



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE
TECNOLOGÍA
QUÍMICA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE
VALÈNCIA
Departamento de Química
Valencia, España

INSTITUTO de TECNOLOGÍA
QUÍMICA UPV-CSIC
Valencia, España

SÍNTESIS y ESTUDIO
FOTOFÍSICO Y FOTOQUÍMICO
de FÁRMACOS NEUROLÉPTICOS

TESIS DOCTORAL



Tesis parcialmente realizada en
UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO EN HUMACAO
Departamento de Química
Humacao, Puerto Rico

Presentada por
Luis Eugenio Piñero Santiago

Dirigida por
Prof. Miguel A. Miranda Alonso
Prof. Carmelo García Ruiz

Mayo de 2014

CERTIFICACIÓN

D. MIGUEL ÁNGEL MIRANDA ALONSO

Profesor Catedrático de Química de la Universitat Politècnica de València

y

D. CARMELO GARCÍA RUIZ

Profesor Catedrático de Química de la Universidad de Puerto Rico en Humacao

CERTIFICAN: Que la presente tesis doctoral, titulada: "Síntesis Y Estudio Fotofísico Y Fotoquímico de Fármacos Neurolépticos", ha sido desarrollada por LUIS EUGENIO PIÑERO SANTIAGO, bajo su dirección conjunta, en el Departamento de Química de la UPR-Humacao y el Departamento de Química-Instituto de Tecnología Química (UPV/CSIC) de la Universitat Politècnica de València.

Prof. Miguel A. Miranda Alonso

Prof. Carmelo García Ruiz

AGRADECIMIENTOS



Antes de terminar esta aventura que comenzó en el verano del 2007, y buscar nuevos horizontes, quiero expresar mi más humilde y sincero agradecimiento a todos los partícipes. Este es un momento muy significativo en mi trayectoria profesional y quiero manifestar mi más profundo agradecimiento al grupo de personas que contribuyeron a hacerlo realidad. Estas personas no sólo contribuyeron a mi crecimiento profesional, sino que - más importante aún - me han ayudado a crecer como persona. En primer lugar quiero agradecer a mis directores de tesis, Dr. Miguel Ángel Miranda Alonso (Valencia, España) y Dr. Carmelo García Ruiz (Humacao, Puerto Rico), quienes depositaron su confianza en mi y abrieron la puerta que me permite hoy entrar a un mundo de nuevas posibilidades y retos. Gracias por su asesoramiento durante este tiempo, porque hoy se puede ver el fruto del mismo en este proyecto. Así mismo, extendiendo un afectuoso agradecimiento a la Dra. Virginie Lhiaubet-Vallet por su desprendimiento y colaboración. Primero, fue la primera persona que tocó mi vida al llegar a Valencia y siempre estuvo disponible tanto dentro como fuera del Instituto de Tecnología Química (ITQ) de Valencia.

Quiero, además, agradecer a las personas que ensamblaron las bases que hoy me permiten culminar esta etapa de mi vida. Mi más sincero agradecimiento a los compañeros que componen los Departamentos de Química de mi Alma Máter (UPR-

Humacao) y UPR-Río Piedras. En especial, quiero darle las gracias a la Dra. Margarita Ortiz (UPR-Humacao) por haberme iniciado en el mundo de la investigación subgraduada y enseñarme que el valor del aprendizaje es el que debe de motivar al científico. Agradezco al Dr. Rafael Arce Quintero (UPR - Río Piedras), quien - en colaboración con el Dr. Carmelo García - me guiaron en mi primer proyecto de investigación formal para el título de maestría y los cuales siempre han estado presente. Gracias a todos ustedes los profesores (Raquel Vergara, Jorge Castillo, Dr. Rolando Oyola, Dra. Ileana Nieves, Dra. Mirna Rivera, Dr. Antonio Alegría, Dr. Juan Suárez y Dra. Carmen López), técnicos (Melvin, Sandra, Jimmy, Pedro, César, Jeanette y Amaris) y personal administrativo (Rosa, Margarita) por su valiosa y desinteresada ayuda.

