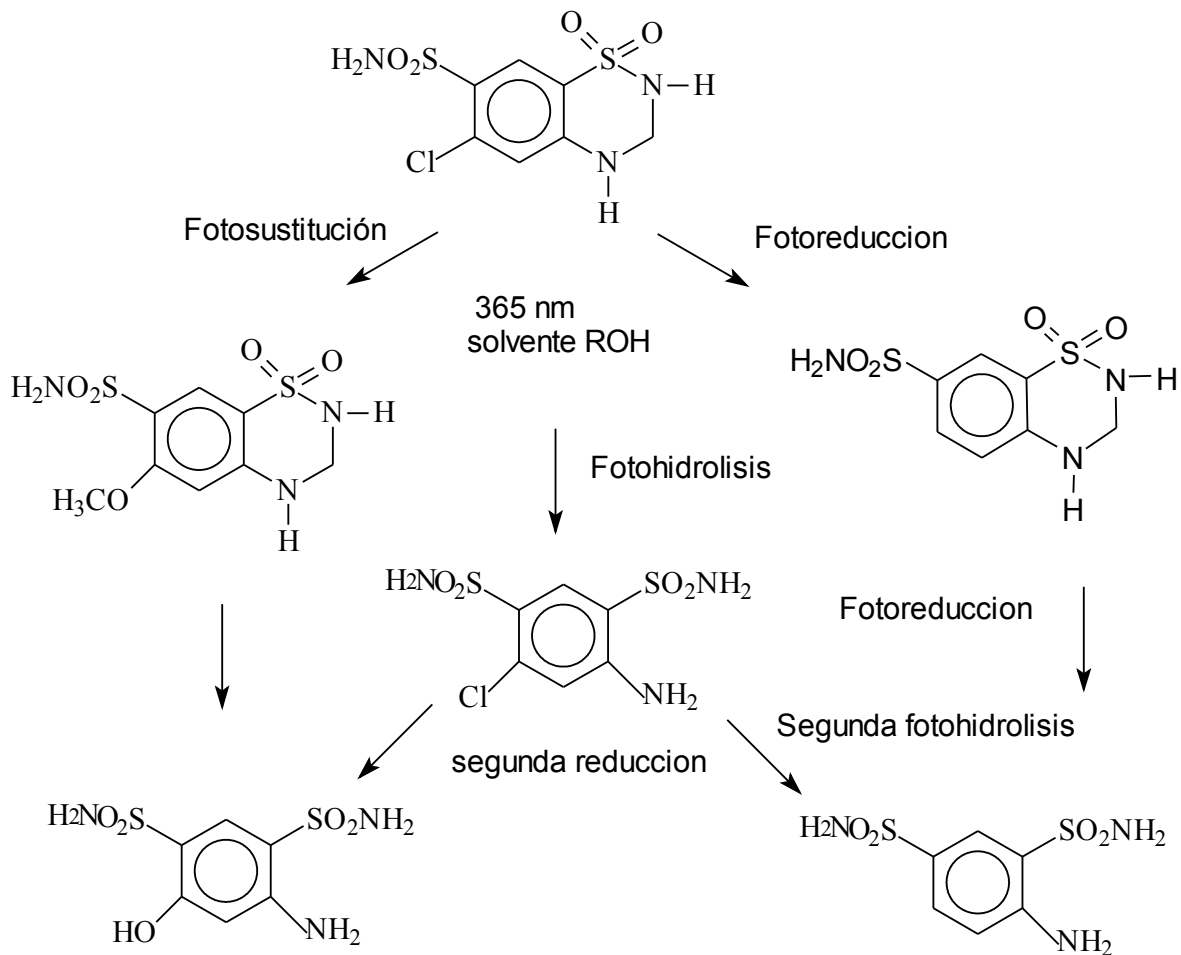
0,078 en acetonitrilo y benceno, respectivamente. También señalan una eficiente reactividad total  $k_T$  ( $k_T = k_R + k_q$ ) entre la furosemida y el oxígeno molecular singlete en un conjunto amplio de solventes, donde puede resaltarse que el proceso físico y el químico son comparables en solventes como metanol y benceno, con valores de  $k_R$   $1,04 \pm 0.05 \times 10^7$  y  $1,06 \pm 0.1 \times 10^7$   $M^{-1}s^{-1}$ , vs.  $k_T$  de  $1,16 \pm 0.06 \times 10^7$  y  $1,67 \pm 0.08 \times 10^7$   $M^{-1}s^{-1}$ , respectivamente. Se propone que la interacción entre el  $^1O_2$  ( $^1\Delta_g$ ) y la furosemida en solventes próticos y alcoholes alifáticos, se presenta a través de un complejo de carga en el que interviene el nitrógeno de grupo amino secundario, con posterior generación de dos fotoproductos, mientras que en solventes apróticos se favorece la reacción desde el segmento furano con una cicloadición [2+4] típica del  $^1O_2$  ( $^1\Delta_g$ ), generando un butenoide y una imina.

También se tienen evidencias de que la furosemida está en capacidad de producir foto hemólisis en eritrocitos humanos, cuyo proceso se reduce hasta en un 60% al utilizar agentes atrapadores de  $^1O_2$  ( $^1\Delta_g$ ) como azida de sodio o 1,4-diazabicyclo [2,2,2] octano (DABCO)<sup>12</sup>.

De forma similar a la furosemida (diurético del asa), diuréticos tiazidicos como hidroclorotiazida también se han investigado, el cual exhibe evidencias de acumulación en la retina y daños en la visión<sup>13</sup>, presenta fotofragmentación por pérdida de cloro y posterior hidrólisis en solución acuosa o en alcohol, con un rendimiento cuántico de  $\phi_{rxn} = 0.18 \pm 0.05$ , mecanismo mostrado en la Figura 7<sup>3</sup>. Otros estudios realizados señalan un proceso de fotodescomposición con pérdida de cloro y fragmentación del  $SO_2NH_2$ <sup>14</sup>.

La glicazida, otro medicamento sulfa utilizado para el tratamiento de la diabetes, es fotolabil en condiciones aeróbicas al ser irradiado con luz UV/vis. La desaparición del medicamento es seguida observando la desaparición de la banda de absorción del medicamento a 230 nm, proceso en el que se obtuvieron dos productos por fotofragmentación del enlace entre el carbono del grupo carbonilo y

el nitrógeno de la urea. El medicamento muestra fototoxicidad en el test de foto hemólisis y de peroxidación lipídica, pero sin participación del oxígeno molecular singlete, guiando la reacción a través de mecanismos tipo I<sup>15</sup>.



**Figura 7.** Mecanismo de fotodegradación de la hidroclotiazida en metanol.

El sulfametoxasol, antibiótico sulfa, es bastante sensible a la luz UV/Vis tanto natural como artificial. Su ruta más importante de fotodegradación consiste en el rompimiento del enlace N-O y posterior rearrreglo del anillo isoxazol. Esta reacción es dependiente del pH, observándose mayor absorción del medicamento en solución acuosa en su forma neutra a pH 5,6 (268nm). El proceso de fotodegradación de este medicamento ocurre por formación de radicales libres, situación demostrada por la polimerización de la acrilamida<sup>4, 16</sup>.

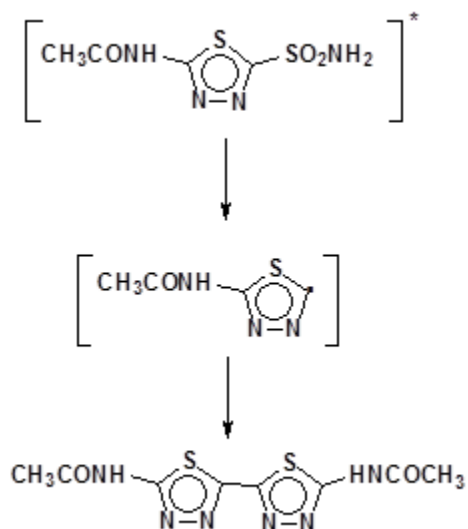


La acetazolamida, sulfonamida no bacteriostática, actúa como inhibidor de la anhidrasa carbónica enzima que cataliza la reacción reversible de hidratación del ácido carbónico, lo que resulta en una pérdida del anión bicarbonato que arrastra consigo agua, sodio y potasio. De esta forma, se produce una alcalinización de la orina y un aumento de la diuresis, conduciendo a una reabsorción de amonio  $\text{NH}_4$  en los túbulos renales del riñón. Este medicamento es efectivo en el tratamiento de algunos desórdenes convulsivos como el tratamiento de epilepsia y en la provocación de diuresis en casos de retención anormal de fluidos, como en el edema cardíaco<sup>10</sup>.

En el ojo, disminuye la secreción de humor acuoso y ocasiona reducción de la presión intraocular, propiedad interesante en casos de glaucoma. La estructura química de la acetazolamida incluye el radical sulfanilamida (grupo por el que se une a la enzima anhidrasa carbónica inhibiéndola competitivamente frente al ácido carbónico, ver Figura 2) y un anillo aromático heterocíclico tiodiazol (segmento estable que actúa como grupo protector dentro del organismo)<sup>2,10</sup>.

La acetazolamida, que a diferencia de los diuréticos anteriores no presenta el segmento bencensulfónico, también ha sido objeto de estudio de fotoreactividad. Estudios realizados en condiciones de irradiación en estado estacionario verificaron su reactividad a 25°C por 72 horas en metanol (0,335 mmol en 100 ml) con lámparas de fósforo y una emisión máxima de 300 nm; cuyo seguimiento de reacción fue realizado por espectrometría de UV-vis, GC y HPLC. La detección del oxígeno molecular singlete se realizó por actinometría con 2,5-dimetilfurano, que es usado para atrapar el oxígeno excitado y por emisión en el infrarrojo a 1270 nm, con detector de germanio. El rendimiento cuantico para la fotólisis medido con el actinometro oxalato de hierro fue de 0.24. En este trabajo también se irradió el medicamento en presencia de vitamina C, azida de sodio y superóxido dismutasa, disminuyendo hasta en un 40% los fotoproductos obtenidos<sup>6, 17</sup>. Se reportaron dos foto productos que fueron caracterizados por IR, RMN<sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C entre los que se incluye uno con pérdida del segmento  $\text{SO}_2\text{NH}_2$  y posterior dimerización (también en ausencia de oxígeno) y el producto de la degradación

fotosensibilizada por oxígeno molecular singulete en el que se propone como centro reactivo al anillo tiodiazol, como se muestra en la Figura 8. Pese a lo anterior, no se tienen suficientes evidencias experimentales que establezcan la naturaleza polar o no de la interacción, pues se presenta de forma general la posibilidad de formación tanto de un intermediario bipolar, como la formación de un biciclo a través de una cicloadición.



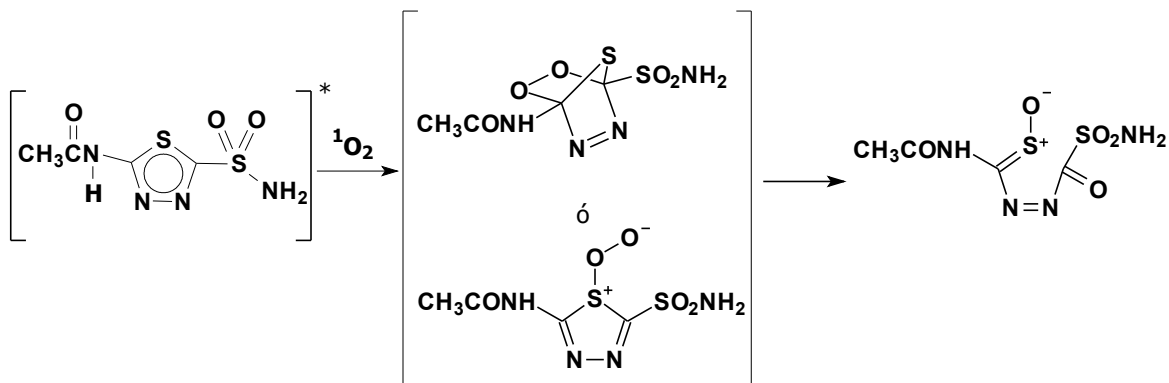
**Figura 8.** Mecanismo de fotodegradación de la acetazolamida.

## 1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los medicamentos sulfas presentan en su estructura química grupos cromóforos capaces de absorber luz en el rango UV-Visible, responsable de las transiciones electrónicas y su consumo conlleva al desarrollo de reacciones fototóxicas, específicamente por la aparición de lesiones en la piel, que van desde inflamaciones locales leves hasta lesiones graves<sup>2, 3, 4</sup>. Estos efectos secundarios por estar en tejidos expuestos a la luz se asocian con la inestabilidad fotoquímica del medicamento, la cual puede derivarse de interacciones tanto de tipo físico (fotosensibilizador) como químico. En el primero de los casos el medicamento absorbe luz y accede a un estado electrónicamente excitado; este retorna a su estado basal transfiriendo energía a otras moléculas potencialmente tóxicas y activando la respuesta del sistema inmunológico<sup>1, 5</sup>.

Para el caso específico de la acetazolamida, uno de los primeros diuréticos utilizados y actualmente empleado para el tratamiento del glaucoma, se ha observado en pacientes que consumen este medicamento el desarrollo de alergias, fotosensibilidad y en general reacciones cutáneas adversas mediadas por luz<sup>1,5,10</sup>. En uno de los productos obtenidos en este proceso de fotodegradación se evidenció la participación del oxígeno molecular singulete, a través del uso actinómetros<sup>6</sup>.

Para esta interacción se propone como centro reactivo al anillo tiodiazol (Figura 9). Sin embargo no hay evidencias experimentales que establezcan la naturaleza polar o no de la interacción, pues una aproximación inicial al estudio del mecanismo, presenta de forma general la posibilidad de formación tanto de un intermediario bipolar, como de un bicitro a través de una cicloadición. Adicionalmente, es interesante analizar si es la acetazolamida excitada o en estado fundamental la que reacciona con el oxígeno molecular singulete, dado que en los experimentos reportados por Vargas y colaboradores se utilizaron filtros que pudieron impedir la irradiación directa de la acetazolamida.



**Figura 9.** Reacción de acetazolamida en estado excitado, con oxígeno molecular singlete

Por lo anterior, dado el riesgo asociado al uso de este medicamento, resultó oportuno contribuir al estudio del carácter fotosensibilizador del medicamento a través de la determinación del rendimiento cuántico en la generación del oxígeno molecular singlete como parámetro de fototoxicidad, con estudios de actinometría<sup>18</sup>. Por otra parte, el estudio del mecanismo de reacción entre el medicamento y el oxígeno excitado, se abordó con metodologías que permitieron contribuir al análisis de la naturaleza del intermediario en la interacción de tipo química, con estudios del efecto del solvente a través de ecuaciones lineales de energía libre LSER<sup>19,20</sup>, en función de la sensibilidad de la reacción frente a cambios de solvente, al emplear parámetros empíricos de polaridad, polarizabilidad, carácter ácido y básico y densidad de energía cohesiva.

Paralelamente también se abordó de forma preliminar, como análisis exploratorio, el estudio teórico de la reactividad de acetazolamida frente a sustratos electrofílicos como el oxígeno excitado, evaluando las tendencias de reactividad local a través de los índices de reactividad de Fuküi<sup>21</sup> a la luz de la Teoría de Funcionales de la Densidad. También se incluyó el análisis topológico de Bader<sup>22</sup> de la Teoría de Átomos en Moléculas, específicamente con el cálculo de los mapas de potencial electrostático, superficies de isotencial y puntos críticos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Evaluar el carácter fotosensibilizador de la acetazolamida, en la generación de oxígeno molecular singulete, como indicador de la fototoxicidad del medicamento y contribuir al estudio del mecanismo de interacción frente al oxígeno excitado.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Evaluar la degradación fotosensibilizada de acetazolamida en condiciones aeróbicas y determinar la ruta de fotodegradación que predomina, de tipo químico o físico.
- Estandarizar las condiciones de trabajo para el seguimiento cinético de la descomposición fotosensibilizada de acetazolamida en estado basal frente al oxígeno excitado.
- Estudiar el efecto del solvente sobre la reactividad de la acetazolamida frente al oxígeno excitado a través de relaciones lineales de energía libre, como contribución al estudio del mecanismo de reacción.
- Determinar para la acetazolamida el rendimiento cuántico en la generación de oxígeno molecular singulete.
- Contribuir al estudio de la interacción de acetazolamida frente al oxígeno excitado, a través del cálculo de descriptores de reactividad local de Fukui y la determinación de algunos parámetros topológicos de la Teoría de Átomos en Moléculas.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Procesos de absorción y emisión

Según la teoría cuántica, todas las especies moleculares poseen un número ilimitado de niveles discretos de energía; el nivel de energía más bajo es el estado fundamental a temperatura ambiente la mayor parte de las moléculas están en este estado. Cuando un fotón en el rango UV/Vis pasa cerca de una molécula es probable que se produzca absorción si (y solo si) la energía del fotón es igual o mayor a la diferencia de energía existente entre el estado fundamental de la molécula y uno de sus estados con nivel superior de energía o estados vibracionales asociados. En estas circunstancias, la energía del fotón es transferida a la molécula promoviéndola a un estado de energía más elevado o estado excitado. La excitación de una especie  $S$  a su estado excitado  $S^*$  puede ilustrarse con la siguiente ecuación<sup>3,4</sup>.

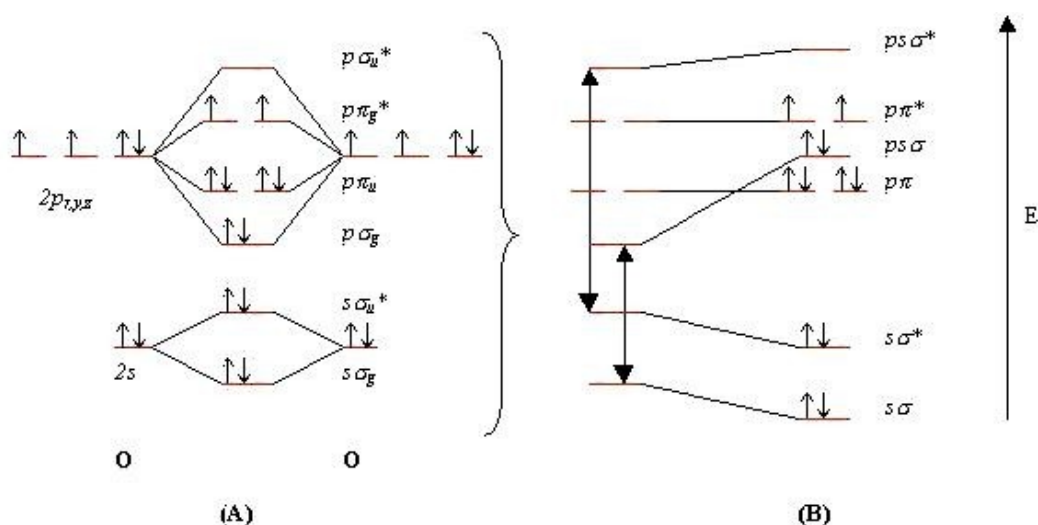


Este exceso de energía y en ausencia de un apagador, puede disiparse a través de procesos tanto radiativos como no radiativos. El primero incluye fenómenos conocidos como fluorescencia y/o fosforescencia y el segundo involucra relajación vibracional, con un aumento de temperatura por colisiones con otros átomos o moléculas del medio. En ambos casos la molécula excitada retorna a su estado basal.

