

7 13 19

PALACIOS, CECILIA M.

Estudio del consumo de tabaco en e-Peruán

2015 74399



TESIS DOCTORAL EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIOS DEL MECANISMO DE FOTOREACCIÓN DE α -OXOAMIDAS

LIC. CECILIA M. PALACIOS

DIRECTOR: DR. C. A. CHESTA

CO-DIRECTOR: DRA. S. G. BERTOLOTTI

2015

74309

MF:
Clasif:
T. 980

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Química y Naturales y se presenta como requerimiento para optar al grado de Doctora en Ciencias Químicas

Director de Tesis:

Dr. Carlos. A. Chesta



Co-Director de Tesis:

Dra. Sonia G. Bertolotti



Jurado de Tesis:

Dra. Lorena Gómez (UNRC)



Dr. Luis Otero (UNRC)



Dr. Mariano A. Vera (UNMP)



Río Cuarto, Octubre 2015

Agradecimientos

Son muchas las personas que han formado parte en mi vida, a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y sobre todo su compañía en estos años. Algunas están aquí a mi lado y otras en mis recuerdos y en mí corazón, quiero darles las gracias por formar parte en este viaje, por todo lo que me han brindado, en especial gracias:

A mis Directores Carlos C. y Sonia B. por su guía, su dedicación y permitir que mi formación científica fuera una experiencia enriquecedora. Gracias por incentivar este gran amor por la ciencia con sus consejos y enseñanzas.

A los miembros del Jurado de Tesis por su aporte y sugerencias durante estos años con respeto y compromiso.

A todos los integrantes del grupo de Fotoquímica por su apoyo y ánimo constante. Gracias por esos lindos momentos compartidos en esos largos días en el laboratorio, en especial agradecer a: Clau S., Ceci Ch., Eugenia R., Lauri H., Mariel C., Maxi A., Gaby P., Naty G., Dalila O., Laura B., Juan T., etc.

A todos los miembros del Departamento de Química docentes y no docentes quienes aportaron para la realización de esta Tesis.

A la Universidad Nacional de Río Cuarto, por permitirme el uso de sus instalaciones para la realización de esta carrera de posgrado.

A CONICET, por el financiamiento económico para esta etapa de mi formación.

A mis compañeros de la universidad con quienes compartí hermosos momentos, Gracias: Jime M., Lorena T., Angélica M., Meli M., Diana B., Silvina Q., Yanina B., y demás...

A mis padres, Juan y Vilma, quienes siempre me han apoyado en todo lo que he decidido emprender en mi vida, gracias por creer en mí, por nunca dejarme caer ante las adversidades. Los Amo.

A mis hermanos, Juan Pablo y Gisela por su apoyo y comprensión incondicional. Gracias por regalarme junto a María Luz y Sergio, la dicha de disfrutar de mis hermosos solcitos, Benjamín y Corina.

A mis amigas, que supieron entender mis largas ausencias, gracias por demostrarme que siempre están cuando las necesito, gracias Yani por tu enorme apoyo y gracias Pato, Eva, Euge y Vane por estar a mi lado.

A Dios que guió mis pasos,.....a quienes creyeron, creen y seguirán creyendo en mí....

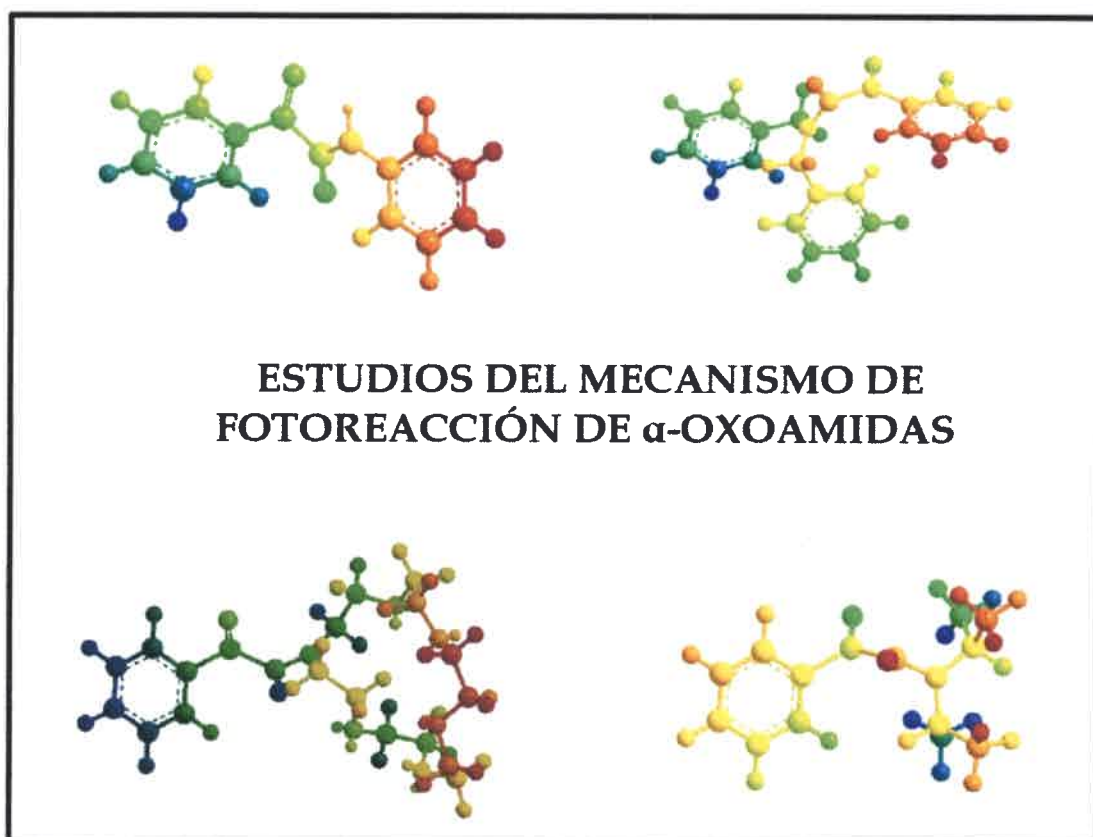
Desde mi corazón, a todos.... Gracias.

Dedicado:

A mi familia... ..

A mis dos grandes amores, Benjamín y Corina.....

TESIS DOCTORAL EN CIENCIAS QUÍMICAS

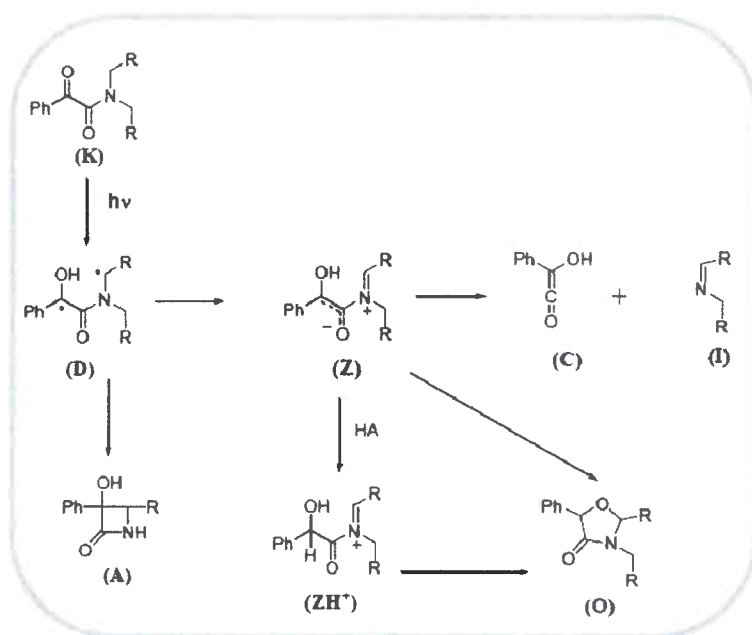


Cecilia Mabel Palacios

Octubre de 2015

RESUMEN

El estudio del mecanismo de fotoreacción de las α -oxoamidas ha despertado el interés por décadas, particularmente debido de su gran utilidad sintética. Las α -oxoamidas (**K**) producen por irradiación UV β -lactamas (**A**) y oxazolidinonas (**O**), dos familias de heterociclos de interés en la preparación de fármacos.



De estudios previos realizados por Aoyama y col, Whitten y col. y otros; en los cuales variaron sistemáticamente las estructuras de las amidas, el solvente y la temperatura, fue posible inferir la existencia de intermediarios de reacción dirradcalarios (**D**) y zwitteriónicos (**Z**). Sin embargo, hasta la fecha, estos intermediarios no habían sido caracterizados espectroscópicamente y por ende, nada se conocía sobre sus cinéticas de formación y reacción.

Durante el desarrollo de esta Tesis se sintetizaron y caracterizaron las α -oxoamidas: N,N-di-bencil (DBBF), N,N-di-isopropil (DIBF), N-fenilbenzoilformamidas (PBF), la 1-aza-18-corona-6-benzoilformamida (ACBF), y sus correspondientes fotoproductos. La distribución de fotoproductos fue estudiada en acetonitrilo y n-pentano. DBBF produce mayoritariamente β -lactamas (**A**), DIBF la oxazolidinonas (**O**) y ACBF una mezcla de ambos. Dada la estructura de PBF, esta amida es no reactiva.

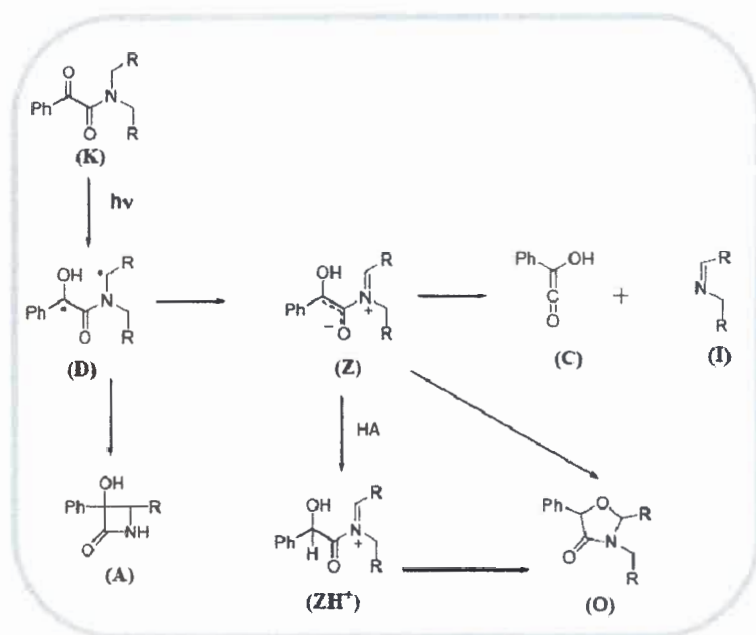
Utilizando la técnica de Láser Flash Fotólisis (LFF), fue posible observar la formación de los intermediarios zwitteriónicos (**Z**) y sus correspondientes ácidos conjugados, **ZH⁺**. Los **Z** de las distintas amidas muestran máximos de absorción entre 300-330 nm y decaen monoexponencialmente en la escala de los μ s. Los espectros de absorción de los **ZH⁺** ocurren a menores energías (400-440 nm) y son especies que persisten en la escala del ms. Mediante el uso de la técnica de Pump-Probe (UV-vis), fue posible obtener los espectros de absorción de los singletes excitados de DBBF y DIBF en los mismos medios. Ambas especies decaen en la escala de los ps. Sin embargo, no pudo obtenerse información espectroscópica de los dirradicales (**D**) intermediarios ya que (según predicciones teóricas de sus espectros de absorción) las transiciones características de estas especies ocurrirían fuera de rango espectral accesible para el instrumental utilizado. Con la ayuda de la técnica Pump-Probe (IR) pudo obtenerse un panorama más general del mecanismo de fotoreacción.

El mecanismo de fotoreacción es aparentemente más complejo que el aceptado actualmente. Tras irradiación de la oxoamidas se formaría el primer intermediario **D**, el cual puede transformarse en **A**, dar productos de eliminación (**C+I**) o producir el segundo intermediario, **Z**. El zwitterion **Z** también puede producir **A** y **C+I**; pero es el único precursor de **O**. Generalmente, **Z** es más estable que **D**, pero la energía relativa entre estos intermediarios depende de los sustituyentes en la amida y de la polaridad del medio. Así, para una misma amida, un cambio de la polaridad del medio puede modificar el mecanismo de fotoreacción. Aún más, en algunos casos, los fotoproductos (**A** y **C+I**) provienen de ambos intermediarios (**D** y **Z**) pero son producidos en escalas de tiempo muy distintas.

Se estudió también la oxoamida cíclica ACBF. En esta amida el N forma parte de un éter corona por lo que tiene la capacidad de acomplejar metales. La fotoquímica de la ACBF cambia notoriamente cuando se acompleja con los metales. La quelación produce un decrecimiento del rendimiento cuántico de fotoreacción, de formación de **Z** y del fotoproducto **O**. Esto sugiere fuertemente que tras excitación de la amida, el proceso de abstracción de H es intermediado por la formación de un estado de separación de cargas, como fue propuesto anteriormente por Whitten y col.

ABSTRACT

The α -oxoamide's photoreaction mechanism has attracted interest for many decades, particularly because of its high synthetic value. Upon UV irradiation, α -oxoamides (**K**) yield β -lactams (**A**) and oxazolidinones (**O**), two families of heterocyclic compounds of relevance in the preparation of pharmaceutical drugs.



From previous studies by Aoyama et al, Whitten et al. and others; in which the amide structures, solvent and temperature were varied systematically, allowed to infer the existence of diradical (**D**) and zwitterionic (**Z**) species as reaction intermediates. However, to date, these intermediaries were not spectroscopically characterized and therefore, not much is known about their formation and reaction kinetics.

In order to further investigate the photoreaction mechanism of these amides, the following compounds were synthesized: N,N-dibenzyl- (DBBF), N,N-diisopropyl- (DIBF), N-phenylbenzoylfomamides (PBF), 1-aza-18-crown-6-benzoylformamide and their corresponding photoproducts. Photoproduct selectivity of these amides was studied in acetonitrile and n-pentane. DBBF yields mainly β -lactams (**A**), DIBF oxazolidinones (**O**) and ACBF a mixture of both products. Given its structure PBF is not reactive.

By using the Laser Flash Photolysis technique, it was possible to detect the formation of the zwitterionic intermediates (**Z**) of the amides and their corresponding conjugated acids, **ZH⁺**. **Z** show maximum absorption between 300-330 nm and decay monoexponentially in the μ s time scale. The absorption spectra of the **ZH⁺** show maxima at lower energies (400-440 nm) and these species persist in the ms time scale. By using pump-probe (UV-vis) technique, it was possible to obtain the absorption spectra of excited singlet states of DIBF and DBBF, in the same media. Both species decline in the scale of ps. However, it could not be obtained spectroscopic information of diradicals (**D**) as intermediaries (as theoretical predictions of their absorption spectra) transitions characteristics of these species occur outside accessible to the instrumental spectral range used. With the help of technical Pump- Probe (IR) could be obtained a general overview of the mechanism of photoreaction.

The mechanism of photoreaction is apparently more complex than currently accepted. After oxoamides irradiation, **D** is formed and it can either transform into **A**, into the elimination products (**C + I**) or yield the second intermediate, **Z**. **Z** can also produce **A** and **C + I**; but it is the only precursor of **O**. Generally, **Z** is more stable than **D**, but the relative energy between these intermediates depends on the substituents on the amide and polarity of the solvent. Thus, for the same amide, a change in the polarity of the medium can modify the photoreaction mechanism. Furthermore, in some cases, photoproducts (**A** and **C + I**) come from both intermediaries (**D** and **Z**) but are produced in very different time scales.

The cyclic oxoamide ACBF was also studied. In this amide, N is part of crown ether which is able of complexing metals. ACBF photochemistry changes markedly when complexed with metals. The chelation produces a decrease of the photoreaction quantum yield, and the yield of **Z** and **O**. This strongly suggests that upon excitation of the amide, the process of H abstraction is mediated by charge transfer state, as it was previously proposed by Whitten et al.

INDICE GENERAL

INDICE DE CONTENIDO	VI
INDICE DE FIGURAS	IX
INDICE DE ESQUEMAS	XVI
INDICE DE ABLAS	XVIII

INDICE DE CONTENIDOS**ANTECEDENTES**

I-1 Antecedentes	2
I-1.1 Información General	2
I-1.2 Mecanismo de Fotoreacción de las α -oxoamidas	3

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II-1 Hipótesis y Objetivos	19
II-1.1 Hipótesis	19
II-1.2 Objetivos Generales.....	20
II-1.2 Objetivos Específicos	20

METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

III-1 Metodología: Materiales y Métodos	22
III-1.1 Reactivos y Solventes	22
III-1.2 Instrumental	22
III-1.2.1 Aspectos Generales.....	22
III-1.2.1.1 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)	23
III-1.2.1.2 Espectroscopia resueltas en el tiempo.....	26
III-1.2.1.2.1 Láser Flash Fotólisis (LFF).....	26
III-1.2.1.2.2 Pump-Probe (PP)	29

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Detección y caracterización de intermediarios de fotoreacción de α -oxoamidas

IV-1 Resultados y Discusión	37
IV-1.1 α -Oxoamidas: PBF, DBBF y DIBF	37
IV-1.1.1 Síntesis de α -oxoamidas.....	37

IV-1.1.1.1	Fenilbenzoilformamida (PBF)	37
IV-1.1.1.2	N,N-dibencilbenzoilformamida (DBBF) y N,N-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF).....	38
IV-1.1.2	Síntesis de fotoproductos de las α -oxoamidas	40
IV-1.1.2.1	Fotoproductos de N,N-dibencilbenzoilformamida (DBBF) y N,N-dibencilbenzoilformamida (DBBF)	40
IV-1.1.2.1.1	Oxazolidinonas (O) y β -lactamas (A)	40
IV-1.1.2.1.2	Imidas (I).....	42
IV-1.1.2.1.2.1	N-(2-propaniden)propan-2-amina	42
IV-1.1.2.1.2.2	N-bencilidenbencilamina	42
IV-1.1.2.1.3	Mandelamina (MM).....	43
IV-1.1.2.1.3.1	N-isopropilmandelamina ó 2-hidroxi-N-isopropil-2- fenilacetamida	43
IV-1.1.2.2	Efectos de solvente sobre la distribución de fotoproductos (fotoselectividad).....	44
IV-1.1.2.2.1	Fotoproductos de la DBBF	44
IV-1.1.2.2.2	Fotoproductos de la DIBF	46
IV-1.1.3	Caracterización de especies transitorias-Estudios de Láser Flash Fotólisis (LFF)	47
IV-1.1.3.1	Fenilbenzoilformamida (PBF)	47
IV-1.1.3.2	Di-bencilbenzoilformamida (DBBF). Caracterización espectroscópica de ZH^+ y Z	49
IV-1.1.3.2.1	En acetonitrilo	49
IV-1.1.3.2.2	En n-pentano	60
IV-1.1.3.3	Di-isopropilbenzoilformamida (DIBF)	60
IV-1.1.3.3.1	En acetonitrilo	60
IV-1.1.3.3.2	En n-pentano	65
IV-1.1.4	Caracterización de especies transitorias-Estudios de Pump-Probe	66
IV-1.1.4.1	Pump-Probe UV-visible	66
IV-1.1.4.2	Pump-Probe IR.....	68
IV-1.1.4.2.1	Fenilbenzoilformamida (PBF)	69

IV-1.1.4.2.2 Di-isopropilbenzoilformamida.....	70
IV-1.1.4.2.3 Di-bencilbenzoilformamida (DBBF).....	75
IV-1.2 Resumen y Conclusiones.....	78
IV-1.2.1 PBF.....	78
IV-1.2.2 DBBF.....	78
IV-1.2.3 DIBF.....	80
Efectos electrostáticos sobre la fotoreactividad de las α -oxoamidas	
IV-2 Resultados y Discusión.....	82
IV-2.1 α -oxoamida: 1-aza-corona-16-benzoilformamida (ACBF).....	82
IV-2.1.1 Síntesis de ACBF.....	82
IV-2.1.2 Fotoproductos de ACBF.....	83
IV-2.1.3 Caracterización espectroscópica de ACBF.....	85
IV-2.1.4 Caracterización de ACBF y ACBF-Me ^{tn}	88
IV-2.1.4.1 Complejación de ACBF con metales monovalentes y di-valentes ..	88
IV-2.1.4.1.1 Determinación de la constante de complejación de ACBF-iones por espectroscopia de absorción.....	91
IV-2.1.4.1.2 Rendimiento cuántico de fotoreacción de ACBF en presencia y ausencia de iones mono y di-valentes.....	99
IV-2.1.4.1.3 Efectos de la complejación sobre la distribución de fotoproductos de ACBF.....	101
IV-2.1.5 Estudios de Láser Flash Fotólisis (LFF).....	103
IV-2.1.5.1 Especies transitorias de ACBF en acetonitrilo en ausencia y en presencia de sales metálicos.....	103
IV-2.2 Resumen y Conclusiones.....	109
CONCLUSIONES	
V-1 Conclusiones Generales.....	112

REFERENCIAS

VI-1 Referencias.....	113
-----------------------	-----

INDICE DE FIGURAS

Figura I-1: Antibióticos β -lactámicos: Penicilina, Cefalosporina C y Carbapenemas. En **rojo** se muestra el anillo β -lactámico, núcleo principal de este tipo de antibióticos.....3

Figura I-2: Antibióticos oxazolidinónicos. Cicloserina y Linezolid. En **rojo** se muestra el anillo de cinco miembros, núcleo principal de estos antibióticos.....3

Figura I-3: Fotoproductos obtenidos tras irradiación de α -oxoamida por Akermark col. [18]: 4-oxazolidinona y 2-hidroxi- β -lactama, este último, un derivado de la y penicilina.....4

Figura I-4: Estructuras resonantes de dirradical y zwitterion.....8

Figura I-5: Separación de carga en los intermediarios de reacción, *cuasi-D* y *cuasi-Z*, dependiendo de la geometría.....9

Figura I-6: Fotorreacción de (N-bencil,N-etil)bencilformamida deuterada (1-d₁) en solución acuosa de ácido acético.....11

Figura I-7: Fotorreacción de N-bencil,N-etil bencilformamida (1) en un medio acuoso deuterado.....11

Figura III-1: Parámetros básicos de un cromatograma de HPLC. t_R : tiempo de retención, t_M : tiempo muerto, W_h : altura del pico y W_b : base del pico.....25

Figura III-2: Representación de una señal transitoria típica obtenida por láser flash.....	28
Figura III-3: Diagrama esquemático de un experimento de Pump-Probe (PP). Un primer pulso de luz (pump) excita el sistema desde el estado fundamental a un estado de energía más alto. Un segundo pulso monitorea (probe) el sistema a diferentes tiempos de retardo controlados (t_1, t_2, \dots, t_n) con el fin de observar el progreso del sistema tiempo a lo largo del camino de reacción (coordenadas de reacción).....	31
Figura III-4: Trazas típicas de la cinética en espectroscopia <i>Pump-Probe</i>	32
Figura III-5: Espectro de diferencia resuelto en el tiempo, $\Delta A = \Delta A(t, \lambda)$	32
Figura III-6: Representación esquemática del espectro diferencia ΔA en Pump-Probe.....	33
Figura IV-1: Fotofísica de las isatinas en benceno.....	48
Figura IV-2: Estructura propuesta del intermediario ZH^+ (zwitterion protonado) de la DBBF.....	49
Figura IV-3: Espectro de absorción del transitorio de la DBBF en acetonitrilo/ ácido sulfúrico (5%) a 25 °C a: (■) 0,5 μs , (●) 1 μs , (▲) 2 μs y (▼) 8 μs , luego del pulso del láser. <i>Inserto:</i> Decaimiento de ΔA a 420 con $\tau > 5$ ms. $Abs_{DBBF}^{266\text{ nm}}$: 0,8 λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min.....	50
Figura IV-4: Espectro de absorción del transitorio de DBBF en acetonitrilo a 25 °C a: (■) 0,5 μs , (●) 1 μs , (▲) 2 μs y (▼) 8 μs , luego del pulso del láser. <i>Inserto:</i> Traza temporal a 320 nm y ajuste monoexponencial con un $\tau \sim 2,6$ μs . $Abs_{DBBF}^{266\text{ nm}}$: 0,8. λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min.....	51
Figura IV-5: Estructura propuesta del intermediario Z (zwitteriónico) de DBBF...	52

Figura IV-6: Perfil de ΔA de la α -oxoamida DBBF a 320 nm y 420 nm, en función de la concentración de H_2SO_4 (% v/v), extrapolados a $t = 0$ a 25 °C con A_{DBBF}^{266} : 0,8 y λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con argón durante 30 min.....	52
Figura IV-7: Dependencia temporal de ΔA observada a 320 nm y 420 nm para una muestra de DBBF en acetonitrilo en función de la concentración de ácido sulfúrico: <i>a;d</i>) sin ácido, <i>b;e</i>) 1% v/v y <i>c;f</i>) 5% v/v.....	53
Figura IV-8: Espectro de absorción de DBBF ($2,2 \times 10^{-3}$ M) en acetonitrilo y a diferentes concentraciones de ácido sulfúrico: 0 %, 1 %, 3 %, y 5 % v/v.....	55
Figura IV-9: Constante de equilibrio (K) y constantes de velocidad de protonación (k_3) y deprotonación (k_4) para el enol del metil mandelato en agua.....	58
Figura IV-10: Espectro de absorción del transitorio de DIBF en acetonitrilo a 25 °C a 1 μs luego del pulso del láser. <i>Inserto:</i> Traza temporal a 320 nm y ajuste monoexponencial con un $\tau \sim 80 \mu s$. λ_{exc} : 266 nm. $Abs_{DBBF}^{266 nm}$: 0,8. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min.....	61
Figura IV-11: Espectro de especies transitorias de la DIBF en acetonitrilo (●) y en acetonitrilo / 5% de H_2SO_4 (▲) obtenido por extrapolación a tiempo = 0. <i>Inserto:</i> Perfil de ΔA a 320 nm (●) y a 400 nm (○) en función de la concentración de H_2SO_4 (% v/v), extrapolados a $t = 0$ a 25 °C con A_{DBBF}^{266} : 0,8 y λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con Ar durante 30 min.....	62
Figura IV-12: Estructura propuesta para el intermediario zwitteriónico (Z) y zwitterion protonado (ZH⁺) de la α -oxoamida DIBF en acetonitrilo.....	63
Figura IV-13: Espectro de absorción de DIBF ($2,6 \times 10^{-3}$ M) en acetonitrilo y a diferentes concentraciones de ácido sulfúrico: 0 %, 1 %, 3 %, y 5 % v/v.....	63
Figura IV-14: Dependencia temporal de ΔA observada a 320 nm y 400 nm para una muestra de DIBF en acetonitrilo en función de la concentración de ácido sulfúrico: <i>a;d</i>) sin ácido, <i>b;e</i>) 1% v/v y <i>c;f</i>) 5% v/v.....	64

- Figura IV-15:** Espectro de absorción resuelto en el tiempo del transitorio de DIBF en n-pentano a 25°C, a: (■) 1 μs, (●) 2 μs, (▲) 3 μs, (▼) 10 μs y 30 (◄) μs, después del pulso del láser. *Inserto:* Traza temporal a 310 nm ajustada a una función biexponencial con un τ_1 : 0,5 μs y un τ_2 : 13 μs. $\lambda_{exc} = 266\text{nm}$. $A_{DIBF}^{266\text{nm}}$: 0,8. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min.....66
- Figura IV-16:** Espectro de especies transitorias observado para DBBF en acetonitrilo a diferente tiempos después de la excitación a 350 nm. *Inserto:* decaimiento de ΔA a 520 nm.....67
- Figura IV-17:** Panel superior: fotoblanqueo del espectro de absorción de PBF observado a 6 ps después del pulso laser en CD₃CN. Panel inferior: espectro IR de PBF en el mismo solvente.....69
- Figura IV-18:** Evolución temporal de las absorbancia de PFB medida a: 1694 (■), 1528 (▲) y 1444 cm⁻¹ (●). Las señales fueron normalizadas a máximo de la amplitud.....70
- Figura IV-19:** Espectro estático de DIBF en n-pentano.....71
- Figura IV-20:** Espectro de especies transitorias de DIBF en n-pentano observado a 1500 ps después del pulso de excitación. *Inserto:* perfil para la aparición de cetanol a ~ 2100 cm⁻¹.....71
- Figura IV-21:** Espectro de absorción experimentales de los fotoproductos de la DIBF en el rango de los 1400-2200 cm⁻¹: β -lactama (**rojo**), oxazolidinona (**negro**), imina (verde), cetanol (**azul**). Solvente: diclorometano.....72
- Figura IV-22:** Espectro de especies transitorias medido para DIBF en CD₃CN 1500 ps después del flash. Las absorciones indicadas con un asterisco pertenecen a la DIBF, mientras que la indicadas con un signo de interrogación pertenece al **Z** de la amida.....74
- Figura IV-23:** Espectro IR calculado para el **Z** de DIBF en diclorometano.....75

- Figura IV-24:** Espectro de especies transitorias mediadas para DBBF en n-pentano 1500 ps después del pulso.....76
- Figura IV-25:** Espectro de absorción experimentales de los fotoproductos de la DBBF en el rango de los 1400-2200 cm^{-1} : β -lactama (**rojo**), oxazolidinona (**negro**), imina (**verde**), cetanol (**azul**). Solvente: diclorometano.....76
- Figura IV-26:** Especies transitorias de DBBF observadas 1500 ps después del pulso de excitación. Solvente: CD_3CN . *Inserto:* perfil para la aparición de la β -lactama (A) medida a $\sim 1760 \text{ cm}^{-1}$77
- Figura IV-27:** TLC de fotoproductos de ACBF en soporte de alúmina neutra, eluyente: acetato de etilo/metanol 80/20 v/v revelado en atmósfera de iodo. R_F : 1: 0,83; 2: 0,7; 3: 0,5 y 4: 0,17.....84
- Figura IV-28:** Espectro de absorción de ACBF a $7 \times 10^{-5} \text{ M}$, *Inserto:* Gráfico de Lambert-Beer para ACBF en acetonitrilo a 250 nm en acetonitrilo con ceda de paso óptico de 1 cm a 25 °C. $[\text{ACBF}] = 8 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5} \text{ M}$85
- Figura IV-29:** Espectro de absorción de ACBF a $4 \times 10^{-4} \text{ M}$ en acetonitrilo a 25 °C. *Inserto:* Gráfico de Lambert-Beer para ACBF en acetonitrilo a 350 nm en acetonitrilo con celda de paso óptico de 1 cm a 25 °C. $[\text{ACBF}] = 1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-4} \text{ M}$86
- Figura IV-30:** Cromatograma de ACBF sin fotolizar, t_R : 18,9 min. La detección se realizó a 220 nm, con fase móvil MeHO/ H_2O 50:50 v/v, en fase reversa a 25 °C.....87
- Figura IV-31:** Cromatograma de ACBF fotolizada en acetonitrilo al $\sim 100\%$. t_R : 14,58 (1); 15,29 (2) y 16,36 (3) min. La detección se realizó a 220 nm. Fase móvil MeHO/ H_2O 50:50 v/v, en fase reversa a 25 °C.....87
- Figura IV-32:** Espectros de absorción de ACBF en acetonitrilo, en ausencia y presencia de iones: Li^+ , Na^+ , K^+ y Cs^+ , observando las transiciones $\pi - \pi^*$ (250 nm) y $n - \pi^*$ (350 nm) *inserto.* $[\text{ACBF}] = 6,67 \times 10^{-5} \text{ M}$ (250 nm) y $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ (350 nm), $[\text{Me}^{\text{tn}}] = 2 \times 10^{-2} \text{ M}$ para Li^+ y Na^+ y $1,3 \times 10^{-2} \text{ M}$ para K^+ y Cs^+ a 25 °C.....89

- Figura IV-33:** Espectros de absorción de ACBF en acetonitrilo, en ausencia y presencia de iones: Mg^{+2} , Ca^{+2} y Ba^{+2} , observando las transiciones $\pi-\pi^*$ (250 nm) y $n-\pi^*$ (350 nm) *inserto*. $[ACBF]= 6,67 \times 10^{-5}$ M (250 nm) y 5×10^{-4} M (350 nm), $[Me^{+n}] = 2 \times 10^{-2}$ M a 25 °C.....89
- Figura IV-34:** Voltagrama cíclico (CV) para DIBF en acetonitrilo (**negro:** reducción de la DIBF; **gris:** ventana electroquímica del solvente, MeCN; **gris:** oxidación de la DIBF. Electrolito soporte: $NaClO_4$ 1×10^3 M91
- Figura IV-35:** Representación esquemática simplificada para la formación del complejo entre 18-corona-6 y un ion metálico (Me^{+n}).....92
- Figura IV-36:** Determinación de la constante de complejación del complejo ACBF- Na^+ en acetonitrilo a 25 °C, observando los cambios de absorción de la amida a 350 nm. $[ACBF]= 4,5 \times 10^{-3}$ M. Obtenida por el modelo de Benesi-Hildebrand.....96
- Figura IV-37:** Determinación de la constante de complejación (K_{ML}) de ACBF- Ca^{+2} , en acetonitrilo a 25 °C, observando los cambios de absorción de la amida a 350 nm. $[ACBF]= 4,5 \times 10^{-3}$ M. Obtenida por el modelo de Benesi-Hildebrand.....96
- Figura IV-38:** Cambios en la absorción de ACBF- Ba^{+2} a 350 nm (ΔA) en función de la concentración de perclorato de Ba^{+2} en acetonitrilo a 25 °C λ_{obs} : 350 nm. $[ACBF]= 4,5 \times 10^{-3}$ M.....97
- Figura IV-39:** Absorción de ACBF y ACBF- Me^{+n} a 350 nm en función del tiempo de fotólisis hasta conversión del 15% a 25 °C. $[ACBF]= 4,5 \times 10^{-3}$ M y $[Me^{+n}]= 2 \times 10^{-2}$ M..... 100
- Figura IV-40:** Cromatograma de ACBF- Na^+ tras fotólisis del complejo a 350 nm. La detección cromatográfica se realizó a 220 nm, usando MeHO/ H_2O 50:50 v/v fase móvil en fase reversa a 25 °C..... 102
- Figura IV-41:** Cromatograma HPLC obtenido para ACBF- Ca^{+2} fotolizado al ~ 100%. La detección se realizó a 220 nm, usando MeHO/ H_2O 50:50 v/v fase móvil en fase reversa a 25 °C.....103

Figura IV-42: Espectro de absorción resuelto en el tiempo del transitorio de la α -oxoamida ACBF en acetonitrilo a 25 °C. a: (■) 1 μ s, (●) 5 μ s, (▲) 10 μ s, (▼) 20 y (◆) 40 μ s luego del pulso del láser. *Inserto:* Traza temporal a 310 nm. τ : 10 μ s. A_{ACBF}^{266nm} : 0,8. λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado en atmósfera de argón por 30 min.....104

Figura IV-43: Espectro de absorción resuelto en el tiempo del transitorio de la α -oxoamida ACBF en MeCN/H₂SO₄ 5% a 25 °C. a: (■) 1 μ s, (●) 5 μ s, (▲) 10 μ s, (▼) 20 y (◆) 40 μ s luego del pulso del láser. *Inserto:* Traza temporal a 340 nm. $\tau \gg 500 \mu$ s. A_{ACBF}^{266nm} : 0,8. λ_{exc} : 266nm. Desoxigenado en atmósfera de argón por 30 min.....105

Figura IV-44: Estructura propuestas para el zwitterion (**Z**) y zwitterion protonado (**ZH⁺**) de ACBF.....105

Figura IV-45: Espectro de absorción de especies transitorias del complejo ACBF-Na⁺ en MeCN a 25 °C. a: (■) 1 μ s, (●) 5 μ s, (▲) 10 μ s, (▼) 20 μ s luego del pulso del láser. *Inserto:* Traza temporal a 320 nm. $\tau \sim 5,6 \mu$ s. $[NaClO_4] = 2 \times 10^{-2} M$. $A_{ACBF-Na^+}^{266nm}$: 0,8. λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado en atmósfera de argón por 30 min.....106

Figura IV-46: *Panel superior:* intensidad de la absorción de **Z** monitoreada a 320 nm en función del grado de complejación (α) de la amida extrapolada a $t=0$, normalizada al valor de α . *Panel inferior:* tiempo de vida (τ) de la señal en función de α107

Figura IV-47: Espectros de absorción de **Z** de ACBF, (■), ACBF-Na⁺ (●) y ACBF-Ca⁺² (▲) en acetonitrilo monitoreados a 1 μ s luego del pulso del láser. A^{266nm} : 0,8. λ_{exc} : 266 nm a 25 °C, desoxigenado por burbujeo Ar por 30 min.....108

Figura IV-48: Posibles estructuras de **Z₁** y **Z** de ACBF-Me^{tn}.....109

INDICE DE ESQUEMAS

- Esquema I-1:** Obtención de productos de ciclización y eliminación obtenidos por fotólisis de una α -oxoamida N,N-disustituida.....2
- Esquema I-2:** Mecanismo para la fotorreacción de las N,N-alquil- α -oxoamidas, propuesto por Aoyama y col. [16,17]..... 5
- Esquema I-3:** Esquema de fotorreacción *Norrish tipo II* para cetonas.....6
- Esquema I-4:** Mecanismo alternativo para la obtención de oxazolidinonas, propuesto por Aoyama y col. en 1983 [14]. Donde: (1) α -oxoamida N,N-disustituida, (2) ion iminio, ZH^+ (3) aducto metanólico, (4) oxazolidinona y (5) alquilmandelamina.....7
- Esquema I-5:** Mecanismo propuesto por Aoyama y col. [14] (1983) para la fotorreacción de las α -oxoamidas.....7
- Esquema I-6:** Identificación del intermediario, zwitterion protonado (ZH^+) obtenido por fotólisis de la DBBF en MeOH-H₂SO₄ a -78 °C propuesto por Aoyama y col. [14] por espectroscopia RMN ¹H.....10
- Esquema I-7:** Mecanismos alternativos para la formación del intermediario radicalario (**D**) propuestos por Whitten y col. [29].....12
- Esquema I-8:** Mecanismo propuesto por Whitten y col. [30] y Chesta y col. [13] para la fotorreacción de las α -oxoamidas en medios de reacción restringidos..... 13
- Esquema I-9:** Energía libres relativas (**negro**) calculadas para los intermediarios de fotorreacción de la DBBF en acetonitrilo y energía de los estados de transición (**rojo**) para las transformaciones. Todas las energías se expresan en kcal/mol y forman como cero la energía libre estándar de **K**.....15
- Esquema I-10:** Energía libres relativas (**negro**) calculadas para los intermediarios de fotorreacción de la DIBF en acetonitrilo y energía de los estados de transición (**rojo**)

para las transformaciones. Todas las energías corresponden a kcal/mol y forman como cero la energía libre estándar de K	17
Esquema II-1: Formación de Complejo (K_{ML}) entre amida (L) e ión metálico (Me^{+n}).....	19
Esquema III-1: Esquema del equipo HPLC.....	25
Esquema III-2: Representación esquemática del equipo de láser flash fotólisis....	27
Esquema III-3: Esquema del equipo para a espectroscopia del femtosegundo (<i>pump-probe</i>). Donde R y B.S. son los componentes ópticos utilizados para direccionar los pulsos del láser y S representa la muestra a estudiar.....	30
Esquema IV-1: Esquema sintético de fenilbenzoilformamida (PBF).....	37
Esquema IV-2: Esquema sintético general para N,N-dibencilbenzoilformamida (DBBF) y N,N-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF).....	38
Esquema IV-3: Distribución de fotoproductos de DBBF en acetonitrilo.....	45
Esquema IV-4: Distribución de fotoproductos de DBBF en n-pentano.....	45
Esquema IV-5: Distribución de fotoproductos de DIBF en acetonitrilo.....	46
Esquema IV-6: Distribución de fotoproductos de DIBF en n-pentano.....	46
Esquema IV-7: Mecanismo de formación y desaparición de Z y ZH^+ en medio ácido para DBBF.....	54
Esquema IV-8: Protonación de α -oxoamidas por ácidos fuertes.....	55
Esquema IV-9: Equilibrio entre zwiterion (Z) y zwiterion protonado (ZH^+).....	57
Esquema IV-10: Distribución de fotoproductos de ACBF en acetonitrilo.....	88

INDICE DE TABLAS

Tabla IV-1: Parámetros de unión entre ACBF: ión metálico en acetonitrilo a 25 °C a 350 nm, obtenidos a partir de los datos experimentales y el modelo de Benesi-Hildebrand.....97

Tabla IV-2: Rendimientos cuánticos de fotorreacción de los complejos metálicos (φ_{ML}) relativas a ACBF (φ_L) en acetonitrilo a 25 °C.....101

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ACBF: 1-aza-18-corona-6-benzoilformamida.

DBBF: di-bencilbenzoilformamida.

DIBF: di-isopropilbenzoilformamida.

PBF: Fenilbenzoilformamida.

K: α -oxoamida o α -cetoamida.

D: Especie dirradicalaría o dirradical.

Z: Especie zwiterionica ó zwiterion.

ZH⁺: Especie zwiterionica protonada o zwiterion protonado.

Z₁: Especie zwiterionica formada por transferencia electrónica fotoinducida.

O: Oxazolidinona.

A: β -lactama.

I: Imina.

C: Cetenol.

MM: Mandelamina

En *Antecedentes* se presenta una reseña bibliográfica sobre la química de las α -oxoamidas en solución y las contribuciones científicas durante los últimos años, al planteo del mecanismo fotoquímico y sus intermediarios de reacción.

En *Hipótesis y Objetivos* se enumeran los objetivos e hipótesis planteados durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

En *Metodología* se detallan los materiales y métodos empleados en los estudios realizados.

En *Resultados y Discusión* se muestran los resultados experimentales obtenidos tendientes a la caracterización espectroscópica de intermediarios de reacción en la fotoquímica de las α -oxoamidas y la contribución al esclarecimiento del mecanismo de fotoreacción. Específicamente, se detallan los resultados fotoquímicos de la α -oxoamida fenilbenzoilformamida (PBF) y la caracterización del estado singlete. También se muestra la caracterización de los intermediarios de reacción propuestos, zwitterion y zwitterion protonado para la α -oxoamida di-bencilbenoilformamida (DBBF) con obtención de β -lactamas como fotoproducto mayoritario. Se discute la fotoquímica de la α -oxoamida di-isopropilbenzoilformamida (DIBF) y caracterización cinética de los intermediarios con obtención de oxazolidinonas como fotoproducto mayoritario. También se detalla la caracterización espectroscópica de las α -oxoamidas sintetizadas y los fotoproductos β -lactámicos y oxazolidinonas obtenidos tras irradiación.