Gracias a mis profesores del programa doctoral y a los compañeros de laboratorio del ITQ. Entre otros, agradezco infinitamente a Jana, Cecilia, Mireia, Giacomo, Eurne, Pati, Miguel, Sonia, y Paco por su amistad y hospitalidad con este jibarito de Puerto Rico. Además, agradezco con especial cariño a las personas de Valencia que me hicieron sentir como en casa. Este espacio no es suficiente como para agradecer en todos sus méritos a la Sra. Mariangeles Ibañez (Residencia San José) y su familia el haberme hecho sentir valenciano. Solo espero que la vida me de una oportunidad de corresponder a su amistad. Agradezco a Nubia, Mar, y todo el personal de la Residencia San José por sus muestras de cariño. También quiero agradecer a los hermanos Noelia y José Abenza, Francisco (Elda), los cuales me brindaron compañía y muestras de solidaridad en todo momento. A los amigos José (México), Alejandro (Uruguay), Gilmar (Brasil), Antonia (Alemania) y Emilie (Francia), que hicieron que aquel verano del 2007 en Valencia fuera inolvidable. Agradezco que durante mi estancia en Valencia fueran parte de mi vida y me abrieran no sólo las puertas de su casa, sino las de su corazón.

No existe proyecto de esta índole que pueda darse sin recursos financieros. Por lo tanto, es mi deber agradecer el financiamiento de la Universidad de Puerto Rico mediante la beca presidencial durante los primeros dos años de este proyecto. Gracias a la aportación económica de los programas de investigación NIH-MBRS (Grant SO6M08216) y del gobierno español se pudo culminar este trabajo. Gracias a todo el personal de la UPRH, la UPR-RP y el ITQ que administraron estos fondos. Gracias por su gran entrega, esfuerzo y compromiso que resultaron en el bienestar de todos los que como yo forman parte de ella.

Para culminar, y no por ser menos importante, mi más profundo agradecimiento se extiende a las personas que han sido el motor y pilar de mi vida: mi familia. Ellos son los que día a día me han impulsado a conseguir las metas y objetivos que me he propuesto y, en solidaridad, me han permitido robarle parte de su tiempo para dedicárselo a este proyecto. Ellos son los que han reído y llorado junto a mi cada instante durante esta aventura. En palabras de Bertolt Brecht, ellos son los imprescindibles.



TABLA DE CONTENIDO

S&A	SÍMBOLOS & ABREVIACIONES	V
F&T	LISTA DE FIGURAS y TABLAS	VIII
CAPÍTULO 1- OBJETIVOS e INTRODUCCIÓN		1
1.1)	Trasfondo y Relevancia.....	1
1.2)	Planteamiento del Problema.....	8
1.3)	Objetivo	
1.3.1)	Determinar las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de zCPTX en diferentes microambientes.....	10
1.3.2)	Determinar las propiedades fotofísicas de 2-clorotioxantona.....	11
1.3.3)	Determinar si Levomepromazina o sus fotoproductos inducen la fotoformación de dímeros de timidina.....	12
1.4)	Conceptos Fundamentales	
1.4.1)	Fotofísica.....	13
1.4.2)	Fotocinética.....	21
1.4.3)	Identificación de Intermedios de Corta Vida.....	24

1.5) Propiedades Fotofísicas de los Neurolépticos Tricíclicos	
1.5.1) Propiedades del Estado Raso.. .. .	26
1.5.2) Propiedades de los Estados Excitados Singlete y Triplete.. .. .	29