Por otra parte, este proceso de desactivación puede también tener lugar por interacción con otros compuestos con la formación de nuevas especies. Es importante resaltar que el tiempo de vida de  $S^*$  es muy breve, pero en ocasiones suficiente para reaccionar químicamente<sup>1,4</sup>.

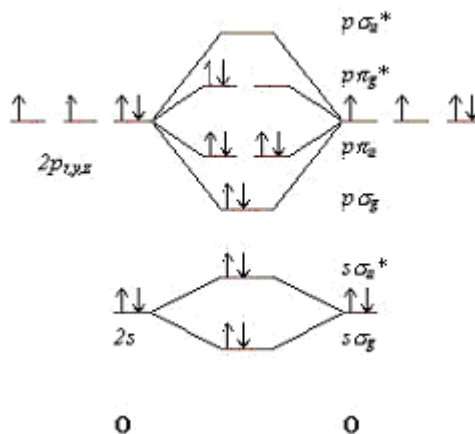
#### 3.2 Oxígeno molecular

El oxígeno en su estado basal, es una molécula paramagnética que posee un carácter diradical, con dos electrones desapareados en orbitales degenerados. Siguiendo la regla de Hund o principio de máxima multiplicidad, es posible determinar que la configuración electrónica de mínima energía para el oxígeno, corresponde a un estado triplete, ( ${}^3\Sigma_g$ ), en donde ambos electrones están con espines paralelos y en orbitales diferentes ( $\pi_x^*2p$ )<sup>1</sup> ( $\pi_y^*2p$ ), como se indica en la Figura 10.



**Figura 10.** Diagrama de energía orbital para el  $O_2$  y distribución electrónica en el estado basal: **(A)** utilizando el modelo CLOA y **(B)** aplicando adicionalmente la hibridación orbital<sup>23</sup>.

De forma similar se pueden determinar los estados electrónicos para el oxígeno excitado más próximos en energía al estado basal y que en notación espectroscópica corresponderían a  ${}^1\Delta_g$  y  ${}^1\Sigma_g$ , respectivamente. En ambos casos la multiplicidad de espín es uno<sup>21</sup>. En la Figura 11 se muestra la distribución electrónica para el primer estado excitado del oxígeno molecular.



**Figura 11.** Diagrama de orbital molecular para el oxígeno molecular singlete  $O_2(^1\Delta_g)$ .

### 3.2.1 Estados electrónicamente excitados del oxígeno molecular.

Los estados electrónicamente excitados del oxígeno molecular son dos especies con multiplicidad singlete. El menos estable  $^1\Sigma_g$  (37.5 kcal) y el  $^1\Delta_g$  (22.4 kcal), el primer estado excitado singlete, presenta sus electrones con espines opuestos en el mismo orbital.<sup>24</sup>

Justamente esta especie excitada del oxígeno molecular  $O_2(^1\Delta_g)$ , ha despertado especial interés tanto por su participación en procesos dañinos (fotoalergias, fototoxicidad)<sup>1,5</sup>, como benéficos: terapia fotodinámica en el tratamiento del cáncer<sup>3</sup>, purificación de sangre<sup>25</sup>, inactivación de Virus<sup>26</sup>, descontaminación de aguas<sup>27</sup>, y purificación de aceites<sup>28</sup>, entre otros. También se ha estudiado su intervención en un amplio rango de reacciones con sustratos orgánicos entre las que se destacan las reacciones de fotooxidación sensibilizadas.<sup>29</sup>

En general puede observarse que las transiciones a los primeros estados excitados son débiles y de baja intensidad y aún cuando son permitidas por el momento dipolar magnético, no cumplen las reglas de selección al ser prohibidas por el momento dipolar eléctrico y por espín, sin embargo, es posible observarlas



en la región del espectro visible ( ${}^1\Sigma_g \leftarrow {}^3\Sigma_g$  762 nm = 37.5 Kcal mol<sup>-1</sup>) y en la región infrarroja ( ${}^1\Delta_g \leftarrow {}^3\Sigma_g$  1268 nm = 22.5 Kcal mol<sup>-1</sup>), debido a otros factores, como son el acoplamiento espín-orbital y perturbaciones de la simetría molecular<sup>22</sup>.

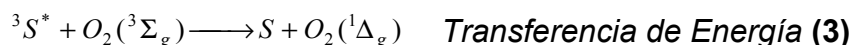
Los procesos de desactivación para ambos estados excitados del oxígeno molecular,  ${}^1\Delta_g$  y  ${}^1\Sigma_g$ , también son prohibidos por espín, presentando tiempos de vida radiativa en fase gaseosa de 65 minutos y 10 segundos, respectivamente. En fase condensada el tiempo de vida de ambas especies disminuye considerablemente, debido a la interacción con el medio lo que se refleja en tiempos de vida en el rango de los  $\mu s$  para el  $O_2({}^1\Delta_g)$  y de los  $ns$  para  $O_2({}^1\Sigma_g)$ . Este factor es determinante en las diferencias de reactividad de los primeros estados excitados del oxígeno molecular, pues el tiempo de vida radiativo del oxígeno molecular singulete  $O_2({}^1\Delta_g)$ , relativamente largo favorece su interacción con otras especies químicas, mientras que el segundo estado excitado,  $O_2({}^1\Sigma_g)$ , aún cuando posee mayor energía 37.5 Kcal mol<sup>-1</sup>, se desactiva muy rápidamente al primer estado singulete, limitando su participación a procesos altamente reactivos.<sup>24</sup>

En general, es posible señalar que el oxígeno molecular singulete  $O_2({}^1\Delta_g)$ , podrá participar en una serie de reacciones que son prohibidas por espín para el oxígeno  ${}^3\Sigma_g$ , al mismo tiempo, su carácter diamagnético lo diferencia ampliamente del oxígeno en estado basal, pues este último posee la reactividad propia de una especie dirradicálica.<sup>24</sup>

### 3.2.2 Generación de $O_2({}^1\Delta_g)$ en solución

Uno de los procedimientos utilizados en la generación del oxígeno molecular singulete es la fotosensibilización. En este proceso una molécula es excitada por la absorción de un fotón y de haber solapamiento entre las superficies de energía potencial en algunos de sus niveles vibracionales, puede transitar por cruce entre sistemas<sup>24</sup>, al primer estado excitado triplete (Ecuación 2), estado excitado desde

el cual puede transferir la energía al estado basal del oxígeno molecular (Ecuación 3) o decaer por colisiones con el medio (Ecuación 4). Aquí, los tiempos de vida de los estados excitados del sensibilizador juegan un papel muy importante.



Adicionalmente, hay que considerar el hecho de que la interacción entre el estado triplete del oxígeno molecular en estado basal  $O_2({}^3\Sigma_g)$  y el estado triplete del sensibilizador, se ve favorecida por no presentar la prohibición de espín al conducir a dos especies de multiplicidad singulete con la respectiva conservación de espín total.

Adicionalmente, en la elección de un buen sensibilizador, deben considerarse aspectos energéticos. El cambio energético que acompaña la transición del estado triplete al basal del sensibilizador,  $\Delta E$  ( ${}^3S^* \rightarrow S$ ), debe ser mayor que los requerimientos energéticos para la transición al oxígeno molecular singulete  ${}^3\Sigma_g \rightarrow {}^1\Delta_g$  (22.5 Kcal mol<sup>-1</sup>), de otra forma, la interacción se restringiría a un decaimiento del estado excitado del sensibilizador por colisiones con el medio (Ecuación 4).

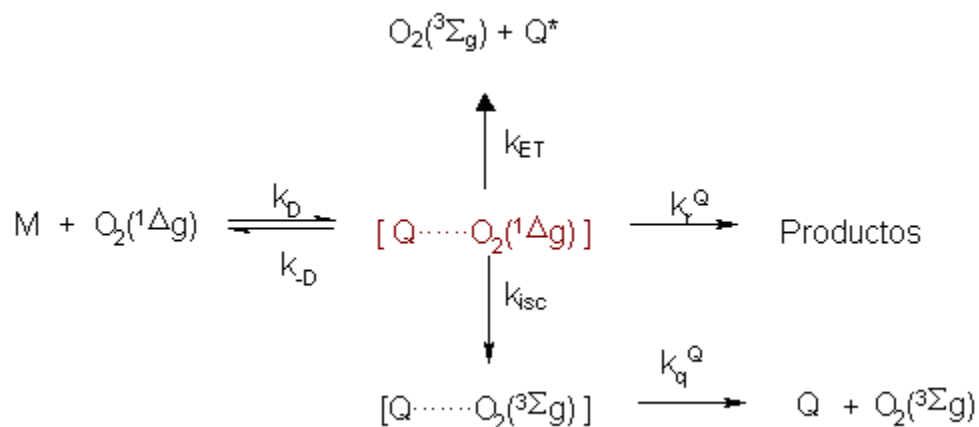
En consecuencia, el compuesto elegido como sensibilizador debe presentar un alto rendimiento cuántico en la formación de estados triplete  $\Phi_T$ , con tiempos de vida del triplete,  $\tau_T$ , lo suficientemente largos, que permitan interacción con el oxígeno molecular. Adicionalmente, el sensibilizador debe poseer un alto coeficiente de extinción ( $\epsilon$ ) a la longitud de onda del experimento y una baja tendencia a reaccionar, esto último para evitar su consumo durante el proceso de fotosensibilización ya que pueden desencadenarse reacciones no deseadas<sup>30</sup>.

### 3.2.3 Desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ por interacción con sustratos reactivos

La eficiencia con que un sustrato desactiva al oxígeno excitado, está fuertemente influenciada por el tiempo de vida del  $O_2(^1\Delta_g)$  en el medio. Estas reacciones en su mayoría no están controladas por procesos de transporte de masa en consecuencia, la extensión de la reacción depende tanto de la concentración estacionaria de  $O_2(^1\Delta_g)$  en el sitio de reacción, como de la constante de velocidad para la reacción bimolecular.

#### 3.2.3.1 Mecanismos de desactivación del $O_2(^1\Delta_g)$ .

La desactivación del oxígeno excitado puede darse a través de un proceso de transferencia de energía desde el oxígeno excitado a una molécula de soluto en estado basal ( $k_{ET}$ ), dando lugar a la formación del estado triplete excitado del soluto, con el respectivo decaimiento al estado basal del oxígeno molecular. Es posible que la interacción entre oxígeno molecular singulete y un sustrato reactivo de lugar a la formación de un complejo de transferencia de carga, que puede evolucionar hacia la formación de productos ( $k_r^Q$ ) o, por cruce entre sistemas, hacia la desactivación física ( $k_q^Q$ ), obteniendo en el último de los casos, las dos moléculas en estado basal (Figura 12). Así, el decaimiento del oxígeno molecular singulete puede darse a través de caminos competitivos, cuya constante total en presencia de un apagador  $Q$ ,  $k_r^Q$  es la sumatoria de los procesos físicos  $k_q^Q$  y químicos  $k_r^Q$ . Grupos ricos en electrones, como aminas, fenoles, ion superóxido y sulfuros, reaccionan con el oxígeno molecular singulete mediante este esquema de reacción<sup>31</sup>.

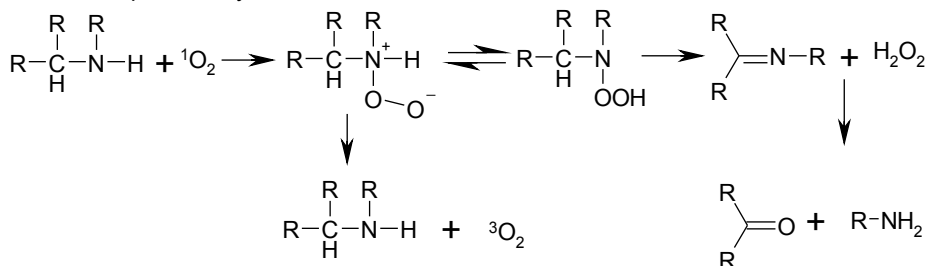


**Figura 12.** Esquema general de desactivación del  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$  por un sustrato Q.

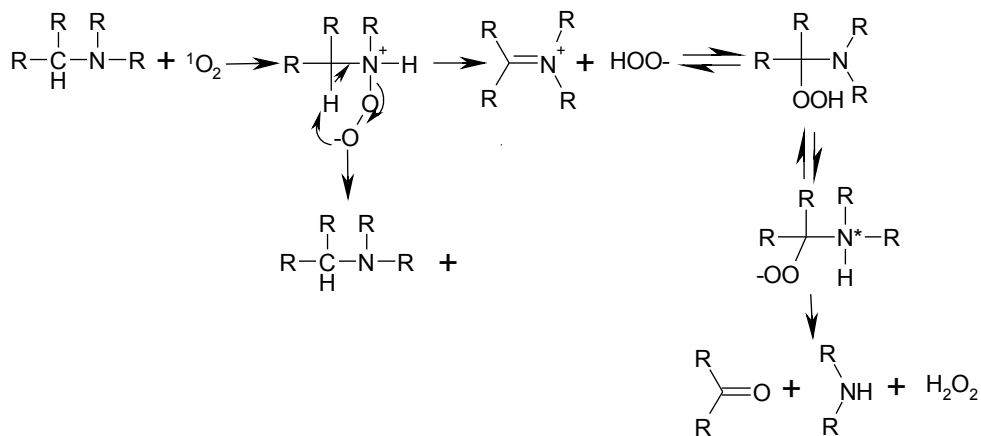
### 3.2.3.2 Reacción del $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ con aminas

El mecanismo de oxidación fotosensibilizada de aminas, ha sido investigado ampliamente. Algunos estudios cinéticos realizados por los grupos de Ogryzo<sup>32</sup> y Young<sup>33</sup> proponen a principio de los 70, que la desactivación del oxígeno singulete por aminas procedía a través de un complejo de transferencia de carga, pues observaron disminución de la constante de velocidad para la desactivación del  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ , al aumentar el potencial de ionización de la amina, donde  $k_{\text{T}}$  (terciaria) >  $k_{\text{T}}$  (secundaria) >  $k_{\text{T}}$  (primaria). La evolución de este intermediario depende fundamentalmente de la estructura de la amina (Figura 13). Cuando el sustrato corresponde a aminas primarias o secundarias y posee hidrógenos en posición  $\alpha$ , se produce su abstracción intramolecular, la eliminación de peróxido de hidrógeno, con posterior formación de imino-derivados. En el caso de las aminas terciarias, el producto primario sería una hidroperoxiamina, que evolucionaría posteriormente para dar la cetona y la amina correspondientes.

1. Aminas primarias y secundarias



2. Aminas terciarias



**Figura 13.** Desactivación del  $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$ , por aminas.

Diversos autores han estudiado el efecto solvente sobre la reacción de oxígeno excitado con aminas<sup>34</sup>. Específicamente las aminas terciarias disminuyen en forma muy significativa su reactividad hacia el  $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$ , cuando el medio cambia de solventes polares apróticos, como diclorometano o acetonitrilo, a solventes polares próticos, como metanol. Esto muestra que el rol del solvente es más complejo que una simple estabilización del intermediario de transferencia de carga mediante interacciones polares o dipolares y que deben considerarse otras propiedades del solvente (p. ej. su carácter ácido). Estudios mediante ecuaciones LSER reportados por Zanocco y col.<sup>35</sup>, para la reacción de  $\text{O}_2({}^1\Delta_g)$  con trietilamina en un amplio conjunto de solventes, muestran que la velocidad de esta reacción disminuye en solventes con un fuerte carácter dador de hidrógenos debido al impedimento estérico que se produce por la interacción del solvente con el centro reactivo (el nitrógeno amínico) y aumenta en solventes que poseen valores altos

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

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

Las reacciones de adición de oxígeno molecular singlete a compuestos aromáticos y en especial aquellos con anillos fusionados como naftalenos, antracenos y naftalenos, presentan típicamente reacciones de cicloadición [4+2], a través de la formación de intermediarios endoperóxidos, con un moderado efecto del solvente.



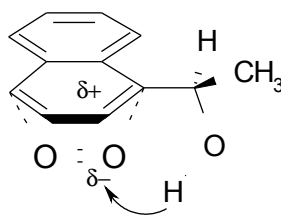
**Figura 14.** Reacción de adición del  $O_2(^1\Delta_g)$  al 1,4-dimetilnaftaleno.

La reacción entre el dieno 1,4-dimetilnaftaleno (1,4-DMN), con el oxígeno excitado (Figura 14)<sup>36</sup>, muestra una dependencia de la habilidad del solvente para estabilizar cargas o dipolos y de su densidad de energía cohesiva. Para esta reacción, el cambio de solvente de ciclohexano a formamida produce un incremento en la constante de velocidad de dos órdenes de magnitud. El análisis de la dependencia de la constante de velocidad con los parámetros empíricos del solvente empleando ecuaciones lineales de energía libre de solvatación, LSER, ha sido expresada en la siguiente ecuación.<sup>36</sup>

$$k_T = 2.62 + 0.07\rho_H^2 + 1.18\pi^* \quad (5)$$

Estos resultados, son compatibles con la formación de un complejo de encuentro en el que se produce transferencia parcial de carga y cuyo volumen es menor que el de los reactantes por separado, típico de las reacciones concertadas. A partir de estudios teóricos, se ha propuesto que primero se produce exciplex tipo Diels Alder que progresa hacia la formación un complejo de transferencia de carga. La reacción de adición del  $O_2(^1\Delta_g)$  sobre compuestos derivados del antraceno, ocurre específicamente sobre las posiciones 9 y 10, sin embargo, la presencia de sustituyentes dadores de electrones en las posiciones 1 y 4, dirige el ataque hacia estas posiciones, situación análoga a lo que se observa cuando el sustrato corresponde a naftalenos sustituidos<sup>36</sup>.

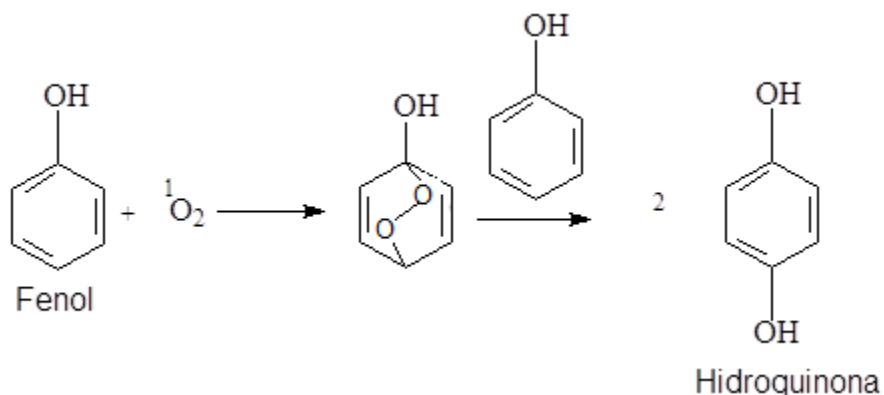
Por otra parte, se han realizado algunos estudios sobre el efecto del sustituyente en la reacción del oxígeno molecular singulete con algunos derivados quirales del naftaleno.<sup>37</sup> Los resultados obtenidos por estos autores, muestran que la reacción es altamente estereoespecífica, en presencia de sustituyentes  $CH_2OH$  y  $CH_2CH_2OH$  en posición 1, evidenciando la formación de un puente de hidrógeno entre el sustituyente al anillo y el oxígeno polarizado negativamente, que estabiliza el complejo de encuentro, previo a la formación del endoperóxido, tal como se muestra en la Figura 15.