Se presentan los estudios realizados para la α -oxoamida 1-aza-18-corona-benzoilformamida (ACBF), la caracterización espectroscópica de ACBF en presencia y ausencia de iones metálicos alcalinos y alcalinotérreos en solución. Como también los estudios fotoquímicos sobre el mecanismo de fotoreacción en presencia y ausencia de iones metálicos.

En *Conclusiones* se discute los aspectos finales planteados sobre la mecánica de fotoreacción de las α -oxoamidas.

ANTECEDENTES

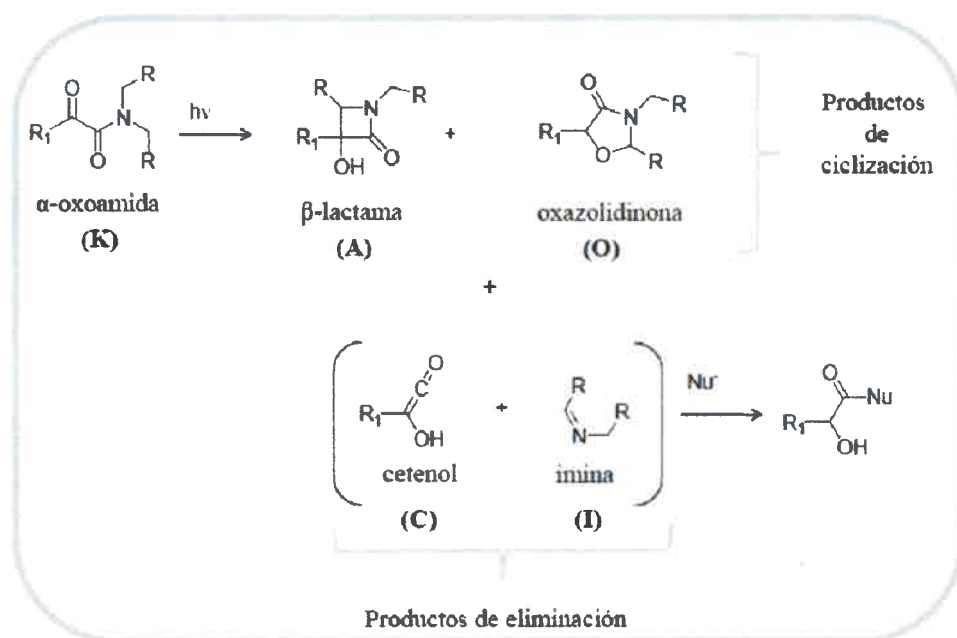
*“La ciencia será siempre una búsqueda, jamás un descubrimiento real. Es un viaje,
nunca una llegada”*

Karl R. Popper. Filósofo y teórico de la ciencia. (1902-1994)

I-1 ANTECEDENTES

I-1.1 INFORMACIÓN GENERAL

Durante décadas, la fotoquímica de las α -oxoamidas (**K**) ha recibido mucha atención dado su utilidad sintética. La fotólisis de estas oxoamidas produce β -lactamas (**A**) y oxazolidinonas (**O**), dos familias de heterociclos de importancia en la preparación de compuestos de interés farmacológico, como productos de ciclización y cetenol (**C**) e imina (**I**) como productos de eliminación, **Esquema I-1**.



Esquema I-1: Obtención de productos de ciclización y eliminación obtenidos por fotólisis de una α -oxoamida N,N-disustituida

Por ejemplo, entre los antibióticos de mayor difusión en medicina humana y veterinaria se encuentran los antibióticos β -lactámicos [1,2,3]. Estos compuestos incluyen en su estructura un anillo β -lactama, estructura responsable de la actividad antimicrobiana [4]. Existen diversas familias de estos antibióticos β -lactámicos; entre los que se destacan las penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, etc. Ejemplos de este tipo de antibiótico se muestran en la **Figura I-1**. Cabe acotar que las β -lactamas se han

empleado también como base para el diseño de agentes con propiedades antitumorales [5,6], en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas [7,8], etc.

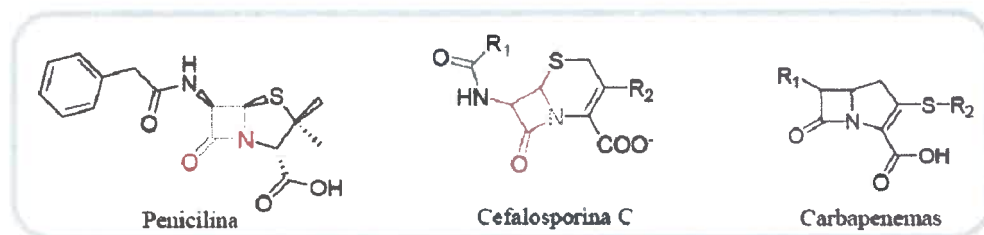


Figura I-1: Antibióticos β -lactámicos: Penicilina, Cefalosporina C y Carbapenemas. En rojo se muestra el anillo β -lactámico, núcleo principal de este tipo de antibióticos

Otra familia de compuestos de gran interés en medicina humana son las oxazolidinonas (O). Estos compuestos contienen en sus estructuras un heterociclo de cinco miembros. Se muestra en la **Figura I-2** diversos ejemplos. Esos compuestos constituyen una clase de antibióticos de última generación totalmente sintéticos [9]. Se ha demostrado que estos antibióticos son particularmente eficaces contra patógenos gram-positivos, [10] incluyendo a *Staphylococcus aureus*; habiéndose propuesto recientemente que actúan como inhibidores de la síntesis proteica ribosomal [11].

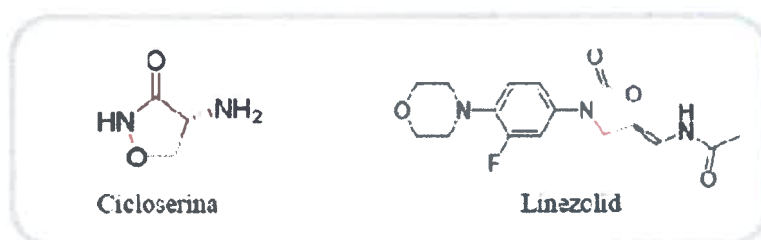


Figura I-2: Antibióticos oxazolidinónicos. Cicloserina y Linezolid. En rojo se muestra en anillo de cinco miembros, núcleo principal de estos antibióticos

I-1.2 MECANISMO DE FOTOREACCIÓN DE LAS α -OXOAMIDAS

Los espectros electrónicos de estas amidas muestran transiciones $n-\pi^*$ típicas de compuestos bicarbonílicos y diversas transiciones $\pi-\pi^*$ de mayor intensidad entre 350-

200 nm. Las α -oxoamidas son compuestos no fluorescentes y se descomponen en presencia de luz con rendimientos cuánticos del orden de 0,3-0,6 [12]. La reactividad depende de los sustituyentes y del medio de reacción. Es interesante notar que estas amidas fotoreaccionan eficientemente aún en el estado sólido. La presencia de inhibidores de estados excitados tripletes, atrapadores de radicales, oxígeno, etc., no afectan la eficiencia de fotoreacción. Sin embargo, los fotoproductos puede obtenerse vía fotosensibilización a través de un proceso de transferencia de energía triplete-triplete, lo cual sugiere que la reacción ocurre desde el estado singlete excitado, exclusivamente [12,13,14,15,16,17].

El primer estudio realizado sobre la fotoquímica de α -oxoamidas se remonta al año 1968. En este trabajo, realizado por Akermark y col. [18], se reportó que tras irradiación UV de diversas piruvamidas y benzoilformamidas se obtenían como fotoproductos las correspondientes oxazolidinonas (**O**) y β -lactamas (**A**). Se demostró también que esta vía sintética era de gran utilidad para la obtención de derivados de la penicilina (**Figura I-3**). Sin embargo, Akermark y col. no realizaron estudios dirigidos a elucidar el mecanismo de la fotoreacción.

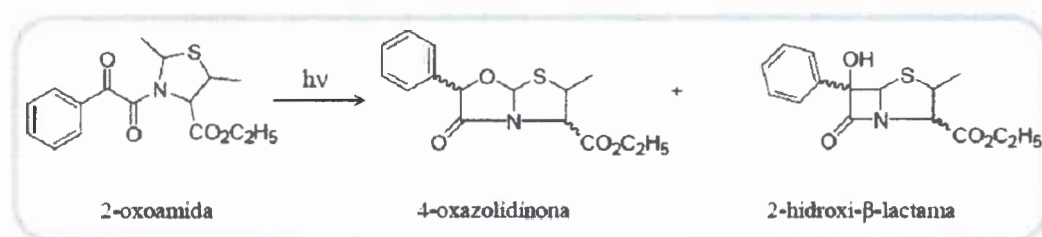
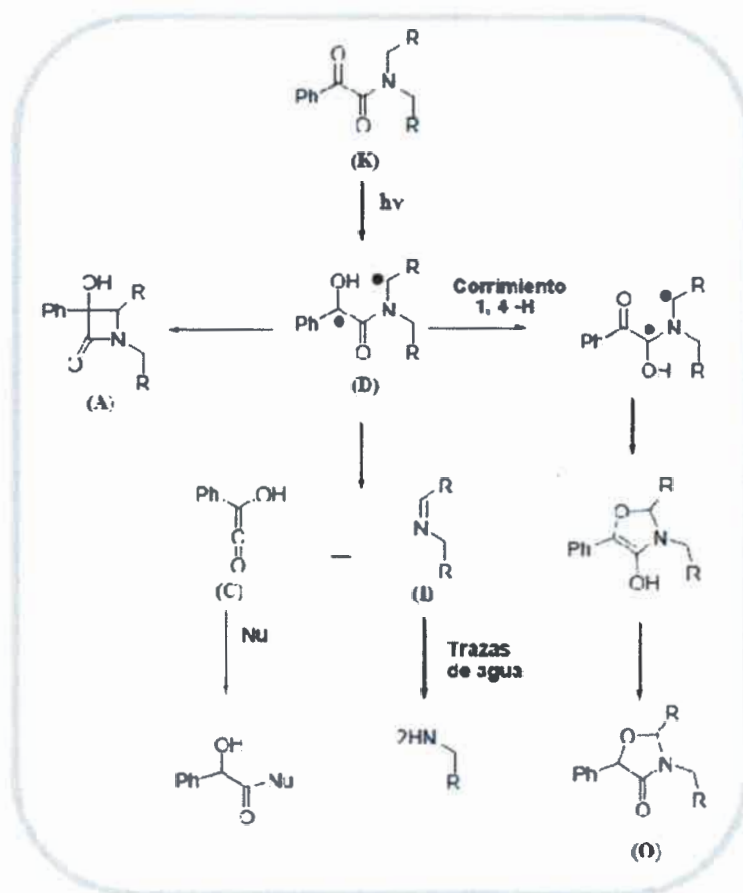


Figura I-3: Fotoproductos obtenidos tras irradiación de α -oxoamida por Akermark y col. [18]: 4-oxazolidinona y 2-hidroxi- β -lactama, este último, un derivado de la penicilina

Casi una década más tarde, Aoyama y col. [16,17] llevaron a cabo una serie de estudios para investigar dicho mecanismo. A tal fin, estudiaron diversas familias de compuestos como las α -oxoamidas [16], β -oxoamidas [19] y α,β -amidas insaturadas [20,21]. En base a las estructuras de las amidas estudiadas, los fotoproductos obtenidos

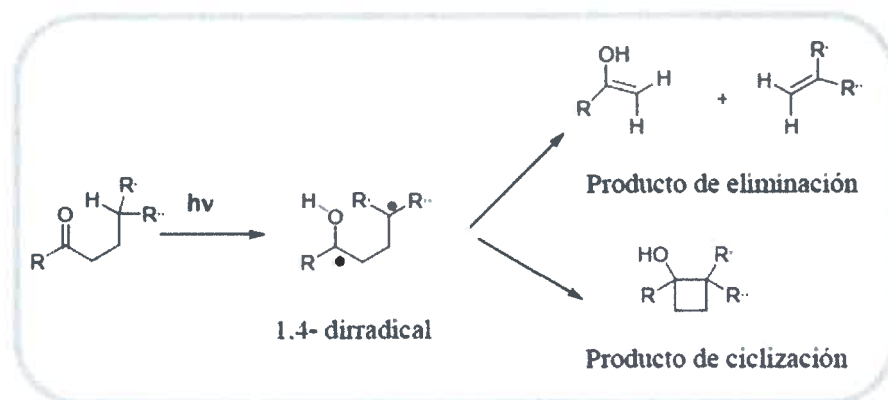
y los estudios del efecto del medio sobre la fotoselectividad, los autores propusieron el mecanismo que se muestra en el **Esquema I-2**.



Esquema I-2: Mecanismo para la fotorreacción de las *N,N*-alquil- α -oxoamidas, propuesto por Aoyama y col. [16,17]

De acuerdo al mismo, tras excitación de la α -oxoamida se produce la transferencia de un H (unido al C α al nitrógeno de la amida) al carbonilo, para formar un dirradical-1,4 (D). En una etapa posterior, D puede ciclar para producir la β -lactama (A) o fragmentar para producir un ceteno (C) y una imina (I). Dado que la reacción ocurre desde el estado singlete excitado de la amida, el dirradical (D) conserva la misma multiplicidad, haciendo que ambos procesos (ciclización y eliminación) sean favorables. En la presencia de especies nucleofílicas o trazas de agua, las especies C e I pueden dar productos de adición (derivados del ácido mandélico) y aminas, respectivamente. Hasta este punto, el mecanismo propuesto por Aoyama [16] era muy similar al mecanismo

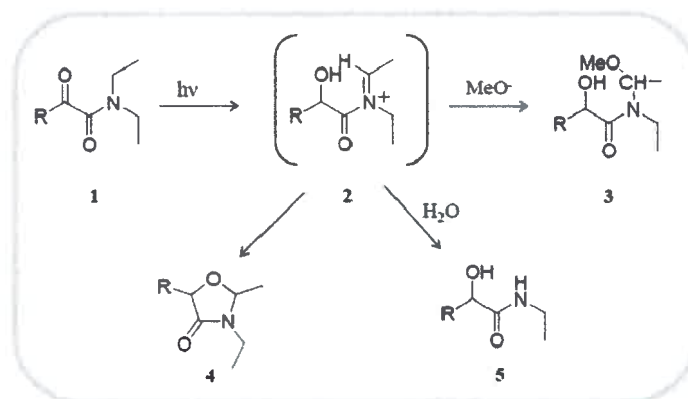
Norrish Tipo II, típico de cetonas (alifáticas y aromáticas) con H abstraibles en la posición δ al carbonilo. Esta reacción produce ciclobutanos y productos de eliminación como se muestra en el **Esquema I-3**.



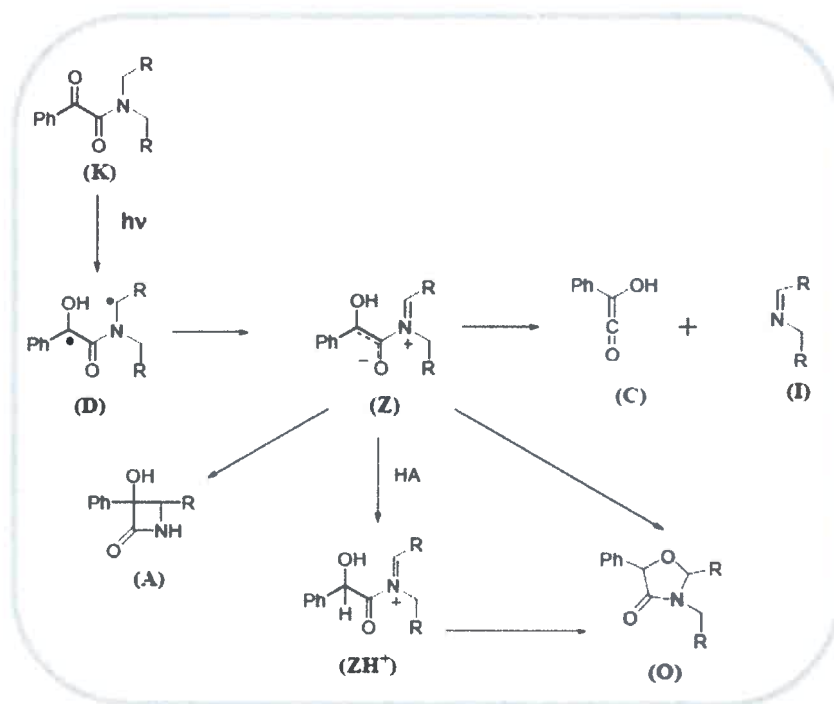
Esquema I-3: Esquema de fotoreacción *Norrish tipo II* para cetonas

Para explicar la formación de las oxazolidinonas (**O**), Aoyama y col. propusieron que ocurría la migración de un H entre los oxígenos en **D** para producir un dirradical-1,3. Este último dirradical sería capaz de ciclar para dar el enol de **O** (ver **Esquema I-2**). Sin embargo, tal cual lo manifestado por los mismos autores, este corrimiento de H requeriría pasar por un estado de transición pentagonal, una geometría poco favorable para este tipo de procesos y nunca antes observado [16].

En años posteriores, los mismos investigadores propusieron un mecanismo alternativo para la formación de las oxazolidinonas [14]. Para ello se basaron en el hallazgo que la irradiación de α -oxoamidas N,N-disustituidas (**1**) en metanol/metóxido de sodio producía un aducto (**3**) cuya estructura se muestra en el **Esquema I-4**. Otra observación interesante fue que el agregado de agua (a nivel de trazas) a solventes apróticos como benceno, llevaba a la formación de N-alkilmandelamidas (**5**) (a partir de la correspondiente N,N-dialquil- α -oxoamida). Cabe acotar que la formación de estos fotoproductos (aducto y mandelamida) es claramente incompatible con un mecanismo radicalario.



Esquema I-4: Mecanismo alternativo para la obtención de oxazolidinonas, propuesto por Aoyama y col. en 1983 [14]. Donde: (1) α -oxoamida N,N-disustituida, (2) ion iminio, ZH^+ (3) aducto metanólico, (4) oxazolidinona y (5) alquilmandelamina



Esquema I-5: Mecanismo propuesto por Aoyama y col. [14] (1983) para la fotoreacción de las α -oxoamidas

La similitud de las estructuras de estos nuevos fotoproductos permitieron a Aoyama y col. deducir que debían provenir de un ion iminio intermediario (ZH^+ , 2, Esquema I-4). Dado que la ciclización de iones iminio para dar oxazolidinonas 5 (O) ya había sido

observada en estudios de oxidación de carbamatos, [22] los autores propusieron que este ZH^+ debería provenir, a su vez, de una especie zwitteriónica (**Z**). Estos hallazgos los llevaron a proponer un nuevo mecanismo donde se supuso la existencia de un zwitterion (**Z**) el cual se formaría a partir del dirradical (**D**), ver **Esquema I-5**. Cabe consignar que la formación de todos los fotoproductos puede explicarse fácilmente a partir de **Z**. Es más, el ataque nucleofílico del ion metoxi o de agua al doble enlace C-N en **Z** (o ZH^+) permite explicar la formación del aducto metanólico y de las mandelamidas.

Es interesante notar que **D** y **Z** son isómeros electrónicos [23] como se muestra en la **Figura I-4**. Esto permite que ambos estados (singletes) puedan ser representados por una combinación lineal de funciones de ondas moleculares covalentes (dirradical) e iónicas (zwitterion). Los pesos relativos de estas contribuciones dependen de la naturaleza de los sustituyentes, del medio de reacción y de la geometría “instantánea” del intermediario.

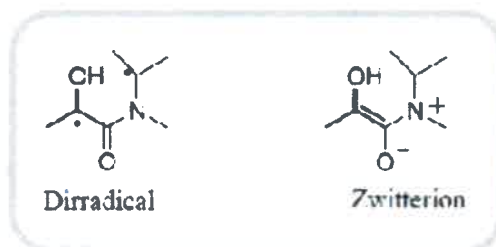


Figura I-4: Estructuras resonantes de dirradical y zwitterion

En principios, la geometría óptima para la transferencia de un H en K^* (estado excitado singlete de α -oxoamida) es un ciclo de 6 miembros, lo que lleva a que el primer intermediario de la fotorreacción debería tener una estructura similar a la de **D** (**Figura I-5**). En esta geometría, el enlace amida se mantiene medianamente plano y el sistema es básicamente dirradicalario (*cuasi-D*). La rotación del enlace CO-N dejaría dos planos prácticamente ortogonales con enlaces π extendidos. En esta geometría las funciones de onda zwitteriónicas tendrían mayor peso, dando lugar a una especie con separación interna de carga (*cuasi-Z*). Luego, la transformación de **D** en **Z** (y viceversa) está básicamente asociada a un conjunto de rotaciones (en particular, a la rotación

del enlace amida), las cuales pueden encontrarse más (o menos) favorecida por la naturaleza de los sustituyentes y el medio de reacción, entre otros factores.

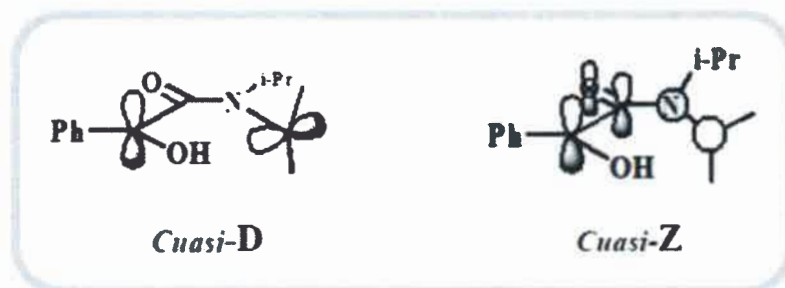


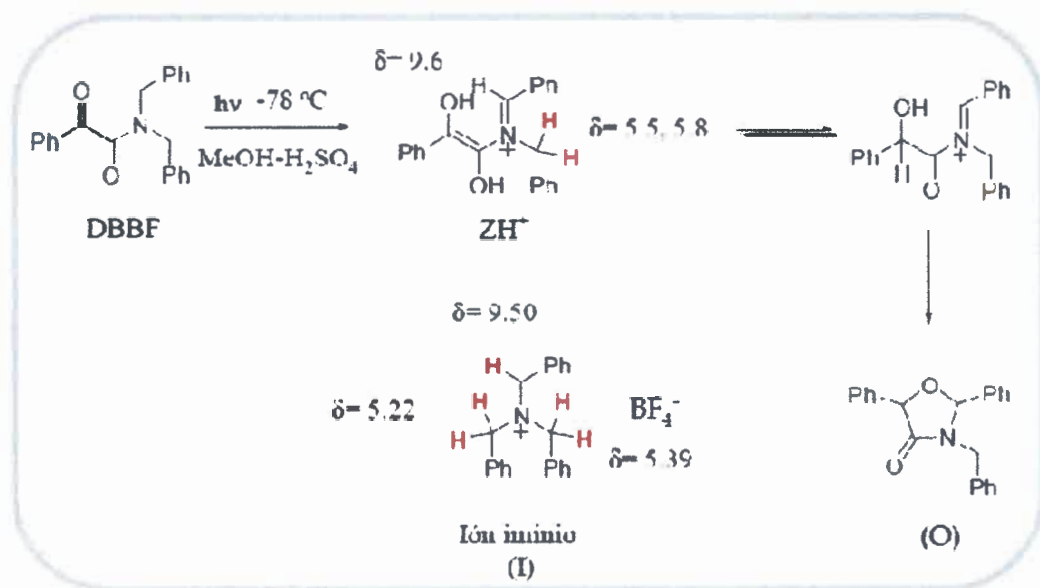
Figura I-5: Separación de carga en los intermediarios de reacción, *cuasi-D* y *cuasi-Z*, dependiendo de la geometría

Cabe señalar que para alcanzar la geometría de los estados de transición (ETs) para la formación de los fotoproductos (**A**, **O** y productos de eliminación) desde la geometría de **D** o **Z** siempre se requiere un importante reordenamiento nuclear. Por lo tanto, los ETs (cuyas geometrías no corresponden a las de los *cuasi-D* o *cuasi-Z*) deberían, sin embargo, conservar un cierto carácter dirradical/zwitterion.

Si bien Aoyama y col. [14] no pudieron obtener evidencias experimentales directas de la existencia de **D** y **Z**, estos autores pudieron demostrar la existencia ZH^+ usando diversas técnicas espectroscópicas. De acuerdo a estos autores, cuando una solución de N,N-di-benzil benzoilformamida (DBBF) en metanol conteniendo ácido sulfúrico al 5% es fotolizada a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, la solución se torna pardo-rojiza. El espectro visible de la solución irradiada en estas condiciones presenta una banda ancha con un máximo de absorción a $\sim 440\text{ nm}$, coloración que desaparece rápidamente cuando la solución alcanza aproximadamente los $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cabe remarcar que este efecto es solo observado en presencia de ácidos. En presencia de ácido acético la decoloración de la solución irradiada se inicia a los $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$; estas evidencias experimentales demuestran que el intermediario es una especie protonada, pero escasamente básico.

El espectro de RMN ^1H de la solución de DBBF irradiada a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ muestra la aparición de nuevos singletes a δ : 9.6, 5.5, y 5.8 ppm. Estas señales son muy similares a las mostradas por el ion fluorborato de N, N-di-bencilbenzaiminio (**1**) (en rojo, Esquema I-6), [24] lo que constituye una prueba importante para la asignación de la

estructura del intermediario de reacción. Cabe resaltar que las señales del ion iminio de la DBBF desaparecen a temperatura ambiente dejando en su lugar aquellas correspondientes a la oxazolidinona (**O**). Esto es una evidencia que la oxazolidinona puede generarse a partir del ZH^+ . Resultados similares fueron encontrados cuando realizaron experiencias con otras α -oxamidas.



Esquema I-6: Identificación del intermediario, zwitterion protonado (ZH^+) obtenido por fotólisis de la DBBF en $\text{MeOH-H}_2\text{SO}_4$ a -78°C propuesto por Aoyama y col. [14] por espectroscopia RMN ^1H

En años posteriores, Whitten y col. [12] encontraron que no existía efecto isotópico (hidrógeno vs. deuterio) para la abstracción de H durante el proceso de formación del dirradical (**D**) a partir del estado excitado singlete de las α -oxoamidas (K^*). Este es un resultado interesante ya que es bien conocido que las reacciones Norrish Tipo II muestran un efecto isotópico del orden de 8 [25]. De acuerdo a Whitten y col., cuando la amida 1- d_1 (N-bencil,N-etilbencilformamida deuterada) es fotolizada en una solución acuosa de ácido acético (**Figura I-6**), se obtienen casi iguales fracciones de la **O** deuterada en el carbono 2 (O_2D) y la **O** sin deuterar.

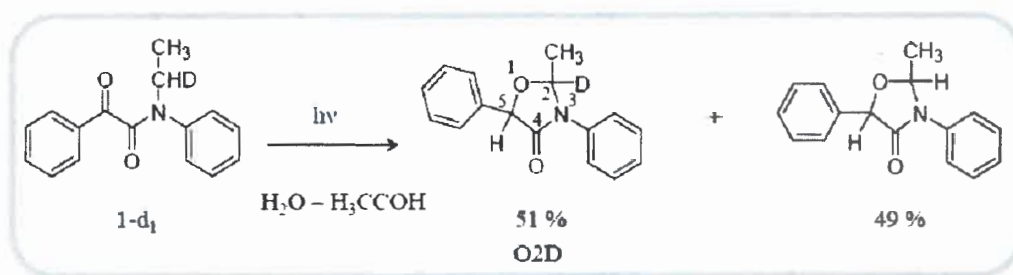


Figura I-6: Fotorreacción de N-bencil,N-etilbencilformamida deuterada (1-d₁) en solución acuosa de ácido acético

Esto sugiere que tras irradiación de **K** existen iguales probabilidades de abstracción del H (o **D**), siendo el protón en $-\text{OH}$ (o $-\text{OD}$) rápidamente intercambiado con los protones del medio. Se demostró también que el H en la posición 5 de la **O** proviene del solvente, siendo incorporado en una etapa posterior y considerablemente más lenta. Así cuando la amida **1** es fotolizada en $\text{D}_2\text{O}/\text{D}_3\text{CCOOD}$ (**Figura I-7**) se obtiene un 100 % de la oxazolidinona **O5D**.

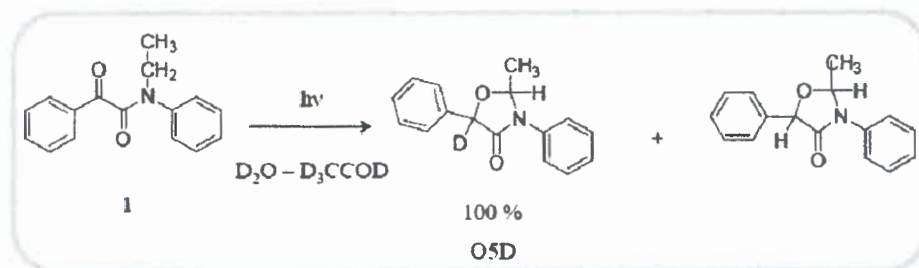
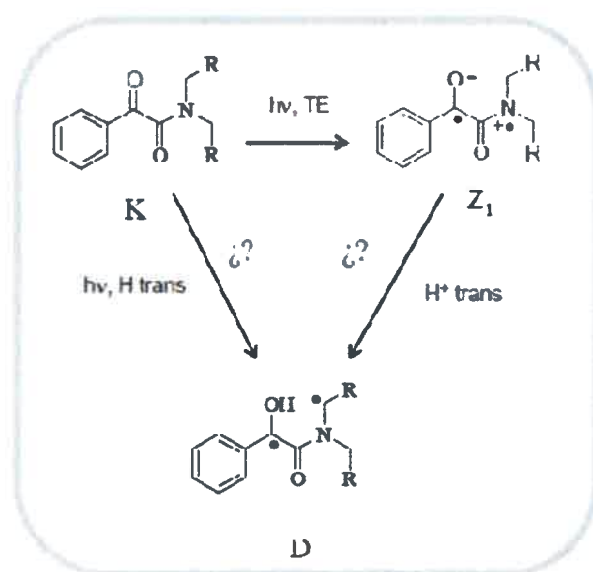


Figura I-7: Fotorreacción de N-bencil,N-etil bencilformamida (**1**) en un medio acuoso deuterado

Basados en estos estudios y antecedentes sobre la fotorreactividad de aminocetonas [26] y β -oxoamidas, [19] Whitten y col. propusieron que tras excitación de estas amidas se produce una transferencia de electrón intramolecular desde el N al carbonilo produciéndose una especie zwitterionica (**Z₁**), como se muestra en el **Esquema I-7**. De acuerdo a estos autores, la oxidación del N incrementaría la acidez del H vecino al N, el cual podría transferirse rápidamente (como H^+) al $-\text{O}^-$ para generar el dirradical (**D**). En principio, este mecanismo permitiría explicar por qué la reacción ocurre exclusivamente

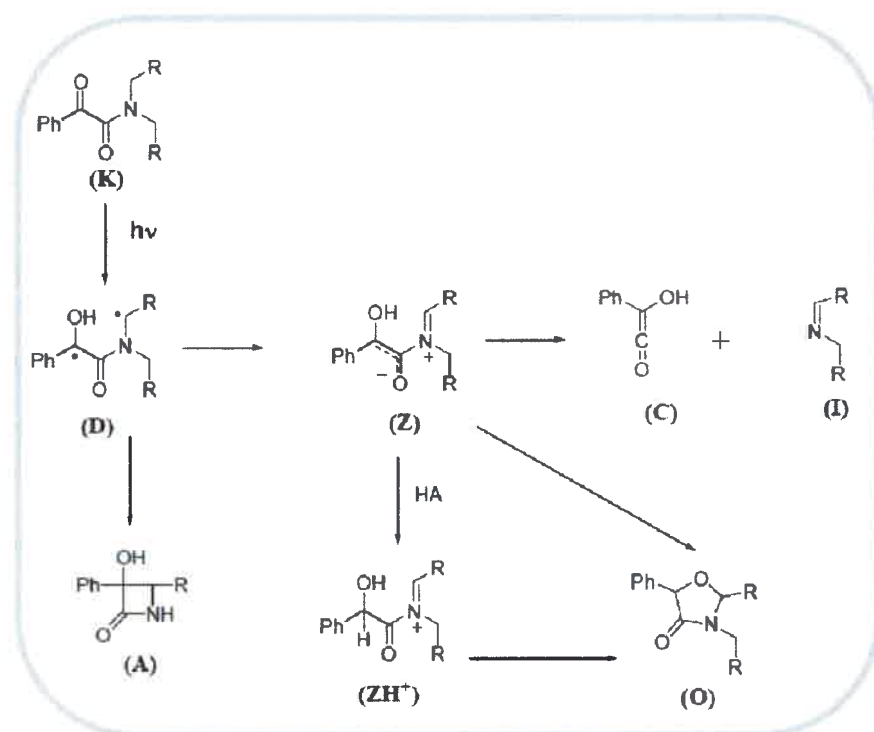
desde el singlete excitado y también, la ausencia de efecto isotópico para la abstracción de H. Sin embargo, como fue advertido posteriormente por Ramamurthy y col. [27] y Mariano y col. [28] la ausencia de efecto isotópico podría admitir diferentes explicaciones, por lo que la naturaleza de esta primera etapa de fotorreacción no ha sido completamente dilucidada aun. Como se explica en la próxima sección, parte del desarrollo de esta Tesis está dedicada a investigar estas dos vías alternativas para la formación de **D**.



Esquema I-7: Mecanismos alternativos para la formación del intermediario diradicalario (**D**) propuestos por Whitten y col. [29]

Por otra parte, el estudio de la fotoquímica de diversas α -oxoamidas en la forma de complejos con almidón [29], ciclodextrinas, [30], en medios altamente viscosos, películas poliméricas [13] y en el estado sólido cristalino [26], permitieron sugerir más cambios al mecanismo propuesto por Aoyama y col., **Esquema I-8**. La distribución de fotoproductos de las α -oxoamidas observada en estos medios restringidos siempre resulta en la formación de 100% β -lactamas (**A**), aún para aquellas α -oxoamidas que no producen **A** en solución. Este hallazgo fue de gran importancia para la síntesis selectiva de β -lactamas. Desde el punto de vista mecanístico estos resultados sugieren que la formación de **A** y **Z** (a partir de **D**) deben ser procesos competitivos; esto es, **Z** no puede

ser la única especie que da origen a todos los fotoproductos como fue originalmente propuesto por Aoyama y col. Sin embargo, la falta de información sobre la cinética de aparición y reacción de estos intermediarios involucrados en el proceso no ha posibilitado a la fecha confirmar esta hipótesis.



Esquema I-8: Mecanismo propuesto por Whitten y col. [30] y Chesta y col. [13] para la fotorreacción de las α -oxoamidas en medios de reacción restringidos

Por otra parte, durante el desarrollo de esta Tesis doctoral, Chesta y col. [31] realizaron una serie de estudios teóricos sobre la estructura y cinética de reacción de las α -oxoamidas DIBF y DBBF. La mayor parte de estos cálculos de primeros principios (DFT y TDDFT) fueron realizados usando los funcionales híbridos de gradiente generalizado PBE0 [32] y B3LYP [33,34]. El solvente (acetonitrilo) fue simulado usando el modelo de solvatación continuo IEFPCM [35,36,37,38]. Los autores pudieron obtener las geometrías de equilibrio y energías de formación de las amidas (estado fundamental y primer estado excitado singlete), y de los correspondientes dirradicales (**D**), zwitteriones (**Z**) intermediarios y fotoproductos. Los cálculos permitieron también

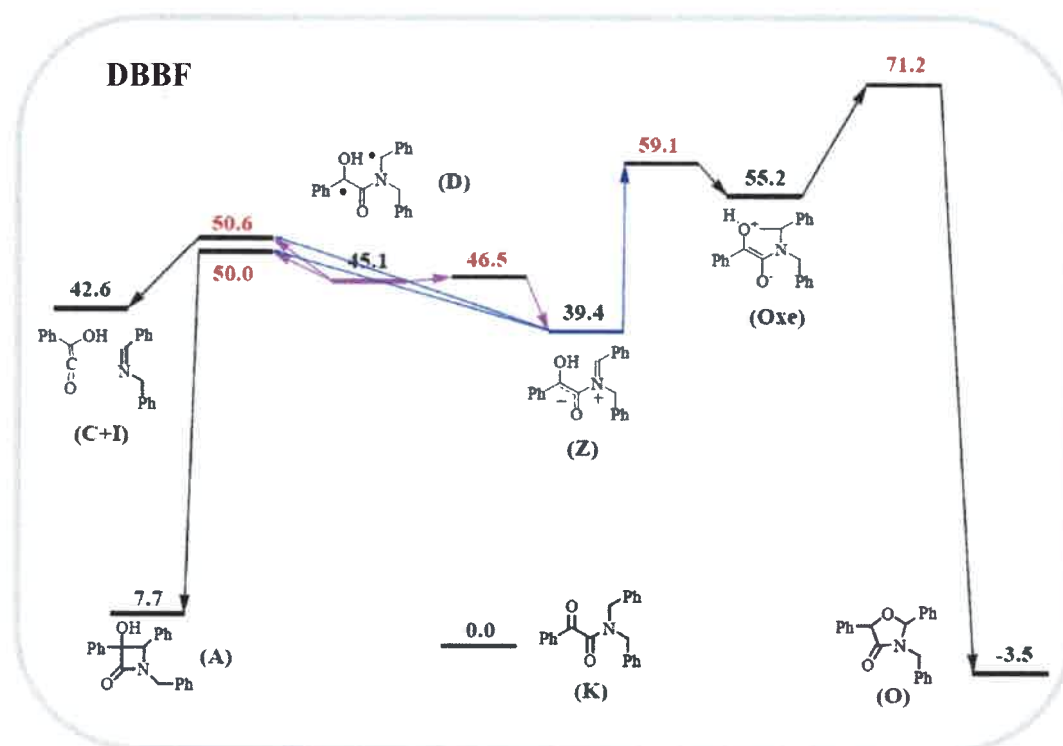
la estimación de algunas energías de activación para las transformaciones de **D**→**Z** y la de estos intermediarios (**D** y **Z**) para la formación de los productos de ciclización (**A** y **O**) y eliminación (**C+I**). Además, dichos autores calcularon los espectros de absorción (transiciones verticales $S_1 \rightarrow S_n$) para **K**, **D**, **Z** y ZH^+ , en acetonitrilo, usando el método TD-DFT (B3LYP/6-311+G (d,p)) implementado en Gaussian 09 [39]. Cabe acotar a este punto que los cálculos proporcionan las energías mínimas para las transiciones $S_1 \rightarrow S_n$ (no tienen en cuenta el factor de Huang-Rhys) y los correspondientes valores de la fuerzas del oscilador, f . Esta última cantidad puede relacionarse con el coeficiente de absorción molar y por ende, con el tipo de transición involucrada.

Como estos estudios teóricos resultan de importancia para explicar varias observaciones experimentales de este trabajo de Tesis, se hace a continuación una breve descripción de los mismos.

Los cálculos predicen para ambas amidas di-isopropilbenzoilformamida (DIBF) y dibencilbenzoilformamida (DBBF), diversas transiciones en el UV-visible cuyos máximos ocurrirían alrededor de 350-250 nm. Estos valores concuerdan con los valores experimentales ya publicados. Es interesante notar que las transiciones de menor energía (350-360 nm) son prohibidas ($f < 0.02$) y que los estados singletes excitados (S_1 , estados de FC) tienen momentos dipolares similares a los S_0 (6-7 D).

En el **Esquema I-9** se representan las energías libres relativas (en **negro**) del reactivo, fotoproductos y de las distintas especies intermediarias en la fotoquímica de la DBBF y las energías libres de los estados de transición (en **rojo**) para los procesos de interconversión. La formación del dirradical a partir de K^* (S_1) es un proceso muy exergónico (>30 kcal/mol). **D** es una especie relativamente estable, particularmente debido a la capacidad del anillo bencílico para deslocalizar el electrón desapareado. De todos modos, la transformación de **D** en **Z** posee una energía de activación muy pequeña (~1 kcal/mol). **Z** es más estable que **D** en ~6 kcal/mol. Cabe resaltar que la formación de la β -lactama (**A**) a partir de **D** o de **Z** pasa (forzosamente) por el mismo estado de transición (ET) aunque sigue distintas coordenadas de reacción. En otras palabras, el proceso **Z**→**A** no involucra pasar necesariamente por la geometría de **D** y *viceversa*. Ambos intermediarios pueden dar también los productos de eliminación (**C+I**); siendo la energía de activación de este proceso ligeramente mayor a la de formación de **A**. La formación de **O** a partir de **Z** involucra dos etapas con importantes

energía de activación. La primera implica el ataque nucleofílico del -OH al doble enlace imido para formar el ciclo de 5 miembros; mientras que la segunda involucra migración de un protón. En un solvente aprótico como acetonitrilo, estos procesos serían poco favorables. Un solvente prótico (metanol) sería capaz de catalizar la formación de **O** facilitando la desprotonación / protonación de los intermediarios involucrados. Igual función podría cumplir trazas de agua en un solvente aprótico. La presencia de un ácido fuerte en el medio llevaría a la protonación de **Z** para formar ZH^+ . En principio, la protonación de **Z** bloquearía las vías que llevan a **A** y **C+I**, dejando solo habilitado el camino para la formación de **O**.