CAPÍTULO 2 - MÉTODOS Y MATERIALES	35
--	-----------

2.1) Reactivos Genéricos.. .. .	35
2.2) Actinometría.. .. .	36
2.3) Estudios Espectrofotométricos.. .. .	37
2.4) Estudios Cromatográficos	
2.4.1) Cromatografía de Gas con Espectrometría de Masas (GC-MS) ...	38
2.4.2) Cromatografía Líquida de alta Eficiencia- HRTIS (UPLC-HRTIS)	39
2.5) Fluorescencia y Rendimiento Cuántico de Fluorescencia	39
2.6) Fotólisis en Estado Estacionario	40
2.7) Fotólisis de Destello Láser (FDL).. .. .	41
2.8) Cálculos Teóricos	44
2.9) Síntesis de 2-cloro-10-metilenotioxanteno (CMTX <u>3d</u>)	44
2.10) Síntesis de ()-2-cloro-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil) fenotiazina (Clorotrimепразина, CTP <u>4b</u>)	45
2.11) Síntesis de ()-2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil) fenotiazina (MTP <u>4c</u>)	46
2.12) Síntesis de 5-óxidofenotiazina (PHSO <u>1d</u>)	48
2.13) Síntesis de 2-metoxi-5-óxidofenotiazina (MOPHSO <u>1e</u>)	49
2.14) Síntesis de 5-óxido-2-triflurometilpromazina (TFMPZSO <u>2f</u>)	50
2.15) Síntesis de promazina-sulfóxido (PZSO <u>2d</u>)	50
2.16) Síntesis de la sal de maleato de ()-2-metoxi-10- (3-dimetilamino-2-metilpropil)fenotiazinas	51
2.17) Síntesis de 2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil) -5-óxidofenotiazina (MTPSO <u>4e</u>)	52

2.18) Síntesis de la sal de maleato de 2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)-5-óxidofenotiazina	53
2.19) Síntesis del N-óxido de MTP (MTPNO <u>4f</u>)	54
2.20) Síntesis de 3-(2-cloro-9-metoxi-9H-tioxanten-9-il)-N,N-dimetil propan-1-amina (CTxOCH ₃ , <u>3g</u>)	57
2.21) Síntesis 3-(2-cloro-9-etoxi-9H-tioxanten-9-il)-N,N-dimetilpropan-1-amina (CTxOEt <u>3h</u>)	58

CAPÍTULO 3 - RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
--	-----------

3.1) Fotofísica de Cloroprotixeno (zCPTX <u>3b</u>)	61
3.2) Fotoquímica de zCPTX <u>3b</u> en acetonitrilo	72
3.3) Fotoquímica de zCPTX <u>3b</u> en metanol	80
3.4) Fotoquímica de zCPTX <u>3b</u> en etanol	89
3.5) Fotoquímica de zCPTX-HCl en solución tampón de fosfato (pH = 7.4) ..	92
3.6) Fotofísica de CTX <u>3c</u> en soluciones acuosas de acetonitrilo	97
3.7) Fotofísica y Fotoquímica de () 2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metil)-fenotiazina (MTP <u>4c</u>) en solución tampón de fosfato con pH = 7.4... ..	111
3.8) Fotofísica y fotoquímica de MTP <u>4c</u> en metanol	122
3.9) Fotofísica y fotoquímica de () 2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metil)-fenotiazina (MTP <u>4c</u>) en acetonitrilo	131
3.10) Fotofísica de MTPSO <u>4e</u>	136
3.11) Fotoquímica de MTPSO <u>4e</u> en PBS (pH = 7.4)	145
3.12) Fotofísica y fotoquímica de MTPSO <u>4e</u> en PBS (pH = 7.4) en presencia de Timidina (Thd)	149
3.13) Fotofísica de Cloropromazina-Sulfona (CPZSO ₂ <u>2g</u>)	155