**Figura 15.** Endoperóxido formado en reacciones de cicloadición [4+2] del  $O_2(^1\Delta_g)$  a derivados quirales del naftaleno.

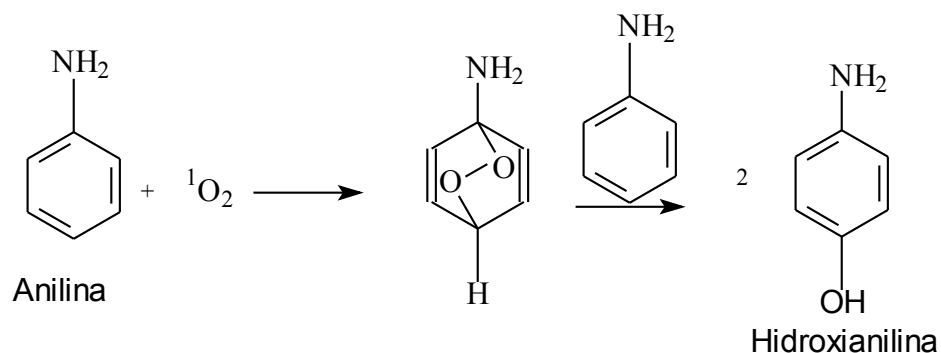
Otros estudios previos sobre la *parahidroxilación* selectiva de fenol con  $O_2(^1\Delta_g)$ <sup>38</sup>, señalan que el fenol es hidrolizado selectivamente para formar hidroquinona, donde las posiciones *orto* y *meta* se producen en cantidad menor del 0.1%. Del

mismo modo los autores establecieron que este tipo de reacciones no involucran radicales HO·, lo que se demuestra por la carencia de efecto en alcoholes como el 2-propanol y la exclusiva formación de hidroquinona en un sistema a partir de fenol. El mecanismo para la reacción entre el fenol y el  $O_2(^1\Delta_g)$ , se muestra en la siguiente figura.



**Figura 16.** Mecanismo de reacción de fenol con  $O_2(^1\Delta_g)$

El mismo comportamiento fue determinado para la anilina la cual al reaccionar con  $O_2(^1\Delta_g)$ <sup>38</sup> presenta formación de un intermediario peróxido con formación selectiva del *p*-aminofenol (Figura 17).



**Figura 17.** Mecanismo de reacción de la anilina con  $O_2(^1\Delta_g)$

Las reacciones del oxígeno molecular con los compuestos orgánicos estudiados se pueden agrupar en cinco categorías que incluyen las adiciones 1,4 a dienos



conjugados, adiciones 1,2 a olefinas ricas en electrones, reacciones tipo ene a olefinas, reacciones de oxidación de sulfuros a sulfoxidos y oxidación fotosensibilizada de fenoles a hidroxidienos. Los compuestos aromáticos con dobles enlaces conjugados con heteroátomos incluso heterocíclicos presentan cicloadiciones 1,4, con el oxígeno excitado. En esta reacción el oxígeno actúa como dienofilo y el sistema conjugado como dieno, conduciendo a la formación de anillos de 6 miembros o 1,4 endoperoxidos. El tiofeno y derivados aromáticos con otros heteroátomos, también, presentan esta tendencia y su reactividad se ve incrementada con sustituyentes electrón dadores especialmente en posición 1,4<sup>57</sup>.

### **3.3 Efecto del solvente**

Las interacciones entre diferentes especies químicas pueden verse alteradas por las características del medio, por lo tanto no hay un solo parámetro que mida o refleje todas las características del solvente, por lo que se hace necesario el empleo de modelos multivariados que correlacionen las propiedades macroscópicas del medio. Estos modelos nos permiten el análisis en paralelo de los resultados cinéticos en función de los parámetros microscópicos del solvente y reconocer las interacciones específicas soluto-solvente que tienen lugar para cada especie molecular.

En los estudios cinéticos, los cambios en velocidad de las reacciones químicas y/o interacciones intermoleculares dependen de las características del solvente, reflejando la contribución de las propiedades del medio a las interacciones a nivel molecular de las especies que reaccionan. Como por ejemplo la reacción del oxígeno molecular singulete con sustratos reactivos, a través del efecto del solvente<sup>39</sup>.

Así, el efecto del solvente sobre la velocidad de una reacción puede relacionarse con la estabilización que ejerce el solvente sobre los reactivos y estado de

transición o complejo de encuentro específicamente, en la etapa que controla la velocidad de la reacción. Si los reactivos presentan una mayor separación de carga, relativa al complejo de encuentro, serán más estabilizados en presencia de un solvente más polar, por lo tanto, aumentará la energía de activación, disminuyendo la velocidad de reacción. Por otra parte, si es mayor el momento dipolar en el complejo de encuentro, su estabilización en solventes polares será mayor que la de los reactivos, lo que hace predecible un aumento en la velocidad de reacción.

Debido a la complejidad de las interacciones soluto–solvente, se han empleado recurrentemente relaciones lineales de energía libre de solvatación, LSER, utilizando ecuaciones multiparamétricas que relacionan los datos cinéticos con parámetros empíricos que describen las propiedades microscópicas del solvente y permiten reconocer la naturaleza de las interacciones entre las especies involucradas en una reacción. Uno de los modelos LSER más utilizados, y que se emplea en el presente trabajo corresponde a la ecuación propuesta por Kamlet, Abboud, Abraham y Taft<sup>40</sup>.

$$\log k_T = \log k_{T,O} + s(\pi^* + d\delta) + a\alpha + b\beta + h\rho_H^2 \quad (6)$$

donde  $k_T$  y  $k_{T,0}$  son las constantes de velocidad de la reacción en presencia de un solvente dado y en un solvente de referencia, respectivamente. Los coeficientes  $s$ ,  $d$ ,  $a$ ,  $b$  y  $h$ , dan cuenta de la sensibilidad de la reacción a cada parámetro ( $\pi^*$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\rho_H^2$ ), y cada parámetro hace referencia a alguna propiedad específica del medio, por ejemplo el parámetro  $\pi^*$  tiene su origen en la transición transferencia de carga de un electrón dador a un electrón aceptor conjugados a través de un anillo (sistema) aromático y refleja que tanto el efecto inductivo como las interacciones de tipo electrostático son proporcionales al momento dipolar molecular. El valor  $\delta$  es un factor de corrección de polarizabilidad y es función del índice de refracción. La escala  $\alpha$  de acidez, es una medida de la habilidad del solvente para donar puentes de hidrógeno y la escala  $\beta$  de basicidad, se relaciona con la capacidad del solvente para aceptar puentes de hidrógeno o donar pares de electrones libres. El término  $\rho_H^2$ , parámetro de solubilidad de Hildebrand o densidad de energía cohesiva, se asocia a cambios en el volumen de las especies involucradas en la expresión cinética y es de importancia en reacciones concertadas<sup>40</sup>.

### 3.4. Ley De Lambert Beer.

La cantidad de radiación absorbida por una muestra se expresa mediante la ley de Beer-Bouguer- Lambert comúnmente conocida como Ley de Beer, que relaciona la absorbancia de una muestra con la concentración de la misma, y está dada por la siguiente relación:  $A = \epsilon_\lambda b c$ .  $A$  es la medida de la absorbancia,  $\epsilon_\lambda$  es el coeficiente de extinción molar con unidades de  $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , el subíndice  $\lambda$  hace referencia a la longitud de onda en la que se efectúa la medida,  $b$  es la longitud de la celda en cm y  $c$  es la concentración molar de la especie absorbente<sup>41</sup>.

### 3.5. Cálculos teóricos

Los índices de reactividad local de Fukuy nos permiten analizar cuales átomos en la molécula presentan mayores variaciones de la densidad de carga luego de interactuar con una especie electrofílica como el oxígeno excitado. Cuya aproximación se basa en que la llegada de un electrón al LUMO del electrófilo, modifica principalmente la densidad electrónica del orbital ocupado de más alta energía, HOMO, sin afectar la densidad electrónica del *core*. Esto es, la variación en la densidad electrónica del orbital de frontera  $\alpha$  (HOMO o LUMO según se analice su carácter electrofílico o nucleofílico), frente al cambio en el número de electrones, como función de la coordenada de reacción.

La función de Fukui es expresada como la variación de la densidad de carga con la variación del número de electrones<sup>49</sup>.

$$f(r) = \left( \frac{\partial \phi(r)}{\partial N} \right)_r \equiv |\phi_{\alpha(r)}|^2 \quad (7)$$

Así, la función de Fukui permite estimar los sitios activos de una molécula, y la reactividad específica de ciertos átomos o grupos funcionales en ella; esta puede ser definida mediante la ecuación (8) como la sensibilidad del potencial químico frente a una perturbación externa en un punto particular  $r$ , en un sistema químico de  $N$  electrones ó como en la ecuación (9), en donde se expresa por medio de la derivada de la densidad electrónica  $\rho(r)$  con respecto a los electrones totales  $N$  del sistema, cuando el potencial que actúa sobre ellos es constante,  $v(r)$ .

$$f(r) = \left[ \frac{\partial \mu}{\partial v(r)} \right]_N \quad (8)$$

$$f(r) = \left[ \frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right]_{v(r)} \quad (9)$$

Yang and Portier<sup>50</sup> en 1986 introducen la forma condensada de la función de Fukui a través de la aproximación de diferencias finitas, para solucionar la discontinuidad

del potencial químico  $\mu(N)$ , donde  $\mu(N)$  es una función de paso, constante entre saltos para valores enteros de N. Si se analiza la susceptibilidad al ataque electrofílico, esta podría expresarse como:

$$f_k^- \approx \rho_{N_0}(r) - \rho_{N_0-1}(r), \quad \Delta N < 0 \quad (10)$$

Así, haciendo el cambio a cargas y teniendo en cuenta que  $\Delta N = -1$ , la ecuación anterior quedaría:

$$f_k^- \approx q_k(N-1) - q_k(N) \quad (11)$$

donde  $q_k(N)$  es la carga evaluada sobre el átomo  $k$  de la molécula que contiene N electrones y  $q_k(N-1)$ , la carga sobre el átomo  $k$  de la molécula con (N - 1) electrones en su capa externa. Estos términos se evalúan a través de procedimientos que involucran la Teoría de Orbital Molecular como el análisis de cargas naturales, NBO.

Por otra parte la teoría de átomos en moléculas (AIM) de Bader permite relacionar la densidad electrónica experimental y teórica con los conceptos químicos. El análisis AIM se basa en el estudio de la densidad total de los puntos críticos y del laplaciano de la densidad ( $\Delta^2_r$ ) en el punto crítico. La densidad electrónica según Bader es la manifestación física de las fuerzas que actúan dentro del sistema. El punto dominante del análisis topológico de la densidad de carga viene dado por la aparición de máximos locales en las posiciones de los núcleos atómicos como consecuencia de las fuerzas atractivas entre los electrones y el núcleo. Estos máximos son puntos críticos en los que las primeras derivadas de la densidad son cero y la curvatura de la densidad electrónica es negativa en todas direcciones. Otros puntos críticos en los que su primera derivada, pero de signo diferente a la curvatura, aparecen máximos de densidad entre los átomos en los centros de anillos y en los mínimos locales<sup>51</sup>.

Específicamente, los puntos críticos de anillo y de enlace entre átomos que no presentan interacciones enlazantes a través de enlaces covalentes, se interpreta como interacciones atractivas como los puentes de hidrógenos.

## 4 MATERIALES

### Solventes

Todos los solventes utilizados fueron grado espectroscópico o HPLC: metanol, etanol, butanol, 1 propanol, 2propanol, terbutanol, pentanol, hexanol, acetona, benceno, cloroformo y eter fueron adquiridos de *JT Baker*, diclorometano, dioxano y acetonitrilo de *Mallinckrodt*, ácido fórmico de *Merck* y dietilamina de *Aldrich*. Todos los solventes fueron utilizados sin purificación previa.

### Reactivos

El sensibilizador rubreno y los actinómetros 1,3-difenilisobenzofurano (1,3 DPBF) y 9,10-dimetilantraceno (9,10DMA) obtenidos de *Aldrich*, la rosa de bengala fue adquirida de *Fluka*, los buffers fosfato y acetato en *Aldrich*, y la Acetazolamida con una pureza del 99% de *Sigma*. Estos también se utilizaron sin tratamientos previos.

## **4 INSTRUMENTACIÓN**

### **4.1 Espectroscopía de absorción Ultravioleta-Visible**

Los espectros de absorción en el ultravioleta visible (190-800nm) fueron medidos en un espectrofotómetro Perkin Elmer lambda 35.

## **5.2 Cromatografía**

### **5.2.1 Cromatografía de gases**

Se realizaron algunos ensayos preliminares con el propósito de evidenciar si los productos de reacción pudieran ser identificados a través del Cromatografía de gases, en un cromatógrafo Agilent 5973 acoplado a espectrómetro de masas.

## **5 Cromatografía líquida de alta presión, con detector de arreglo de diodos**

Para el seguimiento del consumo de Acetazolamida en la reacción con el oxígeno excitado (medidas cinéticas para las constantes químicas), se usó cromatógrafo HPLC Agilent 1100 con columna Agilent hipersil BD5 C18 de 4 X 125 mm, 5  $\mu$ m. Los datos fueron adquiridos desde un computador HP 54 bajo Windows.

### **5.2.3 Cromatografía líquida de alta presión acoplada a masas**

Para la evaluación preliminar del medicamento se utilizó un equipo de HPLC acoplado a un espectrómetro de masas tipo cuadrupolo marca Agilent serie 1200 modelo VL con fuentes de ionización electrospray (ESI) o APCI y un HPLC modo analítico o nanoflow acoplado a un espectrómetro de masas tipo Trampa de Iones marca Agilent modelo SL serie 6300 con fuentes de ionización ESI, APCI o NANOESI.

## **5.2 Fusiometro**

También como paso preliminar en la extracción de acetazolamida desde el medicamento comercial, se verificó la obtención de la base libre midiendo el punto de fusión en un equipo marca Büchi de 110~50 volt, 230 watt.

## **5.4 PHmetro**

Las medidas de pH fueron realizadas en un pHmetro Schott Instruments.

## **5.5 Baño termostatzado**

Para controlar la temperatura en los procesos cinéticos, se empleo un termóstato de enfriamiento marca Lauda.

## **5.6 Cálculos Teóricos**

El cálculo de los índices de Fukui fue realizado mediante el análisis de población Natural (NBO) en fase gaseosa, utilizando cálculos semiempíricos, bajo la teoría de Hartree-Fock (HF) y los funcionales de la densidad (DFT) con método B3LYP, empleando un conjunto de bases 6-311G\* . El análisis conformacional de la estructura optimizada se realizó en el Gaussian 03.



Los cálculos de puntos críticos y superficies de isopotencial electrostático de la Teoría de Átomos en Moléculas de Bader se realizaron con software PC Gammes, versión mayo del 2009.

## **6. METODOLOGÍA**

### **6.1 Caracterización acetazolamida.**

La pureza del medicamento se verificó mediante la determinación del punto de fusión, espectroscopia de absorción Ultravioleta-Visible por comparación con el espectro del compuesto reportado en la literatura y por HPLC-masas<sup>43, 44</sup>. No fue posible obtener el análisis por cromatografía de gases debido a su alto punto de ebullición<sup>45</sup>.

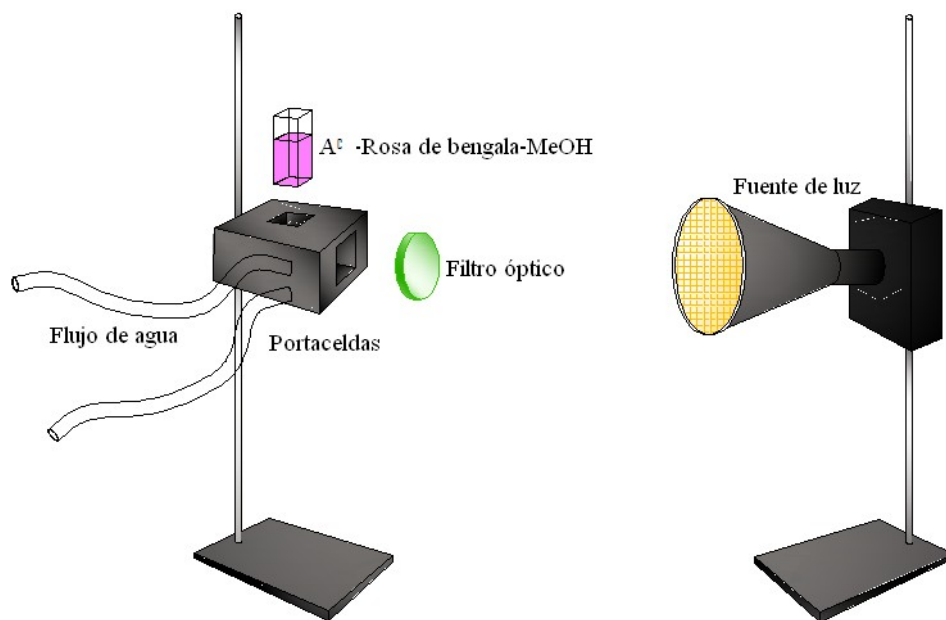
### **6.2 Determinación de la constante de velocidad total entre acetazolamida y $O_2(^1\Delta_g)$** <sup>46</sup>

Para determinar las constantes de velocidad de reacción entre el oxígeno molecular singulete y acetazolamida, en algunos solventes, se empleó el método de irradiación en estado estacionario, generando el  $O_2(^1\Delta_g)$  por transferencia de energía desde un sensibilizador en estado triplete, que es excitado por una fuente

de luz, donde la concentración de esta especie intermediaria permanece constante

en el tiempo:  $\frac{\partial [^1O_2]}{\partial t} = 0$

Se procedió inicialmente a irradiar la solución de acetazolamida en presencia de rosa de bengala como sensibilizador, en una celda de 1 cm de paso óptico provista de porta celdas termostatazido y utilizando como fuente de irradiación lámpara halógena de 90 W y un filtro óptico con longitud de corte en 400 nm, que permite irradiar selectivamente al sensibilizador, a una distancia de 6 cm de la fuente, como se muestra en la Figura 18.

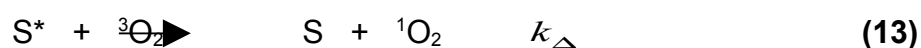


**Figura 18.** Montaje para la irradiación del sistema acetazolamida-rosa de bengala-metanol.

Utilizando las mismas condiciones experimentales, se determinó la concentración estacionaria de oxígeno molecular singulete por actinometría, empleando como sustrato aceptor de oxígeno singulete el 9,10-dimetilantraceno (DMA). El seguimiento del consumo del actinómetro se realiza por espectrofotometría UV-

Vis a  $\lambda$  de máxima absorción del actinómetro. En ambas soluciones se equilibró la absorbancia del sensibilizador (igual absorbancia).

A continuación, se indican las interacciones involucradas en la generación del  $O_2(^1\Delta_g)$  por transferencia de energía desde un sensibilizador en estado excitado y su decaimiento por interacción con sustratos reactivos como acetazolamida y el actinómetro.