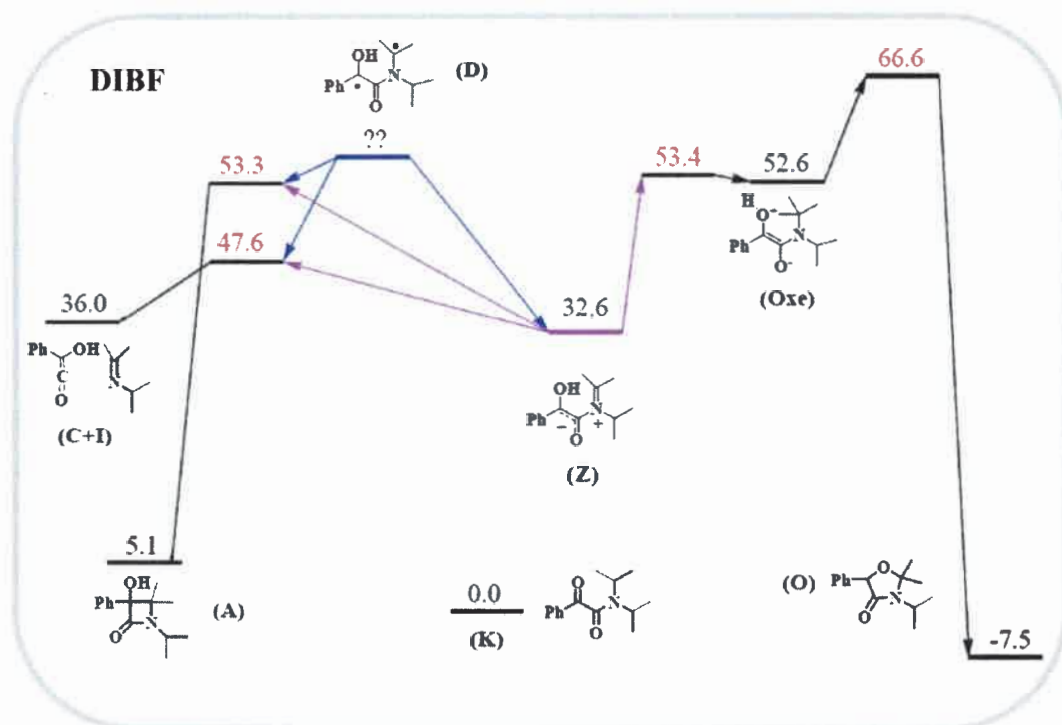
Esquema I-9: Energías libres relativas (**negro**) calculadas para los intermediarios de fotoreacción de la DBBF en acetonitrilo y energía de los estados de transición (**rojo**) para las transformaciones. Todas las energías se expresan en kcal/mol y toman como cero la energía libre estándar de **K**

En este estudio se reportaron también los espectros de absorción calculados para **D**, **Z** y ZH^+ de la DBBF. El dirradical (**D**) daría a lugar una serie de transiciones en el

rango UV-NIR (1100-300 nm). Sin embargo, las absorciones con coeficientes de absorción (f) apreciables solo ocurrirían alrededor de 580 nm ($f \sim 0.04$) y entre 330-310 nm (f total ~ 0.5). **Z** debería mostrar varias absorciones con f apreciables a 350 nm ($f \sim 0.3$), 330 nm ($f \sim 0.1$) y 310 nm ($f \sim 0.5$). El zwitterion protonado (**ZH**⁺) estaría caracterizado por una absorción a 440 nm ($f \sim 0.15$) y una transición intensa alrededor de 280 nm ($f \sim 0.7$).

Para el caso de la DIBF, los cálculos predicen una situación distinta, mostrada en el **Esquema I-10**. El dirradical (**D**) de la DIBF no constituye un mínimo en la (hiper)superficie de energía potencial y colapsa (sin barrera) para formar a **Z**, **A** o **C+I**. La probabilidad que **D** siga una u otra vía depende de la dinámica nuclear (instantánea) tras su formación. **Z** (DIBF) puede transformarse posteriormente en **A**, **C+I** u **O**. Sin embargo, **Z** es una especie relativamente estable y se halla a más de 15 kcal/mol por debajo de todos los ET (estados de transición). La energía del ET para producir **A** es similar a la calculada para la formación de **O** (~ 53 kcal/mol). La formación de los productos de eliminación tendría (aparentemente) una menor energía de activación. De todos modos, los cambios de energía libre para cualquiera de los procesos sería > 25 kcal/mol. Sin embargo, en la presencia de trazas de agua (o un medio ácido) puede catalizar el proceso $Z \rightarrow O$, o incluso, protonar **Z** para dar **ZH**⁺, proveyendo así una vía adicional para la formación de **O** y N-isopropilmandelamida (producto de hidrólisis de **ZH**⁺).

Es interesante remarcar que los **Z** y **ZH**⁺ de DIBF muestran espectros de absorción (calculados) distintos entre sí y distinto al de **D**. Por ejemplo, el dirradical (**D**) daría lugar a transiciones débiles centradas a 700 nm ($f \sim 0.03$), 400 nm ($f \sim 0.08$), 360-400 nm (cuatro transiciones con f total ~ 0.07) y 320 nm ($f \sim 0.4$). El zwitterion (**Z**) mostraría una transición débil alrededor de 500 nm ($f \sim 0.06$) y otra diez veces más intensa a ~ 320 nm ($f \sim 0.7$). En contraste, el espectro de absorción calculado para **ZH**⁺ estaría caracterizado por dos transiciones de mediana intensidad a ~ 380 nm ($f \sim 0.2$) y 280 nm ($f \sim 0.3$).



Esquema I-10: Energías libres relativas (**negro**) calculadas para los intermediarios de fotorreacción de la DIBF en acetonitrilo y energía de los estados de transición (**rojo**) para las transformaciones. Todas las energías corresponden a kcal/mol y toman como cero la energía libre estándar de **K**

En vista de los estudios previos enumerados, puede concluirse que el mecanismo de fotorreacción de las α -oxoamidas involucra distintos intermediarios y reviste un importante grado de complejidad. Llegar a los mecanismos propuestos requirió de un significativo volumen de labor experimental. En estos mecanismos, la participación de **D** y **Z** como intermediarios necesarios del mecanismo de reacción fue inferida a partir del análisis del efecto de sustituyentes, solvente, temperatura y viscosidad del medio sobre la distribución de fotoproductos. Sin embargo, en todos estos años, no se reportaron datos espectroscópicos que permitan la caracterización de **D** y **Z** (u otros intermediarios de relevancia) y por ende, tampoco fue posible investigar sus cinéticas de formación y reacción.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

“Sorprendernos por algo es el primer paso de la mente hacia el descubrimiento”

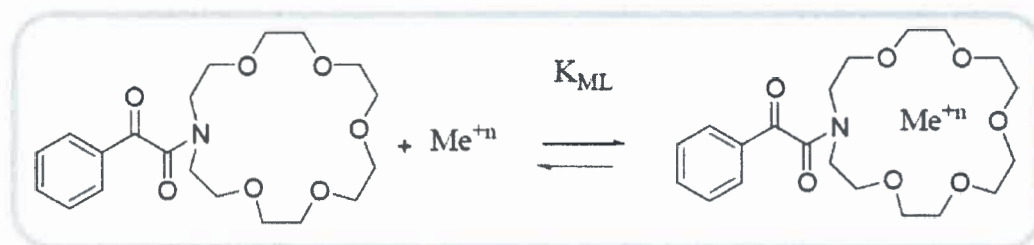
Louis Pasteur. Químico francés (1822-1895)

II-1 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II-1.1 HIPÓTESIS

El hecho que Aoyama y col. [14] hayan podido detectar y caracterizar espectroscópicamente uno de los intermediarios de fotoreacción de las α -oxoamidas (*i.e.*: ZH^+) trabajando a bajas temperaturas, sugiere que debería existir una posibilidad concreta de detectar ésta y otras especies transitorias utilizando técnicas espectroscópicas modernas resueltas en el tiempo; tales como laser flash fotólisis (LFF) y pumb-probe (PP). Gran parte del desarrollo de esta tesis se basa en poner a prueba esta hipótesis.

Por otro lado es importante, notar que el mecanismo propuesto Whitten y col. [25] asume como etapa inicial de fotorreacción la transferencia de un electrón (eT) desde el N a uno de los carbonilos de la amida. En principios, este proceso de eT podría afectarse introduciendo un campo eléctrico en las inmediaciones del grupo amido. Este campo eléctrico podría actuar favoreciendo (o desfavoreciendo) el proceso de eT y por ende, la fotoreactividad de la amida. Nuestra hipótesis asume que mediante el estudio de α -oxoamidas capaces de acomplejar iones metálicos (**Esquema II-1**), podría explorarse este efecto electrostático, y revelar información sobre la naturaleza de la etapa inicial de fotoreacción.



Esquema II-1: Formación de complejo (K_{ML}) entre amida y un ión metálico (Me^{+n})

II-1.2 OBJETIVOS GENERALES

Aportar nuevas evidencias experimentales que permitan un mejor entendimiento del mecanismo de fotoreacción de las α -oxoamidas en solución, a partir de la caracterización de los intermediarios de reacción usando técnicas espectroscópicas resultas en el tiempo en la escala del microsegundo (μ s) y picosegundos (ps).

II-1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como objetivos específicos se plantearon los siguientes puntos:

- Sintetizar y caracterizar las siguientes α -oxoamidas: N,N-di-bencilbenzoilformamida (DBBF), N,N-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF), fenilbenzoilformamida (PBF) y 1-aza-18-corona-6-benzoilformamida (ACBF).
- Aislar y caracterizar los fotoproductos de DBBF, DIBF y ACBF. Estudiar la distribución de fotoproductos en solventes de diferente polaridad.
- Caracterizar los intermediarios propuestos de la fotoreacción (singletes, **D**, **Z**, **ZH⁺**, etc.) usando técnicas espectroscópicas tales como laser flash fotólisis y pump-probe.
- Estudiar la fotofísica/fotoquímica de ACBF, en ausencia y en presencia de iones metálicos alcalinos y alcalinos térreos.

METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

“La ciencia es la progresiva aproximación del hombre al mundo real”

Max Planck. Físico Alemán. (1858-1947)

III-1 METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

III-1.1 REACTIVOS Y SOLVENTES

La síntesis de las α -oxoamidas se realizó empleando los siguientes reactivos: anilina (98%), di-bencilamina (97%), di-isopropilamina (98%), 1-aza-18-corona-6 (98%), ácido benzoilfórmico (98%), cloruro de oxalilo (98%) y tri-isopropilamina (98%), todos adquiridos de Sigma Aldrich Company Argentina. También se hizo uso de hidróxido de sodio y dimetilacetamida (DMA) Sintogran grado HPLC. Los reactivos de partida fueron empleados sin previa purificación. Los solventes utilizados fueron éter etílico, benceno y ciclohexano, todos Sintogran grado HPLC.

Para los estudios de la α -oxoamida 1-aza-18-corona-6-benzoilformamida (ACBF) con iones metálicos alcalinos y alcalinotérreos se utilizaron sales de perclorato de sodio (98%), litio (95%), potasio (99%), cesio (99%), magnesio (98%) y calcio (99%), provistos por Sigma Aldrich Company Argentina. Los estudios se realizaron en acetonitrilo grado HPLC (Sintogran).

Las caracterizaciones espectroscópicas UV-visible, fluorescencia y espectroscopia de masa se realizaron en acetonitrilo calidad HPLC. Las experiencias de espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón y carbono (RMN ^1H ^{13}C) se llevaron a cabo en cloroformo deuterado conteniendo 0,03 % v/v de TMS. Para la espectroscopia infrarroja se realizaron en pastillas con BrK (99%). Todos los solventes y reactivos requeridos fueron adquiridos por Sigma Aldrich Argentina.

III-1.2 INSTRUMENTAL

III-1.2.1 Aspectos Generales

Los espectros de absorción fueron obtenidos usando un espectrofotómetro UV-visible Hewlett Packard 8452A provisto por un detector con arreglo de diodos. El intervalo de detección está comprendido entre 190- 820 nm. Los espectros se obtuvieron empleando una celda de cuarzo de paso óptico de 1 cm.

Los espectros de fluorescencia en estado estacionario fueron registrados con un espectro fluorómetro Spex, modelo Fluoromax, equipado con un software DM 3000 3.2.

Los espectros infrarrojos se registraron con un espectrofotómetro FT-IR Nicolet Impact 400. Se prepararon pastillas de BrK conteniendo pequeñas cantidades ($\sim\mu\text{g}$) del compuesto a analizar.

Los espectros de masa fueron realizados utilizando un cromatógrafo CG Hewlett Packard 5890 acoplado a un detector selectivo de masas serie 5972 y equipado con una columna HP-5 (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm) de 5 % PH ME de silicona entrecruzada. Para los análisis, se prepararon soluciones del orden de 1×10^{-3} M del compuesto de interés en acetonitrilo, inyectando 1 μl de las muestras a una temperatura de 280 y 270 °C para el detector y el inyector, respectivamente. Dependiendo del compuesto estudiado, la temperatura de la columna se controló con una rampa programada. La presión del gas transportador (He) se mantuvo a una presión de 5 psi.

Las experiencias de fotólisis estacionaria de las oxoamida se llevaron a cabo en un reactor fotoquímico circular Rayonet con capacidad para 8 lámparas de λ : 350 nm UV Philips F8T5/BLB, con carrusel.

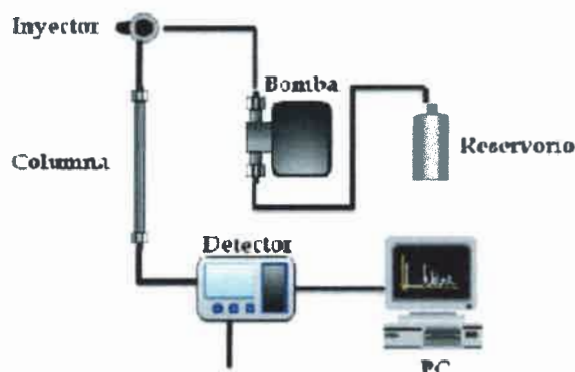
La caracterización electroquímica de DIBF por voltametría cíclica (VC) se realizó empleando un potenciostato Autolab PGSTAT 30 con GPES como software (Eco-Chemie, Utrecht, The Netherlands, versión 4.9). Se trabajó con un sistema de microelectrodo, compuesto por un electrodo de trabajo (W) de platino (Pt) de área superficial de $0,02 \text{ cm}^2$, un electrodo de pseudo referencia de plata (Ag) y un electrodo auxiliar de platino (Pt). Se empleó como electrolito soporte una solución de perclorato de sodio (NaClO_4). La velocidad de barrido utilizada fue de 2 mV/seg. La escala del potencial (E) fue corregida empleando la cupla ferroceno/ferrocinio como referencia.

III-1.2.1.1 Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

Los estudios cromatográficos por HPLC fueron realizados con un cromatógrafo Waters 1525 equipado con un software Breeze 3.0 y con detector de absorbancia Varian 2550 de longitud de onda variable. Como fase estacionaria se usó una columna HPLC Varian 5C-18 de 25 cm x 0,46 cm protegida por una pre-columna ACE AC5 C-18.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es en definitiva una cromatografía en fase líquida en columna a la cual se aplica una sobrepresión que permite acelerar el proceso de separación. Su gran ventaja es la disminución del tiempo de análisis, aún incluso de mezclas muy complejas tales como productos biológicos. Además, permite el análisis de sustancias termolábiles que no podrían ser vaporizadas e inyectadas por en un cromatógrafo de gases.

El compuesto (analito), tras inyección, pasa primeramente por una pre-columna la cual se coloca antes de la columna de separación y sirve como un factor de protección que prolonga la vida y uso de la columna separativa. La pre-columna no sólo contiene el material en suspensión y los contaminantes de los solventes, sino también los componentes de la muestra que se unen de manera irreversible a la fase estacionaria. Seguidamente el paso por la columna cromatográfica se realiza a través de una fase estacionaria mediante el bombeo de líquido (fase móvil) a alta presión a través de la columna. Se utiliza una bomba para impulsar la fase móvil con velocidad y presión constante. La muestra a analizar es introducida en pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan de manera diferente dependiendo de las interacciones establecidas con la fase estacionaria. Posteriormente los componentes pasan por un detector que genera una señal que depende de la concentración y del tipo de compuesto. Un procesador de datos convierte la señal en una representación gráfica del componente en función del tiempo o volumen de elución, conocido como cromatograma. Se muestra en el **Esquema III-1** el equipo usado en las experiencias. La cromatografía empleada en los estudios fue cromatografía en fase reversa, la cual consiste en una fase estacionaria apolar y una fase móvil de polaridad moderada.



Esquema III-1: Esquema del equipo HPLC

La señal de los analitos se representa mediante un cromatograma el cual contiene una serie de parámetros básicos que permiten la caracterización del sistema de estudio, se muestran en la **Figura III-1**.

Donde:

- t_M , tiempo muerto: tiempo que tarda la fase móvil en pasar a través de la columna y equivale al tiempo para una sustancia no retenida.
- t_R , tiempo de retención: tiempo transcurrido desde que el compuesto es inyectado hasta que alcance el detector.
- W_h : altura del pico
- W_b : base del pico

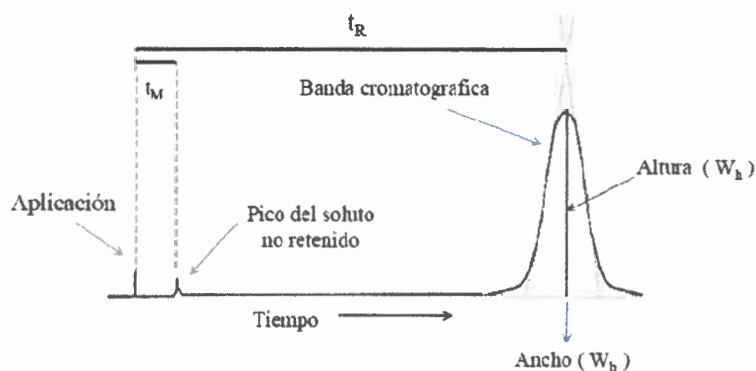


Figura III-1: Parámetros básicos de un cromatograma de HPLC. t_R : tiempo de retención, t_M : tiempo muerto, W_h : altura del pico y W_b : base del pico

La altura y ancho del pico cromatográfico se utilizan para determinar el área del pico la cual permite la cuantificación de un compuesto debido a la proporcionalidad con la concentración del analito inyectado.

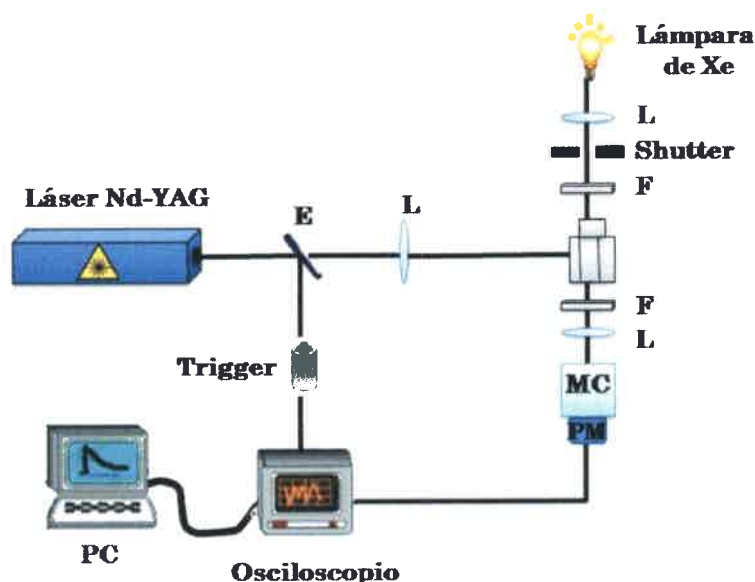
III-1.2.1.2 Espectroscopias resueltas en el tiempo

Para identificar/caracterizar los espectros de absorción ΔA (λ/nm) y los perfiles cinéticos ΔA (t, λ) de los intermediarios de reacción de las α -oxoamidas en medios de diferentes polaridades en la escala de micro/milisegundo se empleó la técnica de láser flash fotólisis (LFF). Mientras que la evolución temporal de las especies transitorias generadas tras la excitación de un pulso ultracorto en la escala del femtosegundo fueron estudiadas empleando la técnica de pump-probe. Se describe a continuación los fundamentos teóricos de ambas técnicas y una descripción del instrumental utilizado para estos estudios.

III-1.2.1.2.1 Láser Flash Fotólisis (LFF)

Los espectros de absorción y decaimientos de especies transitorias en la escala del micro-milisegundo, así como sus tiempos de vida fueron determinados utilizando la técnica de LFF [40].

Las especies transitorias (tripletes, iones radicales, etc) son generadas mediante la excitación de la muestra por un pulso intenso de radiación láser. El arreglo experimental utilizado para la aplicación de esta técnica se muestra en el **Esquema III-2**.



Esquema III-2: Representación esquemática del equipo de láser flash fotólisis

La fuente de excitación usada fue un láser de Nd:YAG (Spectron SL 400), con posibilidades de excitación en 266, 355 y 532 nm, con un ancho de pulso del orden de los 18 ns. El haz del láser es dirigido a un portacelda termostatzado y es desenfocado mediante una lente a fin de cubrir el paso óptico del haz analizador (a 90° del haz de excitación) proveniente de una lámpara de xenón de 150 W.

Entre pulso y pulso de excitación la muestra es protegida de la radiación de la lámpara analizadora para evitar o minimizar su fotodescomposición, intercalando en el camino del haz un obturador (shutter) cuya apertura está sincronizada con la frecuencia de disparo del láser. El sistema de detección comprende un monocromador PTI acoplado a un tubo fotomultiplicador Hamamatsu R666 conectado a su vez a un osciloscopio digital (HP54504). Todos los experimentos se realizaron excitando a 266 nm. El rango espectral analizado va desde 300-700 nm.

La luz transmitida por la muestra puede ser monitoreada en función del tiempo a una longitud de onda en particular por el monocromador y detectada por el tubo fotomultiplicador, en donde se traduce a un pulso de corriente transitorio. Luego la señal es capturada por un osciloscopio digital (HP54504) y transferida a una computadora personal. La señal eléctrica es transformada a valores de absorbancia. Se

muestra en la **Figura III-2**, los parámetros a tener en cuenta para realizar esta transformación.

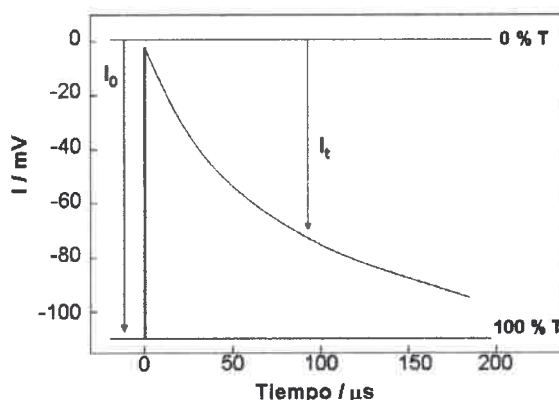


Figura III-2: Representación de una señal transitoria típica obtenida por láser flash
Las diferentes situaciones a considerar son:

- Obturador cerrado, sin flash de excitación, esta situación corresponde al 0% de transmitancia.
- Obturador abierto, sin flash de excitación, esto corresponde al 100% de transmitancia.

Obturador abierto, junto al pulso del láser, la señal registrada se debe a la variación de absorbancia temporaria proveniente de la muestra.

La relación entre la absorbancia y transmitancia a una dada longitud de onda está dada por:

$$A_t = -\log \left(\frac{I_t}{I_0} \right) \quad (\text{III-1})$$

Luego, haciendo uso de la ley de Beer, la absorbancia de una especie transitoria en función de la longitud de onda y a un dado tiempo, se puede calcular mediante la siguiente ecuación:

$$A_\lambda = -\log \left(\frac{I_t}{I_0} \right) = \epsilon_\lambda bc \quad (\text{III-2})$$

Donde:

- I_t : es la intensidad de luz transmitida registrada en el fotodetector (señal expresada en mV)
- I_o : es la intensidad de luz incidente registrada en el fotodetector (señal expresada en mV)
- ϵ_λ : es el coeficiente de absorción molar ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
- b : es el paso óptico del haz analizador a través de la muestra (cm)
- c : es la concentración molar de la especie transitoria (M)

Los espectros de absorción de las especies transitorias de las α -oxoamidas se obtuvieron registrando el cambio de absorción a un tiempo dado, en función de la longitud de onda. Los espectros fueron construidos punto a punto, registrándose las señales de absorbancia entre 5-10 nm, dependiendo del caso estudiado. Las señales fueron analizadas mediante el programa Labview 5.1.

Los tiempos de vida de las especies transitorias fueron determinados por medio de un ajuste monoexponencial del perfil de absorción de la especie de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A_t = A_0 e^{-\frac{t}{\tau^*}} \quad (\text{III-3})$$

Donde:

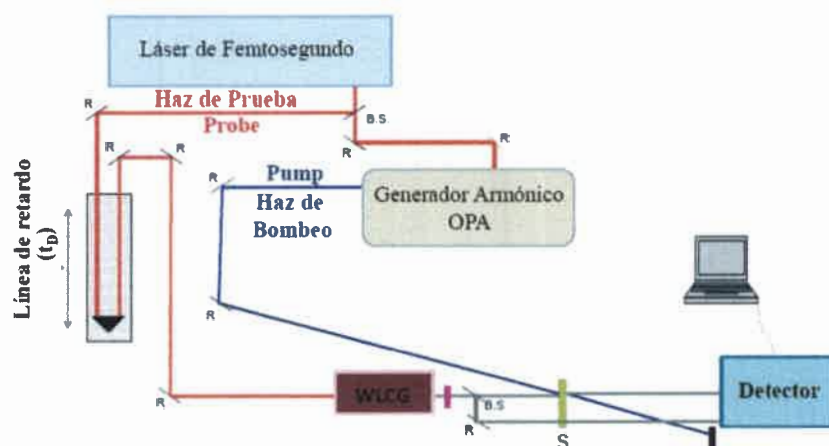
- A_t : absorbancia a un tiempo t posterior al pulso de excitación
- A_0 : absorbancia correspondiente a $t = 0$
- τ^* : tiempo de decaimiento de la especie excitada

El ajuste exponencial de las trazas de decaimiento se realizó mediante un ajuste de cuadrados mínimos no lineales del programa Micro CalOrigin 8.0.

III-1.2.1.2.2 Pump-Probe (PP)

Desde el punto de vista conceptual, la técnica PP (excitación - monitoreo) no difiere substancialmente de la técnica de LFF. Sin embargo, dado a que la escala de tiempo explorada por la técnica de PP es mucho menor (nano-femtosegundo) tanto la fuente de

excitación como los componentes electrónicos utilizado para la detección de las especies transitorias son distintas. Una representación simplificada del equipamiento utilizado para la técnica de PP se muestra en el **Esquema III-3**,



Esquema III-3: Esquema del equipo para espectroscopia del femtosegundo (*pump-probe*). Donde R y B.S. son los componentes ópticos utilizados para direccionar los pulsos del láser y S representa la muestra a estudiar

En general, la técnica de PP utiliza como fuente de excitación un láser que emite pulsos en el NIR de gran energía en el fs (ancho a media altura de 5 fs). El haz del láser es dirigido a un OPA (Optical Parametric Amplifier) el cual, usando componentes de óptica no lineal, transforma la luz monocromática del láser en radiación también monocromática, pero en el rango de 300-1650 nm. La luz que sale del OPA es finalmente utilizada para la excitación de la muestra (S). Simultáneamente, una pequeña fracción del haz del láser es dirigida a la línea de retraso y utilizada como haz de prueba (monitoreo). El retraso entre la excitación y la sonda se controla cambiando la longitud de la trayectoria óptica del haz con espejos móviles. Notar que este desvío no necesita ser muy largo; un cambio de 0,03 milímetros significa un retraso de 100 fs (0,1 ps). Antes de alcanzar la muestra, se hace pasar la luz de monitoreo a través de una celda cuarzo conteniendo agua o un cristal de F₂Ca, donde el pulso NIR es transformado en luz policromática. En el **Esquema III-3**, esto es representado como el WLCG (White

Light Continuum Generator). Así, se cuenta con luz de monitoreo que varía de 370-700 nm. O bien si se intercala un monocromador entre el WLCG y la muestra, es posible seleccionar una longitud de onda de monitoreo en particular.

En resumen, durante el experimento, dos pulsos del láser inciden sobre la molécula; un pulso potente excitación (pump) que genera el estado excitado de la muestra y un pulso mucho más débil de *monitoreo* (probe) que examina los avances de la reacción; esto es, detectando alteraciones de las señales respecto a la molécula original. Variando el intervalo de tiempo entre los dos pulsos es posible ver cómo la molécula original se transforma y seguir el progreso de la reacción en tiempo real [41,42,43,44]. El principio de la técnica se ilustra en la **Figura III-3**.

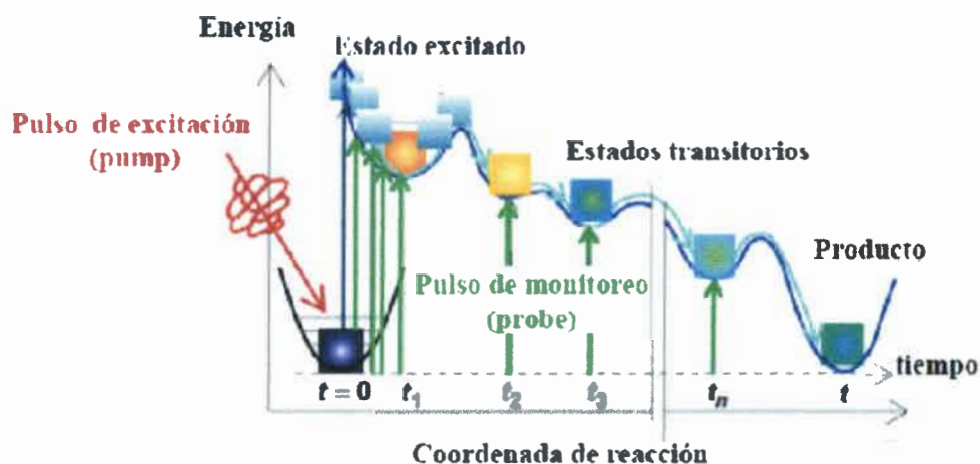


Figura III-3: Diagrama esquemático de un experimento de Pump-Probe. Un primer pulso de luz (**pump**) excita el sistema desde el estado fundamental a un estado de energía más alto. Un segundo pulso monitorea (**probe**) el sistema a diferentes tiempos de retardo controlados (t_1, t_2, \dots, t_n) con el fin de observar el progreso del sistema en el tiempo a lo largo del camino de reacción (coordenadas de reacción)

Como se indicó anteriormente, la técnica permite cambiar la longitud de onda del haz de monitoreo, por lo que proporciona información temporal y espectral. Los resultados que pueden obtenerse son:

- a- La cinética de la absorción del estado excitado a diferentes longitudes de onda como función del retardo de la prueba en picosegundos (ps). Como se muestra en la **Figura III-4**.
- b- Espectro diferencia resuelto en el tiempo, donde se observa la diferencia entre la absorción de la muestra con y sin pulso de bomba. Como se muestra en la **Figura III-5**.

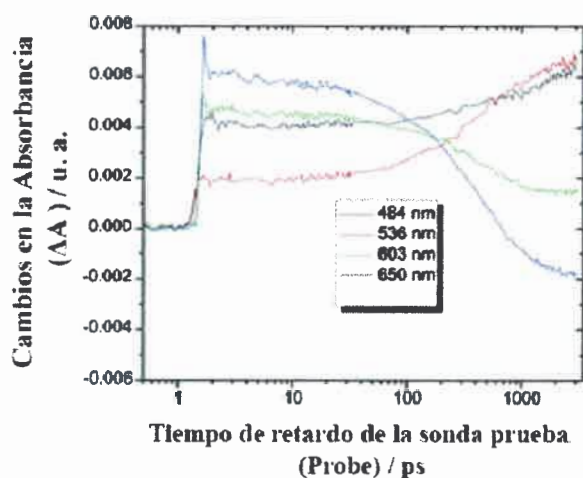


Figura III-4: Trazas típicas de la cinética en espectroscopia *Pump-Probe*

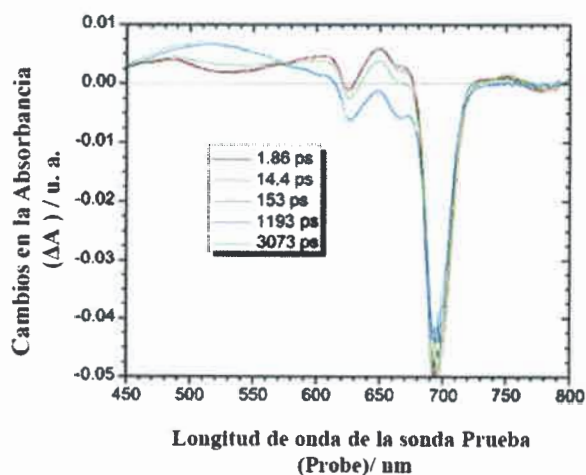


Figura III-5: Espectro de diferencia resuelto en el tiempo, $\Delta A = \Delta A(t, \lambda)$

La información obtenida del espectro diferencia se puede entender de la siguiente manera. Las ΔA positivas, corresponden a las especie excitada y las ΔA negativas, a la desaparición (bleaching/fotoblanqueo) del estado fundamental del sustrato estudiado tras excitación con el pulso del láser. Las ΔA negativas también pueden interpretarse como emisión estimulada del sustrato causada por la alta intensidad del láser. Estas posibilidades se ejemplifican en la **Figura III-6**.

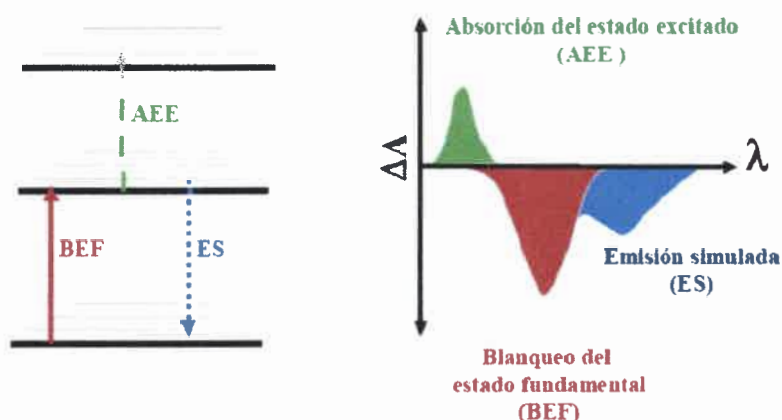


Figura III-6: Representación esquemática del espectro diferencia ΔA en Pump-Probe

El equipamiento de PP utilizado en el desarrollo de esta tesis está compuesto de la siguiente manera: el sistema de excitación está compuesto por un oscilador de titanio-zafiro (Coherent Micra), amplificador regenerativo de 1 KHz, salida 700 mW a 800 nm (110 fs FWHM) (Coherent Legend Elite) y amplificador óptico paramétrico (OPA) (Coherent Opera Solo). El bombeo se hizo con la salida del OPA, y para el monitoreo se utilizó la luz blanca generada por un cristal de fluoruro de calcio. Se usó un esquema de detección de fabricación casera, que cuenta con un divisor de haz para el monitoreo, (referencia y señal). Estos se detectaron usando dos espectrómetros CCD de 2048 pixeles (Avantes). La señal expresada como ΔA se calculó (para cada uno de los 2048 pixeles) como el doble cociente mostrado en la siguiente ecuación.

$$\Delta A = -\log \left(\frac{\left[\frac{\text{Señal}_{\text{pump}}}{\text{Señal}_{\text{sin pump}}} \right]}{\left[\frac{\text{Ref}_{\text{pump}}}{\text{Ref}_{\text{sin pump}}} \right]} \right) \quad (\text{III-4})$$

Donde:

- Señal_{pump}: Señal de luz de pump registrada por el OPA. Obturador abierto.
- Señal_{sin pump}: Señal de luz sin pump registrado por el OPA. Obturador cerrado.
- Ref_{pump}: Señal de Referencia de pump .Obturador abierto.
- Ref_{sin pump}: Señal de Referencia sin pump. Obturador cerrado.

Para variar el retardo entre el pulso de excitación y el monitoreo se utilizó una plataforma de translación lineal de 30 cm (Aerotech) con un retroreflector.

En los experimentos realizados en esta tesis, se eligió 350 nm para la excitación de la muestra. El monitoreo se realizó entre 370-800 nm y en una ventana de tiempo que va entre 0.2-6000 ps. Las medidas se realizan en celdas de fluorescencia de 0,5 cm de paso óptico, con agitación mecánica. Los valores de ΔA obtenidos fueron visualizados primeramente como un mapa de superficie, donde se observó la variación de la absorción en función del tiempo y la longitud de onda usando el software *Visualice_4*. Posteriormente, los resultados fueron tratados con el programa ASUFIT en Matlab para generar los perfiles temporales.

Estas medidas fueron realizadas en INQUIMAE, Universidad Nacional de Buenos Aires, en colaboración con los Drs. Pedro Aramendía y Juan J. Hodak.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

“Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano”

Isaac Newton. Físico, Alquimista. (1643-1727)

**Detección y caracterización de
intermediarios de fotoreacción
de las α -Oxoamidas**

IV-1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

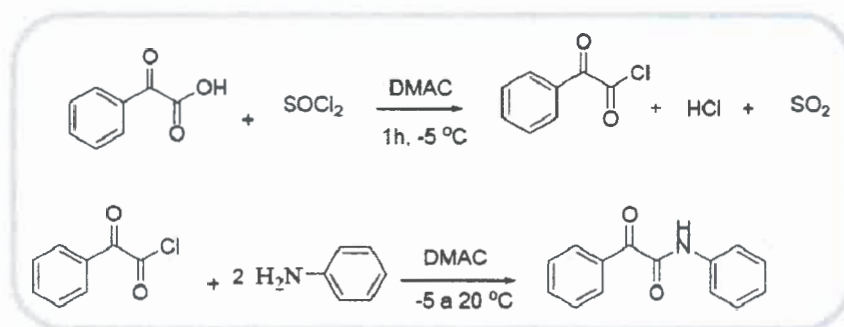
IV-1.1 α -Oxoamidas: PBF, DBBF y DIBF

IV-1.1.1 Síntesis

Las α -oxoamidas: fenilbenzoilformamida (PBF), N,N-di-bencilbenzoilformamida (DBBF) y N,N-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF) fueron sintetizadas a partir del cloruro de ácido benzoilfórmico y la correspondiente amida. Existen reportes en la literatura que estas α -oxoamidas (y fotoproductos) han sido ya sintetizadas y caracterizadas [12,13,14,45,46].

La purificación luego de la síntesis de las α -oxoamidas y fotoproductos fue realizada por cromatografía en columna empleando como soporte sílica y alúmina neutra, respectivamente. Los solventes utilizados variaron según la amida y se detallan a continuación.

IV-1.1.1.1 Fenilbenzoilformamida (PBF)



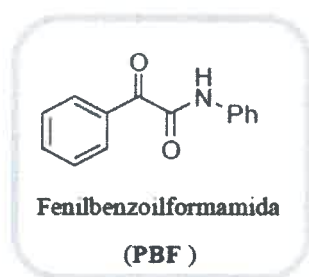
Esquema IV-1: Esquema sintético de fenilbenzoilformamida (PBF)

La α -oxoamida PBF fue sintetizada (**Esquema IV-1**), siguiendo el método publicado por R. J. Cvetovich y col. [44].

Se hizo reaccionar en un balón equipado con una entrada para nitrógeno y un colector de gases (una solución acuosa de NaOH) 80 ml de dimetilacetamida (DMAC) y 0,25 moles de ácido benzoilfórmico (a $-5\text{ }^\circ\text{C}$) con 0,27 moles de cloruro de tionilo agregados gota a gota con agitación mecánica. Posteriormente se agregaron 0,25 moles

de anilina diluido en una pequeña cantidad de DMAC. Al finalizar el agregado, la mezcla se lleva a 20 °C con agitación mecánica durante 1 h. Finalizado este tiempo, se añade a la mezcla (gota a gota) 300 ml de agua, bajo vigorosa agitación. La adición de agua produce la precipitación de la PBF. Posteriormente, el precipitado fue filtrado y lavado con agua (3 x 20 ml). El producto crudo fue recristalizado en benceno y finalmente secado al vacío a 50 °C por 24 hs.

Luego de la purificación se procedió a la caracterización de la α -oxoamida, física y espectroscópicamente.



Fenilbenzoilformamida (PBF).

Sólido amarillo. T_f : 240 °C.

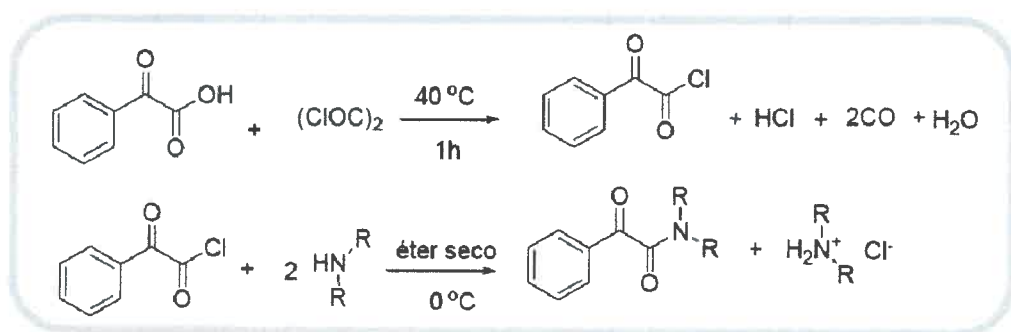
^1H RMN (CCl_3D): δ / ppm entre 7,4-7,8 (m, 10 H, aromáticos) y a 8 (s, 1H, NH).

^{13}C RMN (CCl_3D): δ / ppm a 129; 134,6; 121,6; 124,4 y

135,9 (12 C, CH_2 , aromáticos), 157 y 194,5 (2 C, $\text{C}=\text{O}$).

Masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_2$: 255 (m/z, %) 225 [M^+] y 92, 133, 148, 120, 105 y 77.