### 6.3. Determinación de las constantes de velocidad, para la reacción Química<sup>47</sup>.

La constante de velocidad para la reacción química entre el oxígeno molecular singlete y la acetazolamida se determinó a través de experimentos en estado estacionario, siguiendo el consumo de Acetazolamida por HPLC con detector de arreglo de diodos. La fase móvil conformada por etanol y metanol (75:25, v/v), a temperatura ambiente, con una velocidad de flujo de 0.75 ml/min. El seguimiento se realizó a 264 nm y 559 nm, y como referencia se utilizó señal a 650 nm.

La velocidad de consumo de  $O_2(^1\Delta_g)$  por el sustrato reactivo acetazolamida se ajustó a la siguiente ecuación:

$$v = -\frac{\partial[A]}{\partial t} = k_r^A [{}^1O_2][A] \quad (19)$$

Bajo condiciones de iluminación estacionaria, la concentración de  $O_2({}^1\Delta_g)$  es constante, por lo cual la Ecuación 19 se puede escribir como un proceso de pseudo-primer-orden:

$$-\frac{\partial[A]}{\partial t} = k_{\text{exp}} [A] \quad \text{donde: } k_{\text{exp}} = k_r^A [{}^1O_2] \quad (20)$$

Reorganizando los términos de la Ecuación 20 e integrando, podemos obtener la ecuación de una línea recta cuya pendiente será  $k_{\text{exp}}$

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = k_{\text{exp}} t \quad (21)$$

En esta ecuación,  $[A]_0$  corresponde a la concentración inicial del sustrato reactivo acetazolamida o en su defecto del actinómetro 9,10-dimetilantraceno, y  $[A]$  a la concentración en un tiempo  $t$ .

Para calcular el valor de la constante de velocidad para la reacción química,  $k_r^{AC}$ , se plantea el mismo sistema de ecuaciones para la acetazolamida y el DMA, y se halla la relación de ambas constantes:

$$k_{\text{exp}}^{AC} = k_r^{AC} [{}^1O_2] \quad \text{y} \quad k_{\text{exp}}^A = k_r^A [{}^1O_2] \quad \text{entonces} \quad (22)$$

$$\frac{k_{\text{exp}}^{AC}}{k_{\text{exp}}^A} = \frac{k_r^{AC} [{}^1O_2]}{k_r^A [{}^1O_2]} \Rightarrow \frac{k_{\text{exp}}^{AC}}{k_{\text{exp}}^A} = \frac{k_r^{AC}}{k_r^A} \quad (23)$$

En la Ecuación 23 el cociente  $\frac{k_{\text{exp}}^{AC}}{k_{\text{exp}}^A}$  es obtenido a partir de los datos experimentales y la  $k_r^A$  se toma de datos reportados en la literatura a la misma temperatura de trabajo<sup>40</sup>. Así, es posible despejar el valor de  $k_r^{AC}$ .

Los datos obtenidos se ajustaron a una cinética de pseudo-primer orden, donde la pendiente es la constante de velocidad experimental ( $k_{\text{exp}}$ ) e incluye la concentración estacionaria del  $O_2(^1\Delta_g)$ .

#### 6.4 Determinación del rendimiento cuántico en la generación de $O_2(^1\Delta_g)$

En la determinación del  $\phi_{\Delta}$  por parte de la acetazolamida, con métodos de iluminación en estado estacionario, se comparan las velocidades de consumo de un actinómetro eficiente aceptor de  $O_2(^1\Delta_g)$  de rendimiento cuántico conocido en el solvente de trabajo, en presencia de un sensibilizador de referencia y el compuesto en estudio. El 9, 10-DMA es utilizado como sustrato reactivo y su reacción con el oxígeno molecular singulete se ajusta a una cinética de orden uno. En este caso el seguimiento de la reacción se hace por espectrofotometría de absorción UV-Vis, graficando la absorbancia del 9,10-DMA 264 nm en función del tiempo. La pendiente de este gráfico será la constante de velocidad experimental  $k_{\text{exp}}(S')$  ó  $k_{\text{exp}}(AC)$  según se utilice el sensibilizador de referencia o la acetazolamida. La razón entre estas constantes de velocidad corresponde a la razón de los rendimientos cuánticos (de  $\phi_{\Delta}^{AC}$  en función del  $\phi_{\Delta}^{S'}$ ) cuando los experimentos se realizan bajo las mismas condiciones. En estos experimentos, se utiliza como fuente de irradiación una lámpara de mercurio, con un sistema de filtros ópticos, para excitar la muestra selectivamente con la línea de 264 nm.<sup>24, 30</sup>

$$\phi_{\Delta}^{AC} = \phi_{\Delta}^{S'} \frac{k_{\text{exp } AC}}{k_{\text{exp } S'}} \quad (24)$$

## 6.5 Análisis del efecto del solvente

Los estudios del efecto del solvente sobre las constantes de velocidad  $k_T$ , para la reacción total entre el oxígeno singulete y la acetazolamida se realizaron en términos de ecuaciones lineales de energía libre LSER<sup>40</sup>.

Los coeficientes de las ecuaciones multiparámetricas (Ecuación 6), fueron obtenidos mediante análisis de correlación multivariado de la dependencia de la velocidad de reacción con los parámetros del solvente empleando el programa estadístico R. Inicialmente se realizó un análisis exploratorio para verificar que no hay una relación lineal entre las variables, es decir, para garantizar la elección de variables linealmente independientes. Las ecuaciones de correlación incluyen la aplicación de criterios estadísticos, como a) los coeficientes de los descriptores aceptados en la correlación deben tener un nivel de significancia  $\geq 0.95$  (estadística-t grande,  $P$  (2-tail)  $< 0,05$ ); b) el parámetro  $F$  el cual tiene como propósito medir los grados de libertad de cada uno de los datos, entre mas datos obtenidos mas grados de libertad se obtienen y c) el cuadrado del coeficiente de correlación lineal<sup>48</sup>. Adicionalmente se evaluó el modelo lineal con el gráfico de los residuales.

La significancia estadística cuando el valor de  $F$  es grande, la variable menos significativa es eliminada. c) coeficiente de correlación  $r$  igual o mayor que 0,90 (variancia,  $r^2 > 0,80$ ); y d) tamaño de la muestra, debido a que por cada parámetro se recomienda un mínimo de 3 solventes, evitando disminuir los grados de libertad del modelo.

En resumen, el tamaño de la muestra ( $N$ ), el coeficiente de correlación ( $r$ ), la desviación estándar ( $SD$ ) y el índice de confiabilidad de la ecuación de Fisher ( $F$ ) dan cuenta de la calidad de la ecuación de correlación. La confiabilidad de cada

término es determinada por la estadística, una buena calidad de la ecuación implica que debe tener valores grandes de N, F y t-stat, valores pequeños de SD y valores de r cercanos a uno.

Paralelamente se comparan los resultados obtenidos entre  $k_T^{AC}$  y  $k_r^{AC}$  para ver cual ruta predomina en la interacción de  $O_2(^1\Delta_g)$  y acetazolamida, la física o la química.

## 6.6 Cálculos teóricos

En el presente trabajo se incluyeron algunos cálculos teóricos de los índices de reactividad local de Fukui  $f^{\pm k}$ .

### 6.6.1 Optimización de Geometrías

La optimización de la geometría de mas baja energía de la acetazolamida neutra se realiza a través de cálculos semi-empíricos, utilizando la teoría de funcionales de la densidad, DTF, con método B3LYG y empleando un conjunto de bases 6-31G,\* Luego de observar que el análisis de frecuencias no presentaba ninguna imaginaria, se partió para el análisis de cargas desde el conformero más estable y se procedió al cálculo de los índices de reactividad local de Fukui para predecir su reactividad frente al ataque electrofílico. La optimización se realiza en el programa Gaussian 03.

### 6.6.2 Análisis Conformacional

Inicialmente se hace un estudio de las diferentes conformaciones de la molécula en estudio a nivel semi-empírico, procurando escoger como punto de partida un conformero de mínima energía.

### 6.6.3 Análisis MPA, NPA y Cálculo de Índices de Fukui

Los índices de reactividad local de Fukui, frente a sustratos electrofílicos, se evalúan utilizando las cargas NBO. Se calcularon estos parámetros sobre cada átomo en la molécula neutra y luego sobre cada átomo, sin cambiar la geometría (*single point*) para el catión. Modelos que asumen cargas parciales sobre cada uno de los átomos, lo cual es consecuencia de la cercanía de los electrones a los núcleos del sistema<sup>49</sup>. El objetivo del modelo es evaluar como cambia la densidad electrónica, cuando se le retira un electrón a la molécula en estudio.

#### **6.6.4 Átomos en moléculas (Bader)**

Partiendo de la estructura del conformero más estable de la acetazolamida, se realizan los cálculos de Energía que permite el cálculo de los puntos críticos y realizar un mapeado del potencial electrostático a diferentes distancias, utilizando el software Molekel



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Obtención del medicamento acetazolamida

La acetazolamida adquirida comercialmente con un 99% de pureza, polvo cristalino blanco inodoro con fácil fluidez, presento punto de fusión de 258 °C, fue insoluble en solventes apolares como el tetracloruro de carbono, cloroformo y éter etílico y poco soluble en etanol y agua, concordante con lo reportado en la ficha técnica del medicamento<sup>42</sup>. En el espectro de Masas desde HPLC (Figura 19) se observa el  $M^+$  = 223, y un pico importante en  $M/Z$ = 181 debido a la perdida  $CH_3COOH$ .

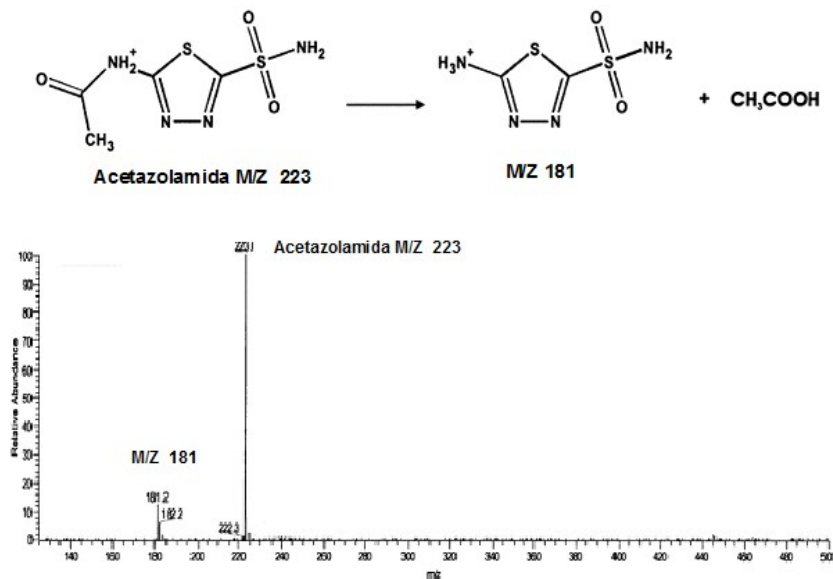


Figura 19. Espectro de masas de la acetazolamida y fragmentación del medicamento.

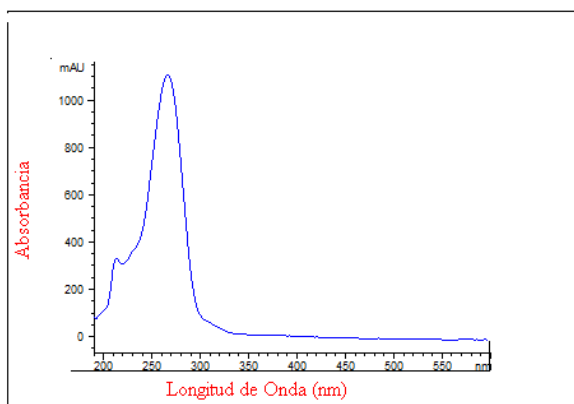
### 7.2 Análisis espectroscópico

### 7.2.1 Espectros de absorción UV-vis y coeficientes de extinción molar

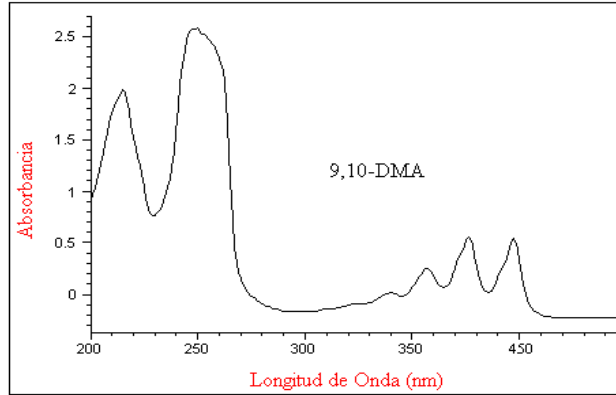
Las medidas espectroscópicas inician con la determinación de los coeficientes de extinción ( $\epsilon$ ), muy útiles pues nos permiten visualizar rangos de solubilidad y el rango de concentración en los que la absorbancia es proporcional a la concentración de las especies en solución y en general nos permiten realizar el seguimiento cinético.

Por otra parte, los espectros de absorción UV-Vis característicos de todos los compuestos utilizados en cada solvente se determinan con el propósito de evidenciar que no presenten interferencias entre ellos durante los análisis cinéticos, es decir, que se pueda seguir el actinómetro en una región donde no absorban ni el sensibilizador ni el sustrato reactivo la acetazolamida y determinar la fuente y filtros adecuados para irradiar selectivamente al sensibilizador.

Los espectros de absorción UV-Vis de la acetazolamida y del 9,10-dimetilantraceno en etanol, se muestran en las Figuras 20 y 21. En la Tabla 2, se describen los máximos de absorción para la banda de menor energía de Acetazolamida y 9,10-DMA en varios solventes.

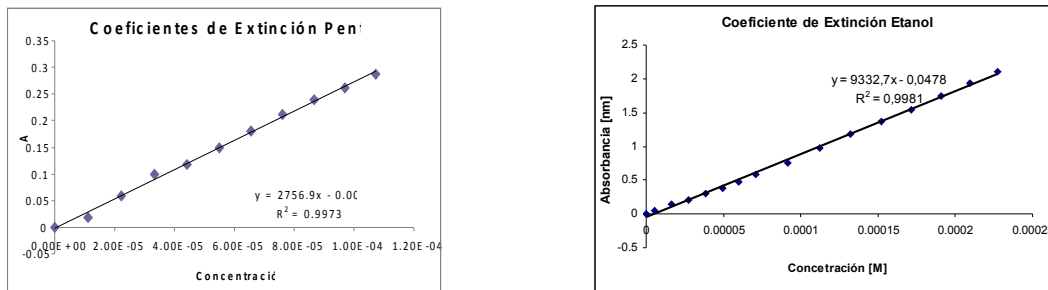


**Figura 20.** Espectro de absorción de la Acetazolamida.

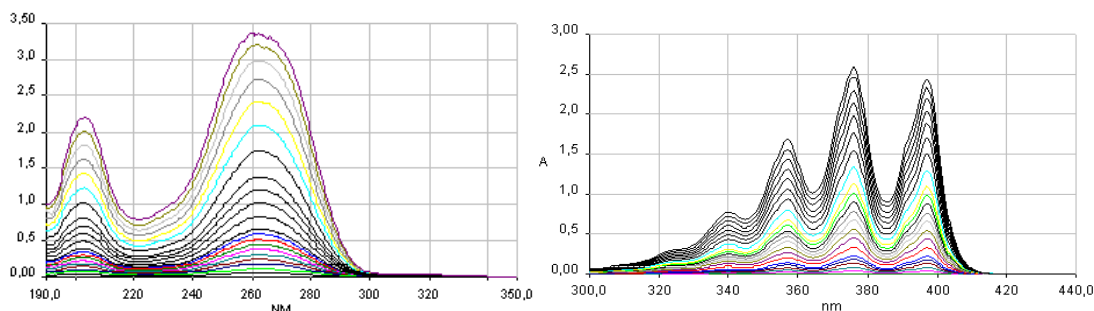


**Figura 21.** Espectro de absorción del 9,10-Dimetilantraceno.

A continuación (Figura 22) se muestran relaciones lineales obtenidas en la determinación de los coeficientes de extinción para la acetazolamida en pentanol y etanol. En la Figura 23 los cambios en los espectros al cambiar la concentración de acetazolamida y 9,10dimetilantraceno en acetonitrilo y etanol respectivamente.



**Figura 22.** Curvas de calibración absorbancia vs concentración, para la acetazolamida en pentanol y etanol.



**Figura 23.** Variación de los espectros de absorción para la acetazolamida en acetonitrilo y para el 9,10 DMA en etanol, en función de la concentración

**Tabla 2.**  $\lambda$  de máxima absorción para la AC y 9,10- DMA

Solvente	AC	DMA
	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$
Metanol	264	398
Etanol	264	398
Acetonitrilo	263	398
Propanol	264	402
1Butanol	264	399
1Propanol	264	398
2Propanol	264	398
1Pentanol	265	398
1Hexanol	265	404
Acetato de etilo	264	398
Tetrahidrofurano	267	400
Dimetil Sulfoxido	278	403
Etelinglicol	267	401
Terbutanol	263	397

Se pueden observar en la Tabla 2 las longitudes de ondas de máxima absorción para la acetazolamida y el actinómetro 9,10 DMA en diferentes solventes. En la acetazolamida se aprecia un desplazamiento en la banda de absorción de menor energía, observándose un efecto del solvente ( $\Delta\lambda \leq 12$  nm). En solventes polares el desplazamiento es alrededor de los 263-279 nm, mostrando el espectro de absorción en el terbutanol en 263 nm y un desplazamiento al rojo con los

solventes polares apróticos como en el THF en 267 nm y el dimetil sulfoxido en 278 nm. En solventes no polares como tolueno benceno y éter etílico no se pudieron medir los coeficientes de extinción por problemas de solubilidad. Este tipo de desplazamiento que se presenta de solventes polares próticos a solventes polares apróticos podría ser indicativo de que el estado singulete de más baja energía es del tipo  $\pi - \pi^*$  consistente también con coeficientes de extinción altos, cuyos valores se presentan en las Tablas 3 y 4, respectivamente. Adicionalmente también se incluye la absorbancia máxima a la que se observó una relación lineal con la concentración.

**Tabla 3.** Coeficientes de extinción para la AC,  $\epsilon$  (L. cm<sup>-1</sup>. mol<sup>-1</sup>)

Solvente	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	$\epsilon$	Absorbancia
Metanol	264	15610	1,3887
Etanol	264	12425	1,1346
Acetonitrilo	263	7800	0,7754
Pentanol	265	9757	0,8746
Acetato de Etilo	264	7685	0,7458
Butanol	264	9846	0,8823
2 Propanol	264	10866	0,9584
Terbutanol	264	12425	1,0984
Hexanol	265	8563	0,8045
Etelenglicol	264	8392	0,7894
Dimetil Sulfoxido	278	7893	0,7761
Tetrahidrofurano	265	8039	0,8210

En la Tabla 3 se observan coeficientes de extinción para la acetazolamida más altos en alcoholes de menor peso molecular, es decir más polares, como se observa en el metanol y el etanol donde los coeficientes son de 15610 y 12425 respectivamente, en los demás alcoholes disminuye de acuerdo al mayor peso

molecular (menos polar). Lo que muestra una mayor probabilidad de que ocurra una transición, también se muestra más altos coeficientes de extinción para este medicamento en alcoholes que en solventes polares apróticos, esto se puede mostrar al comparar los coeficientes de extinción del pentanol y el acetonitrilo que son de 9757 y 7800 respectivamente.