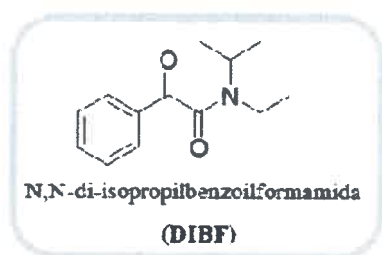
IV-1.1.1.2 N,N- di-bencilbenzoilformamida, N,N-di-isopropilbenzoilformamida (DBBF, DIBF)



Esquema IV-2: Esquema sintético general para N,N-di-bencilbenzoilformamida (DBBF) y N,N-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF)

Se detalla a continuación los pasos sintéticos para la obtención de la α -oxoamida *N,N*-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF), como se muestra en el **Esquema IV-2**. Se hizo reaccionar 0,2 gr (1,56 mmol) del ácido benzoilfórmico con 2 equivalentes de cloruro de oxalilo, 0,4 gr (3,12 mmol) a 40 °C durante una hora con agitación mecánica. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla resultante se evaporó a presión reducida a 60 °C para eliminar el exceso de cloruro de oxalilo (durante 1h). Posteriormente, el cloruro de ácido obtenido se diluyó en 5 ml de éter etílico anhidro y se agregó gota a gota a una solución conteniendo 2 equivalentes de di-isopropilamina (0,62 gr; 3,12 mmol) disueltos en 50 ml del mismo solvente. Se dejó reaccionar durante 24 hs en un baño de hielo con agitación. El avance de la reacción fue seguido por cromatografía en capa fina (TLC) usando sílica como soporte y éter etílico como eluyente. Finalizada la reacción, (consumo total de la amina) se evaporó el solvente y la α -oxoamida fue separada por cromatografía en columna utilizando sílica (35-73 μ m) como soporte y eluyendo con éter etílico. La fracción correspondiente a la amida pura se secó con tamices moleculares por 24 hs. Finalmente, el solvente fue evaporado a presión reducida para obtener la di-isopropilbenzoilformamida (DIBF) como cristales blancos. La amida fue recristalizada dos veces utilizando ciclohexano como solvente. El rendimiento de la reacción fue de 2.3 gr (76 %).

El mismo procedimiento fue seguido para la síntesis de la DBBF. Se detalla a continuación rendimiento, temperatura de fusión y la caracterización espectroscópica de estas α -oxoamidas.



N,N-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF)

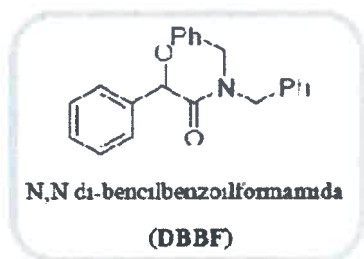
Cristales blancos.

Rendimiento 76 %. T_f : 132 °C.

^1H RMN (CCl_3D): δ / ppm a 1.2 (s, 12H, 4 $-\text{CH}_3$), 3.9 (septeto, 2H, $-\text{CH}-$) y entre 7.4-8 (m, 5 H, aromáticos).

Masa Calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_2$: 233, (z/e, %), $[\text{M}^+]$ 233 y 148, 128, 105, 86, 77.

UV-vis (metanol): $\epsilon_{350\text{ nm}} = 187 \pm 2 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.



N,N di-bencilbenzoilformamida (DBBF)

Cristales blancos. Rendimiento 61 %. T_f : 96 °C.

^1H RMN (CCl_3D): δ / ppm a 4.29 and 4.63 (s, 2H, bencilicos), 7.5-8.1 (m, 15 H, aromáticos).

Masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_2$: 329, (z/e, %) [M^+]

329, 338, 224, 196, 105, 91, 77.

UV-vis (metanol): $\epsilon_{352\text{ nm}} = 220 \pm 3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

IV-1.1.2 Síntesis de fotoproductos de las α -oxoamidas

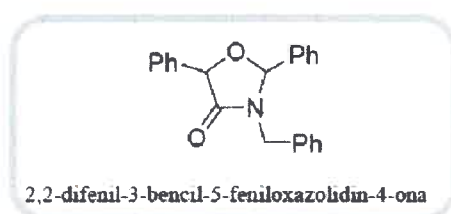
IV-1.1.2.1 Fotoproductos de *N,N*-di-isopropilbenzoilformamida (DIBF) y *N,N*-di-bencilbenzoilformamida (DBBF)

IV-1.1.2.1.1 Oxazolidinonas (O) y β -lactamas (A)

Los fotoproductos fueron obtenidos por fotólisis de las α -oxoamidas en metanol. Se irradió una solución conteniendo 1.0 gr de las α -oxoamidas disueltas en 200 ml de metanol, por un período de 3 horas con 3 lámparas UV a $\lambda > 300 \text{ nm}$, en un fotoreactor circular. La desaparición de la amida fue monitoreada siguiendo la absorción a 350 nm. El solvente fue removido y los fotoproductos fueron separados por una cromatografía en columna utilizando alúmina (neutra) como soporte y eluyendo con una mezcla de hexano/acetato de etilo/metanol (80/13/7: v/v/v). Se aislaron dos fotoproductos principales para cada α -oxoamida. Finalmente, los fotoproductos fueron cristalizados a partir de una mezcla de 4/1 (v/v) hexano/acetato de etilo.

Los dos fotoproductos de DBBF se caracterizaron como 2,2-difenil-3-bencil-5-feniloxazolidin-4-ona (O) y 3,4-difenil-1-bencil-hidroxiacetidin-2-ona, (A).

Los fotoproductos de DIBF, fueron caracterizados como 2,2-dimetil-3-isopropil-5-feniloxazolidin-4-ona (O) y 4,4-dimetil-3-hidroxi-1-isopropil-3-fenilacetidin-2-ona (A). Se detalla a continuación la caracterización de los fotoproductos aislados. Para PBF no se observaron la aparición de fotoproductos.



2,2-difenil-3-bencil-5-feniloxazolidin-4-ona (O)

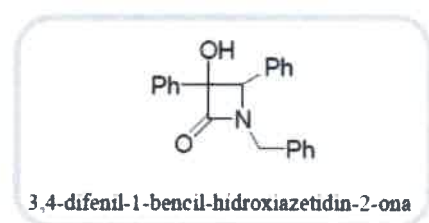
T_f: 97 °C.

RMN ¹H (CCl₃D): δ/ ppm a 3.63 y 4.98 (quinteto, 2H, bencilicos), 5.39 (s, 1H, C5), 5.84

C2), 7.1-7.8 (m, 15 H, aromáticos).

Masa calculada para C₂₂H₁₉NO₂: 329 (m/z, %): 329 [M⁺], 252, 238, 196, 178, 167, 105, 91 y 77.

UV-Visible (metanol) λ_{máx}~258 nm.



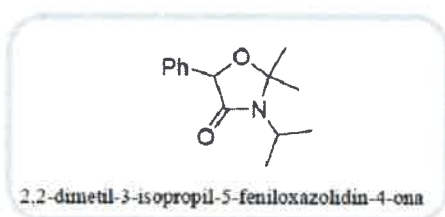
3,4-difenil-1-bencil-hidroxiacetidin-2-ona (A)

T_f: 103 °C.

RMN ¹H (CCl₃D): δ/ ppm a 3.96 y 5.01 (q, 2H, bencilicos), 4.60 (s, 1H sobre C4), 2.85 (s, 1H, OH), 7.1-8.6 (m, 15H, aromáticos)

Masa calculada para C₂₂H₁₉NO₂: 329 (m/z, %): 297, 238, 223, 196, 167, 105, 91 y 77.

UV-Visible (metanol): λ_{máx}~260 nm.



2,2-dimetil-3-isopropil-5-feniloxazolidin-4-ona (O)

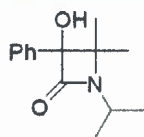
T_f: 98 °C.

RMN ¹H (CCl₃D): δ/ ppm a 1.40 y 1.49 (dos d, 3H, metilos isopropilicos), 1.52 y 1.55 (dos s,

3H, metilos sobre C2), 3.43 (septeto, 1H, isopropil), 5.18 (s, 1H, C5), 7.15-7.25 (m, 5H, fenilicos).

Masa calculada para C₁₄H₁₉NO₂: 233 (m/z, %): 233 [M⁺], 218, 176, 148, 135, 105 y 90.

UV-Visible (metanol) λ_{máx}~258 nm.



4,4-dimetil-3-hidroxi-1-isopropil-3-fenilazetidín-2-ona

4,4-dimetil-3-hidroxi-1-isopropil-3-fenilazetidín-2-ona (A)

T_f : 140 °C.

RMN ^1H (CCl_3D): δ / ppm a 0.86(s, 3H, MM metilo sobre C2 *cis* del Ph), 1.33 y 1.35 (a, cada uno, 3H cada uno, metilo del grupo isopropilo), 1.49 (s, 3H, metilo sobre C2 *trans* del Ph), 3.61 (septeto, 1H, grupo isopropílico). 3.79 (s, 1H, OH sobre C3), 7.2-7.3 (m, 5H, aromáticos).

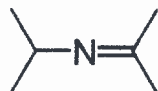
Masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_2$: 233 (m/z, %): 233 [M^+], 218, 176, 148, 133, 105 y 77.

UV-Visible (metanol) $\lambda_{\text{máx}} \sim 260$ nm.

IV-1.1.2.1.2 Imidas (I)

IV-1.1.2.1.2.1 N-(2-propaniden)propan-2-amina

Este fotoproducto se forma a nivel de trazas tras la fotólisis de la α -oxoamida DIBF en n-pentano. La imida fue detectada en los experimentos de cromatografía gaseosa e identificada a partir de su espectro de masas.



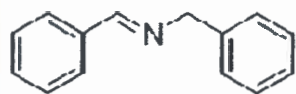
N-(2-propaniden)propan-2-amina

N-(2-propaniden)propan-2-amina.

Masa calculada para $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}$: 99 (m/z, %): 99 [M^+], 84, 56, 15.

IV-1.1.2.1.2.2 N-bencilidenbencilamina

Este fotoproducto fue identificado y cuantificado por comparación cromatográfica (GC/masa y HPLC) con una muestra comercial (Sigma-Aldrich Argentina).



N-bencilidenbencilamina

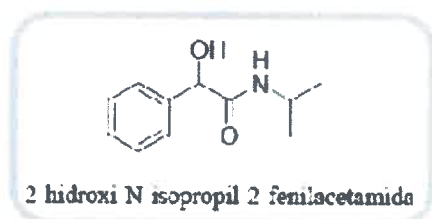
N-bencilidenbencilamina.

^1H RMN: δ / ppm: 4.81 (c, 2H, CH_2 , trans), 8.10 (d, 1H, N=H) y entre 7.2-7.9 (m, 10H, bencílicos).

Masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}$ 195 (m/z, %): 195. [M^+], 117, 104, 91, 77, 65.

IV-1.1.2.1.2.3 Mandelamina (MM)**IV-1.1.2.1.2.3.1 N-isopropilmandelamina ó 2-hidroxi-N-isopropil-2-fenilacetamida**

Se hizo reaccionar 0,2 gr (1,56 mmol) del ácido O-metilmandélico con 2 equivalentes de cloruro de oxalilo, 0,4 gr (3,12 mmol) a 40 °C durante una hora con agitación mecánica. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla resultante se evaporó a presión reducida a 60 °C para eliminar el exceso de cloruro de oxalilo (1 hora). Posteriormente, el cloruro de ácido de O-metilmandélico se diluyó en 5 ml de éter etílico anhidro y se agregó gota a gota a una solución conteniendo 2 equivalentes de isopropilamina (0,62 gr, 3,12 mmol) disueltos en 50 ml de éter etílico. Se dejó reaccionar durante 4 hs en un baño de hielo con agitación. Finalizada la reacción, (consumo total de la amina), la solución fue filtrada y evaporada en un rotavapor para obtener la amida. La cual fue re-disuelta en una mezcla de 10 ml de metanol:agua (9:1) y se adicionó 0,100 gr de NaOH disueltos en agua. La mezcla se dejó reaccionar 2 horas a temperatura ambiente y posteriormente fue acidificada por agregado de una solución concentrada de ácido clorhídrico. Durante este tratamiento la mandelamida precipita, lo que permitió separarla por filtración. Finalmente, la amida fue purificada por cromatografía en columna utilizando sílica (35-73 μm) como soporte y eluyendo con cloroformo. Se muestra a continuación la caracterización espectroscópica.

*2-hidroxi-N-isopropil-2-fenilacetamida.*T_f: 132 °C.¹H RMN: δ /ppm a 6.0 (s, OH), 3.8 (s, 1H, NH),1.25 (dd, 6H, 2 CH₃), 3.9 (m, 1H, grupo isopropil),

5.0 (d, 1H, bencílico) y entre 7.0 a 7.2 (m, 5H, bencílicos).

Masa calculada para: C₁₁H₁₄NO₂: 193 (m/z, %) 193 [M⁺], 150, 132, 108, 79 y 77.UV-visible: $\lambda_{\text{máx}}$ = (metanol) ~ 260 nm

IV-1.1.2.2 Efecto de solvente sobre la distribución de fotoproductos (fotoselectividad)

Para estudiar si la fotodescomposición de las oxoamidas es influenciada por los solventes, cambiando la distribución de productos, se realizaron experiencias de fotólisis en acetonitrilo y n-pentano. Soluciones 0,1 M de las amidas fueron irradiadas hasta observar una desaparición alrededor del 10-15 % de la banda a 350 nm. Los productos obtenidos fueron analizados por cromatografía gaseosa / masas con el fin de monitorear su complejidad y contar con una idea preliminar de los fotoproductos presentes.

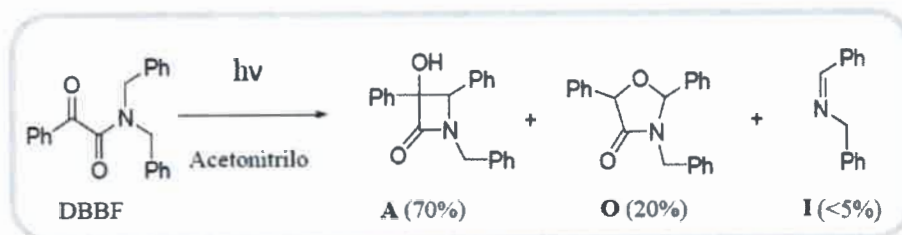
Con el fin de encontrar las mejores condiciones para la separación entre los reactivos y fotoproductos, las soluciones fotolizadas y sin fotolizar fueron inyectadas en el HPLC (fase reversa). Se encontró que la separación fue óptima usando fases móviles constituidas por mezclas 40/60 v/v y 50/50 v/v de acetonitrilo/agua (flujo 0,5 ml/min) para DBBF y DIBF, respectivamente.

Para poder cuantificar los rendimientos en las diferentes experiencias se procedió a la construcción de curvas de calibración para todos los fotoproductos y reactivos, en las condiciones óptimas encontradas para el análisis por HPLC para DBBF y DIBF. Finalmente se analizaron por triplicado las muestras de oxoamidas fotolizadas en los solventes de interés (MeCN y n-pentano), evaluando las concentraciones de reactivos y productos utilizando las curvas de calibración construidas previamente. Mediante este tratamiento se pudo calcular el porcentaje de cada fotoproducto y el porcentaje de desaparición de las amidas. En todos los casos el balance de masas (aparición de productos /desaparición de oxoamida) fue siempre superior al 85 %; nunca alcanzándose el valor ideal (100 %) dado a que algunos fotoproductos no pudieron ser identificados/evaluados.

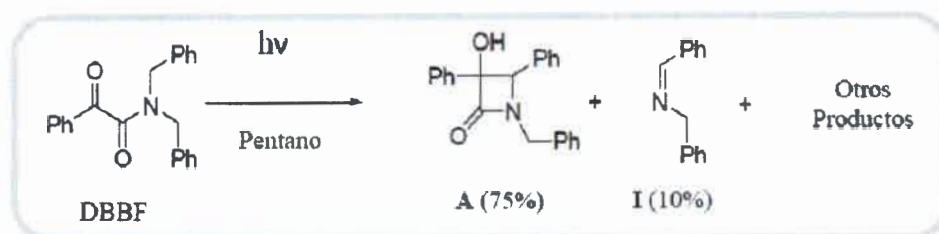
IV-1.1.2.2.1 Fotoproductos de la DBBF

Para DBBF, se obtuvieron los siguientes rendimientos porcentuales de fotoproductos, como se muestran en los **Esquemas IV-3** y **IV-4**, para acetonitrilo y n-pentano, respectivamente. Como puede observarse, existe un importante efecto de solvente sobre

la distribución de productos, mostrando un efecto importante sobre la fotoselectividad al variar el solvente de reacción.



Esquema IV-3: Distribución de fotoproductos de DBBF en acetonitrilo



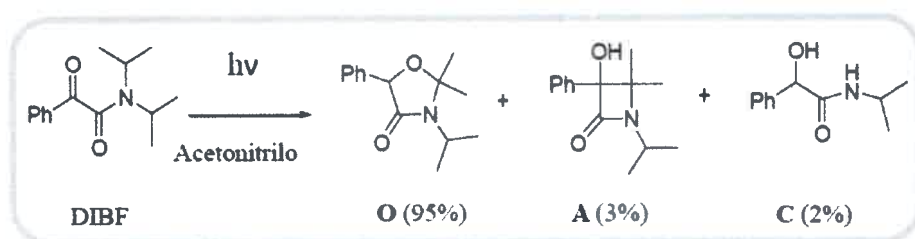
Esquema IV-4: Distribución de fotoproductos de DBBF en n-pentano

En acetonitrilo los fotoproductos principales de DBBF son la β -lactama (**A**) (~70%) y la oxazolidinona (**O**) (~20%). El producto de eliminación (**I**) se forma con relativa baja eficiencia. En el solvente aprótico no-polar (n-pentano) pueden observarse que el producto mayoritario es también **A**. La oxazolidinona **O** no es detectada y el producto de eliminación (**I**) representa aproximadamente un 10 % del total. Diversos estudios sobre la distribución de fotoproductos de la DBBF en solventes apróticos y próticos han sido publicados. Podemos citar, por ejemplo, que Aoyama [17] reporta que DBBF produce 100% de la β -lactama (**A**) en benceno, mientras que en metanol se formaría **A** con un rendimiento del ~86%. Por otra parte, en otro trabajo, Chesta y col. [13] reportaron que en metanol DBBF produce un ~45% de **A**, y aproximadamente el mismo rendimiento de mandelato de metilo (producto de eliminación). Evidencias experimentales indican que la fotólisis de la DBBF en metanol, en la presencia de un ácido fuerte (H_2SO_4), favorece marcadamente la formación de **O** a expensas de **A** e **I**.

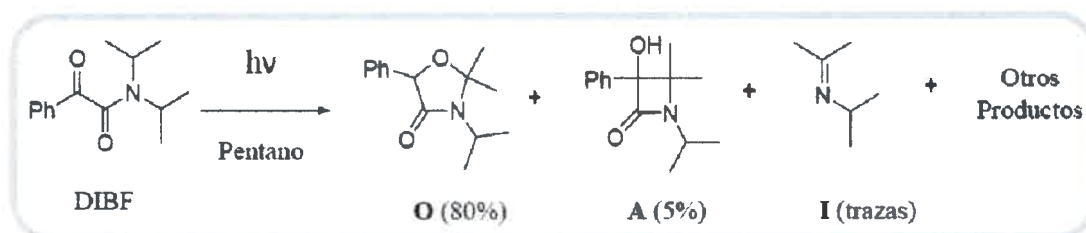
Esto fue observado primeramente por Aoyama y col. [17] y ha sido confirmado en este estudio.

IV-1.1.2.2 Fotoproductos de la DIBF

En los Esquemas IV-5 y IV-6 se muestra en forma simplificada la distribución de fotoproductos observada para la α -oxoamida DIBF en los dos solventes estudiados.



Esquema IV-5: Distribución de fotoproductos de DIBF en acetonitrilo



Esquema IV-6: Distribución de fotoproductos de DIBF en n-pentano

Puede concluirse que esta amida proporciona como producto mayoritario (en ambos medios) la oxazolidinona (**O**). La formación de la β -lactama (**A**) y los productos de eliminación no superan el 5% de los fotoproductos en ningún caso. Existen también antecedentes sobre la distribución de fotoproductos de esta amida en solvente polares (próticos y no-próticos) y en solvente no-polares apróticos. Por ejemplo, Aoyama [17] reportó que DIBF en benceno proporciona 62% de **O** y 29% de mandelamida (producto de hidrólisis de **Z**); mientras que en dimetilformamida se formaría 31% de **O**, 13% de **A** y 35% de mandelamida. Estos resultados no coinciden con los aquí reportados,

particularmente por la gran proporción de los productos de hidrólisis. Quizás la diferencia se explique en los porcentajes de agua en los solventes utilizados.

IV-1.1.3 Caracterización de especies transitorias – Estudios de Láser Flash Fotólisis (LFF)

En la siguiente sección se describen los estudios de caracterización de especies transitorias en la fotoquímica de las α -oxoamidas en la escala del micro/mili segundo. El detalle del instrumental y de la metodología utilizada se detalla en la sección *Metodología: Materiales y Métodos III-1.2.1.2.1*.

Las α -oxoamidas estudiadas fueron: PBF, DBBF, DIBF y ACBF en medios de diferente polaridad. Los resultados para ACBF se describen en el apartado *Resultados y Discusión IV-2*.

Los experimentos de LFF se realizaron en una celda fabricada uniendo una celda común de cuarzo con una bocha de vidrio. Esto permite aumentar el volumen de la solución de muestra a estudiar, de manera tal que la misma puede ser renovada mediante agitación, evitando así errores de dilución causados por la descomposición de la muestra expuesta al haz del laser. Para corroborar que no se producían cambios importantes en la concentración de las soluciones estudiadas, se registraron espectros de absorción periódicamente durante el transcurso de la experiencia de LFF. Se emplearon soluciones de α -oxoamidas de absorbancia 0,8 a la longitud de excitación del láser (266 nm). En todos los casos las muestras fueron estudiadas en ausencia y presencia de oxígeno. Las muestras fueron desoxigenadas por burbujeo con argón antes de comenzar los estudios.

IV-1.1.3.1 Fenilbenzoilformamida (PBF)

En 2004, Silva y col.[47] reportaron que dos derivados de la isatinas (**Figura IV-1**), α -oxoamidas cuyos carbonilos se encuentran forzados a adoptar una conformación *cisoides*, muestran un espectro de absorción sustancialmente corrido al rojo ($\lambda_{\text{máx}} \sim 410$ nm, en benceno) comparado a las α -oxoamidas con carbonilos en configuración *transoides* (PBF, DIBF, etc). Esta diferencia ha sido atribuida al distinto grado de coplanaridad que pueden alcanzar los grupos carbonilos. Grupos voluminosos unidos al

-COCO- tienden a sacar a los carbonilos del mismo plano, produciendo un efecto hipso- e hipsocrómico sobre la absorción.

Las isatinas no muestran emisión (fluorescencia o fosforescencia) en ningún medio estudiado y tras la excitación se produce un cruce entre sistemas muy rápido al estado triplete. El estado singlete excitado de estas amidas cíclicas decae eficientemente al estado triplete, el cual muestra (en benceno) absorciones a 330, 420 y 530 nm. El estado triplete tiene un tiempo de vida $\sim 2-6 \mu\text{s}$, y es dependiente del sustituyente. Tal cual hubiera podido anticiparse, la formación del triplete excitado de las isatinas puede ser eficientemente inhibido por la presencia de O_2 , caroteno, estilbena, ect., vía un mecanismo de quenching por transferencia de energía T-T. [54]

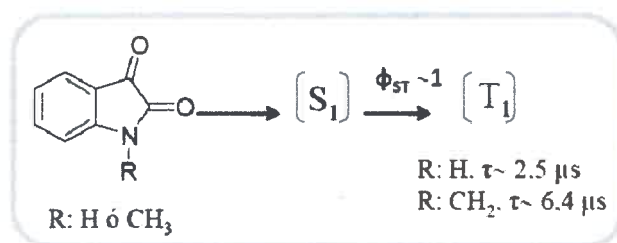


Figura IV-1: Fotofísica de las isatinas en benceno

Al igual que las isatinas, la α -oxoamida PBF no posee hidrógenos en la posición δ a un carbonilo, por lo que se espera un comportamiento similar de sus estados excitados. Sin embargo, para PBF no se observó la formación de especies transitorias en el rango entre 300-700 nm en la escala de los 0-10 μs . Este resultado sugiere que el estado singlete excitado de PBF cuenta con una vía de desactivación no-radiativa ($S_1 \rightarrow S_0$) muy eficiente que compite favorablemente con el proceso de cruzamiento entre sistemas ($S_1 \rightarrow T_1$). Estos resultados concuerdan con experimentos realizados usando la técnica de pump-probe IR (ver sección *Resultados y Discusión IV-1.1.4.2.1*), los cuales indican que el estado singlete excitado (S_1) de esta amida decae con un tiempo de vida de ~ 30 ps.

IV-1.1.3.2 Di-bencilbenzoilformamida (DBBF). Caracterización espectroscópica de ZH^+ y Z

IV-1.1.3.2.1 En Acetonitrilo

Como se discutió en la sección *Antecedentes I-1.2*, el único intermediario de fotoreacción de las α -oxoamidas que ha sido parcialmente caracterizado es el zwitterion protonado (ZH^+) de la DBBF. De acuerdo con Aoyama y col. [14] la fotólisis continua de DBBF en metanol/ácido sulfúrico (5%) a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ muestra la formación de un intermediario con máximo de absorción a $\sim 440\text{ nm}$ y un espectro de RMN ^1H conforme a la estructura mostrada en la **Figura IV-2**:

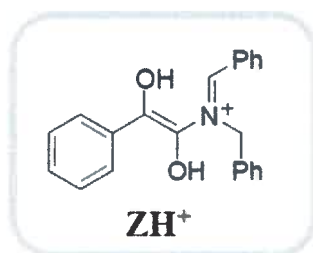


Figura IV-2: Estructura propuesta del intermediario ZH^+ (zwitterion protonado) de la DBBF

Estos estudios indicaron que ZH^+ se forma únicamente en medio ácido y a bajas temperaturas, desapareciendo rápidamente por calentamiento a $-10\text{ }^\circ\text{C}$, para dar la oxazolidinona (O). Luego, ZH^+ debería ser una especie relativamente estable, existiendo la posibilidad de que pueda ser detectada por métodos espectroscópicos.

Se procedió a realizar estudios de LFF para la DBBF en acetonitrilo / ácido sulfúrico (5%) a $25\text{ }^\circ\text{C}$. En la **Figura IV-3** se muestran los espectros de la absorción transitoria registrados a distintitos tiempos (0,5; 1; 2 y $8\text{ }\mu\text{s}$) después de la excitación con el pulso láser. Se observa una absorción importante a $\sim 300\text{ nm}$ y una banda ancha centrada a $\sim 420\text{ nm}$. El inserto en la misma figura muestra que la absorción a 420 nm no cambia apreciablemente en la escala de tiempo observada. La misma señal, pero registrada en una ventana temporal más larga (0-2 ms) tampoco muestra un claro decaimiento, por lo que el tiempo de vida de esta especie no pudo ser determinado. De todas maneras, en

vista de lo observado parece razonable suponer que el tiempo de vida (τ) de esta especie debe ser > 5 ms. Cuando el experimento fue repetido en atmósfera de aire, no se observaron cambios en la forma del espectro de absorción ni en su tiempo de vida. Esto descarta que el espectro en la **Figura IV-3** pertenezca a un estado sensible a O_2 ; típicamente, especies de capa abierta como estados excitados tripletes o radicales libres.

El espectro en la **Figura IV-3** concuerda satisfactoriamente con el reportado por Aoyama y col. [14] en metanol a -78 °C. El espectro también coincide con el espectro calculado por Chesta y col. [30] para ZH^+ . Los cálculos teóricos predicen para ZH^+ una absorción a ~ 440 nm ($f \sim 0.15$) y una transición más intensa a 290 nm ($f \sim 0.65$). Luego, puede inferirse de toda esta información que el espectro mostrado en la **Figura IV-3** corresponde al cetenodiol ZH^+ de DBBF a temperatura ambiente.

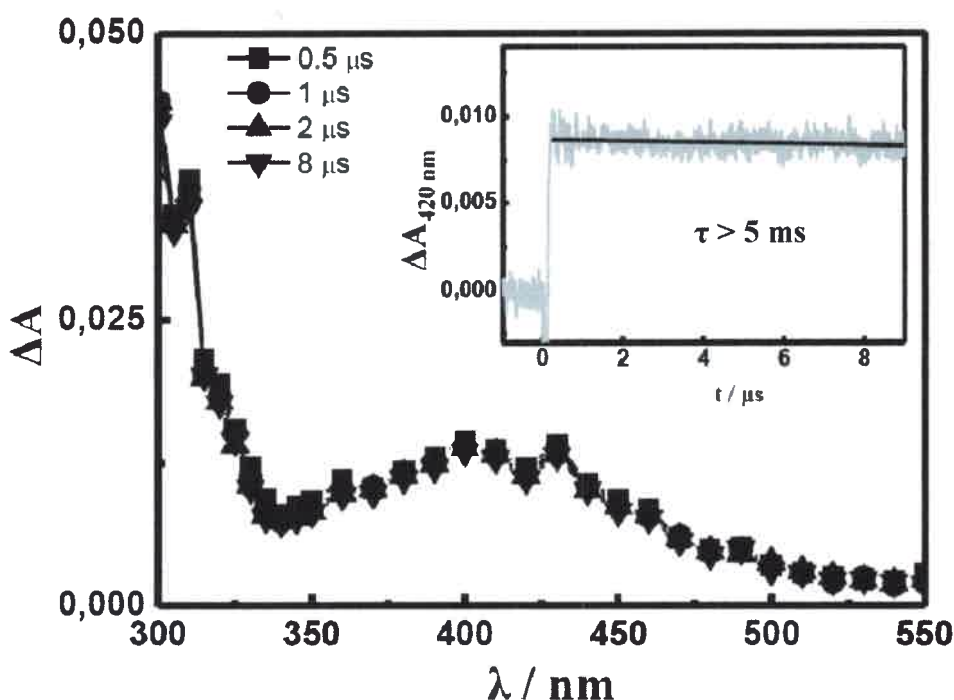


Figura IV-3: Espectro de absorción del transitorio de la DBBF en acetonitrilo/ ácido sulfúrico (5%) a 25 °C a: (■) 0,5 μ s, (●) 1 μ s, (▲) 2 μ s y (▼) 8 μ s, luego del pulso del láser. *Inserto:* Decaimiento de ΔA a 420 con $\tau > 5$ ms. $Abs_{DBBF}^{266 \text{ nm}}$: 0,8 λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min

En la **Figura IV-4** se muestra el espectro transitorio obtenido para una muestra de DBBF en acetonitrilo puro (en la ausencia de ácido) tras excitación pulsada a 266 nm.

Como puede observarse, el espectro difiere marcadamente al mostrado para ZH^+ . A fin de facilitar la comparación, los espectros fueron representados a los mismos tiempos (0,5; 1; 2 y 8 μ s). La nueva especie muestra una importante absorción en el rango de 300-350 nm. El decaimiento de la absorbancia a 320 nm es de primer orden, obteniéndose por ajuste a una función monoexponencial con un tiempo de vida del orden de $\sim 2.6 \mu$ s (inserto **Figura IV-4**). Como en el caso anterior, el espectro y tiempo de vida de la especie transitoria no se modifican por la presencia de O_2 .

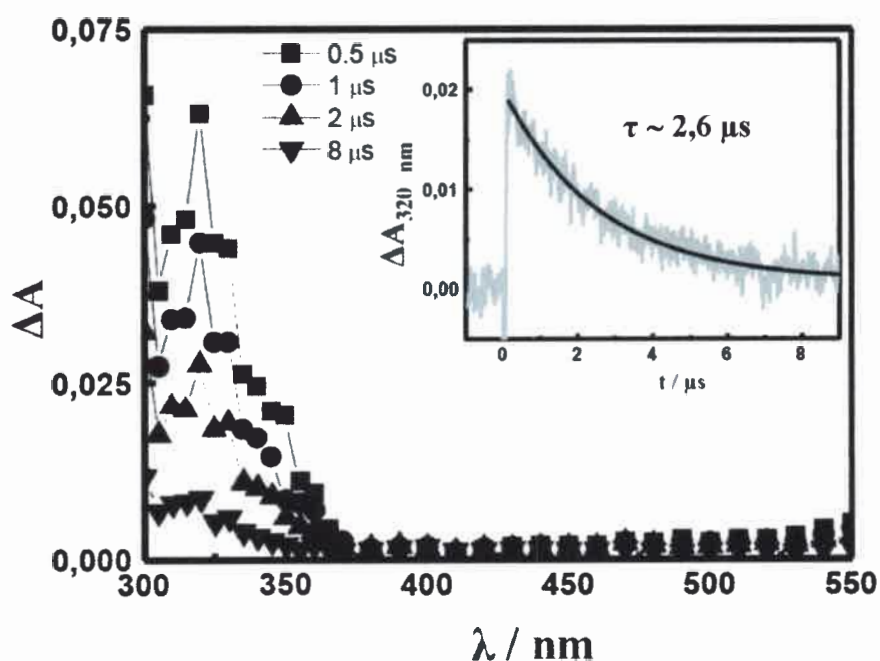


Figura IV-4: Espectro de absorción del transitorio de DBBF en acetonitrilo a 25 °C a: (■) 0,5 μ s, (●) 1 μ s, (▲) 2 μ s y (▼) 8 μ s, luego del pulso del láser. *Inserto:* Evolución temporal a 320 nm y ajuste monoexponencial con un $\tau \sim 2,6 \mu$ s. $Abs_{DBBF}^{266 \text{ nm}}$: 0,8. λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min

De acuerdo a los mecanismos discutidos en la sección *Antecedentes* I-1.2, ZH^+ se forma por protonación de **Z**. Por otra parte, según Chesta y col. [30] el espectro del zwitterion (**Z**) de la DBBF debería mostrar una transición prohibida a ~ 730 nm ($f \sim 0.005$) y otras de mayor importancia a 310 ($f \sim 0.5$), 330 ($f \sim 0.1$) y 350 ($f \sim 0.3$) nm. La similitud (o concordancia) entre los resultados reportados en bibliografía y los espectros de la **Figura IV-4** sugieren que la absorción podría asignarse al zwitterion intermedio **Z** (**Figura IV-5**).

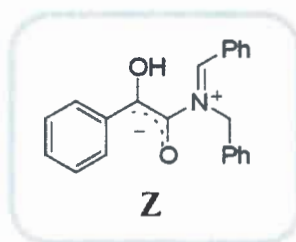


Figura IV-5: Estructura propuesta del intermediario **Z** (zwitteriónico) de DBBF

De ser esta interpretación correcta, un incremento de la acidez de la solución debería mostrar la aparición progresiva del espectro de ZH^+ en detrimento del de **Z**. En la **Figura IV-6** se muestran los cambios en los valores de ΔA (extrapolados a tiempo cero) medidos a 320 y 420 nm, manteniendo constante la concentración de DBBF y variando la concentración de ácido sulfúrico entre 0 y 5% v/v. Como se observa, el valor de ΔA a 320 nm disminuye, mientras que a 420 nm crece con el incremento de la acidez del medio.

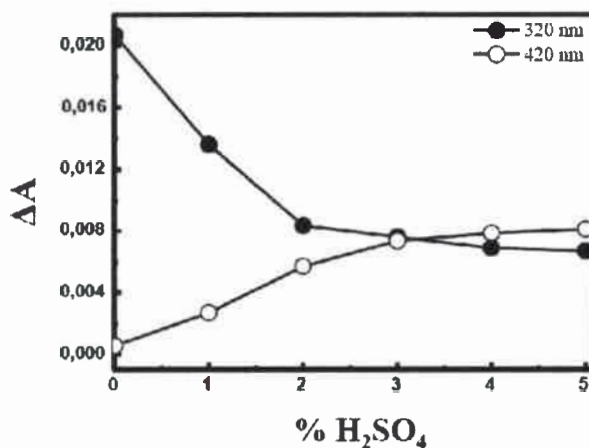


Figura IV-6: Perfil de ΔA de la α -oxoamida DBBF a 320 nm y 420 nm, en función de la concentración de H_2SO_4 (% v/v), extrapolados a $t = 0$ a 25 °C con A_{DBBF}^{266} : 0,8 y λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con argón durante 30 min

Un análisis más detallado de los decaimientos a las mismas longitudes de onda se muestra en la **Figura IV-7**. En acetonitrilo puro, la absorbancia de **Z** a 320 nm (*a*) decae con un tiempo de vida ~ 2.6 μs . A 420 nm (*d*), en el máximo de la absorción de ZH^+ ,

no se registra señal alguna. Los decaimientos registrados al 1% de ácido muestran diversas peculiaridades. La absorción a 320 nm (extrapolada a tiempo cero) es aproximadamente la mitad (*b*) que la observada en la ausencia de ácido (*e*). La señal insinúa un rápido decaimiento inicial y luego se mantiene prácticamente constante en la ventana de tiempo estudiada. La misma señal, pero obtenida en una escala de tiempo más larga (2 ms) no muestra un decaimiento apreciable, tal cual lo observado para ZH^+ . Por otro lado, la absorción a 420 nm (*e*) no muestra un crecimiento a tiempos cortos, por lo que la formación de ZH^+ parece ser “instantánea” dentro de la resolución del instrumental utilizado. A la mayor concentración de ácido estudiada (5%), la absorción a 320 nm (*c*) decrece significativamente y persiste en toda la ventana temporal. La absorción a 420 nm (*f*) es intensa y no muestra tampoco un crecimiento a tiempos cortos.

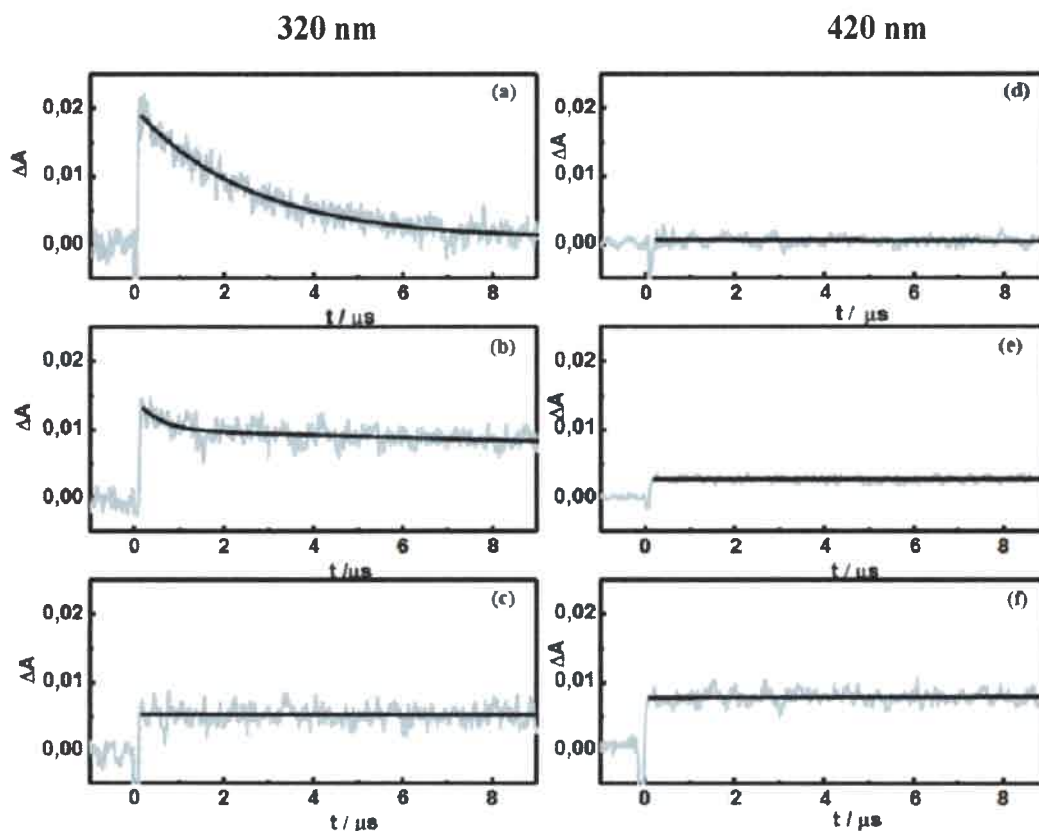
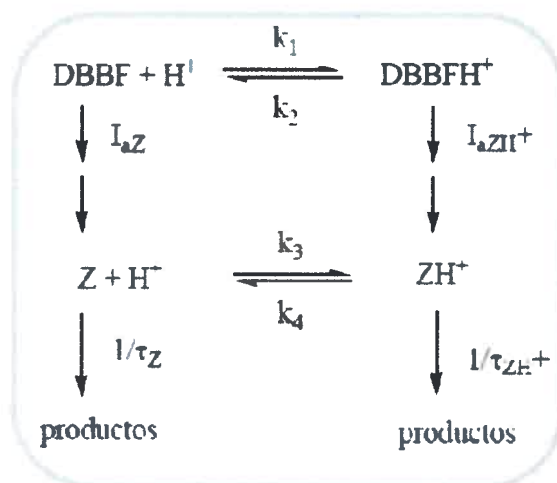


Figura IV-7: Dependencia temporal de ΔA observada a 320 nm y 420 nm para una muestra de DBBF en acetonitrilo en función de la concentración de ácido sulfúrico: *a*; *d*) sin ácido; *b*; *e*) 1% v/v y *c*; *f*) 5% v/v

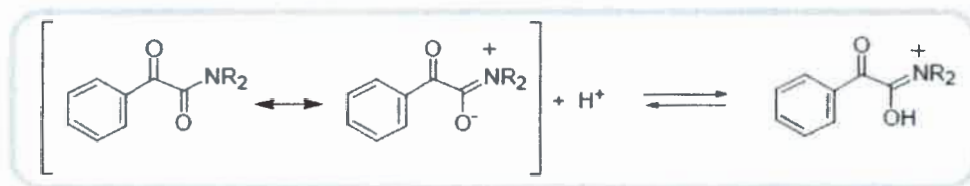
Los resultados mostrados en las Figuras IV-6 y IV-7, permiten postular un mecanismo de reacción como el que se muestra a continuación en el Esquema IV-7.



Esquema IV-7: Mecanismo de formación y desaparición de Z y ZH^+ en medio ácido para DBBF

Este mecanismo implica la existencia de dos especies de la amida en el estado fundamental: DBBF y DBBFH⁺, la amida libre y protonada, respectivamente. Estas especies podrían ser excitadas simultáneamente y seguir posteriores procesos de reacción. Este aspecto fundamental no fue tenido en cuenta por Aoyama y col. en los estudios previos realizados con estas oxoamidas.

Si bien las amidas se comportan como bases muy débiles ($pK_a \sim -0.5$, en agua) existen múltiples evidencias experimentales de que pueden ser protonadas por ácidos fuertes, tanto en medios próticos como apróticos [48]. La protonación ocurre exclusivamente en el oxígeno del grupo amido, dado que el par de electrones de no-unión del nitrógeno se halla comprometido en el enlace (Esquema IV-8). La existencia de esta estructura zwitteriónica en las amidas ha sido probada por diferentes técnicas espectroscópicas [14].



Esquema IV-8: Protonación de α -oxoamidas por ácidos fuertes

Evidencias experimentales de fuertes interacciones entre la DBBF y el ácido sulfúrico (HA) en acetonitrilo se muestra en la **Figura IV-8**. En dicha figura puede observarse que a medida que la concentración del ácido se incrementa, la banda $n-\pi^*$ se desplaza a mayor energía, disminuye en intensidad y pierde progresivamente su estructura fina. Este efecto podría ser explicado debido a que la protonación del carbonilo de la amida afectaría impidiendo la conjugación extendida del enlace π .

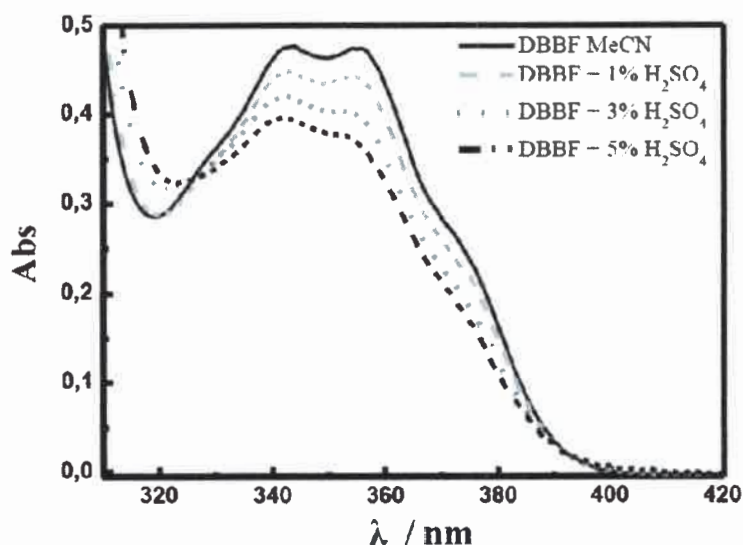


Figura IV-8: Espectro de absorción de DBBF ($2,2 \times 10^{-3}$ M) en acetonitrilo y a diferentes concentraciones de ácido sulfúrico: 0 %, 1 %, 3 %, y 5 % v/v

Otra posibilidad que no puede descartarse (*a priori*) para explicar los cambios observados en la **Figura IV-8** sería la formación de puentes H entre los carbonilos de la α -oxoamida y especies ácidas en solución. En principio, uno u otro fenómeno (protonación o formación de puentes H) podrían estar operando simultáneamente,

siendo imposible cuantificar la extensión de cada contribución con los datos experimentales disponibles.

Así, de acuerdo al mecanismo en el **Esquema IV-7**, ambas especies: DBBF y DBBFH⁺, coexisten y compiten por la absorción de luz a la longitud de onda de excitación. La concentración relativa de estas especies en la solución dependerá de la constante de equilibrio ($K = k_1/k_2$) y de la concentración del ácido. Tras el pulso láser, la α -oxoamida libre produce **Z**. El zwitterion puede seguir dos vías de reacción, o bien dar productos o reaccionar con HA para dar **ZH⁺**. El tiempo de vida de **Z** en acetonitrilo es $\tau \sim 2.6 \mu\text{s}$, y dicho tiempo de vida debería decrecer con el incremento de la concentración de HA. En el caso de DBBFH⁺ la excitación produciría directamente **ZH⁺**. Este intermediario también puede seguir dos caminos de reacción, puede dar productos o deprotonarse para formar **Z**.

Desde el punto de vista cinético, el mecanismo propuesto puede modelarse como un sistema de reacción consecutivo acoplado [49]. Basándose en este modelo, y planteando para cualquier concentración del ácido HA, las expresiones para la absorción a 320 (**Z**) y 420 nm (**ZH⁺**) se encuentra que vienen dadas por las siguientes expresiones:

$$[Z] = c_1 \exp(-\lambda_1 t) + c_2 \exp(-\lambda_2 t) \quad (\text{IV-1})$$

$$[ZH^+] = c_3 [\exp(-\lambda_1 t) - C_4 \exp(-\lambda_2 t)] \quad (\text{IV-2})$$

Donde:

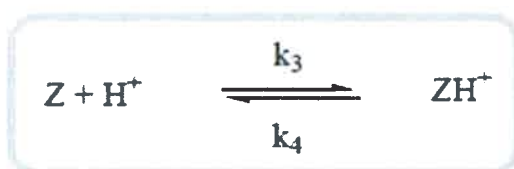
- c_i : son funciones complejas de las constantes de velocidad del sistema y resultan siempre positivas (> 0).
- λ_1 y λ_2 : representan los tiempos de vida característicos del sistema y son funciones de las constantes de velocidad y concentración de las especies en solución.

Debemos notar que las ecuaciones (IV-1) y (IV-2) predicen que la población de **Z** decae biexponencialmente, mientras que la de **ZH⁺** debería mostrar un crecimiento inicial (segundo término en (IV-1)) y un posterior decaimiento (primer término de la misma ecuación).

Ahora se procederá al análisis de los procesos involucrados mostrados en el **Esquema IV-7** y se determinarán las constantes de velocidad asociadas a los mismos: k_3 , k_4 , $1/\tau_Z$ y $1/\tau_{ZH^+}$. Debido a que el tiempo de vida de **Z** en acetonitrilo puro es $\sim 2.6 \mu\text{s}$, se obtiene que: $1/\tau_Z \sim 4 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$.

Por otra parte, dado que la absorción de **ZH⁺** no decae y persiste en la escala de los 2 ms, podemos estimativamente acotar el valor de $1/\tau_{ZH^+}$ a $\ll 5 \times 10^2 \text{ s}^{-1}$.

Ahora se analizará el equilibrio entre **Z** y **ZH⁺**, mostrado en el **Esquema IV-9**:



Esquema IV-9: Equilibrio entre zwiterion (**Z**) y zwiterion protonado (**ZH⁺**)

Donde:

- k_3 : es la constante velocidad para la protonación de **Z** para dar cetenodiol
- k_4 : representa la contante (unimolecular) de deprotonacion de **ZH⁺**

Existen en la literatura diversos estudios de procesos muy relacionados a las experiencias que se realizan en esta Tesis, donde se observa el efecto de protonación en medio ácidos. Por ejemplo, Kresge y col. [50,51,52,53] estudiaron la cinética de protonación en agua del enol del ácido mandélico, metil mandelato y mandelamida. Lamentablemente, estos autores no publicaron los espectros de absorción de estas especies, las cuales hubieran sido de gran interés para comparar con las obtenidas en este estudio en similares condiciones.

Para el caso particular del metil mandelato, pudieron estimarse las constantes de velocidad para protonación-deprotonación, y los respectivos valores se muestran en la **Figura IV-9**.

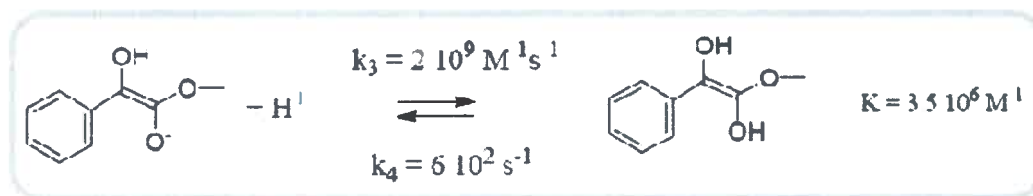


Figura IV-9: Constante de equilibrio (K) y constantes de velocidad de protonación (k_3) y deprotonación (k_4) para el enol del metil mandelato en agua

Tal cual lo esperado, el enol es una especie poco básica ($\text{pK}_a = 6.5$) y la constante de velocidad (bimolecular) de protonación (k_3) es del mismo orden de magnitud que la constante de velocidad limitada por la difusión en agua ($5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Luego, asumiendo un comportamiento similar para Z y $Z\text{H}^+$ en acetonitrilo, es posible concluir que:

$$k_4 \gg 1/\tau_{Z\text{H}^+} \quad (\text{IV-3})$$

$$k_3[\text{HA}] \gg 1/\tau_Z \quad (\text{IV-4})$$

Como k_4 es del orden de 500 s^{-1} y $1/\tau_{Z\text{H}^+} \ll 5 \times 10^2 \text{ s}^{-1}$, la primera desigualdad se satisface.

La última desigualdad debe ser cierta por las siguientes razones:

- a) el ácido sulfúrico disocia en acetonitrilo con una constante de equilibrio asociada del orden de 10^7 [54], de acuerdo a:



- b) La concentración (analítica) de HA en los experimentos mostrados en la **Figura IV-8** van desde 0.2 a 1 M, por lo que la concentración de H^+ debería ser aproximadamente la mitad. Luego, aún a la menor concentración de ácido estudiada (1% v/v): $k_3[\text{HA}] \sim 2 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$; cerca de 3 órdenes de magnitud mayor que $1/\tau_Z$.

Del análisis anterior, puede afirmarse que el equilibrio entre Z y ZH^+ es “rápido”; esto es, que la interconversión ácido (ZH^+) / base (Z) ocurre más rápido que los decaimientos individuales ($1/\tau$) de las dos especies. En estas condiciones, los tiempos característicos del sistema se simplifican a:

$$\lambda_1 \cong 1/\tau_{ZH^+} \quad (IV-5)$$

$$\lambda_2 \cong k_3[H^+] \quad (IV-6)$$

Además, dado que $k_3[H^+] \gg 1/\tau_{ZH^+}$ (luego: $\lambda_2 \gg \lambda_1$) la dependencia temporal de la población de Z y ZH^+ vienen dados por:

$$[Z] \cong c_1 \exp(-t/\tau_{ZH^+}) \quad (IV-7)$$

$$[ZH^+] \cong c_3[\exp(-t/\tau_{ZH^+})] \quad (IV-8)$$

En base a este análisis, lo observado en las **Figura IV-7** puede ser racionalizado de la siguiente manera:

a) Z no muestra un decaimiento rápido (segundo término de la ecuación IV-1). Este decaimiento ocurre en la escala de los pocos ns y no puede ser observado dentro de la resolución temporal del instrumental utilizado en los experimentos de LFF.

b) la formación de ZH^+ a 420 nm no es observada a ninguna concentración de HA por la misma razón.

c) ambas especies decaen con un tiempo de vida común (el de ZH^+).

Finalmente, es interesante notar que la absorción observada de Z (320 nm), a cualquier concentración de ácido, es debida a una población de Z que es “renovada” en solución por deprotonación de ZH^+ y por lo tanto, muestra el mismo tiempo de decaimiento. Mecanismos similares han sido utilizados para explicar la fluorescencia “retardada” de compuestos carbonílicos y de fluoróforos en equilibrio rápido con estados de transferencia de carga (excíplejos) en solventes no polares [54].

IV-1.1.3.2.2 n-pentano

Los experimentos de LFF realizados para DBBF en pentano no mostraron absorción de especies transitorias en el rango de 300-600 nm. Cabe destacar que el estudio fue realizado en la escala de 0-10 μ s (y 0-2 ms); esto es, en las mismas condiciones que las utilizadas en los experimentos en acetonitrilo. Recordando que la fotólisis de DBBF en pentano produce la β -lactamas (A) con un rendimiento del \sim 70%, puede concluirse que:

- a) el intermediario para la formación de A no absorbe en el rango de longitudes de onda estudiado o alternativamente,
- b) el intermediario se forma y desaparece en una escala de tiempo mucho menor ($<$ 0,2 μ s) siendo indetectable por la técnica de LFF.

IV-1.1.3.3 Di-isopropilbenzoilformamida (DIBF)

IV-1.1.3.3.1 En Acetonitrilo

Experimentos similares a los descritos en la sección anterior fueron realizados con la DIBF a fin de caracterizar espectroscópicamente los intermediarios de fotorreacción.

Se muestra en la **Figura IV-10** el espectro de absorción (extrapolado a tiempo cero) de una solución de DIBF en acetonitrilo excitada a 266 nm (Abs_{DIBF}^{266} : 0,8). El experimento fue llevado a cabo en atmósfera de argón. En la **Figura IV-10**, se observa una absorción importante a \sim 320 nm, la cual decae monoexponencialmente con un tiempo de vida de \sim 80 μ s. La especie observada no corresponde al triplete excitado de la DIBF ni a una especie radicalaria, ya que no se observaron cambios en la forma de la banda ni en su tiempo de decaimiento cuando el experimento fue repetido en presencia de oxígeno.

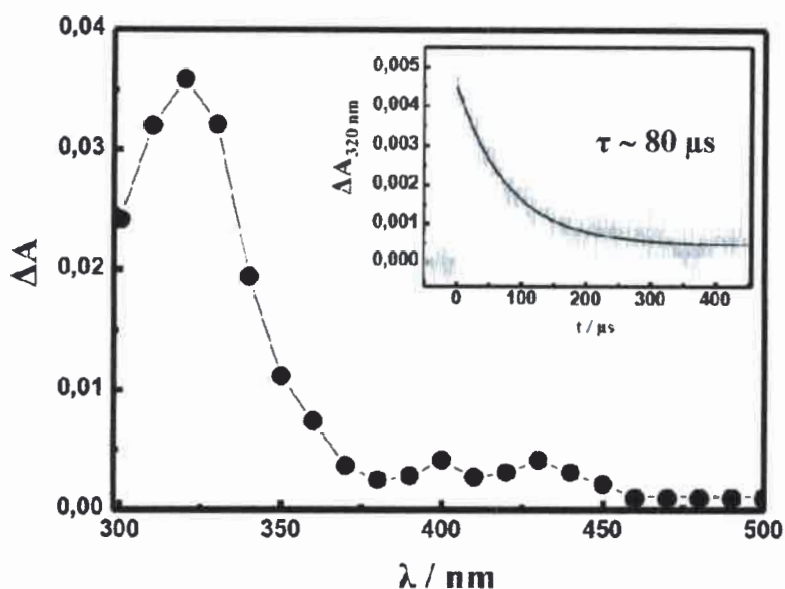


Figura IV-10: Espectro de absorción del transitorio de DIBF en acetonitrilo a 25 °C a 1 μs luego del pulso del láser. *Inserto:* Evolución temporal de la absorción a 320 nm y ajuste monoexponencial con un $\tau \sim 80 \mu s$. λ_{exc} : 266 nm. $Ab_{S_{DBBF}}^{266 \text{ nm}}$: 0,8. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min

En la **Figura IV-11**, se comparan los espectros de especies transitorias obtenidos para DIBF en acetonitrilo puro y en una solución de acetonitrilo con 5% de ácido sulfúrico. En presencia del ácido se observa una nueva banda de absorción centrada alrededor de los 400 nm. Esta absorción permanece constante en la escala de los 2 ms, por lo que su tiempo de vida no pudo ser determinado ($\gg 5 \text{ ms}$). En el inserto de la figura, se muestra la relación entre los de ΔA medidos a 320 nm y 400 nm en función del % de HA en la solución, ambos extrapolados a tiempo cero. De la observación de dicha figura, puede concluirse que el agregado de ácido produce la casi desaparición de la banda a 320 y el incremento de la banda a 420 nm, siendo el cambio muy importante aún al 1% de ácido.

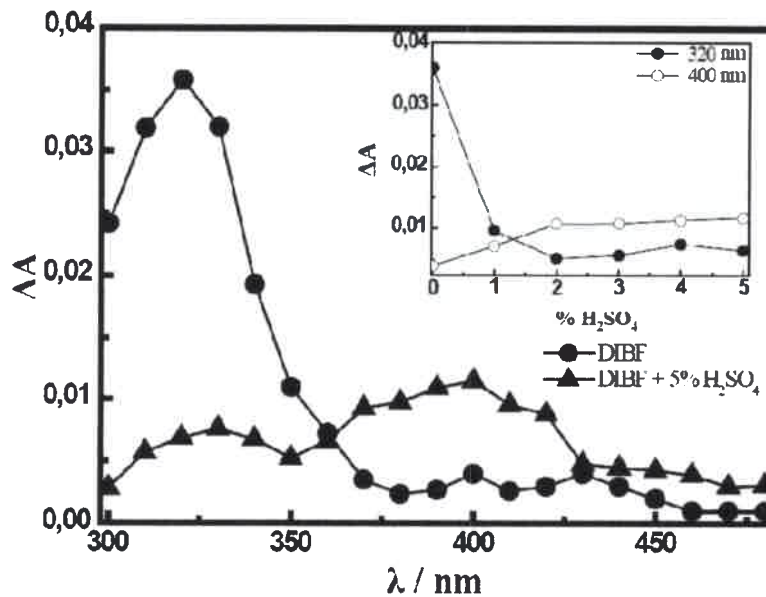


Figura IV-11: Espectro de especies transitorias de la DIBF en acetonitrilo (●) y en acetonitrilo / 5% de H_2SO_4 (▲) obtenido por extrapolación a tiempo = 0. *Inserto:* Perfil de ΔA a 320 nm (●) y a 400 nm (○) en función de la concentración de H_2SO_4 (% v/v), extrapolados a $t = 0$ a 25 °C con A_{DIBF}^{266} : 0,8 y λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado por burbujeo con Ar durante 30 min

Para la asignación de las bandas observadas en la **Figura IV-11** se procede a compararlos con los espectros calculados teóricamente por Chesta y col. [30]. De acuerdo a estos cálculos, la especie **Z** de DIBF debería mostrar una absorción débil alrededor de 500 nm ($f \sim 0.06$) y otra diez veces más intensa cerca de los 320 nm ($f \sim 0.7$). Este espectro teórico concuerda en gran medida obtenido experimentalmente para la amida en acetonitrilo puro.

Para ZH^+ los cálculos predicen una única absorción importante a ~ 380 nm ($f \sim 0.2$). Coincidentemente, el espectro experimental obtenido para DIBF en medio ácido muestra un máximo alrededor de 400 nm. Luego, parece razonable asignar a los espectros en la **Figura IV-11**, a las especies **Z** y ZH^+ de la DIBF (**Figura IV-12**).



Figura IV-12: Estructura propuesta para el intermediario zwitteriónico (**Z**) y zwitterion protonado (**ZH⁺**) de la α -oxoamida DIBF en acetonitrilo

El mecanismo de formación de **Z** y zwitterion protonado **ZH⁺** de DIBF probablemente pueda ser muy similar al propuesto para DBBF. La transición $n-\pi^*$ de la amida en acetonitrilo se modifica con el agregado de H_2SO_4 , corriéndose a mayor energía y perdiendo intensidad y estructura fina, como se muestra en la **Figura IV-13**. Esta observación es una clara evidencia de la protonación de la DIBF en medio ácido.

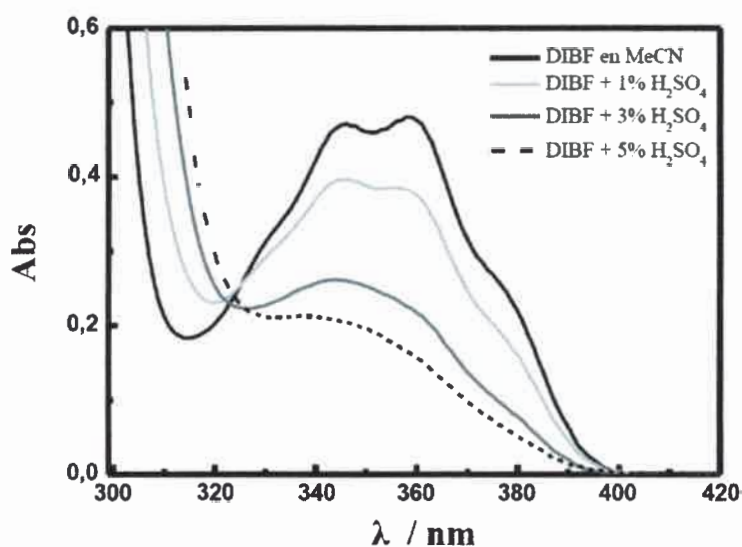


Figura IV-13: Espectro de absorción de DIBF ($2,6 \times 10^{-3}$ M) en acetonitrilo y a diferentes concentraciones de ácido sulfúrico: 0 %, 1 %, 3 %, y 5 % v/v

La cinética de desaparición de **Z** y aparición de **ZH⁺** en función de la concentración de ácido también fue analizada. Los resultados se muestran en la **Figura IV-14**.

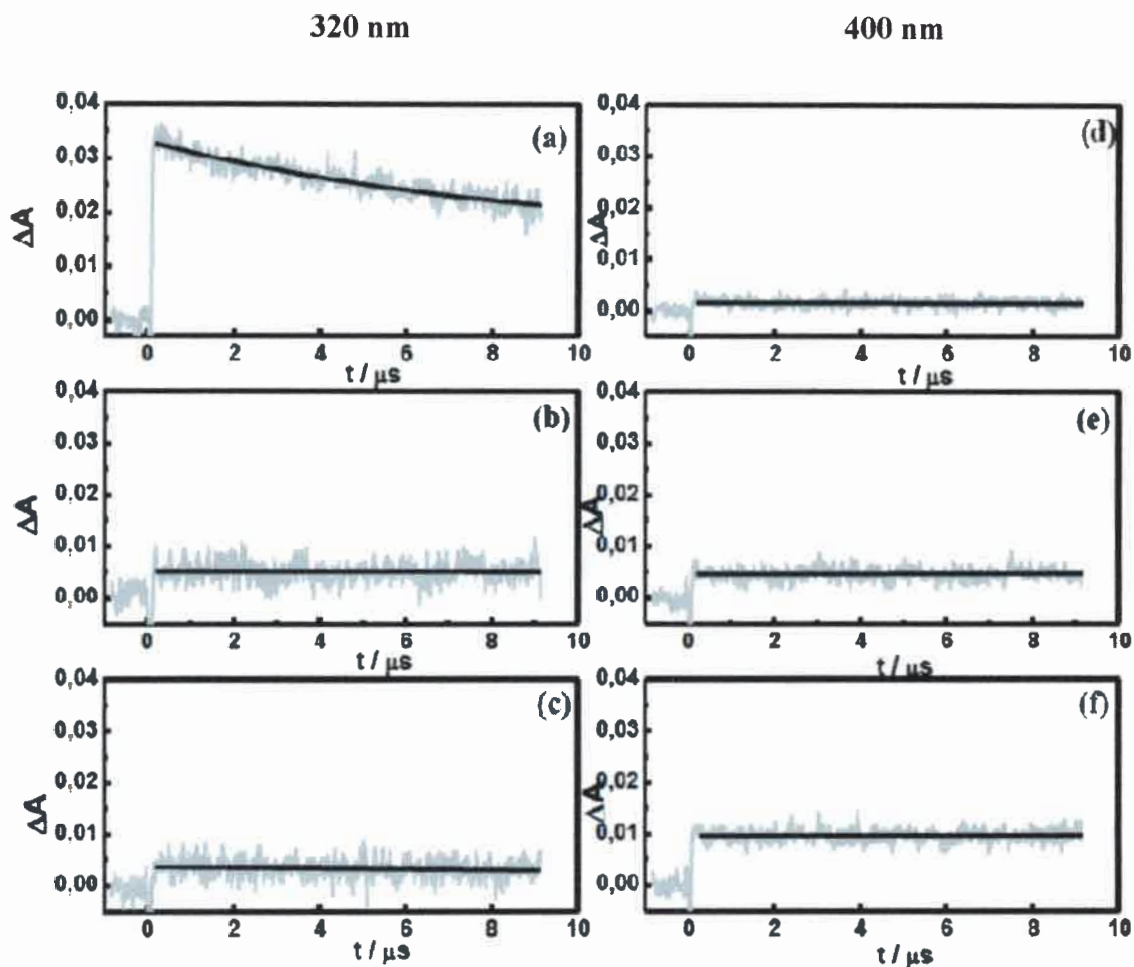


Figura IV-14: Dependencia temporal de ΔA observada a 320 nm y 400 nm para una muestra de DIBF en acetonitrilo en función de la concentración de ácido sulfúrico: *a; d*) sin ácido, *b; e*) 1% v/v y *c; f*) 5% v/v

Se puede observar en la **Figura IV-14**, los decaimientos a 320 nm y a 400 nm. En acetonitrilo puro, la absorbancia de **Z** a 320 nm (*a*) decae con un tiempo de vida ~ 80 μs . A 400 nm (*d*), en el máximo de la absorción de **ZH⁺**, no se registra señal alguna. El decaimiento observado al 1% de ácido muestra a 320 nm (*b*, extrapolada a tiempo cero) una disminución del orden $\sim 90\%$ en relación a la observada en ausencia de ácido (*a*). La absorción a 400 nm (*e*) muestra que la formación de **ZH⁺** parece ser “instantánea” dentro de la resolución del instrumental utilizado. A la mayor concentración de ácido estudiada (5%), la absorción a 320 nm (*c*) decrece significativamente y persiste en toda la ventana temporal mientras que la absorción a 400 nm es intensa y no muestra tampoco un crecimiento a tiempos cortos (*f*).

De esta manera se puede concluir que para esta amida, las condiciones de equilibrio rápido entre **Z** y **ZH⁺** se satisfacen más fácilmente que en el caso de la DBBF. La similitud con lo analizado anteriormente, τ_{ZH^+} también es del orden de los ms, por lo que: $k_4 \gg 1/\tau_{ZH^+}$. Por otro lado, el tiempo de vida de **Z** es mucho más largo ($\sim 80 \mu\text{s}$) por lo que la desigualdad: $k_3[HA] \gg 1/\tau_Z$, se cumple estrictamente. Por lo cual el análisis cinético realizado para DBBF también se cumple para DIBF, pudiendo concluirse que existe un equilibrio “rápido” entre **Z** y **ZH⁺**.

IV-1.1.3.3.2 En n-pentano

A diferencia de la DBBF, para el caso de la DIBF se observaron señales y pudo determinarse un espectro de especies transitorias en n-pentano. Como se ilustra en la **Figura IV-15**, DIBF presenta en el solvente no-polar una banda ancha centrada a ~ 310 nm. Si se compara la forma del espectro con lo observado para el zwitterion (**Z**) en acetonitrilo (**Figura IV-11**), puede decirse que son similares, aunque su máximo se encuentra corrido ligeramente a mayores energías. Si se observan las trazas el decaimiento de la absorción, se puede ver que las mismas muestran una cinética compleja. A todas las longitudes de onda, el decaimiento debe ser ajustado con una función biexponencial con un tiempo muy corto ($\sim 0.5 \mu\text{s}$) y uno más largo ($13 \mu\text{s}$). Sin embargo, la componente rápida representan solo una pequeña fracción de la absorción total ($< 5\%$), como para ser tenida en cuenta. Es interesante notar que la absorción persiste a tiempos mayores a los 2 ms. Como se muestra en la **Figura IV-15** el espectro disminuye con el tiempo pero conserva la misma forma espectral.

Una comparación entre los resultados experimentales y los cálculos teóricos [30] tanto del dirradical **D** como del zwitterion **Z** de la DIBF deberían mostrar absorciones alrededor de los 320 nm, con fuerzas del oscilador de $f \sim 0.4$ y $f \sim 0.7$, respectivamente.

Sin embargo, cuando el experimento fue repetido en presencia de oxígeno no se observaron cambios en la cinética de decaimiento, permitiendo entonces descartar la existencia del dirradical (o triplete) en la escala de tiempo estudiada.

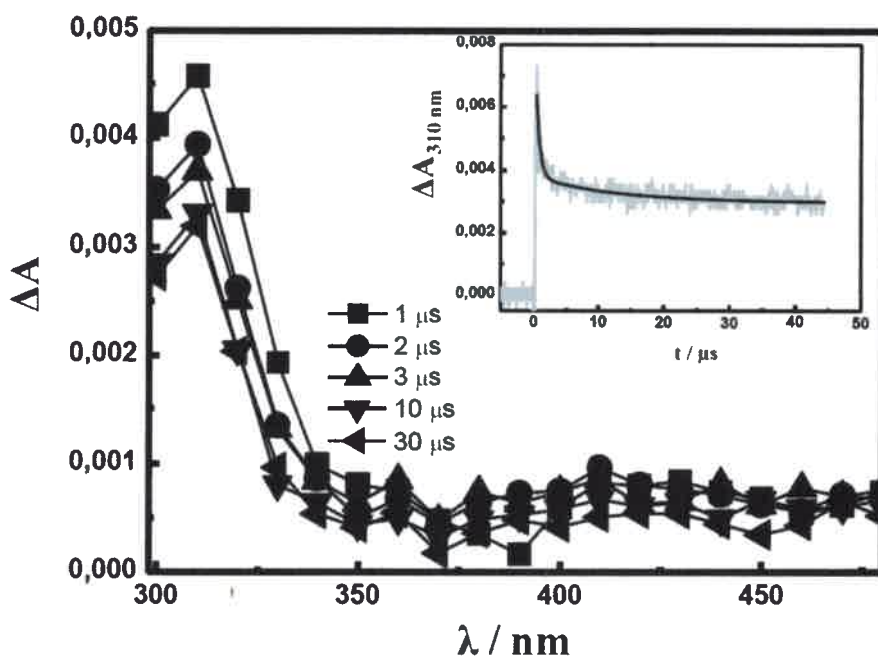


Figura IV-15: Espectro de absorción resuelto en el tiempo del transitorio de DIBF en n-pentano a 25°C, a: (■) 1 μs, (●) 2 μs, (▲) 3 μs, (▼) 10 μs y 30 (◄) μs, después del pulso del láser. *Inserto:* Evolución temporal de la absorbancia a 310 nm ajustada a una función biexponencial con un τ_1 : 0,5 μs y un τ_2 : 13 μs. $\lambda_{exc} = 266$ nm. A_{DIBF}^{266nm} : 0,8. Desoxigenado por burbujeo con argón por 30 min

IV-1.1.4 Caracterización de especies transitorias – Estudios de Pump-Probe

IV-1.1.4.1 Probe UV-Visible

Debido a que en los análisis de LFF inferimos la existencias de especies de corta vida, se realizaron experiencias de pump-probe (UV-visible), tratando de analizar el comportamiento fotofísico/fotoquímico de DBBF y DIBF en la escala de tiempo de los ps. Detalles de estos experimentos y del instrumental utilizado se dieron en las secciones *Metodología: Materiales y Métodos III-1.2.1.2.2*, respectivamente. Todos los experimentos fueron realizados en acetonitrilo a temperatura ambiente.

En la **Figura IV-16** se muestra el espectro de especies transitorias para DBBF luego de la excitación láser (350 nm). Como puede observarse, el espectro muestra una fuerte absorción a ~520 nm, la cual decae con un tiempo de vida de ~4 ps. También puede

observarse una absorción residual centrada alrededor de los 450 nm que perdura en la escala de tiempo estudiada.

En principio, este espectro podría asignarse a una transición $S_1 \rightarrow S_n$ de la DBBF. De acuerdo a lo discutido anteriormente, el diradical (**D**) de la DBBF solo tendría una absorción apreciable entre 310-350 nm (f total ~ 0.5); por lo tanto, dicha absorción ocurriría fuera del rango espectral disponible. Como se muestra en la **Figura IV-16**, Z de DBBF posee una banda débil alrededor de los 450 nm; sin embargo, este dato no es suficiente para realizar una asignación certera. Cabe notar que el decaimiento de la especie transitoria ocurre en un tiempo menor a la de la relajación del solvente ($\sim 6-10$ ps), por lo que los corrimientos observados podrían corresponder al proceso de “enfriamiento” del estado singlete excitado.

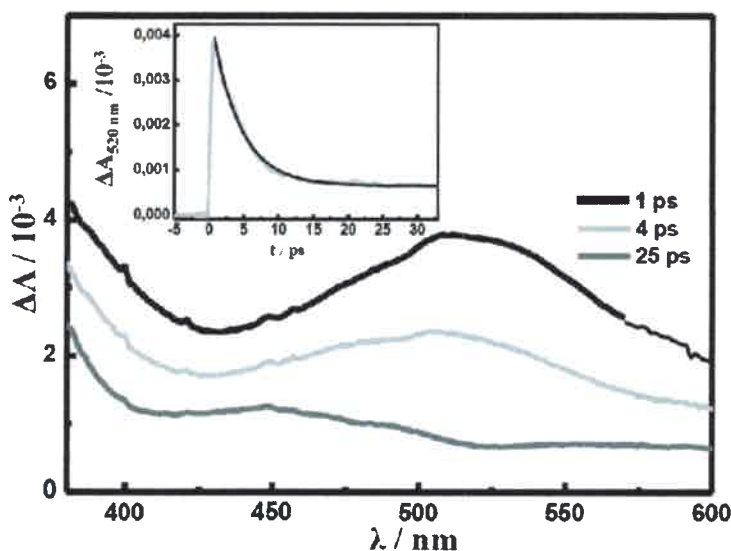


Figura IV-16: Espectro de especies transitorias observado para DBBF en acetonitrilo a diferentes tiempos después de la excitación a 350 nm. *Inserto:* decaimiento de ΔA a 520 nm

Similares resultados fueron obtenidos para DIBF en acetonitrilo. En ese caso, el máximo de absorción se observa a 510 nm y decae con un tiempo de vida de ~ 7 ps. Al igual que para DBBF, a tiempos largos, se observa una banda ancha entre 380-550 nm que persiste más allá de los 25 ps. Nuevamente, la banda de mayor intensidad podría ser asignada al S_1 de la amida.

Como se discutió anteriormente, el dirradical **D** de la DIBF daría lugar a transiciones débiles centradas a 700 nm ($f \sim 0.03$), 400 nm ($f \sim 0.08$), 360-400 nm ($f \sim 0.07$) y 320 nm ($f \sim 0.4$). Ninguna de estas transiciones ha sido claramente observada. Por otro lado, el zwitterion **Z** mostraría una transición débil alrededor de 500 nm ($f \sim 0.06$) y otra a ~ 320 nm ($f \sim 0.7$). Se puede concluir entonces, que si bien la absorción de larga vida podría deberse a **Z**, los datos experimentales no son suficientes para realizar dicha asignación.

IV-1.1.4.2 Pump-Probe IR

Dada la escasa información proporcionada por experimentos de pump-probe UV-visible, se solicitó colaboración al grupo del Dr. Dirk Schwarzer del Abteilung Spektroskopie und Photochemische, Max-Planck Institut für Biophysikalische Chemie, (Alemania), para realizar estudios de estos sistemas usando la técnica de pump-probe IR. Esta técnica es muy similar a la descrita en la sección *Metodología: Materiales y Métodos III-1.2.1.2.2*, con excepción de que el monitoreo (probe) se realiza con radiación infrarroja que cubre el rango espectral de los 3000-400 cm^{-1} . Estudios de este tipo proporcionan información sobre la aparición/desaparición de modos de vibracionales del cromóforo y eventualmente, pueden mostrar la aparición de nuevas absorciones debidas a los fotoproductos. El instrumental utilizado permite investigar la ventana temporal que va desde los pocos ps a los 20 ns; es decir, en una escala bastante más extendida a la explorada con la técnica de pump-probe UV-visible. Al igual que en toda técnica espectroscópica, el solvente puede interferir si muestra una fuerte absorción en el rango de longitudes de onda de interés. Luego, con el fin de hacer compatibles los estudios de distribución de fotoproductos y las experiencias de laser flash fotólisis, descritos con anterioridad, se eligió como solventes de estudio CD_3CN y n-pentano. A diferencia del acetonitrilo, CD_3CN tiene una ventana (alta transmitancia) entre los 1300-1800 cm^{-1} , mientras que el n-pentano es transparente entre 1550-2200 cm^{-1} . Si bien estas ventanas no son óptimas, permiten seguir la evolución de los grupos carbonilos, los cuales se encuentran presentes tanto en las α -oxoamidas como sus fotoproductos más importantes. Así, fue necesario estudiar previamente los espectros IR de amidas y fotoproductos entre 1300-2200 cm^{-1} . Detalles de estos estudios se proporcionaron en la sección *Resultados y Discusión IV-1.1 y IV-1.1.2*.

A continuación se presentan y se discuten los resultados obtenidos.

VI-1.1.4.2.1 Fenilbenzoilformamida (PBF)

Tal cual lo presentado en la sección *Resultados y Discusión IV-1.1.3.1*, la PBF no posee hidrógenos extraíbles por lo que es no-reactiva. Se informó también en esa sección que esta amida no muestra especies transitorias en la escala del μs , lo cual era un resultado inesperado considerando el comportamiento observado para las isatinas.

En la **Figura IV-17** se muestra el espectro de especies transitorias de la PBF en acetonitrilo obtenido 6 ps después del pulso laser. Los cambios de ΔA negativos corresponden al fotoblanqueo de la amida (despoblación del estado fundamental). Puede observarse que todos los modos vibracionales de la amida son afectados, en particular, las absorciones a 1675 y 1694 cm^{-1} que corresponden a los grupos carbonilos de la amida. Los cambios positivos de ΔA se asignan a estados vibracionales “calientes” y solo son observables en los primeros pocos ps del experimento [55].

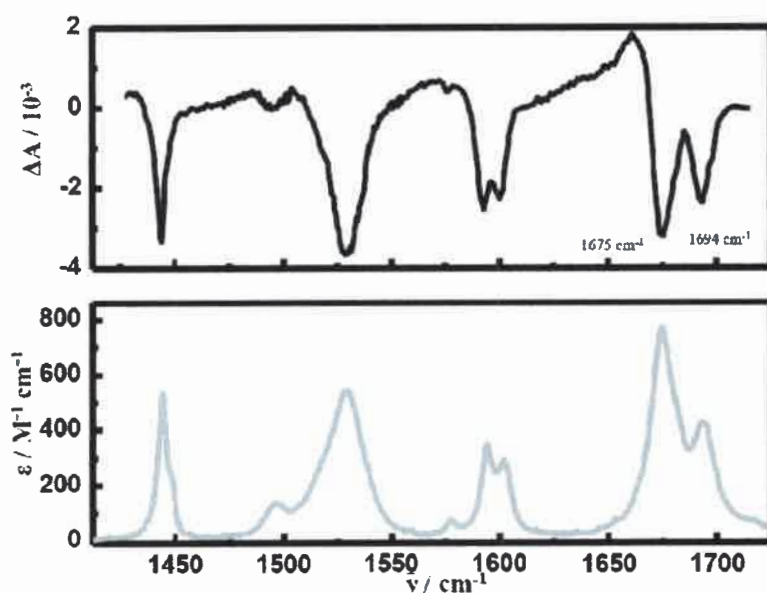


Figura IV-17: *Panel superior:* fotoblanqueo del espectro de absorción de PBF observado a 6 ps después del pulso laser en CD_3CN . *Panel inferior:* espectro IR (espectro estático) de PBF en el mismo solvente.

En la **Figura IV-18**, se muestra la evolución en el tiempo de los ΔA medidos a 1694, 1528 y 1444 cm^{-1} , todos modos vibracionales de la PBF, normalizados (normalizadas al máximo). Como se puede observar, la señal tiende a cero aproximadamente a los 50 ps. Esto indica la total recuperación del estado fundamental de la amida. Las tres curvas pueden ser ajustadas a un decaimiento monoexponencial con un tiempo de vida de ~ 30 ps.

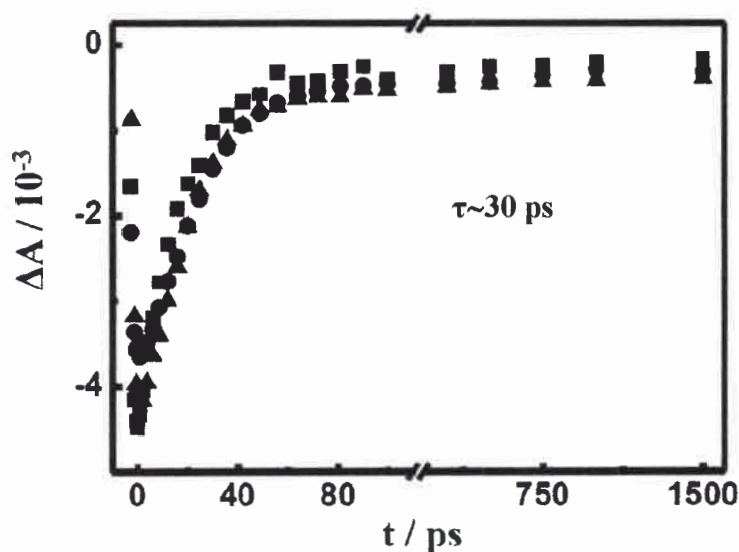


Figura IV-18: Evolución temporal de las absorción de PBF medida a: 1694 (■), 1528 (▲) y 1444 cm^{-1} (●). Las señales fueron normalizadas al máximo de amplitud

Estos resultados permiten explicar la ausencia de especies transitorias en la escala del μs . El S_1 de la PBF es una especie de muy corta vida. Aparentemente S_1 decae rápidamente al estado fundamental vía un proceso no-radiativo que compete favorablemente con la fluorescencia y el cruzamiento entre sistemas.

VI-1.1.4.2.2 Di-isopropilbenzoilformamida (DIBF)

Las experiencias fueron realizadas para la DIBF en CD_3CN y n-pentano.

En la **Figura IV-19**, se muestra el espectro estático de DIBF en n-pentano. Dada las características del solvente solo las absorciones de los grupos carbonilos pueden ser observadas. Al igual que con la PBF, las bandas de absorción de la DIBF se

fotoblanquean tras la excitación. Este fenómeno es máximo inmediatamente después del pulso laser.