En la Tabla 4. Se observa que en los solventes polares próticos el actinómetro 9,10-dimetil antraceno posee mayores coeficientes de extinción que en solventes polares apróticos. Además, en 1-propanol tiene mayor coeficiente de extinción. También se observa un leve desplazamiento hacia el rojo, del actinómetro al disminuir la polaridad en los alcoholes pasando de 397 en metanol a 403 en hexanol.

**Tabla 4.** Coeficientes de extinción molar para el 9,10-DMA.

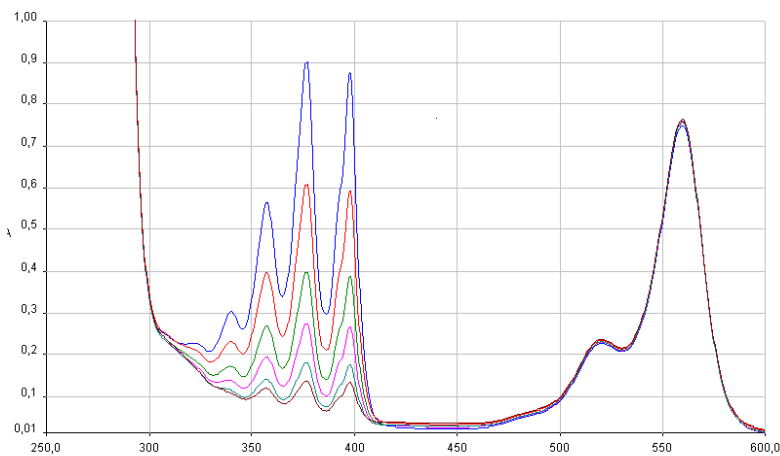
<i>Solvente</i>	$\lambda_{\text{máx}} \text{ (nm)}$		<i>Absorbancia</i>
	$\epsilon \text{ (nm)}$	$\epsilon$	
Metanol	377	10569	1,5762
	398	10229	1,5543
Acetonitrilo	377	9800	1,2432
	398	8312	1,1238
Etanol	377	10160	1,4639
	398	9755	1,3878
Propanol	380	14484	1,7437
	402	14267	1,5987
Acetato de Etilo	379	9765	1,3789
	398	9234	1,2761
Butanol	379	12345	1,6981
	399	11987	1,6540
Pentanol	378	12675	1,7386
	403	12145	1,7156
Hexanol	380	11867	1,6795
	404	11456	1,6521

### 7.2.2 Generación del $O_2(^1\Delta_g)$ . Experimentos en estado estacionario

El oxígeno molecular singulete se generó por fotosensibilización, garantizando que el sensibilizador sea el único que absorba luz. La cantidad de radiación que le

llega al sensibilizador es constante, garantizando que la población estacionaria del  $O_2(^1\Delta_g)$  no varíe durante el tiempo, ya que este se genera y se consume por reacción con la acetazolamida o con el 9, 10 dimetil antraceno.

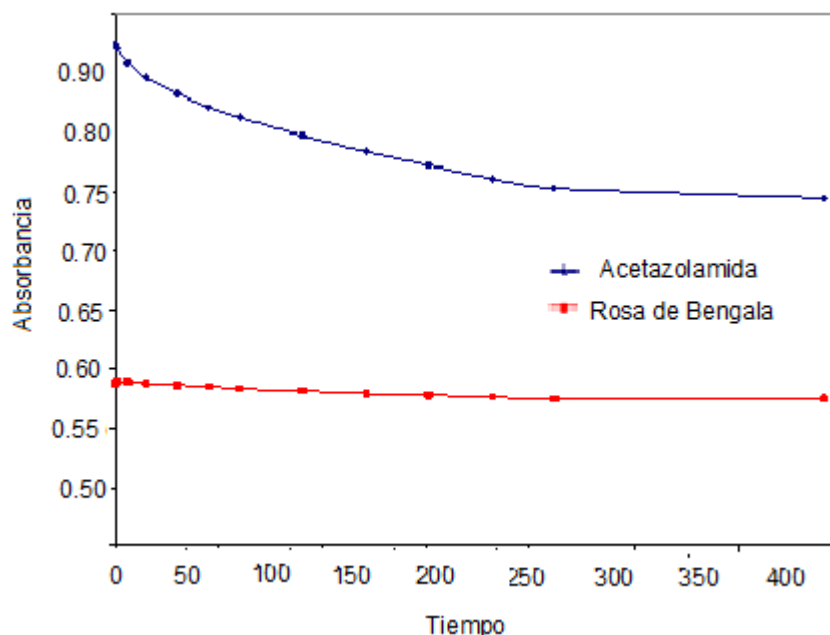
En el Figura 24 se puede observar la descomposición del actinómetro 9,10 dimetil antraceno por un proceso de fotosensibilización con la rosa de bengala (559 nm), la cual debe permanecer constante durante el proceso o presentar variaciones no mayores al 5%. Este proceso en presencia de la acetazolamida para evidenciar que el sensibilizador, el actinómetro y el medicamento absorben a diferentes longitudes de onda. Para garantizar que la radiación electromagnética solo sea absorbida por el sensibilizador se uso un filtro óptico con longitud de onda de corte a 400 nm. El actinómetro absorbe luz a tres longitudes de onda 397, 376 y 357nm, diferentes a las regiones de absorción de acetazolamida (264 nm) y Rosa de bengala .



**Figura 24.** Características de absorción del actinómetro (9,10 DMA), el sensibilizador (RB) y la acetazolamida tomado cada 2 minutos

En la Figura 25, se observa que el consumo de rosa de bengala es mínimo, cumpliendo así eficientemente su papel de sensibilizador de tipo físico. Para el caso del 9, 10 dimetil antraceno se observa consumo o desaparición en el tiempo, lo que significa que está reaccionando con el  $O_2(^1\Delta_g)$  generado por fotosensibilización. Sin embargo el seguimiento de la reacción (consumo de

Acetazolamida), no puede hacerse midiendo los cambios en la absorción del medicamento, posiblemente por la generación de compuestos que absorben en esta misma región y no permite realizar el seguimiento eficientemente a la reacción primaria, por lo tanto el proceso se realizó por HPLC, con detector de arreglo de diodos.



**Figura 25.** Comportamiento de la absorbancia ( $\lambda = 264\text{nm}$ ) con el tiempo durante la irradiación del sistema acetazolamida-rosa de bengala- metanol.

## 7.4 Desactivación del oxígeno molecular singulete, por acetazolamida

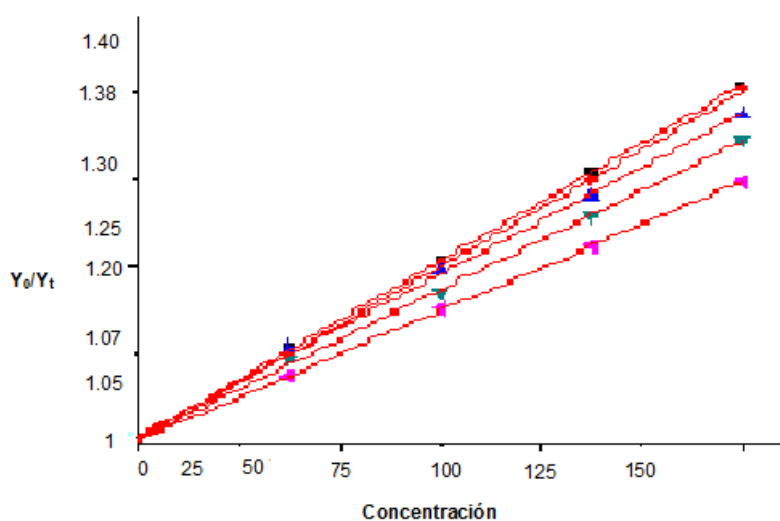
### 7.4.1 Constantes de velocidad total $k_T$

Las constantes de velocidad total  $k_T$  para la reacción fotosensibilizada entre acetazolamida y el oxígeno molecular singulete, fueron determinadas a través de experimentos en estado estacionario, utilizando como actinómetro 9,10-DMA y RB como sensibilizador. Este experimento se realizó midiendo la velocidad de reacción  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$  con el 9,10 DMA, por adición de diferentes concentraciones conocidas de acetazolamida. Observándose una velocidad de reacción más lenta

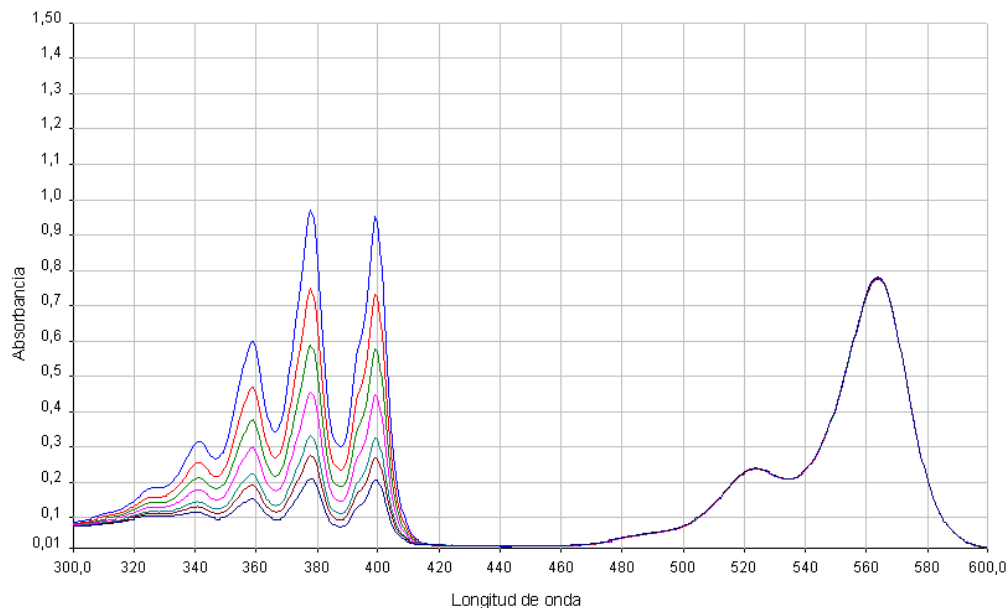


a medida que la concentración del medicamento es mayor, método conocido como reacciones competitivas.

En la Figura 26 se muestra la inhibición de las constantes de velocidad del actinómetro en presencia de diferentes concentraciones de acetazolamida en etanol. Además, en la Figura 27 se observa el proceso de degradación fotosensibilizada del actinómetro 9,10 DMA en presencia del sensibilizador rosa de bengala.



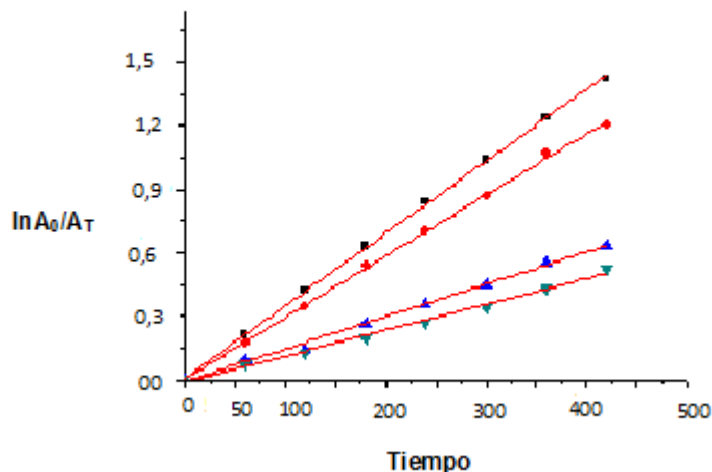
**Figura 26.** Inhibición de la velocidad de la reacción del  $O_2(^1\Delta_g)$  con 9,10 DMA, en presencia de diferentes concentraciones de acetazolamida (40, 80, 120, 200 mm) en etanol



**Figura 27.** Fotodegradación del actinómetro 9,10 DMA utilizando como sensibilizador rosa de bengala. (Constante total) tomadas cada 2 minutos. Las  $k_t$  de la reacción de la acetazolamida con el oxígeno singlete se pueden observar en la Tabla 6.

#### 7.4.2 Ensayo de La azida de sodio<sup>52</sup>

Para comprobar la ausencia de reacciones cruzadas secundarias como desactivación del sensibilizador excitado y variación de la concentración estacionaria de oxígeno molecular singlete, se utilizó la técnica de doble desactivación realizando experiencias con la azida de sodio (Az), la que es reconocida como un eficiente apagador de oxígeno molecular singlete. En este caso se observó una inhibición en la velocidad de la reacción del 9,10 DMA con  $O_2(^1\Delta_g)$  por la adición de azida de sodio en ausencia y en presencia de acetazolamida (AC), en metanol.



**Figura 28.** Reacción entre oxígeno molecular singlete y 9,10 DMA con RB como sensibilizador, en etanol, (■) en ausencia de acetazolamida, (●) Presencia de acetazolamida 25 mM, (▲) en ausencia de acetazolamida y con azida de sodio 0.40 mM y (▼) acetazolamida 25 mM azida de sodio 0.40.

La razón entre las constantes de velocidad experimentales para la reacción del actinómetro con  $O_2(^1\Delta_g)$  en ausencia y presencia de azida de sodio, son iguales a la razón entre las constantes de velocidad experimentales para la misma reacción en presencia de una concentración de la acetazolamida, en presencia y ausencia de azida de sodio. Los valores obtenidos son  $1,18 \pm 0,07$  y  $1,09 \pm 0,06$ . Estos resultados muestran que en la fotooxidación sensibilizada de acetazolamida participa el  $O_2(^1\Delta_g)$ , ya que la azida de sodio afecta la concentración del oxígeno molecular singlete tanto en presencia como en ausencia de acetazolamida. En la Figura 28 se muestran las curvas obtenidas para los experimentos, utilizando 9,10-DMA como actinómetro, acetazolamida y azida de sodio como apagadores y rosa de bengala como sensibilizador, en metanol. En la Tabla 5 se encuentran los datos obtenidos en el ensayo.

**Tabla 5.** Datos cinéticos para el ensayo de la azida de sodio.

Reacción del O <sub>2</sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ) Con:	k exp 10 <sup>-3</sup>	r <sup>2</sup>	DS 10 <sup>-1</sup>
9, 10 DMA	3,43	0.99962	2,36
9,10 DMA+ AC 25 mM	2,90	0.99918	2,94
9,10 DMA+ AZ 0.40mM	1,53	0.99711	2,91
DMA+ AC 25 mM + AZ 0.40	1,42	0.99625	3,24

**Tabla 6.** Constantes de velocidad total (química+física) del O<sub>2</sub>(<sup>1</sup>Δ<sub>g</sub>) con Acetazolamida

Solvente	k <sub>T</sub> <sup>a</sup> / 10 <sup>7</sup> M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>	τ <sub>O<sub>2</sub></sub> ( <sup>1</sup> Δ <sub>g</sub> ) 10 <sup>-6</sup>	Pendiente	DS 10 <sup>5</sup>	r <sup>2</sup>
1 Etanol	2,0476	14,383	294,5	1,462	0,97457
2 Hexanol	6,7054	17,565	117,78	1,325	0,98899
3 Acetonitrilo	0,2715	77,182	209,57	2,185	0,9799
4 Metanol	1,8414	9,9003	182,03	1,30	0,9755
5 Pentanol	2,7400	16,152	442,56	2,668	0,9543
6 A. de etilo	0,2532	43,087	109,11	1,766	0,98107
7 1-Butanol	4,604	17,194	791,56	1,543	0,96567
8 Terbutanol	1,230	20,10	247,31	1,165	0,99954
9 1-propanol	1,6029	15,857	254,18	1,742	0,9785
10 2-propanol	2,4735	21,125	522,54	1,587	0,9798
11 NN-DMF	2,3210	19,481	450,51	1,872	0,9711
12 Eten glicol	1,7270	23,3	402,40	1,182	0,9910

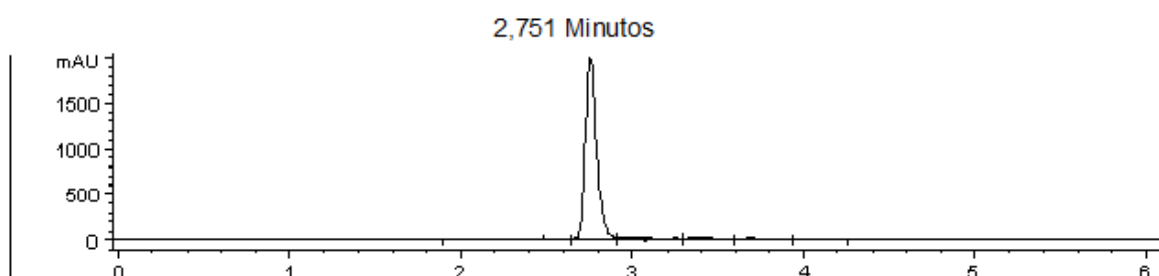
Al comparar las diferentes k<sub>t</sub> podemos observar que tienen una ligera variación con el solvente, las mayores constantes de velocidad se obtienen en hexanol y butanol y las menores en acetonitrilo y acetato de etilo. Sin embargo, también para el solvente NN-DMF no práctico, se observan valores de k<sub>t</sub> comparables a la mayoría de los solventes utilizados. Tengamos presente que en los solventes en que el tiempo de vida del oxígeno es mayor, se observan valores más bajos de constantes de apagamiento total.

La moderada variación de k<sub>t</sub> es favorecida en solventes de mayor polaridad. A continuación se observan los resultados en el análisis de la ecuación solvatócromica, en la que hay esencialmente dos de los parámetros del solvente sobre los que presenta mayor sensibilidad la velocidad de reacción total.

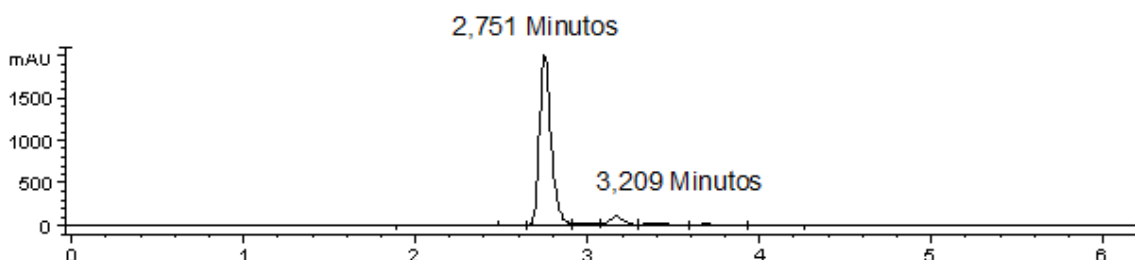
$$\text{Log } k_T = 4,807 + 1,031 \pi^* + 2,5099 \beta ; \quad r = 0.8147 \quad N = 10 \quad F = 12.69 \quad (25)$$

## 7.5 Constantes de velocidad para la reacción química entre AC y $O_2(^1\Delta_g)$ .

Con el fin de determinar la contribución de la reacción química a la desactivación total del oxígeno molecular singulete, se midieron las constantes de velocidad para la reacción química  $k_r$  entre esta especie excitada del oxígeno y Acetazolamida. Se hizo el seguimiento de la acetazolamida en HPLC, observando la disminución del pico del medicamento y la posterior aparición de un pico muy pequeño fotoproducto de la reacción química de la acetazolamida. A continuación en las Figuras 29 y 30 se muestran los perfiles de reacción para el sistema Acetazolamida-Rosa de bengala en metanol.