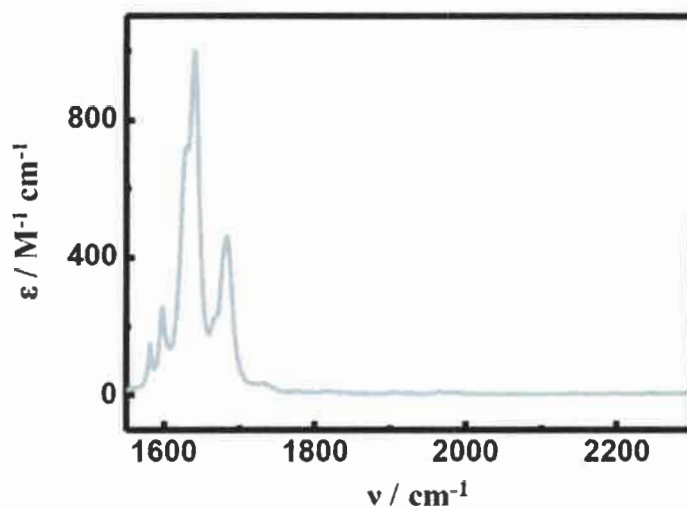


Figura IV-19: Espectro estático de DIBF en n-pentano

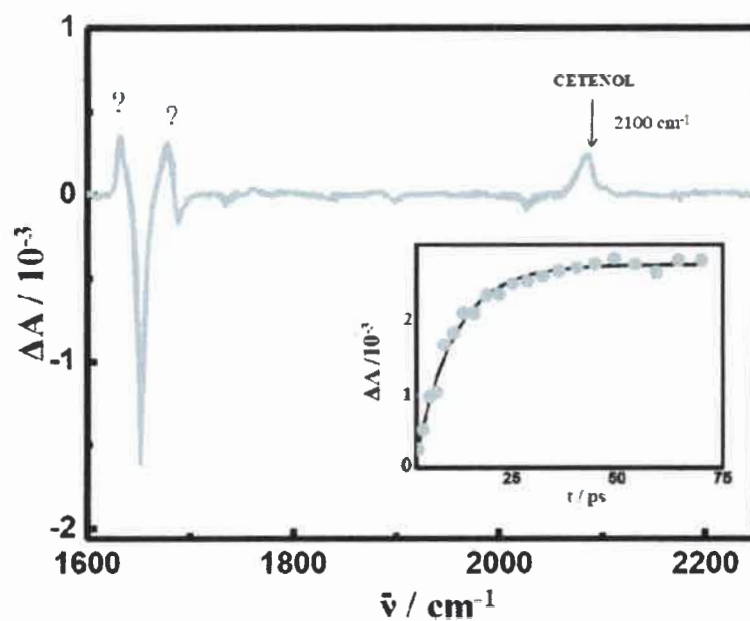


Figura IV-20: Espectro de especies transitorias de DIBF en n-pentano observado a 1500 ps después del pulso de excitación. *Inserto:* perfil para la aparición de cetanol a $\sim 2100 \text{ cm}^{-1}$

La **Figura IV-20** muestra el espectro de especies transitorias obtenido para DIBF en n-pentano a 1500 ps (1.5 ns) después del pulso láser.

Este espectro posee varias peculiaridades a destacar:

a) El espectro no cambia en la escala de tiempo que va de los 20 -12000 ps (12 ns).

b) A diferencia de lo observado para PBF, la absorción de los carbonilos de la amida no se recuperan completamente. Esto demuestra el consumo del reactivo. Más aún, el fotoblanqueo de las bandas parece ser (inexplicablemente) asimétrica. Sugiriendo que en esta zona además del fotoblanqueo de los carbonilos podrían estar apareciendo nuevos productos en la misma zona.

c) Junto al fotoblanqueo de los carbonilos de la amida (1642 y 1689 cm^{-1}), se observa la aparición de nuevas absorciones a ~ 1590 , ~ 1630 , ~ 1680 y $\sim 2090\text{ cm}^{-1}$. Estas absorciones son “permanentes” para la escala de tiempo explorada ($> 10\text{ ns}$).

En la **Figura IV-21**, se muestran los espectros IR estáticos para los posibles fotoproductos de la DIBF en diclorometano. Es importante notar que el espectro del cetanol (C) fue calculado teóricamente por el grupo de colaboradores [30] y que su absorción a $\sim 2100\text{ cm}^{-1}$ fue confirmada en trabajos anteriores [55]. En la sección *Resultados y Discusión IV-1.1.2.2.2*, se mostró que DIFB en n-pentano produce mayoritariamente la oxazolidinona (O), trazas de la β -lactama (A) y productos de eliminación (C+I).

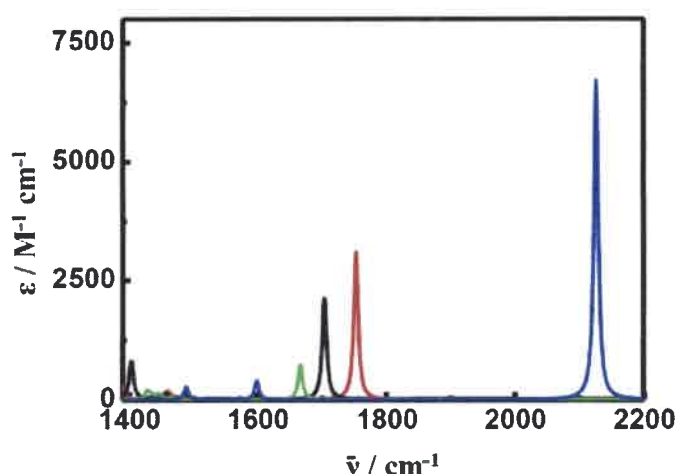


Figura IV-21: Espectro de absorción experimentales de los fotoproductos de la DIBF en el rango de los $1400\text{-}2200\text{ cm}^{-1}$: β -lactama (rojo), oxazolidinona (negro), imina (verde), cetanol (azul). Solvente: diclorometano

Si se procede a la comparación de los espectros mostrados en las **Figuras IV-20 y IV-21**, pueden mencionarse las siguientes observaciones:

a) La clara formación del cetenol (**C**). Este producto de eliminación debería estar acompañado por la aparición de la imina (**I**). Sin embargo, la imina muestra una débil absorción alrededor de los 1668 cm^{-1} , superponiéndose con la de los carbonilos de la amida motivo por el cual no pudieron ser observados en forma independiente. La señal de aparición del cetenol (2100 cm^{-1}) en función del tiempo permite un ajuste de su crecimiento mediante una función monoexponencial obteniéndose un tiempo de vida de $\sim 9\text{ ps}$ (Inserto **Figura IV-20**).

b) El fotoproducto principal (**O**), que absorbe a $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ no fue observado en la escala de tiempo estudiada. Tampoco se observó la lactama (**A**), aunque este compuesto solo representa un producto minoritario.

c) No fue posible hacer una asignación de las nuevas absorciones a ~ 1590 , ~ 1630 y $\sim 1680\text{ cm}^{-1}$. El origen de estas bandas es difícil de explicar. Puede descartarse rotundamente que correspondan a estados vibracionales “calientes” ya que el espectro fue registrado a un tiempo (1500 ps) donde ya ha ocurrido la relajación térmica de todas las especies y del medio ($< 10\text{ ps}$). Lamentablemente, la cinética de aparición / desaparición de las bandas entre $1590\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ resultó ser muy compleja, lo que no permitió que pudiera realizarse un análisis de las mismas, impidiendo identificar estas absorciones.

La **Figura IV-22**, muestra el espectro de especies transitorias obtenido para DIBF en CD_3CN después de 1500 ps de la excitación. Las bandas pertenecientes a la amida son indicadas con un asterisco. Nuevamente el espectro transitorio se define prontamente ($< 50\text{ ps}$) y se mantiene invariante más allá de los 25 ns . Haciendo un análisis comparativo de las **Figuras IV-21 y IV-22**, puede concluirse que ninguno de los fotoproductos se forma en la escala de tiempo estudiada ($0\text{-}25\text{ ns}$). Esto resulta muy interesante, ya que la oxazolidinona (**O**), la que representa más del 90% de los productos, no es observada a 1700 y 1400 cm^{-1} , donde debería mostrar absorciones importantes.

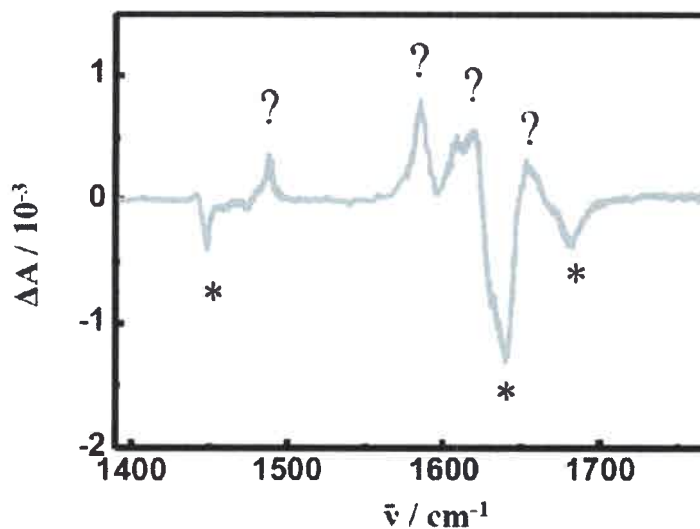


Figura IV-22: Espectro de especies transitorias medido para DIBF en CD_3CN 1500 ps después del flash. Las absorciones indicadas con un asterisco pertenecen a la DIBF, mientras que la indicadas con un signo de interrogación pertenece al **Z** de la amida

En base a las observaciones realizadas en los espectros, puede concluirse que los cambios positivos de ΔA observados tanto en CD_3CN como en *n*-pentano, deben pertenecer a un intermediario de reacción de larga vida que da origen a la **O** y quizás también, a los otros fotoproductos.

Así, teniendo en cuenta los resultados de LFF (sección *Resultados y Discusión IV-1.1.3.3*) para DIBF en acetonitrilo y *n*-pentano que indicaban la presencia de **Z** en estos medios en la escala de los μs , se procedió mediante cálculos teóricos a calcular el espectro vibracional de **Z** en diclorometano (un solvente de polaridad intermedia entre los solventes estudiados). Los resultados se muestran en la **Figura IV-23**. Como puede observarse, el **Z** de DIBF posee absorciones importantes alrededor de 1480, 1558, 1590 y 1635 cm^{-1} ; aproximadamente a las mismas frecuencias observadas en la **Figura IV-22**. Luego, se concluye que las señales de ΔA positivas corresponden al espectro de **Z**.

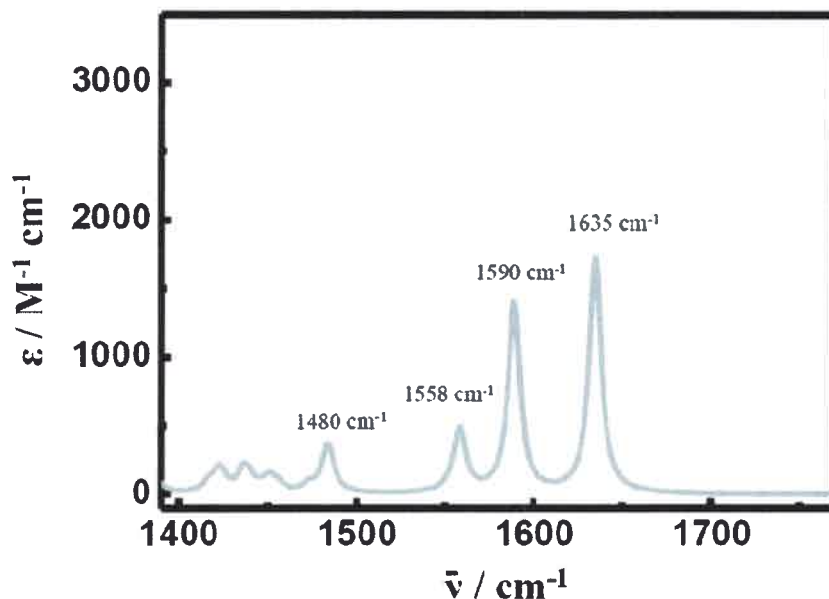


Figura IV-23: Espectro IR calculado para el **Z** de DIBF en diclorometano

Finalmente, se intentó estudiar la cinética de formación de **Z** y la repoblación del estado fundamental de la amida. Lamentablemente, el espectro de **Z** y DIBF se superponen a todas las longitudes de onda, haciendo imposible separar las contribuciones individuales de cada especie y dando lugar a perfiles cinéticos muy complejos.

IV-1.1.4.2.3 Di-bencilbenzoilformamida (DBBF)

En la **Figura IV-24** se muestra el espectro de especies transitorias para DBBF en n-pentano, 1500 ps después del pulso láser. Como puede observarse, el fotoblanqueo de los carbonilos de la amida (1656 y 1685 cm^{-1}) es acompañado por la aparición de dos nuevas absorciones a 1776 y 2093 cm^{-1} . Sin embargo, a diferencia de lo observado para DIBF no se observan nuevas transiciones alrededor de 1550 - 1700 cm^{-1} . Esto indicaría que el **Z** de DBBF no se forma en este solvente. Cabe recordar que los experimentos de LFF para esta DBBF en n-pentano no muestran tampoco la formación de una especie transitoria en la escala de los μs , lo cual es consistente con lo aquí observado.

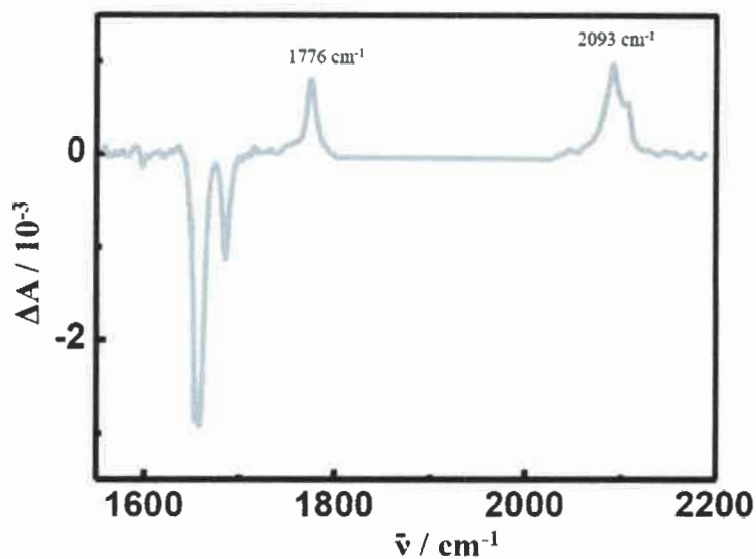


Figura IV-24: Espectro de especies transitorias mediadas para DBBF en n-pentano 1500 ps después del pulso

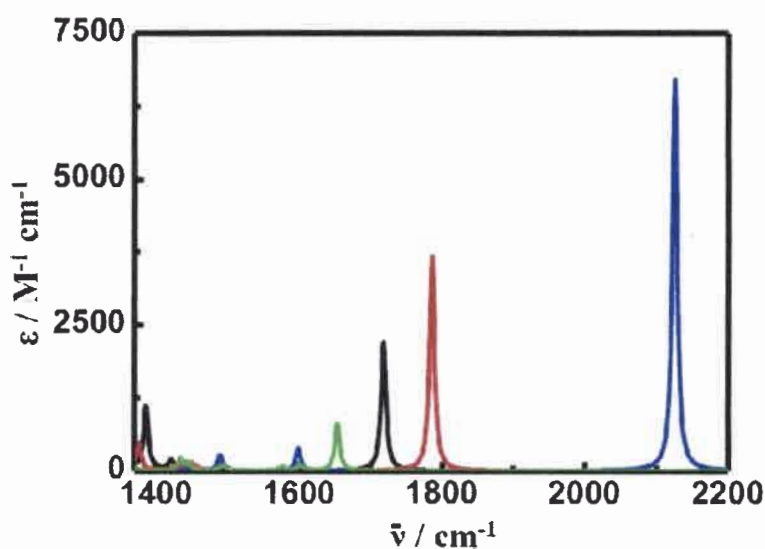


Figura IV-25: Espectro de absorción experimentales de los fotoproductos de la DBBF en el rango de los 1400-2200 cm^{-1} : β -lactama (**rojo**), oxazolidinona (**negro**), imina (**verde**), cetenol (**azul**). Solvente: diclorometano

En la **Figura IV-25**, se muestran los espectros IR (estáticos) obtenidos para los fotoproductos de la DBBF en diclorometano. La comparación entre las Figuras **IV-24** y **IV-25** permite concluir que los fotoproductos formados son la β -lactama (**A**) y el cetanol (**C**). Este resultado está en pleno acuerdo con la distribución de fotoproductos hallada para DBBF en este solvente (sección *Resultados y Discusión IV-1.1.2.2.1*). Las cinéticas de aparición obtenidas para **A** y **C** son de primer orden y, dentro del error experimental, los perfiles pueden ser ajustados a un crecimiento monoexponencial con un tiempo de vida de ~ 11 ps. Los carbonilos de la amida se recuperan (repueblan el estado fundamental) en un tiempo muy corto, ~ 2 ps, lo que se halla en el límite de detección del instrumental utilizado.

Finalmente, la **Figura IV-26** muestra los resultados obtenidos en CD_3CN a 1500 ps después de la excitación. Como puede observarse, el único producto detectable, y con muy bajo rendimiento, es la β -lactama (**A**). Por comparación con el espectro calculado para el **Z** de DBBF, los restante ΔA positivos entre $1450\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ son asignados a esta especie iónica.

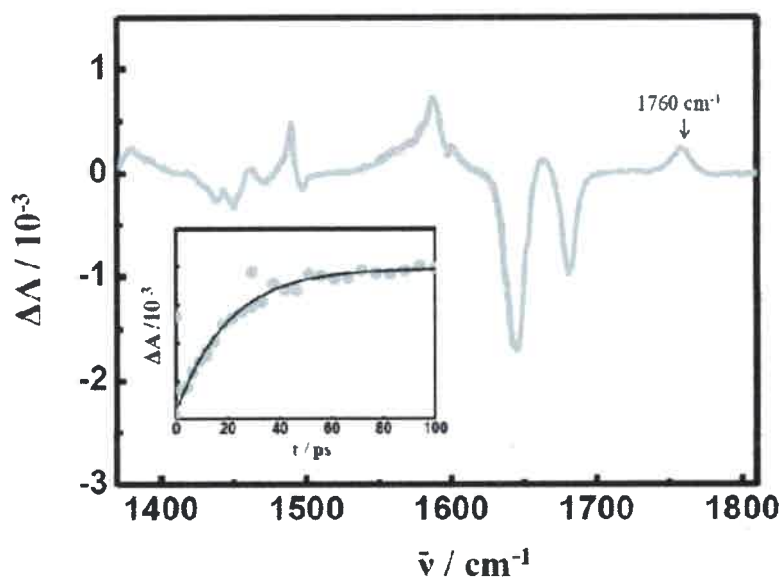


Figura IV-26: Especies transitorias de DBBF observadas 1500 ps después del pulso de excitación. Solvente: CD_3CN . *Inserto:* perfil para la aparición de la β -lactama (**A**) medida a $\sim 1760\text{ cm}^{-1}$

Es interesante mencionar que los carbonilos de la DBBF se recuperan con un tiempo de vida del orden de los ~ 8 ps, mientras que una muy pequeña fracción de **A** aparece con un tiempo de vida ~ 20 ps. Recordando que en este solvente DBBF produce aproximadamente 70 % de **A** y 20 % **O**, se puede concluir que **Z** debe ser el intermediario que produce **O** y también la mayor parte de la β -lactama (**A**).

IV-1.2 Resumen y Conclusiones

A partir de los estudios de efecto de solvente sobre la distribución de fotoproductos, las experiencias de LFF, pump-probe y el uso de los espectros obtenidos por cálculos teóricos, puede arribarse a interesantes conclusiones sobre la fotoquímica de las α -oxoamidas estudiadas y sobre mecanismo de reacción en general, las cuales se detallan a continuación.

IV-1.2.1 PBF

Esta amida no-reactiva muestra una cinética de decaimiento rápido; el estado singlete tiene un tiempo de vida del orden de los 30 ps. Aparentemente, la PBF cuenta con un proceso de desactivación no-radiativo que compite favorablemente con el cruzamiento entre sistemas y la fluorescencia. Para esta amida no se observó emisión por medidas ultrarrápidas ni tampoco pudieron ser observadas especies transitorias en la escala del μ s. Este mismo proceso no-radiativo debería existir también para las oxoamidas reactivas, lo que deja una angosta ventana de tiempo para que se produzca la transferencia del H, etapa inicial de la fotoreacción.

IV-1.2.2 DBBF

El análisis de los productos de fotólisis para esta amida produce la β -lactama (**A**) como fotoproducto mayoritario en n-pentano y acetonitrilo. Sin embargo, en el solvente polar la oxazolidinona (**O**) se forma con un rendimiento de aproximadamente el 20 %.

Los experimentos de LFF permitieron detectar el ZH^+ y **Z** de DBBF en acetonitrilo en ausencia y en presencia de ácido sulfúrico, y poner cotas a sus tiempos de vida. La asignación de los espectros de ZH^+ y **Z** fue realizada por comparación con los espectros calculados teóricamente. El intermediario **Z** es más reactivo que ZH^+ . Los estudios de

pump-probe UV-vis muestran la formación de una especie de vida muy corta (~ 4 ps) que no puede ser asignada a **D** o **Z**, por lo que se asume que corresponde al estado singlete excitado (S_1) de la amida. En el mismo solvente, la técnica de pump-probe IR muestra que el estado fundamental (S_0) se repuebla con un tiempo de vida asociado de ~ 8 ps, lo que sugiere que S_0 podría estar formándose a partir de ambos S_1 y **D**. En el mismo experimento se demostró que una pequeña fracción de la β -lactama (**A**) es producida dentro de los primeros 20 ps. En esta misma ventana de tiempo se produce **Z**. En base a estas observaciones puede concluirse que el **D** debería ser el intermediario común para la formación de ambas especies (**A** y **Z**). El espectro de **Z** se mantiene invariante en la escala de los 25 ns, lo que está en pleno acuerdo con los resultados de LFF, donde se estimó un tiempo de vida para esta especie del orden de los 6 μ s. En la misma escala (25 ns) no se observa la formación de **A** (producto mayoritario) ni de **O**, implicando que ambos productos provienen del **Z** y se aparecen en una escala de tiempo mucho más larga (μ s). Es interesante notar que los resultados están de acuerdo también con el esquema de energía libre relativas calculado para los diversos intermediarios de reacción discutidos en la sección *Antecedentes I-1.2, Esquema I-9*. En acetonitrilo, una vez formada **D**, este dirradical puede transformarse en **A**, **C+I** o **Z**. La formación de los dos primeros productos poseen energías de activación de ~ 5 kcal/mol; mientras que la formación de **Z** a partir de **D** es un proceso con una escasa barrera (~ 1 kcal/mol). **Z**, es el intermediario más estable y puede evolucionar para dar **A** o **C+I**, pasando por ETs de similar energía (~ 11 kcal/mol); o la oxazolidinona (**O**) superando una barrera de casi 20 kcal/mol. Aunque el solvente (acetonitrilo) es un pobre aceptor de H^+ , su gran concentración en solución (~ 12 M) podría estar catalizando las diferentes etapas para la transformación $Z \rightarrow O_{xe} \rightarrow O$. Trazas de agua en el medio podrían producir un efecto similar.

La fotoquímica de DBBF en n-pentano es diferente a la observada en el solvente polar, aunque la β -lactama sigue siendo el fotoproducto mayoritario. Ambas técnicas resueltas en el tiempo (LFF y Pump-Probe) indican que el **Z** de DBBF no se forma en n-pentano. Más aún, la β -lactama (**A**) y los productos de eliminación (**C**), son producidos en la escala de los ps (20 ps) sugiriendo fuertemente que provienen directamente de **D**. Asimismo, la ausencia de **O** como fotoproducto es clave. Si bien el esquema de energías

mostrado en el **Esquema I-9** no fue calculado para este solvente, es razonable suponer que un medio no-polar disminuya (o invierta) la diferencia de energía entre **D** y la especie cargada **Z**. Esto desfavorecería la formación de **Z**, dejando habilitadas únicamente las otras (dos) vías de reacción de **D**; es decir, la formación de **A** y los productos de eliminación.

IV-1.2.3 DIBF

La principal característica de esta amida es que produce mayoritariamente la oxazolidinona (**O**) en ambos medios. Los experimentos de LFF y Pump-Probe muestran (en ambos solventes) la formación del intermediario **Z**. En los experimentos de Pump-Probe **Z** sobrevive en la escala de los 25 ns. Este resultado es consistente con lo encontrado por LFF, donde se observa que **Z** vive $> 50 \mu\text{s}$.

En el solvente polar, acetonitrilo, aparentemente el dirradical (**D**) se transforma rápidamente en **Z**, para dar mayoritariamente **O**, y en menor escala, en **A** y **C+I**. Mientras que en n-pentano se observa una pequeña fracción del cetanol (**C**) que aparece a los pocos ps después de la excitación ($< 20 \text{ ps}$).

Nuevamente, estos resultados pueden interpretarse a partir de los mecanismos propuestos y del esquema de energía libre relativa obtenidos por cálculos para los intermediarios del fotoproceso. Para la DIBF, **D** no es una especie estable y rápidamente decaería para formar **A**, **C+I** y **Z**. Como se discutió en la sección *Antecedentes I-1.2*, la posibilidad de que **D** alcance la geometría de los ETs para dar lugar a la formación de **A**, los productos de eliminación o **Z**, dependerá de la geometría instantánea del dirradical “recién nacido” y de su dinámica nuclear. Claramente, puede considerarse que **Z** es el intermediario de menor energía en un solvente polar como acetonitrilo y a partir de su formación se generan los tres tipos de fotoproductos observados en este solvente. Para ello, se requiere asumir que el solvente se comporta como un modesto aceptor de H^+ , facilitando el proceso $\text{Z} \rightarrow \text{O}$. El hecho de que **O** siga siendo el fotoproducto mayoritario en n-pentano indica que **Z** sigue siendo el intermediario más estable en este medio. La desestabilización de **Z** en el medio no-polar se pone en evidencia con la aparición de **C** en la escala de los ps, pero esta desestabilización no parece ser determinante como para cambiar el mecanismo global de la fotoreacción.

**Efectos electrostáticos sobre la
fotoreactividad de las α -Oxoamida**

IV-2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV-2.1 α -oxoamida: 1-aza-18-corona-benzoilformamida (ACBF)

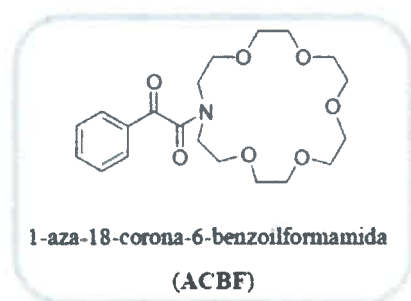
Como se discutió en la sección *Antecedentes*, el mecanismo de fotorreacción de las α -oxoamidas fue evolucionando durante más de tres décadas para proveer interpretación a nuevas (y variadas) observaciones experimentales. Por ejemplo, para explicar que la reacción ocurriera exclusivamente desde el singlete excitado de las amidas, Whitten y col. [12] propusieron que tras la excitación de las α -oxoamidas el intermediario dirradicalario (**D**) podría formarse a través de dos mecanismos: a) por simple abstracción de un H en un proceso similar a la reacción *Norrish Tipo II* o, b) vía un proceso en dos etapas: una transferencia de electrones fotoinducida (eT) para formar la especie zwitteriónica (**Z**₁) seguida de una transferencia de un H⁺ para generar el **D**. El segundo mecanismo involucra la transferencia de un electrón, por lo que el proceso debería ser afectado (retardado o acelerado) introduciendo en el sistema interacciones electrostáticas.

Se describe en esta sección el estudio de la fotofísica/fotoquímica de la 1-aza-18-corona-6-benzoilformamida (ACBF), amida que incluye en su estructura un éter corona capaz de acomplejar iones metálicos. Nuestra hipótesis de trabajo asume que de ser el segundo mecanismo (b) operativo, la estabilidad y cinética de formación de **Z**₁ debería cambiar significativamente por complejación, afectando directamente la fotoquímica de la amida cíclica.

IV-2.1.1 Síntesis de ACBF

Esta amida fue sintetizada a partir del ácido benzoilfórmico y 1-aza-18-corona-6, usando una metodología similar a la descrita previamente informada en el apartado *Resultados y Discusión IV-1.1.1.2*. Cabe aclarar que para la obtención de ACBF se utilizó un equivalente de la amina cíclica (0,75 gr; 2,85 mmol) y un equivalente de triisopropilamina (TIPA) como base no nucleofílica. La amida obtenida fue purificada por cromatografía en columna empleando sílica como soporte y acetato de etilo/metanol 10:1 v/v como eluyente.

Se detalla a continuación la caracterización espectroscópica de ACBF por diferentes técnicas.

*1-aza-18-corona-6-benzoilformamida (ACBF)*

Rendimiento 20%. Aceite ligeramente amarillo.

RMN ^1H (CDCl_3): δ / ppm a 3.65 (m, 24 H, $-\text{CH}_2-$ del éter corona), 7.4 (s, 3H, aromático, $J= 7.8$ Hz), 7.65 (m, 1H, aromático, $J= 7.8, 1.28, 0.6, 2.02$ Hz), 7.9 (d, 1H, aromático, $J= 2.02, 0.6, 1.28$)

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ / ppm a 48.6, 69.7, 71.3 ($-\text{CH}_2-$, alifáticos, éter corona); 129, 130.6, 133.6 y 134.9 ($\text{C}=\text{C}$, aromáticos) y a 168 y 191.7 ($\text{C}=\text{O}$).

Masa calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_7$: 395 (m/z, %) a 395 [M^+] y 290, 262, 105, 77.

Infrarrojo: ($\text{C}=\text{O}$) N, 1635 cm^{-1} .

UV-Visible (MeCN): $\epsilon_{250\text{ nm}} = 14800 \pm 160$ y $\epsilon_{350\text{ nm}} = 220 \pm 10\text{ cm}^{-1}\text{ M}^{-1}$.

TLC, $R_f(\text{ACBF})$: 0,7 soporte: silica gel y eluyente: metanol/acetato de etilo 1:10 v/v.

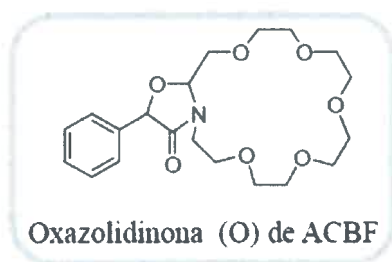
IV-2.1.2 Fotoproductos de ACBF

Para la obtención de los fotoproductos de la ACBF, se fotolizaron 500 ml de una solución $5,06 \times 10^{-3}\text{ M}$ (1 gr) de ACBF en acetonitrilo en un reactor circular con 3 lámparas a $\lambda > 300\text{ nm}$ (con agitación mecánica permanente) por 24 hs. La solución de la amida fue desoxigenada previamente por burbujeo con nitrógeno por 30 min. El progreso de fotólisis fue seguido monitoreando la desaparición de la banda de absorción de la amida a 350 nm, ya que los fotoproductos no absorben a esta longitud de onda.

La **Figura IV-27** corresponde a una cromatografía en capa fina (TLC) con la mejor separación obtenida para los fotoproductos de ACBF (soporte: alúmina neutra; eluyente: acetato de etilo/metanol 80/20 v/v). Como puede observarse, se observan al menos cuatro fotoproductos con tiempos de retención (R_f): 1: 0,83; 2: 0,7; 3: 0,5 y 4: 0,17, respectivamente. Se intentaron diferentes estrategias para tratar de lograr mejores condiciones de separación. Para lo que se utilizaron mezclas de diversos solventes, distintos soportes (sílica, alúmina básica, etc.), no obteniéndose mejoras sustanciales. De los cuatro fotoproductos solo pudieron aislarse la oxazolidinona (**O**) y la β -lactama (**A**). Se detalla a continuación la caracterización espectroscópica de los productos de la ACBF por diferentes técnicas.



Figura IV-27: TLC de fotoproductos de ACBF en soporte de alúmina neutra, eluyente: acetato de etilo/metanol 80/20 v/v revelado en atmósfera de yodo. R_F: 1: 0,83; 2: 0,7; 3: 0,5 y 4: 0,17



Oxazolidinona (O) de ACBF

Aceite amarillo.

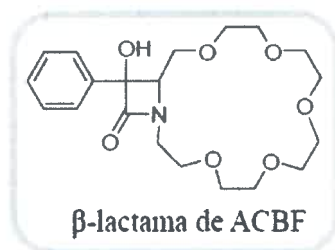
RMN ¹H (CDCl₃): δ/ ppm a 3.32-3.88 (m, 22 H, -CH₂- del éter corona), 5.07 (s, 1H, C5) 5.27 y 5.20 (doblete de tripletes que suman ~1H, C2) para *cis*- y

trans-O, respectivamente, y 7.2 (m, 5 H, aromático).

Infrarrojo: (C=O) N, 1637 cm⁻¹.

Masa calculada para C₂₀H₂₉O₇N: 395 (m/z, %): 395 [M⁺], 149, 133, 105, 70 y 45.

UV-Visible (metanol) λ_{máx}~259 nm.



β-lactama (A) de ACBF

Aceite amarillo.

RMN ¹H (CDCl₃): δ/ ppm 3.32-3.71 (m, 22 H, -CH₂- del éter corona), 3.92-3.98 (doblete de tripletes que suman ~1H, C4) para *trans*- y *cis*- A, respectivamente,

y 7.2 (m, 5 H, aromático).

Infrarrojo: (C=O) N, 1640 cm⁻¹.

Masa calculada para C₂₀H₂₉O₇N: 395 (m/z, %): 395 [M⁺], 118, 90 y 45.

UV-Visible (metanol) λ_{máx}~261 nm.

IV-2.1.3 Caracterización espectroscópica de ACBF

La ACBF sintetizada fue estudiada inicialmente por espectroscopia de absorción. En la **Figura IV-28** y **IV-29** pueden observarse los espectros de la 1-aza-18-corona-6-benzoilformamida (ACBF) en acetonitrilo a 25 °C. El primero de ellos muestra el espectro completo y el segundo una escala ampliada de la banda a menor energía. En el inserto de ambas figuras se muestran los respectivos gráficos de Lambert-Beer [56] construidos para la determinación de los coeficientes de absorción molar (ϵ) a 250 nm y 350 nm. El ϵ_{250} es del orden de los $14800 \pm 200 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ y se corresponde con lo reportado para a una transición $\pi-\pi^*$ y el ϵ_{350} es del orden de $220 \pm 10 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ y está dentro de los valores encontrados para transiciones $n-\pi^*$ [57,58]. Se realizaron también experimentos de emisión para ACBF. Pudo observarse la existencia de una muy débil fluorescencia entre 400-600 nm, indistinguible del ruido experimental. Esto permite acotar el rendimiento cuántico de fluorescencia de esta amida a un valor $< 1 \times 10^{-6}$. Resultados similares ya habían sido reportados para otras α -oxoamidas [12].

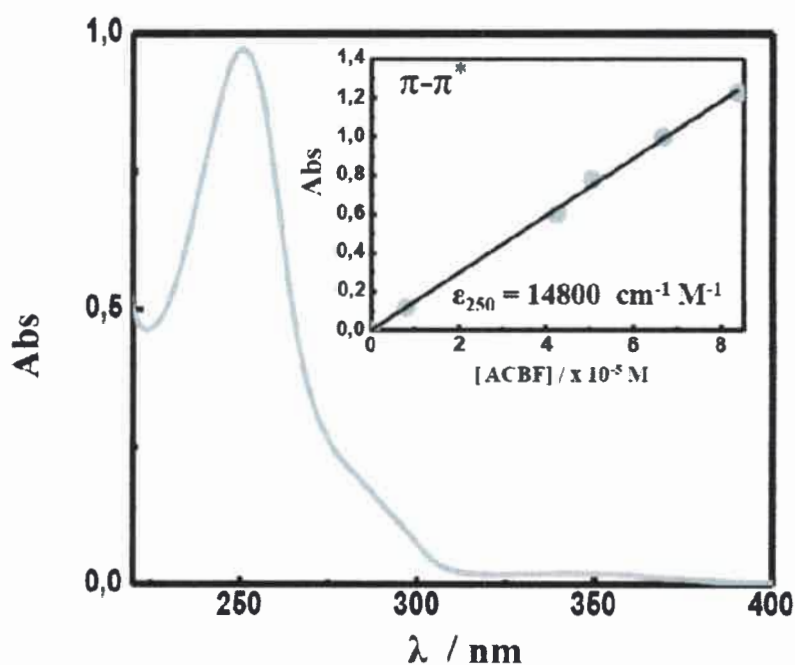


Figura IV-28: Espectro de absorción de ACBF a $7 \times 10^{-5} \text{ M}$. *Inserto:* Gráfico de Lambert-Beer para ACBF en acetonitrilo a 250 nm en acetonitrilo con celda de paso óptico de 1 cm a 25 °C. $[\text{ACBF}] = 8 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5} \text{ M}$

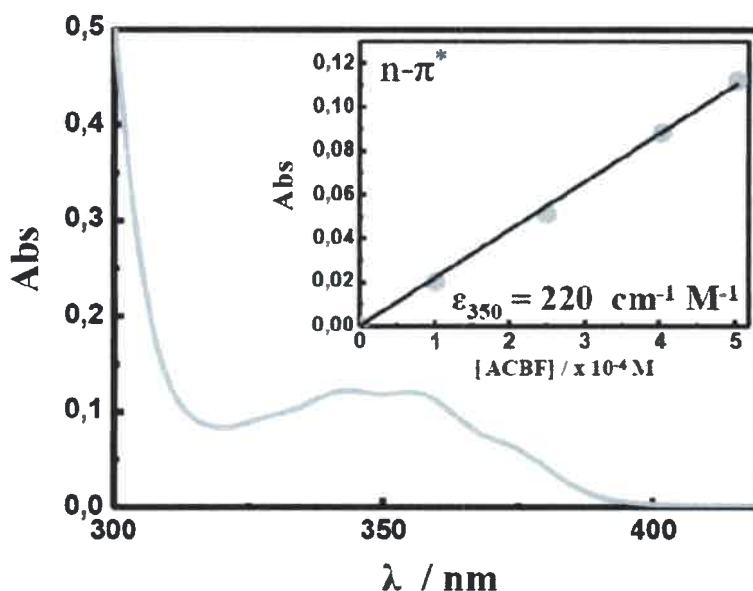


Figura IV-29: Espectro de absorción de ACBF a 4×10^{-4} M en acetonitrilo a 25 °C. *Inserto:* Gráfico de Lambert-Beer para ACBF en acetonitrilo a 350 nm en acetonitrilo con celda de paso óptico de 1 cm a 25 °C. $[ACBF] = 1 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-4}$ M

En las **Figuras IV-30** y **IV-31** se muestran los cromatogramas (HPLC) de ACBF sin fotolizar en acetonitrilo y ACBF fotolizada al 100 % (completa desaparición de la banda de 350 nm) en el mismo solvente. Como se observa en la **Figura IV-30** la amida sin fotolizar muestra un solo pico a ~18,9 min. Tras la fotólisis de la amida se detectan claramente al menos tres nuevos fotoproductos con tiempos de retención de 14,58; 15,29 y 16,36 min. Los espectros de absorción de todos los picos muestran máximos ~257-260 nm, típico de transiciones π - π^* aromáticas. Los picos numerados como 1 y 2 pertenecen a los diastereoisómeros (*cis* y *trans*) de la β -lactama de ACBF. El pico 3 pertenece a los diastereoisómeros de la oxazolidinona (**O**) los cuales no se separan en las condiciones cromatográficas utilizadas. La asignación fue realizada por co-inyección de los fotoproductos (previamente aislados) y la muestra fotolizada. Usando el método de adición estándar y considerando la completa desaparición de la ACBF, fue posible estimar rendimientos de **A** y **O** del ~38 y ~57 %, respectivamente, **Esquema IV-10**.

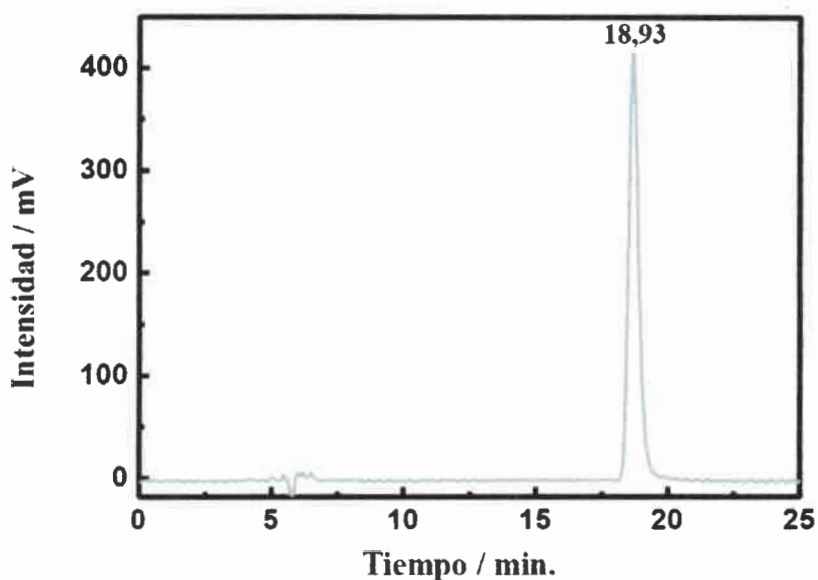


Figura IV-30: Cromatograma de ACBF sin fotolizar, t_R : 18,9 min. La detección se realizó a 220 nm, con fase móvil MeHO/H₂O 50:50 v/v, en fase reversa a 25 °C

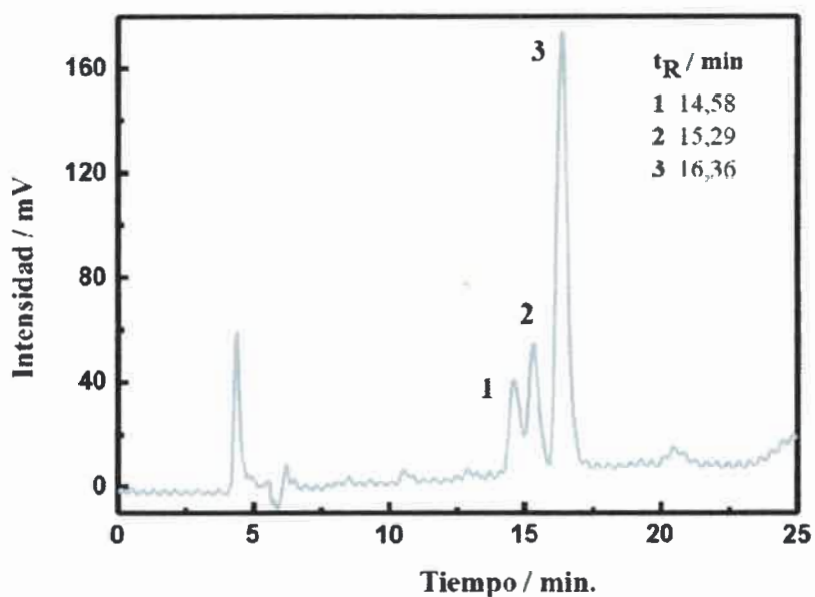
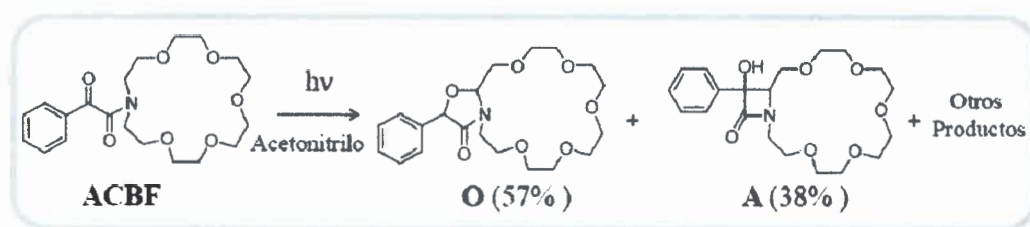


Figura IV-31: Cromatograma de ACBF fotolizada en acetonitrilo al ~100%. t_R : 14,58 (1); 15,29 (2) y 16,36 (3) min. La detección se realizó a 220 nm. Fase móvil MeHO/H₂O 50:50 v/v, en fase reversa a 25 °C



Esquema IV-10: Distribución de fotoproductos de ACBF en acetonitrilo

IV-2.1.4 Caracterización de ACBF y ACBF-Me⁺ⁿ

IV-2.1.4.1 Complejación de ACBF con metales mono y divalentes

Los éteres de corona son macrociclos constituidos por varias unidades de óxido de etileno (-CH₂CH₂O-) [59]. Una de las propiedades más importante de estos éteres es la habilidad de acomplejar metales y especies orgánicas neutras o iónicas, propiedad por la cual han sido objeto de numerosos estudios [60]. Dependiendo del tamaño y denticidad (cantidad de átomos de oxígeno que forman la corona), el éter puede tener mayor o menor afinidad por una determinada especie o catión. La polaridad del medio puede también influir en la capacidad de unión [61].