**Figura 29.** Cromatografía HPLC de la acetazolamida sin irradiar en metanol.



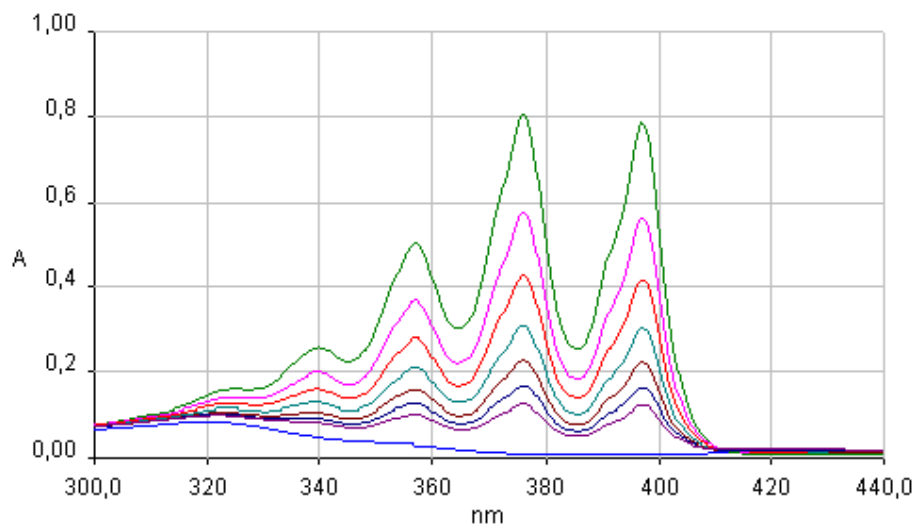
**Figura 30.** Cromatografía HPLC de la acetazolamida 48 horas de irradiación en metanol

Las constantes de velocidad para la reacción química, fueron determinadas en varios solventes en condiciones de estado estacionario, según se describió en la

Sección 6.2. En este caso el consumo de Acetazolamida sigue una cinética de pseudo-primer-orden donde la velocidad de consumo de Acetazolamida se puede representar de acuerdo a la ecuación 15. El seguimiento de la variación en la concentración del medicamento con respecto al tiempo, fue determinado por cromatografía líquida HPLC. Como el área correspondiente a la señal de Acetazolamida es proporcional a su concentración, la constante experimental de pseudo-primer-orden  $k_{exp}$ , se obtiene fácilmente de la pendiente de un gráfico de  $\ln([Área]_0/[Área]_t)$  vs tiempo de irradiación. En la. Figura 31 se ilustra un ejemplo de la gráfica obtenida para la reacción de fotooxidación de Acetazolamida por  $O_2(^1\Delta_g)$  en metanol y en la Tabla 7 se muestran los valores obtenidos.

**Tabla 7.** Constantes de velocidades totales, químicas y físicas de la reacción de la acetazolamida con el oxígeno excitado

Solvente		$k_T^a / 10^7$ $M^{-1}s^{-1}$	$k_r / 10^5$ $M^{-1}s^{-1}$	$k_q / 10^7$ $M^{-1}s^{-1}$	$k_i / k_T$	$k_q / k_r$
1	Metanol	$1,84 \pm 0,01$	$2,35 \pm 0,6$	$1,82 \pm 0,07$	0,0128	77,4
2	Etanol	$2,05 \pm 0,02$	$2,28 \pm 0,7$	$2,02 \pm 0,09$	0,011	88,6
3	Butanol	$4,60 \pm 0,02$	$2,16 \pm 0,5$	$4,58 \pm 0,07$	0,009	195,3
4	Acetonitrilo	$0,27 \pm 0,02$	$3,45 \pm 0,4$	$0,24 \pm 0,06$	0,128	6,96



**Figura 31.** Fotooxidación del 9, 10 DMA (actinómetro) utilizando rosa de bengala. Lectura realizada cada dos minutos, (Constante química).

De la Tabla 7 se puede observar que las constantes de velocidad química ( $k_r$ ) son entre uno y dos órdenes de magnitud menores que las constantes de velocidad para la reacción total ( $k_T$ ), siendo la contribución de la constante química menor de un 2% en los tres alcoholes y del 12% en el acetonitrilo, por lo que se puede deducir que el mecanismo principal de desactivación del  $O_2(^1\Delta_g)$  por acetazolamida corresponde a un mecanismo de tipo físico. También se observa que las constantes de desactivación total son dependientes del medio, pues varía dependiendo del tipo de solventes empleado para la reacción. En solventes aproticos como acetonitrilo el valor de la  $k_r$  es mucho más alto que la de los alcoholes y lo que muestra que la reacción química es favorecida en este tipo de solventes. En los alcoholes polares como metanol, etanol y butanol, los valores de  $k_r$  aumentan a medida que aumenta el parámetro  $\pi^*$  (0.60, 0.54 y 0.47 respectivamente)<sup>39</sup>. En solventes apolares la reacción no se midió por problemas de solubilidad.

Analizando la contribución de la reactividad química sobre la constante de velocidad total para la acetazolamida en solventes polares, metanol, etanol y butanol con valores de 1,28%, 1,11% y 0,47% respectivamente sobre la  $k_T$ , puede analizarse con base a la diferencia en el carácter básico de dichos solventes, ya que el metanol presenta el menor valor  $\beta$  (0.66) y el butanol el mayor valor (0.84) (Tabla 7).

Los cambios, observados en las constantes de velocidad  $k_r$  en función del solvente, son el resultado de la influencia de múltiples factores asociados al medio, como por ejemplo la constante dieléctrica, y la capacidad ácido base entre otras, esto como producto de interacciones específicas soluto solvente. En estos casos, es apropiado evaluar diferentes parámetros en conjunto, utilizando relaciones lineales de energía libre de solvatación para correlacionar los valores de la constante de velocidad experimental con propiedades del solvente.

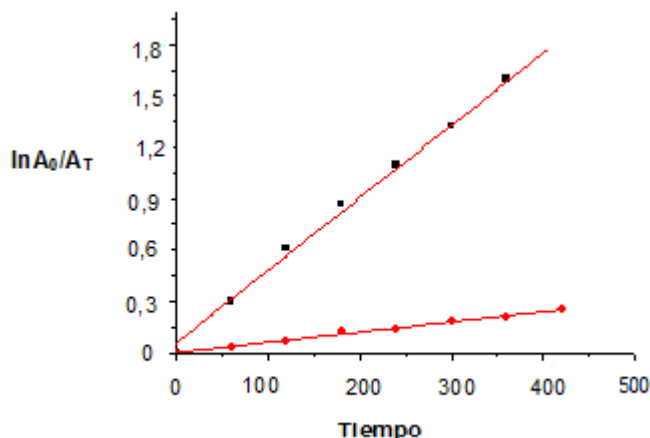
## 7.6 Rendimiento cuántico en la generación de $O_2(^1\Delta_g)$ . Experimentos en estado estacionario

Ahora, a partir del esquema cinético propuesto por Wilkinson<sup>30</sup>, que considera todos los procesos elementales asociados a la generación de oxígeno molecular singulete en solución y que incluye los procesos que dan cuenta de su consumo, es posible establecer que en la generación de oxígeno excitado puede participar el primer estado excitado triplete del sensibilizador.

La determinación del rendimiento cuántico en la generación del oxígeno molecular singulete<sup>53</sup>,  $\phi_{\Delta}$ , en condiciones de irradiación estacionaria, en metanol, etanol y acetonitrilo se efectuó por estudios de actinometría, con 9, 10 dimetil antraceno como sustrato aceptor de oxígeno singulete y rosa de bengala como sensibilizador, cuyo rendimiento cuántico de referencia en metanol, etanol y acetonitrilo son 0,76, 0,68 y 0,25<sup>30</sup>. Los experimentos se realizaron irradiando por separado soluciones de acetazolamida y RB en presencia de DMA a 264 nm con una lámpara de mercurio la cual emite radiación en este rango, además se garantizó que la luz solo excitara la acetazolamida y la rosa de bengala sin afectar al actinómetro. Se obtuvieron valores de  $\phi_{\Delta}^0$  de 0,0562, 0,097 y 0,015, respectivamente, resaltando que hay mayores valores en solventes polares.

Además al comparar el etanol y el metanol se puede ver que el etanol posee un rendimiento cuántico mucho mayor que el metanol posiblemente esto se deba a la mayor constante de velocidad total que tiene el etanol sobre el metanol Tabla 5 y que el parámetro beta de las ecuaciones multiparamétricas es más significativo en este solvente Tabla 6. En la Figura 32 observan los datos cinéticos del rendimiento cuántico de la acetazolamida en etanol.





**Figura 32.** Rendimiento cuantico de  $O_2(^1\Delta_g)$  de la acetazolamida en etanol (●), en referencia al actinómetro (■).

### 7.7 Análisis del efecto del solvente sobre la constante de velocidad total (física química) para la reacción entre el $O_2(^1\Delta_g)$ y la Acetazolamida.

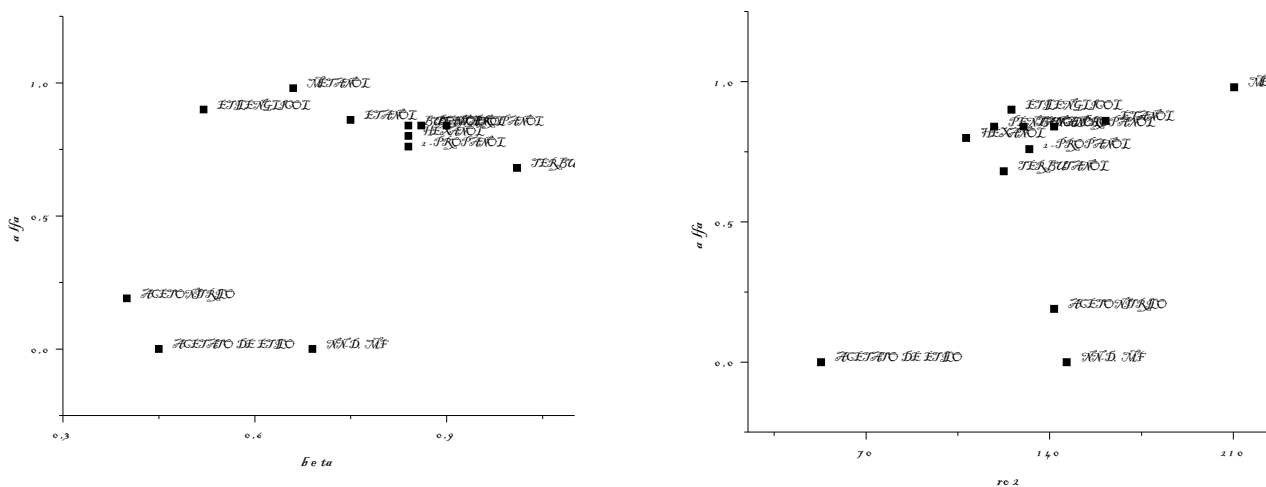
A continuación se presentan los resultados del efecto del solvente sobre la reacción de la  $k_t$  del oxígeno molecular singulete con la acetazolamida, en función de las características microscópicas del solvente, empleando las ecuaciones solvatocrómicas LSER de Taft y col<sup>40</sup>. (Ecuación 6)

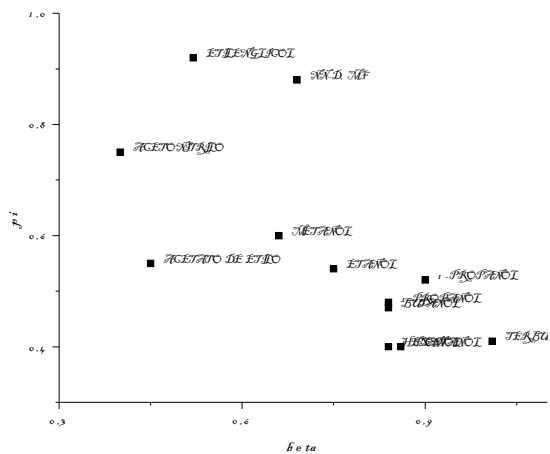
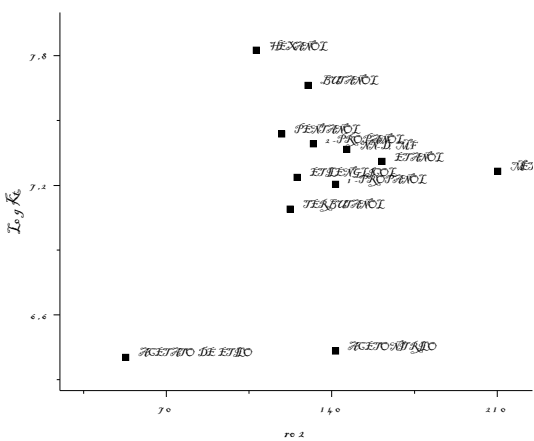
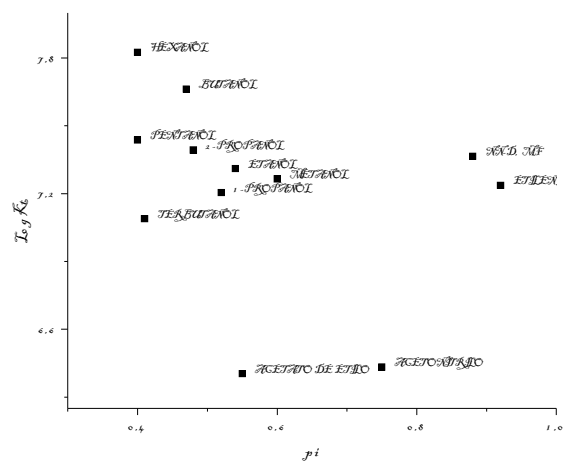
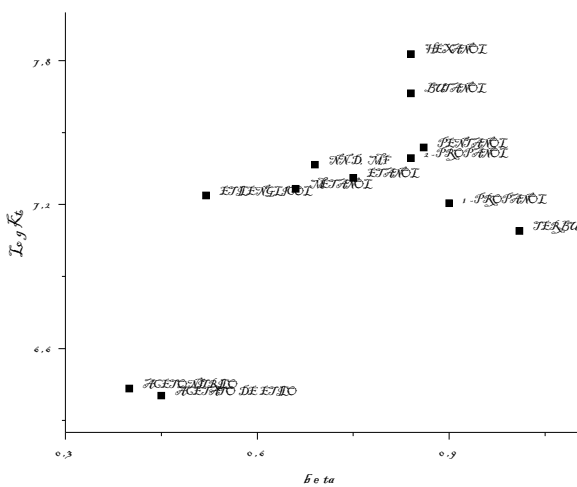
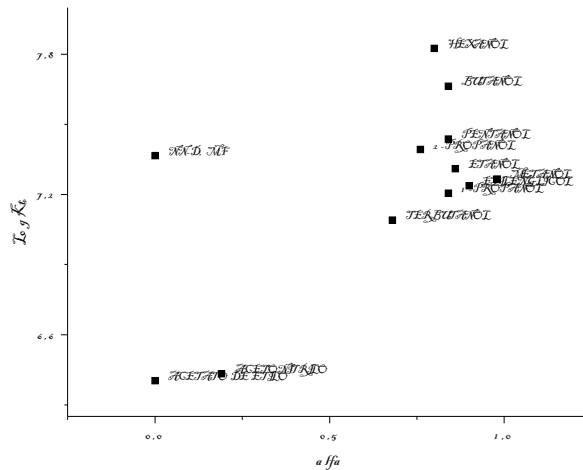
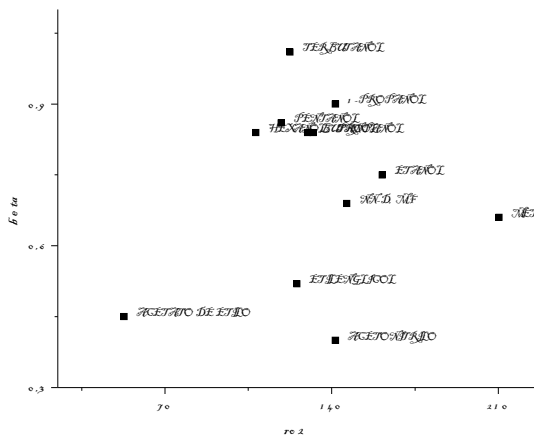
Las medidas realizadas en 12 solventes abarcan un rango amplio de acidez, basicidad y efecto de polaridad y polarizabilidad. En esta ocasión, se obtuvieron valores que oscilan entre  $6,70 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$  para el hexanol y  $0,25 \times 10^7$  para el acetato de etilo, señalando un efecto moderado de la reacción frente al cambio de solvente. En la Tabla 8 se muestra los valores de las constantes de velocidad  $k_t$  y los parámetros solvatocrómicos para cada uno de los solventes empleados. En esta ocasión se resaltan los datos en hexanol y acetato de etilo como valores extremos.

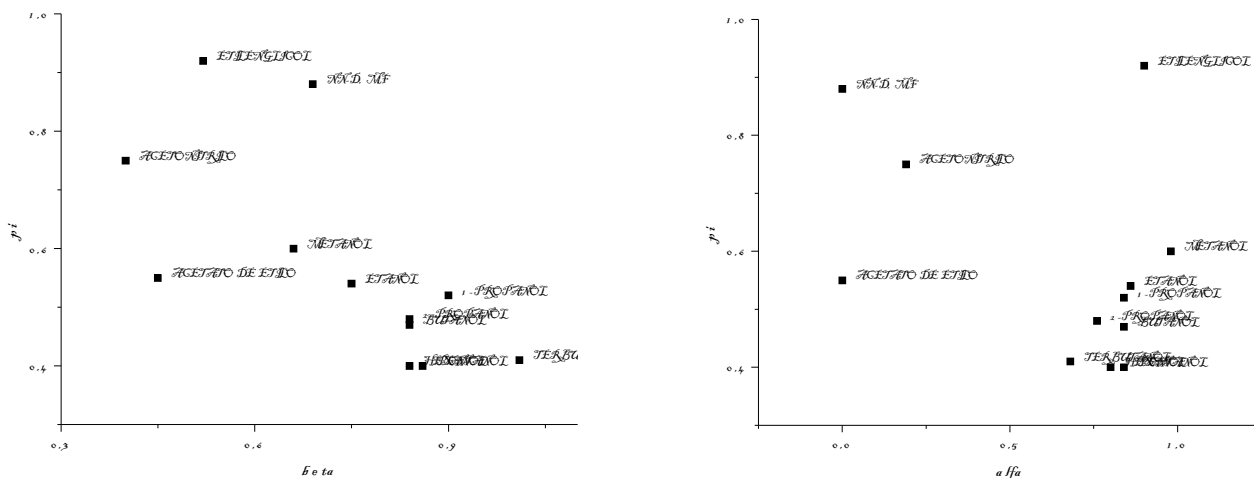
**Tabla 8.** Constantes de la velocidad de la reacción total entre la acetazolamida y el  $O_2(^1\Delta_g)$ , como función de los parámetros empíricos del solvente. Coeficientes en el análisis LSER<sup>39, 40</sup>.