En las **Figura IV-32** y **IV-33** se muestran los espectros de absorción de ACBF en acetonitrilo a 25 °C en ausencia y presencia de cationes metálicos (Me⁺ⁿ) monovalentes y divalentes, respectivamente. Para realizar estos estudios, se prepararon soluciones de ACBF de diferentes concentraciones de manera tal de poder seguir los cambios en las transiciones $\pi\text{-}\pi^*$ (ACBF $\sim 6,67 \times 10^{-5}$ M) y $n\text{-}\pi^*$ (ACBF $\sim 5 \times 10^{-4}$ M). Las sales utilizadas fueron los percloratos de Li⁺, Na⁺, Mg⁺², Ca⁺² y Ba⁺², a una concentración de 2×10^{-2} M. Por problemas de solubilidad, la concentración de los percloratos de K⁺ y Cs⁺ se hicieron $1,3 \times 10^{-2}$ M.

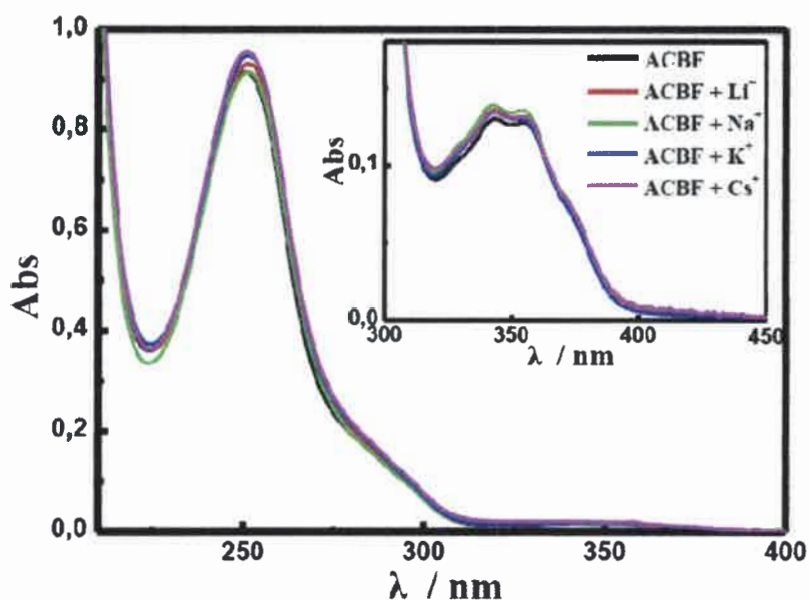


Figura IV-32: Espectros de absorción de ACBF en acetonitrilo, en ausencia y presencia de iones: Li^+ , Na^+ , K^+ y Cs^+ , observando las transiciones $\pi-\pi^*$ (250 nm) y $n-\pi^*$ (350 nm) *inserto*. $[\text{ACBF}] = 6,67 \times 10^{-5} \text{ M}$ (250 nm) y $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ (350 nm), $[\text{Me}^{\text{tn}}] = 2 \times 10^{-2} \text{ M}$ para Li^+ y Na^+ y $1,3 \times 10^{-2} \text{ M}$ para K^+ y Cs^+ a 25°C

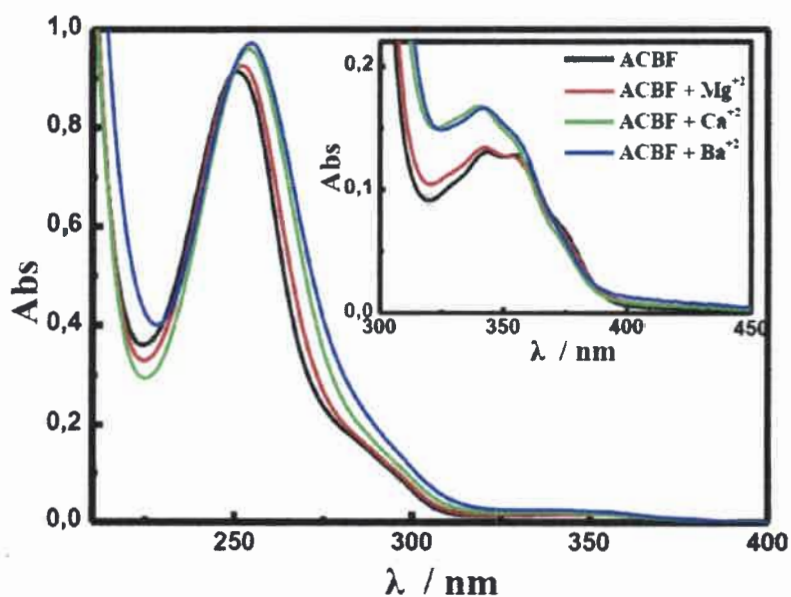


Figura IV-33: Espectros de absorción de ACBF en acetonitrilo, en ausencia y presencia de iones: Mg^{+2} , Ca^{+2} y Ba^{+2} , observando las transiciones $\pi-\pi^*$ (250 nm) y $n-\pi^*$ (350 nm)

nm) inserto. [ACBF]= $6,67 \times 10^{-5}$ M (250 nm) y 5×10^{-4} M (350 nm), $[Me^{+n}] = 2 \times 10^{-2}$ M a 25 °C

Como puede concluirse de las figuras anteriores, en presencia de los metales el espectro muestra un ligero incremento de la absorción (efecto hiperacrómico) a todas las longitudes de onda. Se observa también un corrimiento batocrómico (a menor energía) para la transición $\pi-\pi^*$, mientras que la transición $n-\pi^*$ muestra el efecto contrario (corrimiento hipsocrómico). Claramente, el mayor efecto es producido por los iones Ca^{+2} y Ba^{+2} . Los cambios observados son atribuidos a la formación de complejos entre la ACBF y los cationes metálicos. Aparentemente, la presencia de los metales afecta los niveles energéticos de los orbitales moleculares (MO) de la α -oxoamida, produciendo los corrimientos observados de las bandas absorción y cambios en las probabilidades de transición (*f*).

En el proceso de complejación de la ACBF, los electrones de no-unión del N (que forman parte del éter corona) deberían interactuar con los metales afectando la capacidad reductora del grupo amida. A fin de probar esta hipótesis se realizaron experimentos de voltametría cíclica (VC) para la DIBF. Los resultados se muestran en la **Figura IV-34**. Cabe acotar que el experimento no puede realizarse directamente con ACBF ya que esta técnica electroquímica requiere el uso de un electrolito soporte (típicamente: $NaClO_3$, Bu_4NClO_3 , etc) capaz de interactuar con el éter cíclico de la amida. De todas maneras, como puede concluirse de la **Figura IV-34**, los experimentos no proporcionan información decisiva. La DIBF se oxida a potenciales similares a los observados para la descarga del solvente (acetonitrilo). ACBF debería mostrar un comportamiento similar a DIBF y tras complejación, su potencial de oxidación correrse a valores aun más anódicos, potencial imposible de medir en el solvente de interés. De todas maneras, la difícil oxidación observada para la DIBF explica el pobre cambio observado en los espectros de absorción de ACBF tras complejación. Aparentemente, el par de electrones de no-unión del N se hallan comprometidos en el enlace amida y participan escasamente en el proceso de quelación de los metales. Los resultados indican claramente que los únicos cationes que son capaces de producir una perturbación importante del cromóforo son Ca^{+2} y Ba^{+2} .

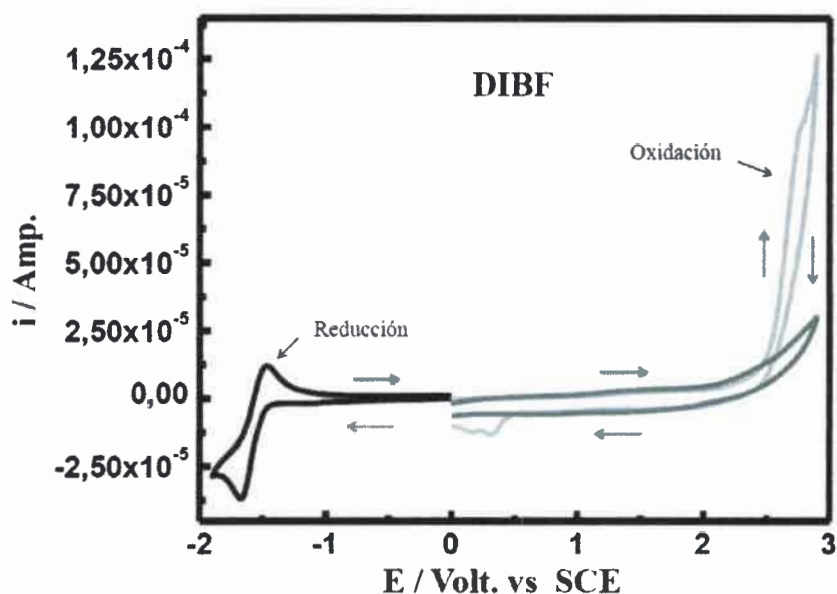


Figura IV-34: Voltagrama cíclico (CV) para DIBF en acetonitrilo, **negro:** reducción de la DIBF; **gris:** ventana electroquímica del solvente, MeCN; **gris:** oxidación de la DIBF. Electrolito soporte : NaClO_4 1×10^{-3} M

IV-2.1.4.1.1 Determinación de la constante de complejación de ACBF-iones metálicos por espectroscopia de absorción

Se conoce que la unión entre los iones de metales alcalinos con los éteres corona se dan por interacciones del tipo no enlazantes [62,63,64,65]. La capacidad de unión depende del tamaño de la cavidad de la corona del éter corona, del tamaño del catión y de la relación radio/carga del mismo [66,67,68]. Las propiedades del solvente también pueden jugar un rol fundamental en la complejación. El proceso de complejación entre un ión metálico (Me^{+n}) y el éter 18-corona-6 en solución se ilustra en la **Figura IV-35**. A fines de simplificar el concepto, el proceso se representa en dos dimensiones, en ausencia de solvente, omitiéndose los arreglos conformacionales del éter y la esfera de solvatación del catión.

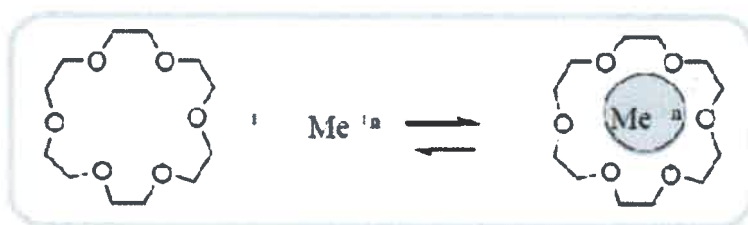


Figura IV-35: Representación esquemática simplificada para la formación del complejo entre 18-corona-6 y un ion metálico (Me^{+n})

Se conoce que el diámetro de la cavidad del 18-corona-6 se encuentra entre 2,6-3,2 Å [69], permitiendo de esta manera formar complejos con iones cuyos radios iónicos se encuentren dentro de este rango. Este éter corona ha sido extensamente estudiado y estructuralmente solo difiere del anillo de la ACBF en que un N sustituye a un O. Esta similitud estructural resulta de interés para comparación.

Generalmente la formación del complejo es detectada por cambios en alguna propiedad del sistema. Existen diversos métodos para estudiar la interacción éter corona/catión y calcular el valor de la constante de complejación; entre ellos: calorimetría [70], conductimetría [71], potenciometría [72], RMN [73], espectroscopia de masa [74], HPLC [75] y espectroscopias de absorción o fluorescencia [76].

La selectividad de un ligando por un ión metálico se ve reflejado en el valor de su constante de asociación o complejación (K) [77].

En esta Tesis, el proceso de complejación se estudió siguiendo los cambios en el espectro de absorción de ACBF en función de la concentración de las sales de los iones metálicos. Las constantes de formación de los complejos (K_{ML}) y los coeficientes de absorción molar de los mismos fueron estimados empleando el método desarrollado por Benesi-Hildebrand [78,79,80] como se explica a continuación.

Si se supone una estequiometría 1:1 para el complejo (ML) y que la relación de coeficientes de actividad es ~ 1 (soluciones muy diluidas) la formación del complejo entre un ión metálico (M) con un ligando (L) para formar el ML se puede definir mediante el siguiente equilibrio:



Donde se han omitido las cargas de los iones por simplicidad. La constante de formación del complejo se puede escribir como:

$$K_{ML} = \frac{[ML]}{[M][L]} \quad (IV-10)$$

El balance de masa para [L] y [M] vienen dados por:

$$C_L = [L] + [ML] \quad \text{y} \quad C_M = [M] + [ML] \quad (IV-11)$$

Donde:

- C_M y C_L representan las concentraciones analíticas de M y L, respectivamente.

Reemplazando las ecuaciones IV-11 en la ecuación IV-10 obtenemos:

$$K_{ML} = \frac{[ML]}{(C_M - [ML])(C_L - [ML])} \quad (IV-12)$$

Reordenando la ecuación IV-12 se obtiene:

$$\frac{C_M}{[ML]} = \frac{K_{ML}(C_L - [ML]) + 1}{K_{ML}(C_L - [ML])} \quad (IV-13)$$

Empleando las igualdades de la ecuación IV-11 y reordenando obtenemos:

$$\frac{[ML]}{C_M} = \frac{K_{ML}[L]}{K_{ML}[L] + 1} \quad (IV-14)$$

Si consideramos que el complejo ML y L son las especies que absorben y que el M no acomplejado no absorbe a la longitud de onda seleccionada para el estudio, es posible expresar la absorción (A) a la lambda de estudio por:

$$A = \epsilon_{ML} b [ML] + \epsilon_L b [L] \quad (IV-15)$$

Donde:

- b es el paso óptico de la celda.

Teniendo en cuenta el balance de masa para el ligando (IV-11), despejando $[L]$ y reemplazando en la ecuación IV-15, se obtiene:

$$A = \varepsilon_{ML} b [ML] + \varepsilon_L b (C_L - [ML]) \quad (IV-16)$$

Cuando la concentración de M es cero, $[ML] = 0$ y la absorbancia $A_{M=0}$ se calcula mediante:

$$A_{M=0} = \varepsilon_L b C_L \quad (IV-17)$$

Si se sustituye esta expresión en la ecuación IV-16 y se reacomodan los términos se obtiene la siguiente expresión:

$$\Delta A = A - A_{M=0} = \varepsilon_{ML} b [ML] - \varepsilon_L b [ML] = \Delta \varepsilon b [ML] \quad (IV-18)$$

Donde:

- ΔA es la diferencia en absorbancia con y sin el agregado de M
- $\Delta \varepsilon$ es la diferencia en los coeficientes de absorción molares de ML y L .

Si reemplazamos la ecuación IV-18 en la ecuación IV-14 y reordenamos los términos, se obtiene:

$$\frac{\Delta A}{b} = \frac{\Delta \varepsilon K_{ML} C_M C_L}{1 + K_{ML} C_M} \quad (IV-19)$$

Esta ecuación permite calcular la constante de formación del complejo y el $\Delta \varepsilon$, a través de medidas espectroscópicas en función de las concentraciones de ión metálico, C_M . Para obtener dichos parámetros, se realiza un ajuste de los datos experimentales a la ecuación IV-19 mediante una técnica de regresión no-lineal.

La complejación entre ACBF (L) y los iones alcalinos y alcalinos térreos (M) fue estudiada siguiendo los cambios espectrales de la amida a 350 nm. Los resultados experimentales fueron ajustados con la ecuación IV-19 dejando la constante de complejación K_{ML} y el $\Delta\epsilon$ (diferencia entre los coeficientes de absorción molares del complejo ML y L) como parámetros de ajustes. El coeficiente de absorción molar del complejo se determina mediante la siguiente relación: $\epsilon_{ML} = \epsilon_L + \Delta\epsilon$, donde ϵ_L es $220 \pm 10 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ a 350 nm. Para los experimentos se emplearon soluciones de absorbancias iniciales de ACBF (L) ~ 1 , lo cual corresponde a una concentración de ACBF (C_L) igual a $4,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

Se muestran en las **Figuras IV-36, IV-37 y IV-38** los resultados obtenidos para Na^+ , Ca^{+2} y Ba^{+2} . Como puede concluirse de la **Figura IV-36** el ajuste de los ΔA experimentales a la ecuación IV-19 es aceptable. Similares resultados fueron obtenidos para Li^+ , K^+ y Cs^+ . Los correspondientes valores de K_{ML} y $\Delta\epsilon$ se resumen en la **Tabla IV-1**. En la misma tabla (última columna) se informan los valores de ϵ_{ML} calculados a partir de los espectros en la **Figuras IV-32 y IV-33**. Para dicho cálculo se asumió que a la concentración de sal utilizada (0,02 M) la ACBF se encuentra completamente acomplejada; y que por lo tanto, la concentración del ML es igual a la de L ($5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$). Notar que, dentro del error experimental, los valores de $\Delta\epsilon$ calculados a partir de ambos métodos son similares.

En contraste a lo observado para los metales monovalentes, el ajuste de los datos experimentales obtenidos para Ca^{+2} es muy pobre; **Figura IV-37**. La curva exhibe un rápido crecimiento a bajas concentraciones, pero no llega al amesetamiento esperado a altas concentraciones del ión. Resultados similares fueron encontrados para Mg^{+2} . En el caso de Ba^{+2} , los datos simplemente no pueden ser ajustados a la ecuación IV-19; **Figura IV-38**. Este comportamiento es atribuido a que los cationes divalentes se disuelven en acetonitrilo formando múltiple especies iónicas (en equilibrio) capaces de interaccionar con la ACBF; mientras que el modelo de Benesi-Hildebrand asume que la complejación ocurre con una única especie del metal.

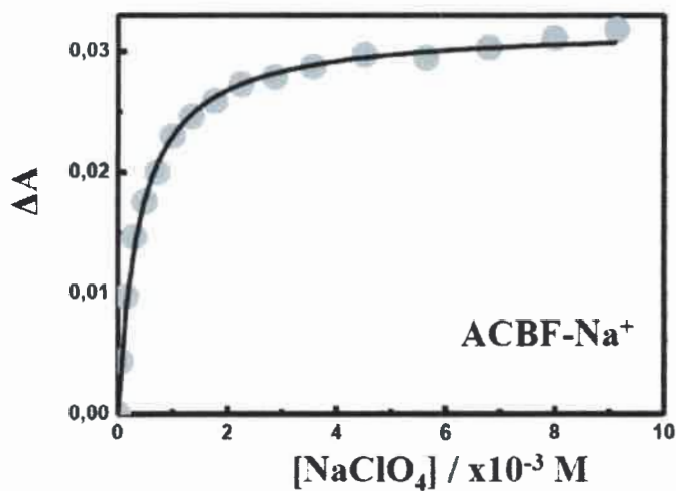


Figura IV-36: Determinación de la constante de complejación del complejo ACBF- Na^+ en acetonitrilo a 25 °C, observando los cambios de absorción de la amida a 350 nm. $[\text{ACBF}] = 4,5 \times 10^{-3} \text{ M}$. Obtenida por el modelo de Benesi-Hildebrand

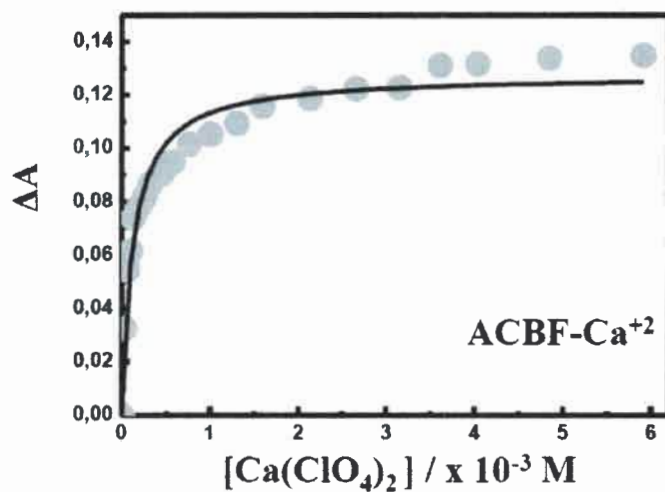


Figura IV-37: Determinación de la constante de complejación (K_{ML}) de ACBF - Ca^{+2} , en acetonitrilo a 25 °C, observando los cambios de absorción de la amida a 350 nm. $[\text{ACBF}] = 4,5 \times 10^{-3} \text{ M}$. Obtenida por el modelo de Benesi-Hildebrand

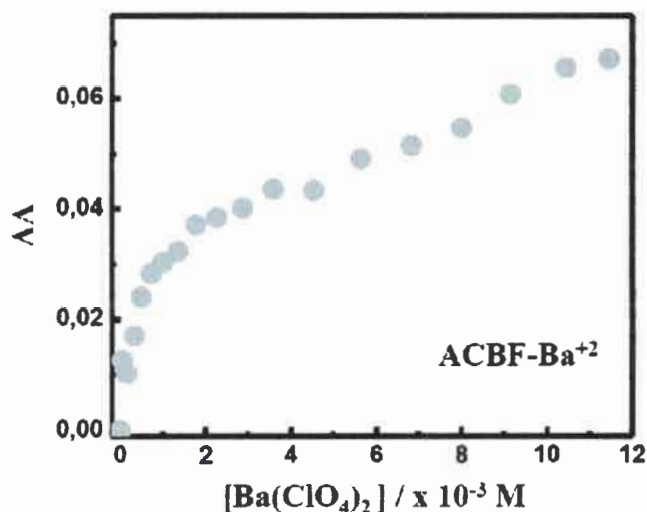


Figura IV-38: Cambios en la absorción de ACBF-Ba⁺² a 350 nm (ΔA) en función de la concentración de perclorato de Ba⁺² en acetonitrilo a 25 °C λ_{obs} : 350 nm. [ACBF]= 4,5 x10⁻³ M

Tabla IV-1: Parámetros de unión entre ACBF: ión metálico en acetonitrilo a 25 °C a 350 nm, obtenidos a partir de los datos experimentales y el modelo de Benesi-Hildebrand

ACBF-Me ⁺ⁿ	K _{ML} (25 °C)	Log K _{ML} (ACBF-Me ⁺ⁿ)	$\Delta\epsilon$ ^(a) (cm ⁻¹ M ⁻¹) a 350 nm	ϵ_{ML} ^(b) (cm ⁻¹ M ⁻¹) a 350 nm
Li ⁺	1800 ± 300	3.3	9 (9)	220
Na ⁺	2600 ± 100	3.4	7 (14)	229
K ⁺	590 ± 80	2.8	16 (8)	234
Cs ⁺	210 ± 20	2.3	8 (8)	226
Mg ⁺²	-	-	(10)	228
Ca ⁺²	-	-	(38)	258
Ba ⁺²	-	-	(47)	267

(a) Los valores entre paréntesis fueron calculados a partir de los espectros mostrados en las Figuras IV-32 y IV-33

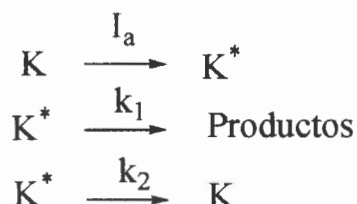
(b) Valores obtenidos de ϵ_{ML} a partir de los espectros mostrados en las Figuras IV-32 y IV-33

Al respecto, Eberspächery col. [81] publicaron detallados estudios sobre el comportamiento de percloratos de cationes monovalentes y divalentes en acetonitrilo. De acuerdo a estos autores, los percloratos de Li y Na se disuelven formando iones libres aún a concentraciones $> 0,1$ M. Por ejemplo, a una concentración de perclorato de Na $0,01$ M (máxima concentración de esta sal usada en nuestros estudios) la fracción de iones Na^+ libre es $\sim 0,92$. El resto de los iones Na^+ ($0,08$) se encuentran formando pares iónicos de contacto $[\text{Na}^+\text{ClO}_4^-]$ (CIP) o pares iónicos separados por solvente (SIP). En contraste, para los percloratos de Mg, Ca y Ba existen otras especies iónicas presentes en solución, pudiendo estas sales formar: M^{+2} libre, pares iónicos de contacto $[\text{M}^{+2}\text{ClO}_4^-]$ (CIP), pares iónicos separados por solvente (SIP), iones triples cargados: $[\text{M}^{+2}\dots\text{ClO}_4^- \dots\text{M}^{+2}]$ (T_+) e iones triples neutros: $[\text{ClO}_3^- \dots\text{M}^{+2} \dots\text{ClO}_3^-]$ (T_0) [81,82]. Necesariamente, la distribución de estas especies depende de la concentración de la sal. Por ejemplo, a una concentración de perclorato de Ca $0,01$ M, las fracciones molares de las distintas especies son: Ca^{+2} : $0,02$; CIP: $0,36$; SIP: $0,36$; T_+ : $0,13$ y T_0 : $0,03$. Todas estas especies son capaces de interaccionar con el heterociclo de la amida, formando complejos de distinta estabilidad y pudiendo perturbar electrostáticamente al cromóforo también en forma distinta. Este hecho complica considerablemente el análisis de los datos experimentales obtenidos para los iones divalentes, haciendo imposible calcular valores confiables para K_{ML} y $\Delta\varepsilon$.

Valores de $\log K_{\text{ML}}$ para la complejación de éteres corona similares han sido reportados en la literatura. Diversos autores estudiaron la complejación del benzo-18-corona-6 en acetonitrilo con Na^+ , K^+ y Cs^+ . Los valores de $\log K_{\text{ML}}$ informados son $4,16$ [60a], $4,76$ y $3,97$, respectivamente [75]. Para el mismo heterociclo, el valor de $\log K_{\text{ML}}$ medido para el complejo con Li^+ en soluciones acuosas es del orden de 3 [83]. Por otro lado, Amini, y col. [73] estudiaron la complejación del benzo-18-corona-6 con metales divalentes en acetonitrilo usando la técnica de ^1H RMN, reportando valores de $\log K_{\text{ML}}$ para Mg^{+2} : $2,77$; Ca^{+2} : $3,36$ y $\text{Ba}^{+2} > 5$. Luego, podemos concluir que el orden de estabilidad de los complejos ACBF- Me^+ es: $\text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+$. Si bien las K_{ML} para Mg^{+2} , Ca^{+2} y Ba^{+2} no pudieron calcularse es posible afirmar que el proceso de complejación ciertamente ocurre.

IV-2.1.4.1.2 Rendimiento cuántico de fotoreacción de la ACBF en presencia de iones mono y divalentes

En esta sección analizamos el efecto de complejación de la ACBF sobre el rendimiento cuántico de fotoreacción (φ) de la amida. A tal fin, suponemos el siguiente mecanismo simplificado:



Donde:

- I_a representa la velocidad de absorción de fotones por unidad de tiempo.
- k_1 es la constante de velocidad para la formación de productos.
- k_2 la constante asociada a la desactivación del estado excitado de la amida (K^*).

Asumiendo que la I_a es constante durante todo el experimento, es posible predecir que la ACBF desaparecerá siguiendo una cinética de orden cero de acuerdo a:

$$[K] = [K]_0 - \varphi I_a t \quad (\text{IV-20})$$

Donde:

- $[K]_0$ es la concentración inicial de la amida
- $\varphi = k_1 / (k_1 + k_2)$, representa el rendimiento cuántico de desaparición (o reacción) de la amida.

Luego, a partir de la pendiente de un gráfico de $[K]$ vs. t , es posible estimar φI_a . A fin de comparar los φ de la amida libre (L) y la amida acomplejada (ML), deben cuidarse diversos aspectos experimentales. En primer lugar, I_a debe ser igual para todos los experimentos y mantenerse constante durante el tiempo de irradiación. A tal fin, la concentración de ACBF se fijó en $4,5 \times 10^{-3}$ M. A esta concentración, la absorbancia a 250 nm (transición $\pi-\pi^*$) es $\gg 2$, mientras que a 350 nm (transición $n-\pi^*$) es ~ 1 . La desaparición de la amida fue monitoreada en la banda de 350 nm; mientras que la muestra era irradiada a 250 nm, manteniendo el porcentaje de consumo (desaparición)

de la amida siempre menor al 15 %. De esta manera, pudo garantizarse que la absorción de la radiación incidente por parte de la amida (libre o acomplejada) fuera completa y constante. Por otro lado, la concentración de las sales metálicas fue en todos los casos 0.02 M. A estas concentraciones puede asumirse que la fracción de amida acomplejada (α) es ~ 1 .

En la **Figura IV-39** se muestra un gráfico de la absorción de ACBF en acetonitrilo monitoreada a 350 nm en función del tiempo de irradiación. La pendiente obtenida es de $\sim 0,031 \text{ min}^{-1}$. En la misma figura se muestran también las cinéticas de desaparición de ACBF en presencia de las sales. A fin de comparar los φ es preciso transformar las absorbancias en la **Figura IV-39** en concentraciones de acuerdo a:

$$\frac{A}{\epsilon_i} = \frac{A_0}{\epsilon_i} - \frac{\varphi_i}{\epsilon_i} I_a t \quad (\text{IV-21})$$

Donde el subíndice i hace referencia a la especie observada (complejo o amida libre).

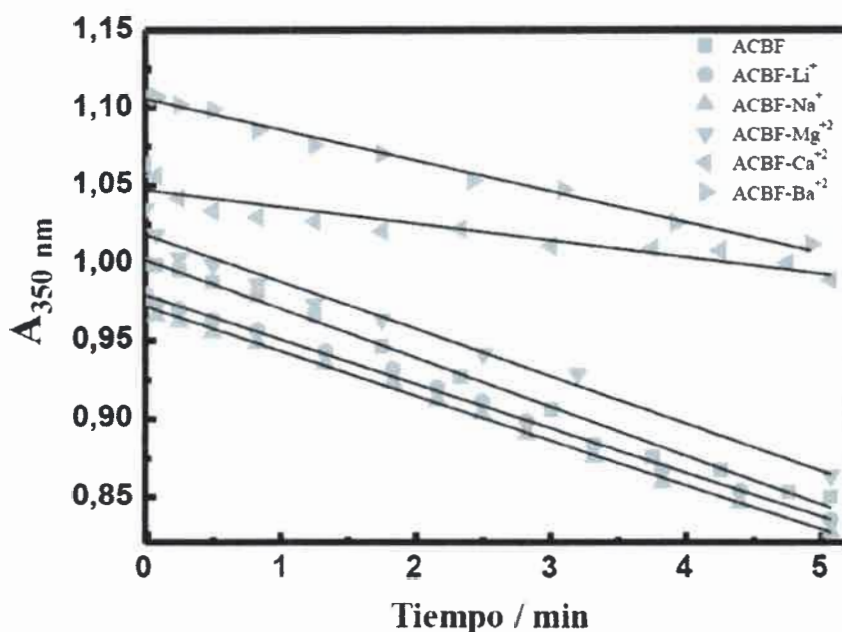


Figura IV-39: Absorción de ACBF y ACBF-Me^{tn} a 350 nm en función del tiempo de fotólisis hasta conversión del 15% a 25 °C. [ACBF] = $4,5 \times 10^{-3}$ M y [Me^{tn}] = 2×10^{-2} M

Así, usando los coeficientes de absorción a 350 nm informado en la **Tabla IV-1** y las pendientes de los gráficos en la **Figura IV-39**, se calcularon las eficiencias relativas de fotorreacción. Los correspondientes valores son reportados en la **Tabla IV-2**.

Tabla IV-2: Rendimientos cuánticos de fotorreacción de los complejos metálicos (φ_{ML}) relativas a ACBF (φ_L) en acetonitrilo a 25 ° C

ACBF-Me ⁿ⁺	φ_{ML} / φ_L
ACBF	1,00
ACBF-Li ⁺	0,91
ACBF-Na ⁺	0,86
ACBF-Mg ⁺²	0,96
ACBF-Ca ⁺²	0,29
ACBF-Ba ⁺²	0,52

Cuando se comparan los resultados mostrados en la **Tabla IV-2** puede concluirse que, dentro del error experimental, los φ_{ML} obtenidos para los complejos de Li⁺, Na⁺, y Mg⁺² son ligeramente menores al de la amida libre. Sin embargo, para Ca⁺² y Ba⁺², la disminución es marcada. En el caso Ca⁺² el φ_{ML} se reduce tres veces. Esto sugiere que los metales interfieren en el proceso de formación del dirradical **D**. Estos resultados dan sustento al mecanismo propuesto por Whitten y col. [29], ya que aparentemente la abstracción de H es afectada por el campo eléctrico externo ejercido por los cationes.

IV-2.1.4.1.3 Efecto de la complejación sobre la distribución de fotoproductos de la ACBF

Se realizaron estudios sobre la distribución de fotoproductos tras fotólisis de ACBF en presencia de Na⁺ y Ca⁺². El cromatograma para ACBF fotolizada en presencia de perclorato de Na⁺ 0,02 M se muestra en la **Figura IV-40**.

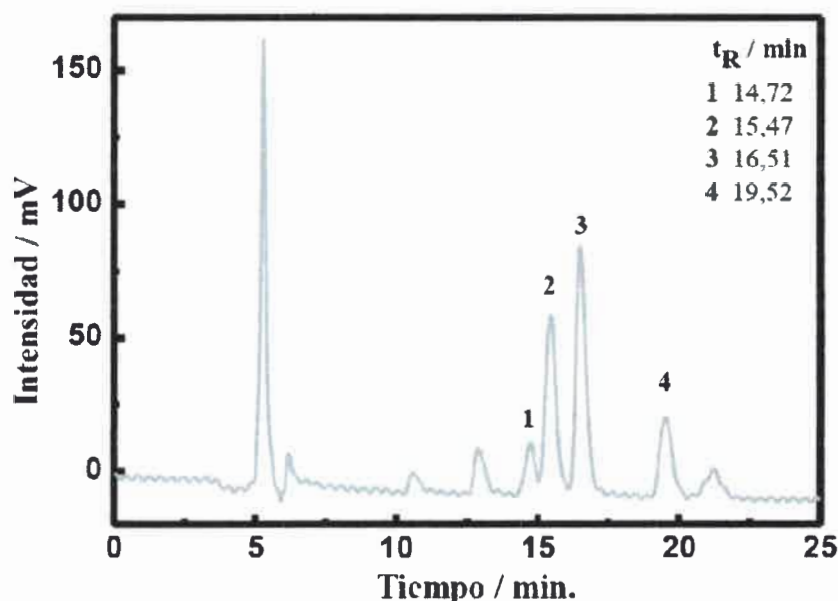


Figura IV-40: Cromatograma de ACBF- Na^+ tras fotólisis del complejo a 350 nm. La detección cromatográfica se realizó a 220 nm, usando MeHO/ H_2O 50:50 v/v fase móvil en fase reversa a 25 °C

Comparando las **Figuras IV-31** y **IV-40**, puede concluirse que en presencia del Na^+ el número de fotoproductos se incrementa cuando la amida se halla acomplejada. El pico que aparece a aproximadamente 19 min (4) corresponde a la ACBF sin fotolizar. Los picos numerados como 1 y 2 corresponden a la β -lactama (**A**), mientras que el 3 pertenece a la oxazolidinona (**O**). Esta asignación fue confirmada por co-inyección de muestras ACBF fotolizadas en ausencia y presencia de Na^+ . Cuando la fotólisis es realizada en acetonitrilo, la relación oxazolidinona (**O**) a β -lactama (**A**) es $\sim 1,5$. Sin embargo, en presencia de Na^+ , esta relación $\text{O}(3)/\text{A}(1+2)$ disminuye marcadamente (~ 1). Como se discutió en la sección *Antecedentes I-1.2*, **O** se forma exclusivamente a partir de **Z**, mientras que β -lactama (**A**) puede provenir de **Z** o **D**. En general, **Z** es una especie más estable que **D**, pero el efecto de complejación podría afectar las energías relativas de estos intermediarios y favorecer la vía de producción de β -lactama (**A**) a partir del dirradical (**D**). Como se discute en la siguiente sección, los experimentos de LFF parecen confirmar esta hipótesis.

La **Figura IV-41** muestra los resultados obtenidos para la fotólisis del complejo ACBF- Ca^{+2} en acetonitrilo (desoxigenado) a 25 °C. Como puede observarse, nuevos

productos son observados; los cuales a excepción de los numerados como 4 y 5 (A) y 6 (O), no pudieron ser identificados. Estos resultados sugieren que la complejación de la amida con Ca^{+2} cambia el mecanismo de la fotorreacción. La relación $\text{O}(6)/\text{A}(4+5) \sim 0,3$ disminuye más aun que en el caso de ACBF-Na^+ ; a punto que **O** pasa a ser un producto minoritario. El efecto electrostático sobre la formación de **Z** parece ser máximo.

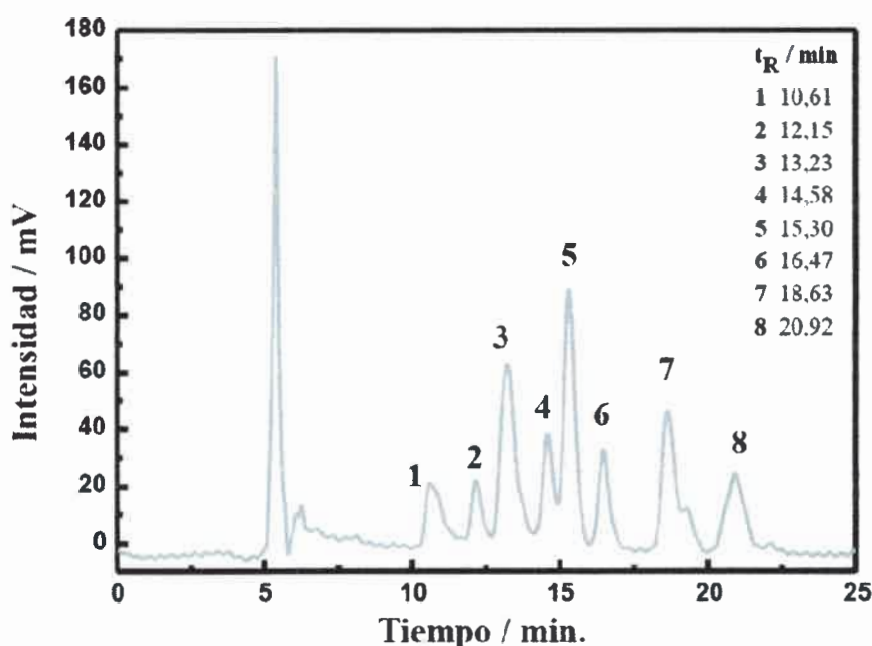


Figura IV-41: Cromatograma HPLC obtenido para ACBF-Ca^{+2} fotolizado al $\sim 100\%$. La detección se realizó a 220 nm, usando $\text{MeHO}/\text{H}_2\text{O}$ 50:50 v/v fase móvil en fase reversa a 25°C

IV-2.1.5 Estudios de láser flash fotolisis (LFF)

IV-2.1.5.1 Especies transitorias de ACBF en acetonitrilo en ausencia y presencia de sales metálicas

En la **Figura IV-42** se muestra el espectro de especies transitorias obtenido por la técnica de LFF para ACBF en acetonitrilo. Similarmente a lo observado para DIBF y DBBF, el espectro está caracterizado por una importante absorción alrededor de los 310 nm. En principio, este espectro puede ser atribuido al **Z** intermediario de reacción. En el

inserto de la misma figura se muestra el decaimiento de la señal medida al máximo de absorción (310 nm). El perfil pudo ser ajustado a un decaimiento monoexponencial con un tiempo de vida asociado de $\sim 10 \mu\text{s}$.