SOLVENTE	$k_T \cdot 10^7$	Log $k_T$	$\pi^*$	$\alpha$	$\beta$	$\rho_H^2$	$\delta$
ETANOL	2.0476	7.311	0.54	0.86	0.75	161.29	0
HEXANOL	6.7054	7.826	0.40	0.80	0.84	108.16	0
ACETONITRILO	0.2715	6.433	0.75	0.19	0.40	141.61	0
METANOL	1.8414	7.2657	0.60	0.98	0.66	210.25	0
PENTANOL	2.7400	7.4377	0.40	0.84	0.86	118.81	0
ACETATO DE ETILO	0.2532	6.4034	0.55	0.00	0.45	52.81	0
BUTANOL	4.604	7.663	0.47	0.84	0.84	129.96	0
TERBUTANOL	1.230	7.090	0.41	0.68	1.01	122,5	0
1-PROPANOL	1.6029	7.205	0.52	0.84	0.90	141.61	0
2-PROPANOL	2.4735	7.393	0.48	0.76	0.84	132.25	0
NN-D. M.F	2.3210	7.366	0.88	0.00	0.69	146,41	0
ETILENGLICOL	1.7270	7.237	0.92	0.90	0.52	125,4	0

La aplicación de la Ecuación de Taft a los datos de  $k_t$  obtenidos para la reacción de acetazolamida con  $O_2(^1\Delta_g)$  da como resultado las ecuaciones presentadas en la Tabla 9. Inicialmente se retiró del análisis el parámetro de correlación de polaridad-polarizabilidad  $\delta$  ya que todos los valores son cero. Luego se realizó un análisis exploratorio que permite determinar la relación no lineal entre las 4 variables utilizadas y la  $k_T$ . Figura 33.





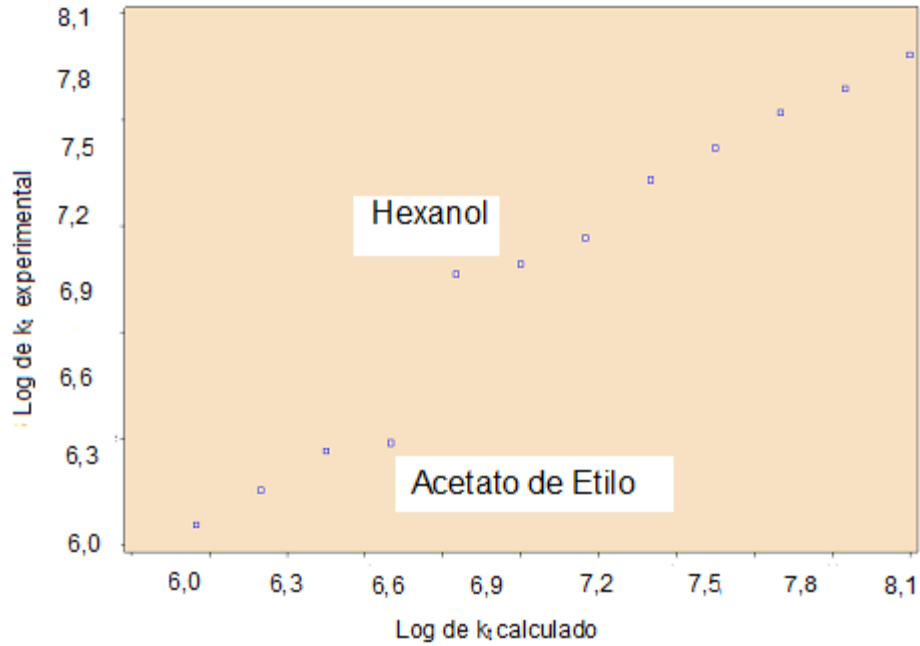


**Figura 33.** Análisis exploratorio entre los parámetros solvatocrómicos del solvente y los valores de  $k_t$ , utilizados en la relación multiparamétrica.

**Tabla 9.** Resultado de la ecuación solvatocrómica para  $k_t$

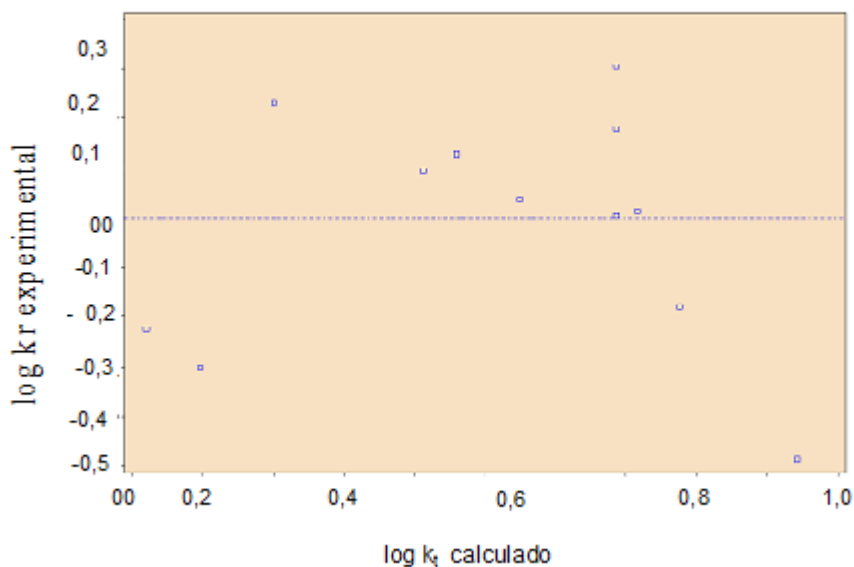
Ecuación Solvatocromica	R <sup>2</sup> estimado/ calculado
$\text{Log } k_t = 5,375 + 0,8362\pi^* + 0,5087\alpha + 1,5500\beta + 0,00072\rho_H^2$	62,49 40,43
$\text{Log } k_T = 4,807 + 1,031\pi^* + 2,5099 \beta$	78,38 72,21

Luego se realizó el análisis estadístico utilizando las 5 variables, la dependiente  $\log k_T$  y las 4 variables independientes. Se observa en la Tabla 9 el efecto de retirar del modelo los parámetros alfa  $\alpha$  y de Hildebrand  $\rho_H^2$ , que tienen asociado un nivel de significancia  $\geq 0.95$ . Al retirar los dos parámetros (alfa e Hildebrand) se obtiene la dependencia de la ecuación solvatocromica de los parámetros beta  $\beta$  y pi  $\pi^*$ , sin embargo al graficar el  $\log k_t$  vs estos parámetros, existen dos datos que no cumplen con la linealidad que debe tener el proceso. El hexanol y el acetato de etilo, son los que tienen las constantes totales más alta y más pequeña respectivamente. Situación que se observa en la Figura 34.



**Figura 34.** Valores calculados vs experimentales de log  $k_t$ .

En las Figuras 34 y 35 se ilustra la relación entre log de  $k_t$  calculado vs log de  $k_t$  experimental y el análisis de residuales, respectivamente, señalando que hay una adecuada correlación entre valores calculados y experimentales, bajo el modelo propuesto y una distribución al azar de residuales para los valores de  $k_t$ .



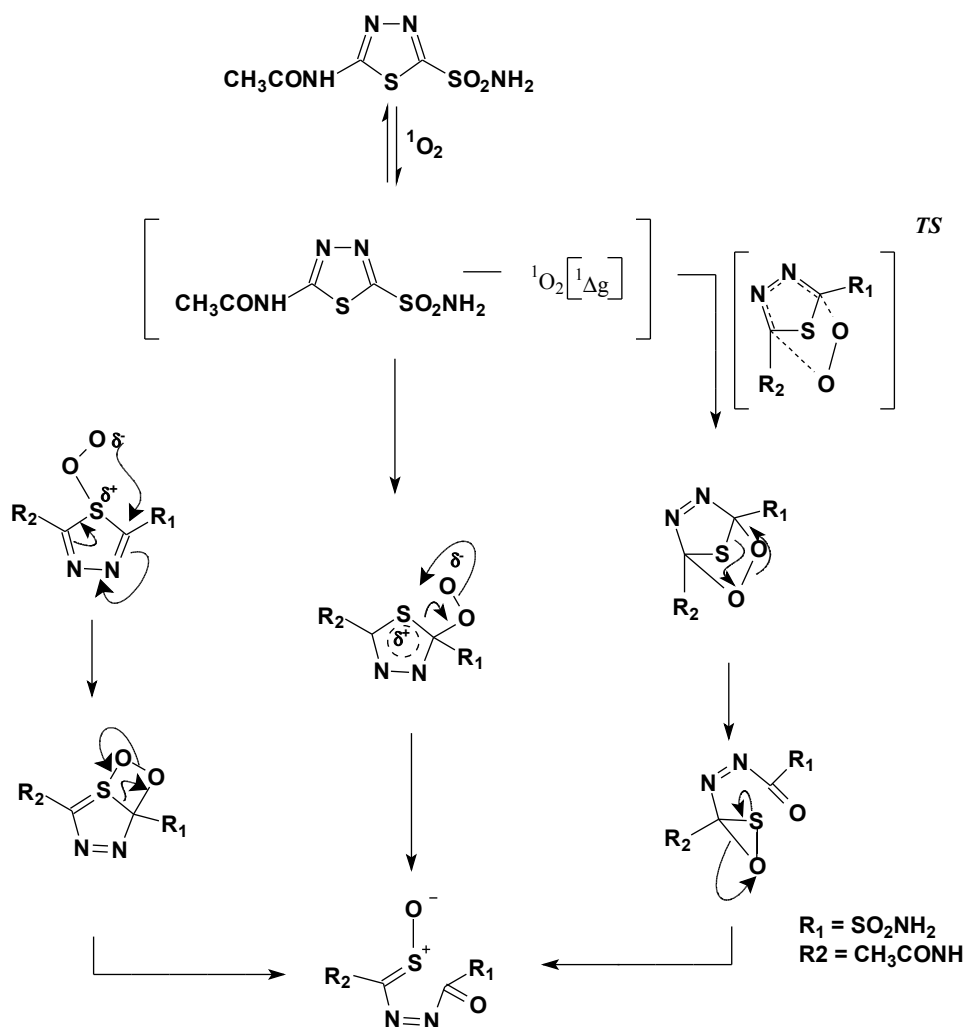
**Figura 35.** Análisis de residuales vs log de  $k_t$

La aplicación de la Ecuación de Taft a los datos obtenidos para la acetazolamida muestra como resultado que es más importante el parámetro  $\beta$  con un coeficiente igual a + 2,51, observándose que en solventes aceptores de hidrógenos la constante de velocidad química aumenta, lo que puede interpretarse que solventes con capacidad de aceptar puentes de hidrógeno aumentan la densidad de carga en las posiciones susceptibles al ataque electrofílico pues compiten con los protones del medio e impiden que se bloqueen los sitios reactivos frente a sustratos electrofílicos en la acetazolamida. El parámetro que sigue en importancia es el  $\pi^*$  con un coeficiente de + 1,031, lo que significa que solventes con capacidad de estabilizar cargas y/o dipolos favorecen la  $k_t$ . Esto implica que el estado de transición de la etapa determinante de la velocidad de reacción, presenta una moderada separación de cargas, respecto a los reactivos. Respecto al  $\alpha$ , este no fue incluido en la ecuación definitiva, por la menor influencia que tiene sobre la velocidad de reacción, evaluado desde su coeficiente de sensibilidad más pequeño 0,5087. Ahora este último resultado no se puede

marcar como definitivo, pues no fue posible ampliar la gama de solventes utilizados debido a problemas de solubilidad.

En conjunto, estos resultados indican que la acetazolamida presenta una interacción con el oxígeno molecular singulete que no ofrece de forma inicial una gran separación de cargas, por lo que se plantea que puede ser desde el anillo tiodiazol con la formación de un exciplexo tipo Diels Alder, tras un mecanismo concertado asincrónico, en el cual el cambio de polaridad entre reactivos y complejo de encuentro es moderado, lo cual se puede asimilar como lo propuesto para el anillo furano de la furosemida<sup>12</sup> y como interacción típica de los anillos heteroaromáticos de 5 miembros<sup>53</sup>. Lo anterior apunta a un mecanismo que transita a través de la formación de un endoperóxido, debido a que de formar un enlace peróxido con carga negativa sobre el oxígeno, éste se vería ampliamente estabilizado por solventes donores de protones.

Para la acetazolamida, el análisis LSER muestra que la constante de velocidad total depende con los parámetros solvatocrómicos  $\pi^*$  y  $\beta$ , con un alto peso estadístico asociado al parámetro  $\beta$ , Esta molécula presenta varios sitios que eventualmente pueden reaccionar con el oxígeno molecular singulete: los nitrógenos terciario de anillo tihidazol, el azufre del mismo anillo y el grupo sulfonamino, pero se propone que el complejo de encuentro inicial desde el que se desencadenan las interacciones físicas y químicas es el mismo, según el modelo ilustrado en la Figura 12. Es importante anotar que la sensibilidad de la reacción frente al parámetro  $\alpha$  es menor que la observada típicamente en reacciones de transferencia de carga del oxígeno molecular singulete con aminas. Por similitud con los sistemas heteroaromáticos de 5 miembros, se propone para la acetazolamida una interacción de adición 1,4 tipo Diels Alder, con el oxígeno excitado, como se propone en la parte derecha de la Figura 36, donde se recogen las diferentes propuestas de interacción de tipo química, del oxígeno molecular singulete con el anillo tiodiazol en la acetazolamida.



**Figura 36.** Mecanismo propuesto para la interacción química entre AC y  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ .

La importancia del parámetro  $\pi^*$  se explica en términos de las interacción asincrónica, permitiendo la estabilización de los dipolos. Además esto se ve favorecido por el alto peso estadístico del parámetro  $\beta$  que en solventes aceptores de hidrógenos la constante de velocidad total aumenta, lo que puede interpretarse como, solventes con capacidad de aceptar puentes de hidrógeno, aumentan la densidad de carga en las posiciones susceptibles al ataque electrofílico, favoreciendo la interacción entre AC y  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ .

Ahora abordemos un análisis estructural del anillo tiodiazol al interior de la acetazolamida, por ser este el sitio que presenta la reactividad frente al electrófilo,



oxígeno molecular singulete, basados en el producto reportado por Vargas y colaboradores<sup>6</sup>. Lo relativo a las distancias de enlace para el tiofeno a través de cálculos por optimización completa (SCF) de las conformaciones, como base de cálculo 6-31G\* (RHF), de 1.725 Å para el enlace S-C vs los enlaces C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> y C<sub>2</sub>-C<sub>3'</sub> de 1.366 Å y 1.436 Å respectivamente, donde los ordenes de enlace son 1.138, 1.689 y 1.199.<sup>55</sup> Lo anterior, permite percibir un carácter menos aromático en el anillo del tiofeno que otros anillos aromáticos como el benceno.

También se ha evidenciado que la densidad electrónica en sistemas aromáticos como el tiofeno depende ampliamente de la sustitución sobre las posiciones vecinas al heteroátomo<sup>17</sup>, viéndose favorecida la reactividad frente a sustratos como el oxígeno excitado por la presencia de sustituyentes dadores de electrones como los metilos. Para el caso de la acetazolamida, uno de los sustituyentes es el nitrógeno del grupo amido, el cual puede contribuir a deslocalizar densidad de carga, mientras que el SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> contribuye a la desactivación del anillo frente a la reacción electrofílica. Derivado del estudio topológico preliminar de Bader, se observan puntos críticos de anillo y de enlace que involucran a uno de los nitrógenos del anillo del tiodiazol, reforzado esto por el análisis del efecto del solvente en los que el parámetro alfa no representó variaciones significativas en la k<sub>t</sub>.

Lo anterior junto con lo observado en la ecuación solvatocrómica, donde la reacción es apenas moderadamente afectada por efecto del solvente, favorecida en solventes con posibilidad de estabilizar cargas y que presenta una pobre reactividad química del orden de 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> en comparación con la constante total k<sub>T</sub> (10<sup>7</sup> M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>) permiten proponer de forma inicial para la reacción fotosensibilizada de acetazolamida con oxígeno molecular singulete, común tanto al proceso físico como el químico, un equilibrio rápido y reversible con la formación de un complejo de encuentro de transferencia de carga del tipo Diels Alder.

Observemos los mecanismos planteados inicialmente en la propuesta de investigación. El primero involucra la interacción del oxígeno excitado con el átomo de azufre del tiodiazol, que derivado de su gran tamaño se espera pueda favorecer el solapamiento de orbitales durante la interacción, también con aumento de ancho de banda en el estado electrónico que típicamente favorecen la transferencia de carga, el cual en etapa posterior se rearregla a través de un endoperóxido cíclico de cuatro miembros para dar el producto de la reacción. El intermediario presenta un oxígeno con tendencia negativa, sobre un carbono que tiene tendencia positiva. Esta situación de gran separación de cargas *tipo Zwitterión*, no es consistente con el moderado efecto del solvente, contrario a lo que sucede con la formación de peróxidos terminales y en consecuencia es necesario considerar otras opciones.

El segundo mecanismo se deriva de la interacción del  $^1\text{O}_2$  con uno de los carbonos en posición 2 al azufre del anillo, cuya separación de cargas se ve favorecida por deslocalización sobre todo el sistema aromático. Sistema que luego rearregla con fragmentación del enlace S-C. Sin embargo, aquí también sería posible apreciar un efecto del solvente mayor.

Por último, se presenta como alternativa el proceso concertado, una adición 1,4 tipo Diels Alder, cuyo intermediario posible, un endoperóxido, ha sido postulado para la reacción del 2,2-dimetiltiofeno y el oxígeno excitado. En esta ocasión el sistema reordena a través de un intermediario tipo oxirano que ya también ha sido postulado por Wataru y col<sup>56</sup>. Por la naturaleza de los sustituyentes en el anillo tiodiazol, además de observar un pequeño efecto del solvente y esta reacción se plantea como de tipo concertado asincrónico.

## 7.8 Comparación de los valores para $k_T$ , $k_r$ y $k_q$ .

Debido a que la interacción de Acetazolamida con  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$  se da a través de dos rutas, física y/o química, es interesante evaluar cual es la principal ruta de

desactivación del  $O_2(^1\Delta_g)$  por parte de la Acetazolamida y si se ven afectados de forma similar por interacciones con el solvente, esto conduciría a la formación de un intermediario común o excíplejo. En el presente trabajo se pudo verificar con los datos obtenidos de las constantes de velocidad entre la Acetazolamida y  $O_2(^1\Delta_g)$  que: la contribución de la constante química sobre la total es entre 0,47 y 1,2% en los tres alcoholes solventes polares y del 12% en el acetonitrilo solvente polar aprotico, de lo que puede inferirse que la Acetazolamida es un buen apagador del oxígeno excitado por una ruta física, explicándose esto por el corto tiempo de vida media del  $O_2(^1\Delta_g)$ , lo que hace que tenga poca oportunidad de reaccionar químicamente con la acetazolamida, adicional al hecho de que anillos con azufre son pobremente reactivos frente a especies electrofílicas y más desactivados con sustituyentes electrón atrayentes.