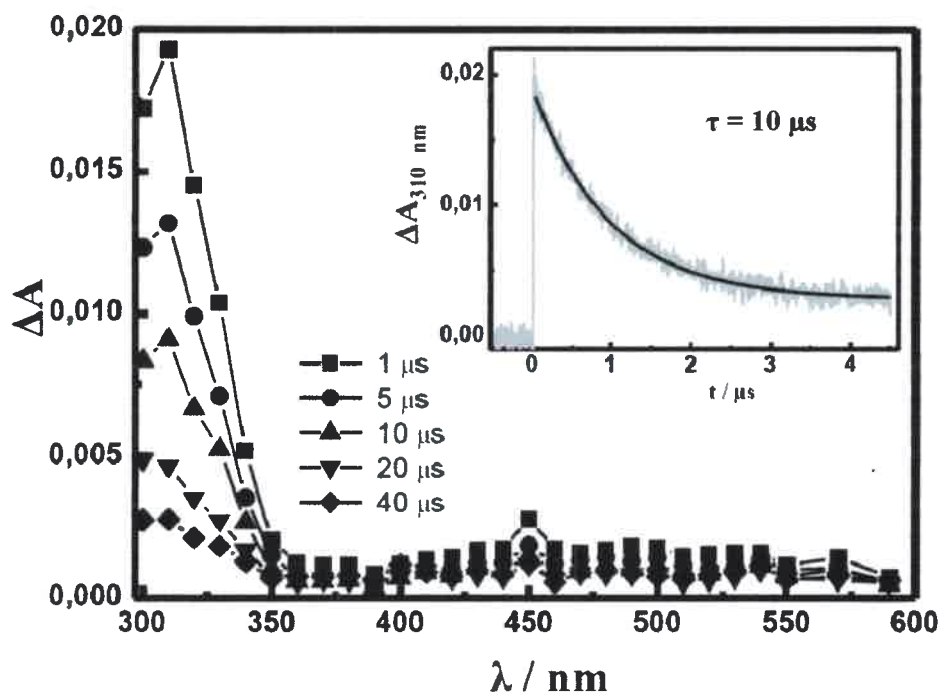


Figura IV-42: Espectro de absorción resuelto en el tiempo del transitorio de la α -oxoamida ACBF en acetonitrilo a 25 °C. a: (■) 1 μs , (●) 5 μs , (▲) 10 μs , (▼) 20 y (◆) 40 μs luego del pulso del láser. *Inserto:* Evolución temporal de la absorbancia a 310 nm. τ : 10 μs . $A_{\text{ACBF}}^{266\text{nm}}$: 0,8. λ_{exc} : 266 nm. Desoxigenado en atmósfera de argón por 30 min

También se realizaron experiencias de LFF de ACBF en $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{SO}_4$ 5%. Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura IV-43**. Como puede concluirse, la especie obtenida en medio ácido muestra una absorción significativamente corrida al rojo comparada a la de **Z**. La absorción de esta especie se mantiene constante en la escala de los 10 μs (máxima ventana temporal disponible del instrumental utilizado) por lo que su tiempo de vida no pudo ser calculado. De todas maneras, puede inferirse que el τ de esta especie debe ser $\tau \gg 500 \mu\text{s}$. Nuevamente, y en comparación con lo encontrado para DIBF y DBBF, el espectro mostrado en la **Figura IV-43** puede asignarse al zwitterion protonado de ACBF, ZH^+ . La detección de **Z** y ZH^+ (**Figura IV-**

44), en los experimentos de LFF de la ACBF son consistente con la distribución de fotoproductos encontrados para esta amida en acetonitrilo

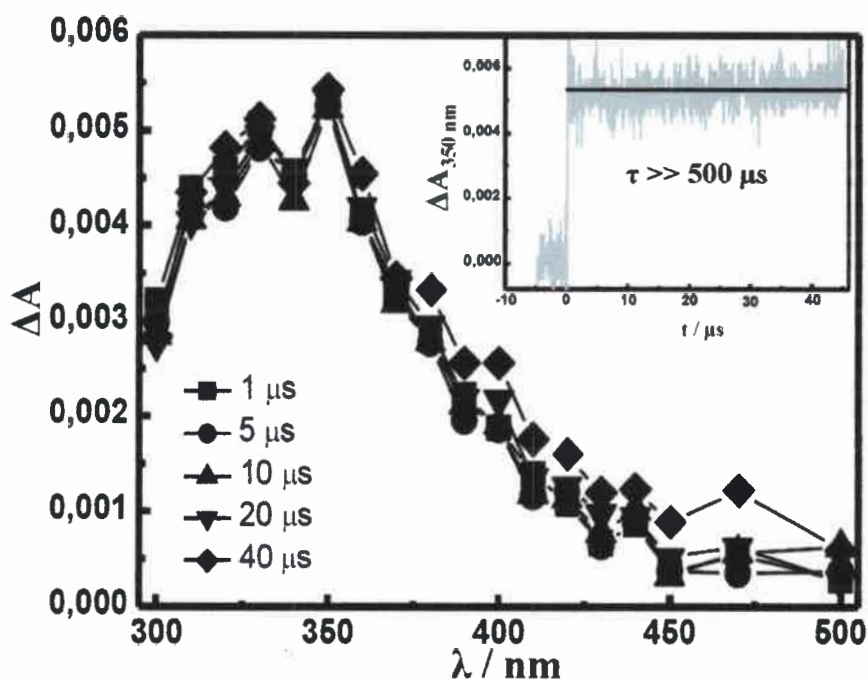


Figura IV-43: Espectro de absorción resuelto en el tiempo del transitorio de la α -oxoamida ACBF en MeCN/H₂SO₄ 5% a 25 °C. a: (■) 1 μ s, (●) 5 μ s, (▲) 10 μ s, (▼) 20 y (◆) 40 μ s luego del pulso del láser. *Inserto:* Evolución temporal de la absorbancia a 340 nm. $\tau \gg 500 \mu$ s. A_{ACBF}^{266nm} : 0,8. λ_{exc} : 266nm. Desoxigenado en atmósfera de argón por 30 min

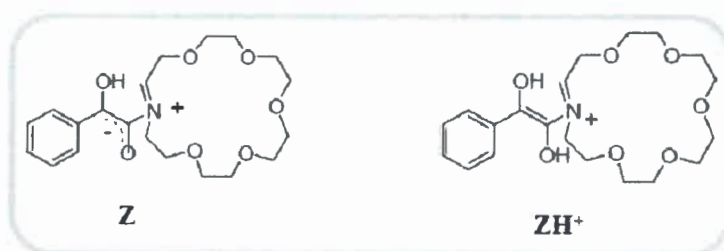


Figura IV-44: Estructura propuestas para el zwitterion (Z) y zwitterion protonado (ZH⁺) de ACBF

Luego, se procedió a determinar el efecto de complejación de ACBF con NaClO_4 y $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ sobre las especies transitorias de la fotorreacción. Los experimentos se realizaron a una concentración de ACBF $\sim 7 \times 10^{-5} \text{ M}$ y $2 \times 10^{-2} \text{ M}$ para ambas sales. A estas concentraciones puede asumirse que la fracción de amida acomplejada es prácticamente 1. Las soluciones fueron desoxigenadas por burbujeo con argón.

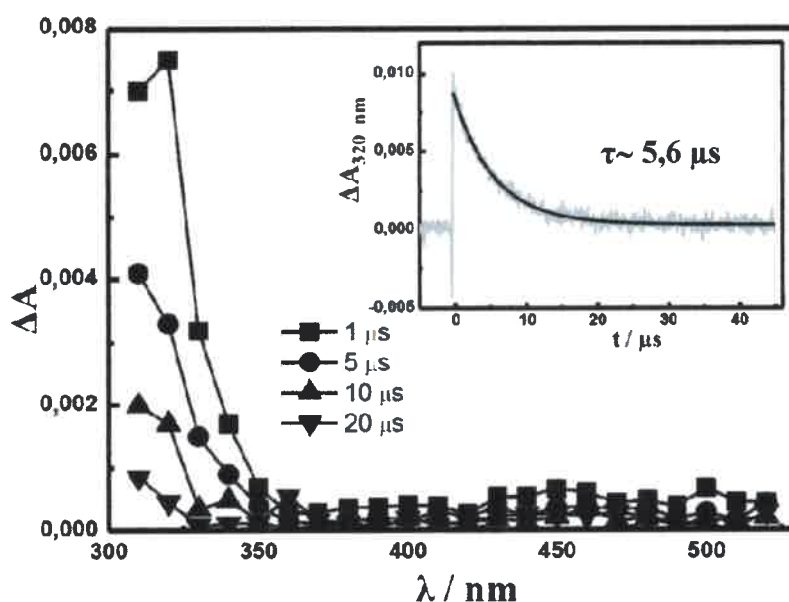


Figura IV-45: Espectro de absorción de especies transitorias del complejo ACBF- Na^+ en MeCN a 25°C . a: (■) $1 \mu\text{s}$, (●) $5 \mu\text{s}$, (▲) $10 \mu\text{s}$, (▼) $20 \mu\text{s}$ luego del pulso del láser. *Inserto:* Evolución temporal de la absorbancia a 320 nm . $\tau \sim 5,6 \mu\text{s}$. $[\text{NaClO}_4] = 2 \times 10^{-2} \text{ M}$. $A_{\text{ACBF-Na}^+}^{+266\text{nm}}$: 0,8. λ_{exc} : 266 nm . Desoxigenado en atmósfera de argón por 30 min

En la **Figura VI-45** se muestra el espectro de especies transitorias para el complejo ACBF- Na^+ obtenido en la escala de los $40 \mu\text{s}$. El espectro observado es muy similar al mostrado en la **Figura IV-42** y corresponde al intermediario zwitteriónico, **Z**. En el inserto de la misma figura se muestra el perfil de decaimiento de la absorción monitoreada en el máximo (320 nm). El decaimiento es monoexponencial y puede ajustarse con un tiempo de vida de $\tau \sim 5,6 \mu\text{s}$. Este τ es más corto que el observado para **Z** en acetonitrilo puro. Para confirmar esta observación se estudió el decaimiento de la señal a 320 nm en función de la concentración de NaClO_4 . En la **Figura IV-46** se

representan las amplitudes de las señales extrapoladas a tiempo cero en función del grado de complejación de la amida (α) (relativas al valor calculado en ausencia de la sal) y los correspondientes tiempos de vida a cada α . Los valores de α fueron calculados a partir de la concentración analítica de sal y la constante de equilibrio (K_{ML}) reportada en la **Tabla IV-1**.

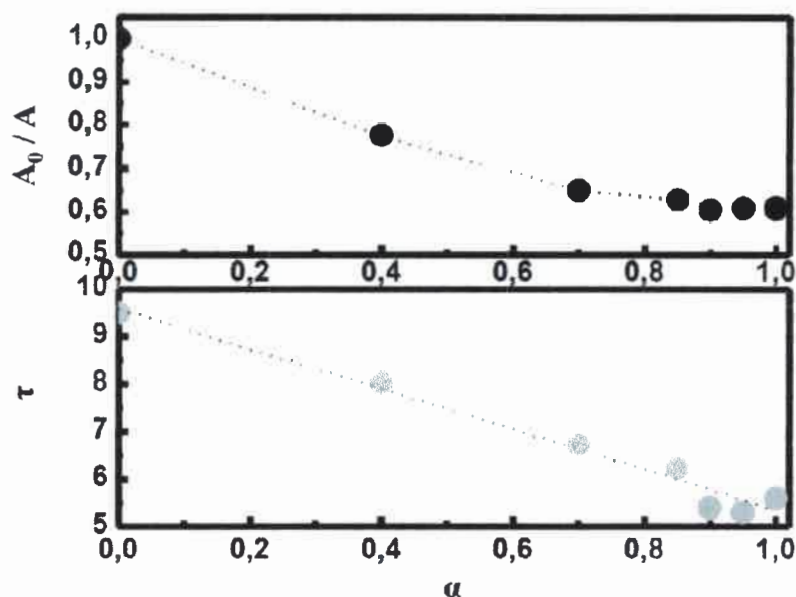


Figura IV-46: *Panel superior:* intensidad de la absorción de **Z** monitoreada a 320 nm en función del grado de complejación (α) de la amida extrapolada a $t=0$, normalizada al valor de α . *Panel inferior:* tiempo de vida (τ) de la señal en función de α .

Como puede observarse a medida que se incrementa la concentración de la sal, la intensidad a 320 nm decrece hasta alcanzar un valor constante de $\sim 0,6$ a $\alpha = 1$. En esta comparación asumimos que los coeficientes de absorción molar de ambas especies (**Z** y **Z-Na⁺**) son similares. Aceptando lo anterior, estos resultados constituyen una buena evidencia que la formación del **Z** de ACBF es afectada por la presencia del metal. Por otro lado, el tiempo de vida de **Z** decrece con el incremento de α . El hecho que el decaimiento sea siempre monoexponencial (aun para los valores intermedios de α) sugiere un equilibrio rápido entre **Z** y **Z-Na⁺**, como se discutió para el caso de las protonación de DIBF y DBBF. Estas observaciones están en pleno acuerdo con el

hecho que $Z\text{-Na}^+$ muestre (cualitativamente) una menor relación oxazolidinona (O) / β -lactama (A)

En la **Figura IV-47**, se comparan los espectros de Z obtenidos a $1\ \mu\text{s}$ después del pulso láser para ACBF, ACBF- Na^+ y ACBF- Ca^{+2} en acetonitrilo (desoxigenado). Las concentraciones de las muestras fueron ajustadas para que la absorción a $266\ \text{nm}$ (lamba de excitación) fuera de 0.8 en todos los casos. Como puede observarse, la formación de Z se ve afectada en la presencia de Na^+ , pero casi desaparece en presencia de Ca^{+2} . En cierta manera, este efecto era esperado; la velocidad de desaparición de ACBF se reduce apreciablemente cuando está presente Ca^{+2} y la formación de la oxazolidinona (O), producto de Z , casi no es observada.

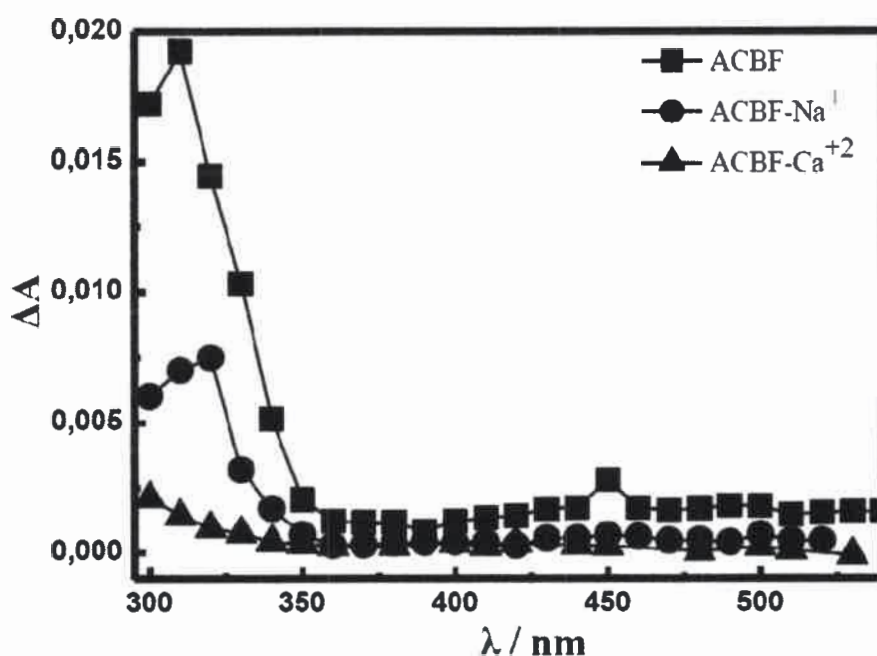


Figura IV-47: Espectros de absorción de Z de ACBF, (\blacksquare), ACBF- Na^+ (\bullet) y ACBF- Ca^{+2} (\blacktriangle) en acetonitrilo monitoreados a $1\ \mu\text{s}$ luego del pulso del láser. $A^{266\text{nm}}$: $0,8$. λ_{exc} : $266\ \text{nm}$ a $25\ ^\circ\text{C}$, desoxigenado por burbujeo Ar por $30\ \text{min}$

IV-2.2 Resumen y conclusiones

La irradiación de ACBF en acetonitrilo produce oxazolidinona (**O**) y β -lactamas como productos principales. El intermediario zwitteriónico (**Z**) que da origen a la oxazolidinona (**O**) pudo ser detectado por la técnica de LFF. El intermediario **Z** está caracterizado por un máximo de absorción alrededor de los 310 nm y un tiempo de vida de $\sim 10 \mu\text{s}$.

La ACBF es capaz de coordinar cationes metálicos mono y divalentes. La complejación de la amida tiene consecuencias importantes sobre su fotoquímica. El efecto más claro y general, se observa en el rendimiento cuántico de formación de **Z** (φ_Z). El complejo ACBF- Na^+ produce cualitativamente menos **Z** que la ACBF libre ($\sim 60\%$). Para el complejo ACBF- Ca^{+2} , **Z** prácticamente no se forma ($< 10\%$). Estos resultados son coherentes con la marcada disminución del rendimiento de oxazolidinona (**O**); único fotoproducto que proviene exclusivamente de **Z**. Otro efecto de la complejación es el decrecimiento en el rendimiento cuántico de fotoreacción (φ). En todos los casos φ disminuye, siendo este efecto particularmente importante para Ca^{+2} y Ba^{+2} .

Notar que ambos procesos, la formación de **Z**₁ a partir de **K**^{*} y de **Z** a partir de **D**, involucran una transferencia intramolecular de un electrón. Necesariamente, la creación de una carga positiva en las inmediaciones del metal debería hallarse desfavorecida, tal cual lo observado experimentalmente, (Figura IV-48).

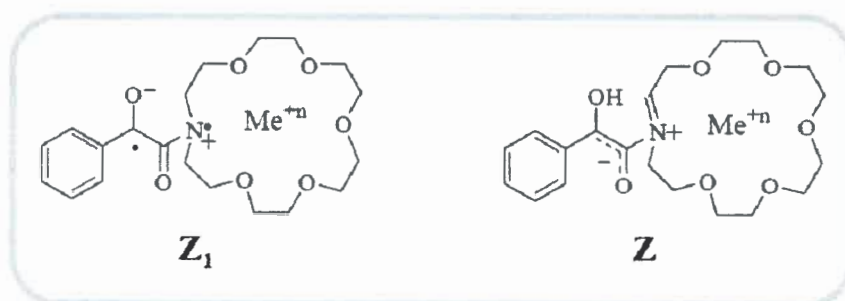


Figura IV-48: Posibles estructuras de **Z**₁ y **Z** de ACBF- Me^{+n}

Finalmente, cabe comparar cualitativamente el efecto de complejación sobre φ y φ_Z . Puede demostrarse fácilmente que el rendimiento cuántico de desaparición de la amida φ y el rendimiento cuántico de formación de Z (φ_Z), vienen dados por:

$$\varphi = \theta_D(\theta_{PD} + \theta_{PZ}) = \theta_D\theta_{PD} + \theta_D\theta_{PZ} \quad (\text{IV-22})$$

$$\varphi_Z = \theta_D\theta_Z = \theta_D\theta_{PZ} \quad (\text{IV-23})$$

Donde:

- θ_D es la eficiencia de formación de diradical a partir de K^*
- θ_Z es la eficiencia de formación de Z a partir de D
- θ_{PD} y θ_{PZ} representan las eficiencias de formación de fotoproductos del diradical y zwitterion, respectivamente.

En la última igualdad (IV-23) se asume que la formación de Z es irreversible y que termina dando fotoproductos. Las ecuaciones (IV-22) y (IV-23) muestran el “doble” efecto electrostático ejercido por el metal sobre φ_Z ; la presencia del metal afecta la formación D (desfavoreciendo la formación de Z_1) y posteriormente la formación de Z (que proviene de D acomplexado). En cambio, el efecto sobre φ es menor; si bien la formación de Z_1 se encuentra parcialmente inhibida, el D acomplexado puede reaccionar dando A , $C+I$ y otros fotoproductos. La aparición de nuevos productos durante la fotólisis de $ACBF-Na^+$ y $ACBF-Ca^{+2}$ parecen confirmar esta interpretación.

CONCLUSIONES

“El aprendizaje es experiencia; todo lo demás es información”

Albert Einstein. Físico. (1879-1955)

V-1 CONCLUSIONES GENERALES

Como conclusión general de este estudio puede afirmarse que el mecanismo de fotoreacción de las α -oxoamidas es más complejo aún que lo planteado originalmente por Aoyama y col. [14] y Whitten y col. [29]. Resumidamente, en el mecanismo de Aoyama y col. se propone que el zwitterion (**Z**) es la única especie que da lugar a todos los fotoproductos, mientras que Whitten y col. plantean que la β -lactama (**A**) provendría del dirradical (**D**).

Los resultados obtenidos durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral demuestran que efectivamente **Z** puede ser el precursor de **O**, **A** y de los productos de eliminación: cetenol (**C**) e iminas (**I**). Sin embargo, **D** también puede producir **A** y **C+I**. Que los fotoproductos provengan de uno u otro intermediario depende de la estructura de la α -oxoamida y de la polaridad (y viscosidad) del medio. Más aún, en ciertos casos, **Z** y **D** terminan proveyendo los mismos fotoproductos, aunque lo hacen en escalas de tiempo considerablemente distintas.

Este estudio provee también una explicación para la fotoquímica de las α -oxoamidas en medios restringidos o de alta viscosidad. En estos medios se observa que, independientemente de los sustituyentes alquílicos, la β -lactama (**A**) es siempre el fotoproducto mayoritario. Aparentemente, la reducida polaridad y reducido volumen libre de reacción en estos medios desestabilizan a **Z**, dejando únicamente habilitada la transformación de **D** en **A**.

Finalmente, se aportan nuevos indicios acerca de la etapa inicial de la fotorreacción. El hecho que la complejación de la α -oxoamida cíclica ACBF afecte la eficiencia de fotoreacción, el rendimiento de formación de **Z** y de oxazolidinona (**O**), indican claramente que todos los procesos intramoleculares de transferencia de carga involucrados en el mecanismo son desfavorecidos por la presencia del metal. Estos resultados dan sustento al mecanismo propuesto por Whitten y col. [29], que sugiere que la formación del dirradical (**D**) ocurre en dos etapas, involucrando la formación con especie con significativa separación de carga (**Z₁**).

REFERENCIAS

VI- REFERENCIAS

- [1] Gilchrist, T. 1987. *Heterocyclic Chemistry*. Harlow: Longman Scientific. ISBN 0582014212.
- [2] Bailón-Pere, M. I.; García-Campaña, A. M.; Cruces-Blanco, C.; del Olmo Iruela, M., "Trace determination of beta-lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line preconcentration in capillary". *J. Chromatography A*, 2008, 1185, 273-280.
- [3] Rozas, O.; Contreras, D.; Mondaca, M. A.; Pérez-Moya, M.; Mansilla, H. D. "Experimental design of Fenton and Photo-Fenton reactions for the treatment of ampicilin in solutions". *J. Hazardous Materials*. 2010, 177, 1025-1030.
- [4] Alpizar, Y. "La penicilina y sus derivados como agentes desencadenantes de la respuesta inmune". *Rev. Cubana Hematol. Inmunol. Hemoter.*, 2000, 16, n° 2, 99-104.
- [5] Smith, D.M.; Kazi, A.; Smith, L.; Long, T.E.; Heldreth, B.; Turos, E.; Dou, Q.P. "A novel beta-lactam antibiotic activates tumor cell apoptotic program by inducing DNA damage". *Mol. Pharmacol.* 2002, 61, 1348-1358.
- [6] Chen, D.; Falsetti, S.C.; Frezza, M.; Milacic, V.; Kazi, A.; Cui, Q.C.; Long, T.E.; Turos, E.; Dou, Q.P. "Anti-tumor activity of N-thiolated β -lactam antibiotics". *Cancer Lett.* 2008, 268, 63-69.
- [7] Rothstein, J.D.; Patel, S.; Regan, M.R.; Haenggeli, C.; Huang, Y.H.; Bergles, D.E.; Jin, L.; Hoberg, M.D.; Vidensky, S.; Chung, D.S.; Toan, S.V.; Bruijn, L.I.; Su, Z-Z.; Pankaj Gupta, P.; Fisher, P.B. " β -lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression". *Nature*, 2005, 433, 73-77.

-
- [8] Miller, T.M.; Cleveland, D.W. "Treating Neurodegenerative Diseases with Antibiotics". *Science*, 2005, 307, n° 5708, 361-362.
- [9] Diekema, D. J.; Jones, R. N. "Oxazolidinone antibiotics". *The Lancet*, 2001, 358, 9297, 1975-1982.
- [10] A. W. Frahm, H. H. J. Hager, F. v. Bruchhausen, M. Albinus, H. Hager: *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis: Folgeband 4: Stoffe A-K.*, Birkhäuser, 1999, ISBN 978-3-540-52688-9
- [11] Pigrau, C. "Oxazolidinonas y Glucopéptidos". *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica.*, 2003, 21, 3, 157-165.
- [12] Whitten, D. G.; Chesta, C. A. "Photocyclization of α -Keto-Amides in Homogeneous Solution and Aqueous Cyclodextrin Media. The Role of Zwitterions on Dirradical in Photoinduced Electron Transfer Reactions". *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 2188-2197.
- [13] Chesta, C. A.; George, M.; Luo, C.; Weiss, R. "Medium Effects on Zwitterionic Biradicaloid Intermediates from two phenyl- α -oxoamides. Irradiations in Fluid and Solid Protic Media, Neat Solid Phases, and the Solid Smectic and Isotropic Phases of a Completely Saturated phosphonium Salts at Different Temperatures". *Photochem. and Photobiol.*, 2007, 83, 570-583.
- [14] Aoyama, H.; Sakamoto, M.; Kuwabara, K.; Yoshida, K.; Omote, Y. "Photochemical Reactions of α -Oxo-Amides. Norrish Type II. Reactions via Zwitterionic Intermediates". *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, 105, 1958-1964.
- [15] Aoyama, H.; Sakamoto, K.; Omote, Y. "Photochemical Reactions of N-Alkyl- α -oxoamides". *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1981, 1357-1359.

-
- [16] Aoyama, H.; Hasegawa, T.; Watabe, M.; Shiraishi, H.; Omote, Y. J. "Photochemical Reactions of N,N-Disubstituted α -Oxoamides". *J. Org. Chem. Soc.* 1978, 43, 419-422.
- [17] Aoyama, H.; Hasegawa, T.; Omote, Y. "Solid State Photochemistry of N,N-Dialkyl- α -oxoamides. Type II Reactions in the Crystalline State", *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 18, 5343-5347.
- [18] a) B. Akermark and N. G. Johanson, "Synthesis of strained Heterocyclic Rings. 2-Hidroxy- β -lactams and 4-oxazolidinones by photocyclization of 2-oxoamides". *Tetrahedron Lett.*, 1969, 5, 371-372.
- b) Johanson, N. G.; Sjorberg, B.; Akermark, B. "Strained Heterocyclic Compounds 9. Synthesis of 2-Hidroxy- β -lactams and Oxazolidin-4-ones by Photocyclization of 2-Oxoamides". *Acta Chem. Scand., B*, 1976, 30, 383-390.
- [19] Hasegawa, T.; Aoyama, H. and Omote, H.; "Photocyclization of β -Oxo-amides. Possible Electron Transfer from Amide Nitrogen to Excited Ketone Carbonyl". *J.C.S. Perkin I*, 1979, 963-969.
- [20] Hasegawa, T., Watabe, M.; Aoyama, H. and Omote, Y. "The Photochemical reactions of N,N-dialkyl α,β -unsaturated amides". *Tetrahedron Lett.*, 1977, 33, 5, 485-488.
- [21] Sakamoto, M.; Takahasi, M.; Fujita, T.; Watanabe, S.; Nishio, T.; Iida, I.; Aoyama, H. "Solid State Photochemical Reaction of N-(α,β -Unsaturated carbonyl)benzoylformamides". *J. Org. Chem.* 1997, 62, 6298-6308.
- [22] Shono, T.; Hamaguchi, H.; Matsumura, Y. "Electroorganic Chemistry. Anodic Oxidation of Carbamates". *J. Am. Chem. Soc.* 1975, 97, 4264-4268
- [23] a) Dewar, M. J. S.; Kirschner, S.; Kollmar, H. W. "Orbital isomerism in biradical processes". *J. Am. Chem. Soc.* 1974, 96, 5242-5244

b) Dewar, M. J. S.; Pakari, A. H.; Pierini, A. B. "Isomeric σ and π Radicals from Carboxylic Acids and Amides". *J. Am. Chem. Soc.* 1982, 104, 3242-3244

c) Pierini, A. B.; Vera, D. M. A. "Ab Initio Evaluation of Intramolecular Electron Transfer Reactions in Halobenzenes and Stabilized Derivates". *J. Org. Chem.* 2003, 68, 9191-9199

[24] Smith, P.A.S.; Leopky, R. N. "Nitrosative Cleavage of Tertiary Amines". *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, 89, 1147-1157.

[25] Wagner, P. A.; Kelso, P.A.; Zepp, P. G. "Type II photoprocesses of phenyl Ketones. Evidence for a biradical intermediate". *J. Am. Chem. Soc.* 1972, 94, 7480-7488.

[26] Claisen, R. A.; Serles, S. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1966, 289-290.

[27] Natarajan, A.; Mague, J. T.; Ramamurthy, V. "Asymmetric Induction during Yang Cyclization of α -Oxoamides: The Power of a Covalently Linked Chiral Auxiliary is Enhanced in the Crystalline State". *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 3568-3576.

[28] Wang, R.; Chen, C.; Duesler, E.; Mariano, P. " β -Lactam-Forming Photochemical Reactions of N-Trimethylsilylmethyl- and N-Tributylstannylmethyl-Substituted α -Ketoamides". *J. Org. Chem.*, 2004, 69, 1215-1220.

[29] Richard, W.; Chesta, C. and Whitten, D.G. "Monoalkyl α -Oxoamides: Photochemistry in Homogeneous and Microheterogeneous Media". *Photochem. and Photobiol.*, 1991, 54, 4, 557-562.

[30] Whitten, D. G.; Chesta, C. A. "Photocyclization of α -Keto-Amides in Homogeneous Solution and Aqueous Cyclodextrin Media. The Role of Zwitterions and Diradicals in Photoinduced Electron Transfer Reactions". *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 2188-2197.

-
- [31] 10^a Conferencia Latinoamericana de Fisicoquímica Orgánica. (CLAFQO). "Short-lived intermediates in the photoreaction mechanism of α -Ketoamides". Chesta, C., Florianopolis, Brasil, 2009.
- [32] Adamo C, Barone V. "Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model". *J. Chem. Phys.* 1999, 110, 6158-6169.
- [33] Becke A.D. "Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange". *J. Chem. Phys.*, 1993,98, 5648-5652.
- [34] Becke A.D. "A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories". *J. Chem. Phys.* 1993, 98, 1372-1377.
- [35] Cancès, E., Mennucci, B. "Comment on "Reaction field treatment of charge penetration", *J. Chem. Phys.* 2001, 114, 4744-4745.
- [36] Cossi M, Barone V. "Time-dependent density functional theory for molecules in liquid solutions," *J. Chem. Phys.* 2001, 115, 4708-4717.
- [37] Improta R, Barone V, Scalmani G, Frisch MJ. "A state-specific polarizable continuum model time dependent density functional theory method for excited state calculations in solution". *J. Chem. Phys.* 2006, 125,054103, 1-9.
- [38] Tomasi J, Mennucci B, Cammi R. "Quantum mechanical continuum solvation models". *Chem. Rev.* 2005, 105, 2999-3093.
- [39] *Gaussian 09, Revision A.01*, Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery JA, Jr, Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R,

Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ.. *Gaussian, Inc.*, Wallingford CT, 2009.

[40] Previtali, C. M.; Bertolotti, S.G.; Neuman, M. G.; Paste, I. A.; Rufs, A. M.; Encinas, M. V. "Laser flash photolysis study of the photoinitiator system safranin T-aliphatic amines for vinyl polymerization". *Macromolecules*, 1994, 27, 25, 7454-7458.

[41] Zhu, Z.; Crochet, J.; Arnold, M.S.; Hersam, M.C.; Ulbricht, H.; Resasco, D.; Hertel, T. "Pump-Probe Spectroscopy of Exciton Dynamics in (6,5) Carbon Nanotubes". *J. Phys. Chem. C*, 2007, 111, 19, 3831-3835.

[42] Hannaford, Peter; *Femtosecond Laser Spectroscopy*; Ed Springer, 2005, USA.

[43] Rullière, Claudie; *Femtosecond Laser Pulses, Principles and experiments*. Ed Springer, 2005. U.S.A.

[44] Baumert, T.; Engel, V.; Röttgerman, C.; Strunz, W. T.; Gerber, G. "Femtosecond pump-probe study of the spreading and recurrence of a vibrational wave packet in Na₂". *Chem. Phys. Lett.*, 1992, 191, 6, 639-644.

[45] Raymond, J. C. and DiMichele, L. "Formation of Acrylanilides, Acrylamides, and Directly from Carboxylic Acids Using Thionyl Chloride in Dimethylacetamide in the Absence of Bases". *Org. Process Res. & Dev.*, 2006, 10, 5, 944-946.

[46] Campaigne, E.; Skowronsk, G.; Rogers, R. B. "Synthesis of β -dimethylaminoethyl and α -hidroxy- β -dimethylaminoethyl derivates from organolithium compounds and tetramethoxyamide". *Synth. Commun.* 1973, 3, 5, 325-332.

-
- [47] Silva, M. T. and Netto-Ferreira, J. C. "Laser flash photolysis study of the photochemistry of isatin and N-methylisatin". *J. Photochem. Photobiol. A. Chem.*, 2004, 162, 225-229.
- [48] Morgan, J.; Greenberg, A.; Liebman, J. F. "Paradigms and paradoxes: O- and N-protonated amides, stabilization energy, and resonance energy". *Struct. Chem.* 2012, 23, 197-199.
- [49] a) Altamirano, M. S.; Bohorquez, M. V.; Previtali, C. M.; Chesta, C. A. "Proton-Transfer Mediated Quenching of Pyrene/Indole Charge-Transfer States in Isooctane Solutions". *J. Phys. Chem. A.*, 2008, 112, 589-593.
- b) Ware, W. R.; Watt, D.; Holmes, J. D. "Exciple photophysic. I. The α -Cyanonaphthalene-Olefin System". *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, 96, 7853-7860.
- c) Birks, J. B.; Dynson, D. J.; Munro, I. H. "Excimer fluorescence. II. Lifetime studies of pyrene solutions". *Proc. R. Soc. London, Ser. A.* 1963, 275, 575-588.
- [50] Chiang, Y.; Guo, H. -X.; Kresge, A. J.; Richard, J.P.; Toth, K. "The Mandelamide Keto-Enol System in Aqueous Solution. Generation of the Enol by Hydration of Phenylcarbamoylcarbene". *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 187-194.
- [51] Chiang, A.; Kresge, A. J. ; Schepp, N.P. "Temperature Coefficients of the Rates of Acid-Catalyzed Enolization of Acetone and Ketonization of Its Enol in Aqueous and Acetonitrile Solutions. Comparison of Thermodynamic Parameters for the Keto-Enol Equilibrium in Solution with Those in the Gas Phase". *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 3977-3980.
- [52] Keeffe, J. R.; Kresge, A. J.; Scheep, N. P. "Keto-Enol Equilibrium Constants of Simple Monofunctional Aldehydes and Ketones in Aqueous Solution". *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112, 4862-4868.
- [53] Chiang, Y.; Kresge, A. J.; Schepp, N. P.; Xie, R. O. "Generation of the Enol of Methyl Mandelate by Flash Photolysis of Methyl Phenyl diazoacetate in Aqueous

Solution and Study of Rates of Ketonization of This Enol in That Medium". *J. Org. Chem.*, 2000, 65, 1175-1180.

[54] Kolthoff, I. M.; Bruckenstein, S.; Chantooni, M.K. "Acid-Base Equilibria in Acetonitrile. Spectrophotometric and Conductometric Determination of the Dissociation of Various Acids". *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, 19, 83, 3927-3935.

[55] Reichardt, C.; Schroeder, J.; Vöhringer, P.; Schwarzer, D. "Unravelling the ultrafast photodecomposition mechanism of dibenzoyl peroxide in solution by time-resolved IR spectroscopy". *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2008, 10, 1662-1668.

[56] B. W. Rossiter, R. C. Baetzold (Eds), *Physical Methods of Chemistry*, Vol VIII, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1993.

[57] Requena, A y Zúñiga, J. *Espectroscopia*, Ed. Pearson, España. 2004.

[58] Almendral, F. C. *Espectroscopia Ultravioleta y Visible*, Ed. Alhambra. Madrid. 1970.

[59] Gokel, G. W.; Leevy, W.M. and Webber, M.E. "Crown ethers: sensor for ions and molecular scaffolds for materials and biological models". *Chem. Rev.* 2004, 104, 2723-2750.

[60] (a) Izatt, R. M.; Bradshaw, J.S.; Nielsen, S. A.; Lamb, J. D.; Christensen, J. J.; Sen, D. "Thermodynamic and Kinetic data for cation-macrocyclic interaction". *Chem. Rev.* 1985, 85, 271-339.

(b) Izatt, R. M.; Bradshaw, J.S.; Pawlak, K.; Bruening, R.L. "Thermodynamic and Kinetic data for macrocyclic interaction with cations and anions". *Chem. Rev.* 1991, 91, 1721-2085.

(c) Izatt, R. M.; Bradshaw, J.S.; Pawlak, K.; Bruening, R.L.; Tarbet, B. J. "Thermodynamic and Kinetic data for macrocyclic interaction with neutral molecules" *Chem. Rev.* 1992, 92, 1261-1354.

[61] Steed, W. J. "First- and second-sphere coordination chemistry of alkali metal crown ether complexes". Steed, W. J. *Coor. Chem. Rev.*, 2001, 215, 171-221.

-
- [62] Yuan, M.; Zhou, W.; Liu, X.; Zhu, M.; Li, J.; Yin, X.; Zheng, H.; Zuo, Z.; Ouyang, C.; Liu, H.; Li, Y.; Zhu, D. "A Multianalyte Chemosensor on a Single Molecule: Promising Structure for an Integrated Logic Gate". *J. Org. Chem.* 2008, 73, 5008-5014.
- [63] de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; McCoy, C. P. "Molecular Photoionic AND Logic Gate with Bright Fluorescence and "off-On" Digital Action". *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 7891-7892.
- [64] McSkimming, G.; Tucker, J. H. R.; Bouas-Laurent, H.; Desvergne, J. P. "An Anthracene-Based Photochromic System That Responds to Two Chemical Inputs". *Angew. Chem. Int.* 2000, 39, 2167-2169.
- [65] Gunnlaugsson, T.; MacDonaill, D. A.; Parker, D. "Luminescent molecular logic gates: the two-input inhibit (INH) function". *Chem. Commun.* 2000, 93-94.
- [66] Fedorov, Y. V.; Fedorova, O. A.; Schepel, N.; Alfimov, M.; Turek A. M.; Satiel, J. "Synthesis and Multitopic Complex Formation of a Photochromic Bis(crown ether) Based on Benzobis(thiazole)". *J. Phys. Chem.* 2005, 109, 8653-8660.
- [67] Kokubo, K.; Kitasaka, K.; Oshima, T. "Supramolecular Triplet Photosensitizer. Effects of the Cation Binding Mode on E-Z Isomerization of 1,2-Dichloroethylene". *Org. Lett.*, 2006, 8, no 8, 1597-1600.
- [68] Churchill, M. R.; Hollander, F. J.; Schrock, R. R. "Crystal Structure of bis(η -5-Cyclopentadienyl) chloro(neopentylidene)tantalum, $\text{Ta}(\eta\text{-}5\text{-C}_5\text{H}_5)_2(\text{CHCMe}_3)\text{Cl}$, a molecule containing a twisted neopentylidene ligand with a highly obtuse Ta-c(α)-C(β)angle". *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 2, 647-648.
- [69] Pedersen, C. J. "Crystalline Salt Complexes of Macrocyclic Polyethers". *J. Am. Chem. Soc.*, 1970, 92, 2, 386-391.
- [70] Ozutsumi, K.; Ishiguro, S. "A Precise Calorimetric Study of 18-crown-6 Complexes with Sodium, Potassium, Rubidium, Caesium, and Ammonium Ions in Aqueous Solution". *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1992, 65, 4, 1173-1175.

-
- [71] Inoue, Y.; Gokel, G. W. Eds. *Cation Binding by Macrocycles*, Marcel Dekker, New York, 1990.
- [72] Frensdorff, H. K. "Stability constants of cyclic polyether complexes with univalent cations". *J. Am. Chem. Soc.*, 1971, 93, 3, 600-606.
- [73] Amini, M. K.; Shamsipur, M. "NMR Study of the Stoichiometry, Stability, and Exchange Kinetics of Alkaline Earth Complexes with 18-crown-6 in Some Nonaqueous Solution". *J. Phys. Chem.*, 1991, 95, 9601-9604.
- [74] Shou, W.Z.; Browner, R. F. "Evaluation of Crown Ether Complexation for Elemental Electrospray Mass Spectrometry". *Anal. Chem.*, 1999, 71, 3365-3373.
- [75] Kada, T.; Usul, T. "Efficient Chromatographic Evaluation of Crown-Ether Complexation with Alkali-Metal Ions". *Anal. Chem.*, 1994, 66, 1654-1657.
- [76] Boursen, J.; Pouget, J.; Valeur, B. "Ion-Responsive Fluorescent Compounds. 4. Effect of Cation Binding on the Photophysical Properties of a Coumarin Linked to Monoaza- and Diaza-Crown Ethers". *J. Phys. Chem.*, 1993, 97, 4552-4557.
- [77] Dietrich, B.; Viout, P.; Lehn, J. -M. *Macrocyclic Chemistry*, VCH, Weinheim, 1993.
- [78] Benesi, H. A.; Hildebrand, J. H. "A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons". *J. Am. Chem. Soc.* 1949, 71, 2703-2707.
- [79] Kuntz, I. D.; Gasparro, M. D.; Johnston, Jr. and Taylor, R. P. "Molecular interactions and the Benesi-Hildebrand equation". *J. Am. Chem. Soc.* 1968, 90, 4778-4781.
- [80] Otto Exner, "Calculating equilibrium constants from spectral data: Reliability of the Benesi-Hildebrand method and its modifications". *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 1997, 39, 85-93.

-
- [81] Eberspächer, P.; Wismeth, E.; Buchner, R.; Barthel, J. " Ion association of alkaline and alkaline-earth metal perchlorates in acetonitrile *Journal of Molecular Liquids*. 2006, 129, 3-12.
- [82] Barthel, J. "Ion solvation and ion association studied by infrared and microwave methods". *Journal of Molecular Liquids*. 1995, 65/66, 177-185.
- [83] Jong, F.; Reinhoudt D.N, "*stability and reactivity of crown ethers complexes*", Academic Press, London 1981.