## 7.9. Cálculos Teóricos

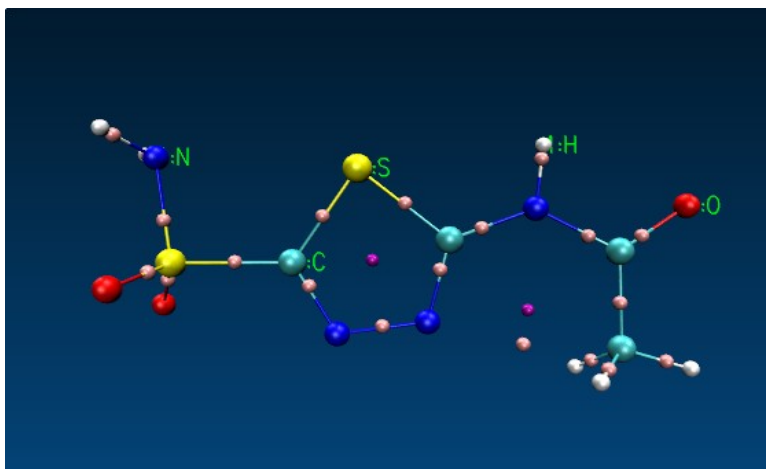
El estudio teórico con la acetazolamida incluye la optimización de la geometría y el cálculo de las energía con los software Gaussian 03 y PC-GAMES por DTF con el funcional híbrido de Becke B3LYP y el conjunto de funciones de base 6-311\*, estimando algunas propiedades moleculares que permiten establecer relaciones de estructura reactividad como análisis poblacional NBO, utilizado en el cálculo de las funciones de Fukui condensadas y mapas de potencial electrostático MEP. También se determinaron los puntos críticos de enlace, a la luz de la Teoría de Átomos y Moléculas AIM.

Considerando la aproximación de Born-Oppenheimer, para el cálculo de las cargas del catión para la determinación de los índices de Fukui, se realiza un cálculo puntual o *single point*, posterior a la optimización de la molécula neutra, variando multiplicidad y carga.

En cuanto a los valores obtenidos para los índices de Fukui, estos privilegian varios sitios reactivos frente a sustratos electrofílicos como el azufre y uno de los nitrógenos del anillo tiodiazol, y el nitrógeno del grupo amido. Lo anterior puede interpretarse como que el segmento aromático es el que interactúa con el electrófilo y esto también afecta considerablemente la densidad de carga del nitrógeno del amido, debido a la capacidad que este tiene de donar electrones al sistema aromático en competencia con la deslocalización sobre el grupo carbonilo (Anexo 1)

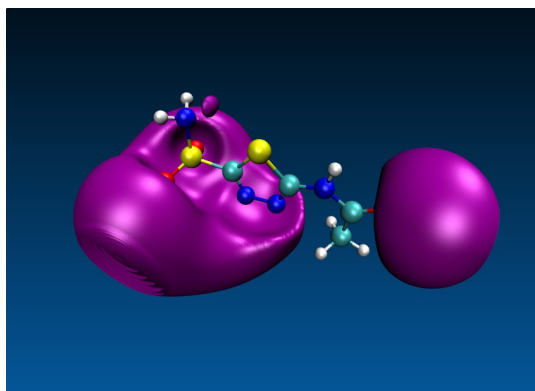
Es muy interesante anotar que el átomo de azufre del anillo, tiene como valencia total calculada un valor de 2.404 que permite valorar la participación en el sistema resonante. Adicionalmente de tener un ángulo diedro de 180°. También se evidencia el nitrógeno externo al anillo, en el plano del anillo aromático asistiendo el proceso de deslocalización de cargas. En contraste, el S del grupo sulfonamido con valor de 5.15 muestra que tiene una fuerte tendencia a ser pentavalente y en consecuencia, se puede explicar la posibilidad de la ruptura homolítica en la pérdida del grupo sulfonamido y posterior dimerización, por irradiación directa.

En cuanto a la evaluación de los puntos críticos de enlace (3,-1), gráficamente es posible observar la asimetría y por ende la polarización de los enlaces en los que participan los átomos más electronegativos. También se visualiza un punto de enlace *entre átomos no enlazados*, que incluye a uno de los nitrógenos del anillo, el que justamente está cerca del punto crítico de anillo.



**Figura 37.** Puntos críticos en la acetazolamida: de enlace (rosado) (3,-1) y de anillo (violeta) (3,+1)

Al respecto, los mapas de potencial electrostático señalan una gran acumulación de cargas en la región de oxígenos en la acetazolamida, del carbonilo y en el entorno de los nitrógenos del sistema aromático, ampliando la posibilidad de que en el componente físico del apagamiento del oxígeno molecular singulete, participen varios segmentos de la molécula.



**Figura 38.** Superficies de isopotencial electrostático para la acetazolamida

$$V(r) = -0.0125 \text{ au}$$

## 8. CONCLUSIONES

Los valores de las constantes de velocidad para la reacción química entre la acetazolamida y el oxígeno molecular singlete, fueron de uno a cuatro órdenes de magnitud menores que la  $k_T$ , con una contribución de  $k_r$  menor de un 2% para solventes polares proticos y un 12% para el acetonitrilo solvente polar aprotico, lo que muestra que la molécula es un eficiente desactivador del oxígeno excitado a través de la ruta física en la que se regenera la acetazolamida en estado basal.

La velocidad de esta reacción es moderadamente dependiente del solvente, teniendo valores de  $k_t$  extremos en el hexanol de  $6,70 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (solvente polar), mientras que en solventes polares aproticos como el acetonitrilo el valor es de  $0,25 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , siendo 27 veces mayor la velocidad en solventes polares proticos, lo que muestra que la reacción se ve favorecida en solventes de mayor polaridad.

La aplicación de la ecuación de Taft a los datos obtenidos para la acetazolamida muestra que es más importante el parámetro  $\beta$ . Se observó que en solventes aceptores de hidrógenos la constante de velocidad total aumenta, lo que puede indicar que solventes con capacidad de aceptar puentes de hidrógeno aumentan la densidad de carga en las posiciones susceptibles al ataque electrofílico, favoreciendo la interacción entre acetazolamida y  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ . También, el parámetro  $\pi^*$  es muy importante lo que significa que solventes con capacidad de estabilizar cargas y/o dipolos favorecen la  $k_t$ . Por lo tanto el mecanismo de la reacción de AQ y el  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$  puede proceder a través de un complejo de encuentro con separación de cargas, posiblemente por un intermediario que conduce a un endoperóxido.

La reacción química de la acetazolamida con el  $\text{O}_2(^1\Delta_g)$ , es mucho más lenta que la desactivación física, alrededor de uno a dos órdenes de magnitud menor, por lo que la acumulación de productos necesita largos tiempos de irradiación (consumo de acetazolamida del 12% en etanol en 48 horas). Este es un factor importante si se considera que este sustrato es utilizado contra el glaucoma, ya que podría

inhibir la acción dañina del oxígeno molecular singulete y de algunos radicales libres.

Al comparar las  $k_t$  y las  $k_r$  de la acetazolamida con otros medicamentos utilizados en el tratamiento del glaucoma, como los medicamentos antagonistas  $\beta$  adrenérgicos, el Timolol y el pindolol<sup>54</sup>. Estos medicamentos presentan  $k_r$  del orden de  $0,23 \times 10^8$  y  $1,14 \times 10^8$  sus  $k_t$  son de  $1,50 \times 10^8$  y  $2,08 \times 10^8$  en solución acuosa para el timolol y el pindolol respectivamente muy similares. Mientras las  $k_r$  de la acetazolamida son del orden de  $10^5$  y las  $k_t$  del orden de  $10^7$ , por lo que se puede concluir que este medicamento es un buen apagador del oxígeno excitado a través de una ruta física, diferente a lo que ocurre con el pindolol y el timolol.

Para el rendimiento cuantico en la generación de oxígeno molecular singulete se encontró que la acetazolamida posee poca generación de esta sustancia, los datos obtenidos son metanol 0,056, etanol 0,097 y acetonitrilo 0,015, de lo cual se concluye que es mejor generador de oxígeno molecular singulete en solventes polares proticos que en solventes polares aproticos.

Debido a la baja generación del oxígeno molecular singulete por parte de la acetazolamida y la poca participación de la  $k_r$  en la constante de velocidad total, se concluye que los efectos secundarios fototóxicos del medicamento se puede generar por otras especies como el ion superóxido o por formación de radicales libres, por irradiación directa. El valor de la constante de apagamiento físico,  $k_q$ , presenta este medicamento como un buen apagador del oxígeno molecular singulete.

Los cálculos teóricos apuntan a cambios en densidad electrónica más marcados en heteroátomos al interior del anillo y en el nitrógeno del amido, sustituyente

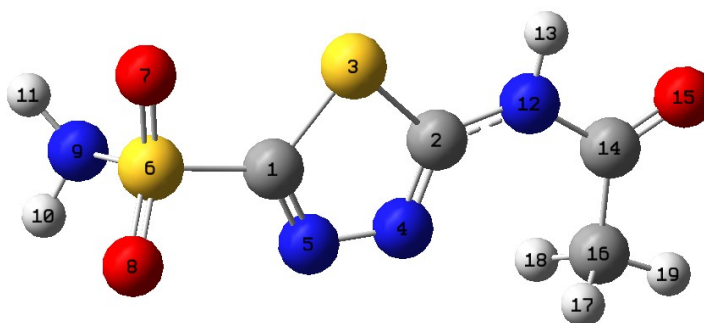
directamente unido también al sistema aromático, señalando este segmento de la molécula como también como sitio de posible interacción con el oxígeno excitado

## **ANEXO 1**



**Tabla 10.** Función electrofílica de reactividad local de Fukui , calculadas con bse en las cargas NBO para la molécula de acetazolamida y el catión, en fase gaseosa.

Número	Átomo	Cargas Cation	Cargas Anión	Cargas Neutra	$f^-(r)$
1	C	-0,42862	-0,22083	-0,29655	0,13207
2	C	0,11802	0,22817	0,22242	0,10440
3	S	0,21952	0,56387	0,42852	0,20900
4	N	-0,36435	-0,19053	-0,32695	0,03740
5	N	-0,32859	-0,16299	-0,21697	0,11162
6	S	2,31478	2,32150	2,33173	0,01695
7	O	-0,98503	-0,89733	-0,94456	0,04047
8	O	-0,95965	-0,83064	-0,9071	0,05255
9	N	-1,11837	-1,05078	-1,1096	0,0880
10	H	0,40495	0,45064	0,42938	0,02443
11	H	0,40016	0,45500	0,42962	0,02946
12	N	-0,65242	-0,49265	-0,65933	-0,00691
13	H	0,42018	0,47401	0,4428	0,02262
14	C	0,65020	0,70373	0,71797	0,06777
15	O	-0,66885	-0,42965	-0,5696	0,09925
16	C	-0,76349	-0,78757	-0,77716	-0,01367
17	H	0,25625	0,28408	0,27109	0,01484
18	H	0,25622	0,28511	0,27162	0,01540
19	H	0,22908	0,29684	0,26263	0,03355



**Figura 39.** Acetazolamida

## ANEXO 2

## **Publicaciones y Presentaciones a Congresos**

### **Publicaciones:**

Cristina Valencia U, Eduard Alejandro T, Fernando F y Diana Patricia H, Fototoxicidad de medicamentos sulfas y su reactividad frente al oxígeno molecular singulete, Revista de la Sociedad de Química del Perú. Volumen 74 N° 4, p 298-311.

### **Presentaciones a Congresos**

Congreso Iberoamericano de Química "75 Años de la Sociedad Química del Perú" - XXIV Congreso Peruano de Química. Fototoxicidad de medicamentos sulfas y su reactividad frente al oxígeno molecular singulete. Cristina Valencia Uribe, Eduard Alejandro Tobon, Fernando Figueredo y Diana Patricia Henao. Cuzco (Perú) octubre 2008

X Encuentro Latinoamericano de Fotoquímica y Fotobiología, Reactividad de Acetazolamida Frente al Oxígeno Molecular Singulete. Cristina Valencia, Diana Patricia Henao, Carolina Castaño, Eduard Sobón, Antonio Zanocco, Else Lemp. La Serena (Chile), octubre 2010

## 10 BIBLIOGRAFÍA

- 1) Quintero, B., Miranda, M. *Ars Pharmaceutical*. **41** (2000); p. 27-46.
- 2) CUÉLLAR, Santiago. Introducción a la química de los medicamentos. Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Madrid – España 1995. p 18, 34 y 35
- 3) Albani, A., Fasini, E. *Drugs Photochemistry and Photostability*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, (1998). Capítulos: 4, 11,12 y 18
- 4) Tonnesen H. *The photostability of drugs and drugs formulations*, editorial Taylor and Francis, (1996). Capítulos 2, 3, 4 y 7
- 5) Moore, D. *Drug Safety*. **25** (2002); p. 345-372
- 6) Vargas, F.; Mendez, V.; Rojas, K. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. **118** (1998); p. 19-23.
- 7) Selvaag, E. *Journal Toxicology Cutane and Ocular Toxicol*. **16** (1997); p. 217-226.
- 8) Selvaag, E. *In Vitro. Journal Toxicology Cutane and Ocular. Toxicol*. **16** (1997); p. 77-84.
- 9) Geerlings, P.; De Proft, F.; Langenaeker, W. *Chemical Reviews*. **13** (2003); p. 1793-1873.
- 10) Katsung, G. *Farmacología Básica y Clínica*. Santafé de Bogotá: 7ª Ed, Editorial Manual Moderno, (1998). Capítulos: 15, 41 y 46
- 11) Selvaag, E.; Petersen, R.; Gniadecki, R.; Thorn, T.; Wulf, H. *Photodermatology, Photoimmunology and photomedicine*. **18** (2002); p. 90-95.
- 12) Zanocco, A.; Gunter, G.; Lemp, E.; De LaFuente, J.; Pizarro, N. *Photochemistry and Photobiology*. **68** (1998); p. 487 493.
- 13) Castagliola, C.; Menziane, M.; Chiosi, F.; Romano, M.; DellaCorte, M.; Rinaldi, M. *Photochemistry and Photobiology*. **84** (2008); p. 1294-1297.
- 14) Veikko, U. *Journal pharmaceutical and biomedical analysis*. **17** (1998); p. 77-82.

- 15) Vargas, F.; Izzo, C.; Zoltan, T.; Lopez, V. *Avances en Química*. **3** (2006); p. 3-12.
- 16) Zhou, W.; Moore, D. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Biology*. **39** (1997); p. 63-72.
- 17) William Horspool and Francesco Lenci, *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2da Ed. 2004. 63-1 a 63-10, 25-8.
- 18) Kuhn, H.; Braslavsky, E.; Schmidt, R. *Chemical Actinometry Pure Appl. Chem.* **76** (2004); p. 2105-2146.
- 19) Lissi, E.; Encinas, M.; Lemp, E.; Rubio, M. *Chem. Rev.* **93** (1993); p. 699-723.
- 20) Lemp, E.; Zanocco, A.; Lissi, E. *Reaction current organic chemistry*. **7** (2003); p. 799-819.
- 21) Polandaivel, P.; Praveena, G.; Selvarengan. *Journal chemistry Sci.* **117** (2005); p. 591-598.
- 22) Bader, R. *Journal of Physical Chemistry*. **102** (1998); p. 7314 – 7323.
- 23) Pursell, K. F. y Kutz, J. *Química Inorgánica*. Ed. Revert, Barcelona (1979)
- 24) Schweitzerzerg C, Schmidt R. *Chem. Rev.* **103** (2003); p. 1685-1757.
- 25) Ben-hur E, Moor A, Margoliss-nunno H, Gottlieb P, Zuk M, Lastigman S, Horowitz B, Brand A, Van steveninnck J, Dubbelman. *Transfusion medicine Reviews*. **10** (1996); p. 15-22.
- 26) Grandadam M, Ingrand D, Huraux J, Aveline B, Delgado O, Bizet C, Brault D. *Journal of photochemistry and photobiology a:biology*. **31**(1995); p. 171-177.
- 27) Anne I, Arnold W, Mcneill K. *Aquatic Sciences*. **65** (2003); p. 320-341.
- 28) Martinez I, Hodaifa G, Casanova M. *Journal of hazzardous materials. Short comunication*, (2009).
- 29) CLENNAN E. *Tetrahedron*. **56** (2000); p. 9151-9179.
- 30) Wilkinson F, Helman W y Ross A. *Journal Phys. Chemistry. Ref. Data*. **22** (1993); p. 113-211.

- 31) Bolesheim M y Schmidt R. Journal Phys Chemistry. **101**(1997); p. 5672-5677.
- 32) Ogryzlo E y Tang C. Journal Am Chem Soc. **92** (1970); p. 5034-5036
- 33) Young R, Martin R, Feriozi D, Brewer P y Kayser R. Photochem. Photobiology. **17** (1973); p. 233-244.
- 34) Encinas M, Lemp E y Lissi E. Journal Chem Soc. Perkin Trans. **2** (1987) ; p. 1125-1132.
- 35) Zanocco A, Günther G, Lemp E, De la Fuente R y Pizarro N. Photochemistry. Photobiology. **140** (2001) ; p. 109-115
- 36) Aubry, J.; Mandard-Cazin, B.; Rougee, M.; Bensasson, R. Journal. American.Chemistry Soc. **117**(1995); p. 9159-9164.
- 37) Adam, W.; Prein, M. Acc Chemistry Res. **29** (1996); p. 275-279.
- 38) Briviba K, Devasagayam T, Sies H y Steenken S. Chemistry Res Toxicology. **6** (1993); p 548-553.
- 39) Reichard, C. Solvent Effects in Organic Chemistry. **3** (1987); p44-60.
- 40) Kamlet, J.; Abboud, J.; Abraham, M.; Taft, R. Journal Organic Chemistry. **48** (1983); p. 2877-2887.
- 41) Douglas, A.Skoog, Donald M. West. Química analítica. Mcgraw-Hill, México, 1995.
- 42) Ficha técnica del medicamento.
- 43) Allen, L.; Erickson, M. American Journal Health System Pharm, **53** (1996) p. 1944-1949.
- 44) Alexander, K.; Haribhakti, R.; Parker, G. American Journal Hospital Pharm. **44** (1987); p. 358-360.
- 45) Park, S.; Hee, S.; Kim, Y.; Sook, P. Journal of Analitical Toxicology. **14** (1990); p. 84-90.
- 46) German, G.; Else, L.; Zanocco, A. Boletín de la.Sociedad. Chilena de Química. **45** (2000); p. 1-15.

- 47) Castro, R.; Gunter, G.; Zanocco, A.; Lemp, E. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. **207** (2009); p. 160-166.
- 48) Valencia, C.; Zanocco, A.; Lemp, E. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. **168** (2004); p. 91-96.
- 49) Fleming, Ian. *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*. John Wiley & Sons, N.Y 2005. Capítulos: 2, 5, 6
- 50) Yang, W.; Mortier, J. *Journal Am Chem. Soc.* **108** (1986); p. 5708-5711.
- 51) Richard Bader. *Atoms in Molecules: A Quantum Theory*. Oxford University Press, Oxford, 1990.
- 52) Pizarro Nancy. *Estudio del efecto del solvente sobre la reactividad de una amina terciaria sustituida lidocaína con oxígeno molecular singulete*. Universidad de Chile 1997.
- 53) Vargas, F.; Méndez, V.; Rojas, J.; Sequera, J.; Fraile, G.; Velásquez, M. *Toxic substance mechanisms*. **18** (1999); p. 53-65.
- 54) Criado, S.; Martire, D.; Allegretti, P.; Furlong, J.; Bertolotti, S.; La Falce, E.; Garcia, N. *Photochemistry. Photobiology Sci.* **1** (2002); p. 788-792.
- 55) Brovelli, F.; Del Valle, A.; Diaz, F. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*. **46** (2001).
- 56) Watura, A.; Hideki, S.; Takeshi, A. *Tetrahedron Letters*. **27** (1986); p. 4473-4476.
- 57) Chung-Wen, Chen.; Chi-Tang, Ho. *Journal Agricultural Food Chemistry*. **44** (1996); p. 2078-2080.