CAPÍTULO 4 - CONCLUSIONES	159
4.1) Propiedades Generales de los Derivados de Promazina	
4.1.1) Conformaciones del Estado Electrónico Fundamental (S_0).. ..	159
4.1.2) Conformaciones de los Estados Excitados Singlete y Triplete.. ..	160
4.1.3) Espectro de absorción de los derivados fenotiazínicos.. .. .	162
4.1.4) Propiedades del estado singlete excitado y fluorescencia.. ..	163
4.1.5) Rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_F).. .. .	164
4.1.6) Tiempo de vida de fluorescencia (τ_F)	165
4.1.7) Coeficiente de absorción molar del estado triplete excitado (ϵ_T), rendimiento cuántico (ϕ_T) y tiempo de vida (τ_T)... .. .	167
4.2) Foto-propiedades del Cloroprotixeno (zCPTX <u>3b</u>)	170
4.3) Foto-propiedades de 2-clorotioxantona (CTX)	173
4.4) Foto-propiedades de MTP	175
R/S/R RESUMEN/SUMMARY/RESUM	179
R REFERENCIAS	189
LP LISTA DE PUBLICACIONES.. .. .	201



SÍMBOLOS & ABREVIACIONES

f	Fuerza del oscilador
ΔH_f	Entalpía de formación
ϵ	Absortividad molar
η	Eficiencia fotoquímica
τ_f	Tiempo de vida
ϕ	Rendimiento cuántico
μ	Momento dipolar
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ADT	Antidepresivos tricíclicos
APZ	Acepromazina
BP	Benzofenona
CDCl_3	Cloroformo-deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
CPH	2-Clorofenotiazina
CPTX	Cloroprotixeno
CPZ	Cloropromazina
CTX	2-Clorotioxantona
DMF	Dimetilformamida
OD	Diferencias en la absorción
ESB	Estilbeno
τ	Coefficiente de absorción molar
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
FDL	Fotólisis de destello láser

FeCl ₃	Cloruro de hierro (III)
FIND	Fenilindeno
FP	Flufenazina
FPX	Flupentixol
GC-MS	Cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas
H ₂ O ₂	30% Peróxido de hidrógeno
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HRMS [MH ⁺]	Espectrometría de masa de alta resolución
HX	Hexano
I ₀	Flujo de fotones
I _{ABS}	Luz absorbida
ISC	Cruce intersistémico (por sus siglas en inglés)
K ₂ C ₂ O ₄	Oxalato de potasio
K ₃ [Fe C ₂ O ₄]*3H ₂ O	Ferrioxalato de potasio
KOH	Hidróxido de potasio
LPZ	Levomepromazina (Ver MTP)
m-CPBA	Ácido meta-cloroperbenzoico
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
MgSO ₄	Sulfato de magnesio
MTP	Metotrimeprazina (Ver LPZ)
n-BuLi	n-Butil litio
N ₂ O	Óxido nitroso
Na ₂ HPO ₄	Fosfato disódico
NaH	Hidruro de sodio
NaN ₃	Azida de sodio
NaOAc	Acetato de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NP	Naftaleno
PBS/pH	Solución tampón de fosfato (por sus siglas en inglés) con valor de pH especificado
PCP	Proclorperazina
PH	Fenotiazina
PZ	Promazina

RMN	Resonancia Magnética Nuclear
S ₁	Estado excitado singlete
SDS	Dodecil sulfato de sodio
SSRI	Serotonina
T ₁	Estado excitado triplete
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
TFMP	2-Trifluorometilperazina
TFMPH	2-Trifluorometilfenotiazina
TFMPZ	2-Trifluorometilpromazina
Thd	Timidina
THF	Tetrahidrofurano
TMPZ	2-Tiometilpromazina
TR	Tioridazina
TX	Tioxantona
UPLC-MS/MS	Cromatografía Líquida de alta Eficiencia- MS/MS
zFPTX	z-Flupentixol



LISTA DE FIGURAS y TABLAS

Figura 1.1	Estructuras, numeración y abreviaciones de los compuestos estudiados en este trabajo	05
Figura 1.2	Diagrama de Jablonski	17
Figura 1.3	Mecanismo de desactivación por transferencia de energía y fotorreacción	20
Figura 1.4	Transiciones electrónicas $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$	21
Figura 1.5	Diagrama de Jablonski de la Ec. (1.5).... .. .	23
Figura 2.1	Cromatograma GC-MS obtenido para MTPNO <u>4f</u>	55
Figura 2.2	Espectros de masa de los productos de descomposición de MTPNO	57
Figura 3.1	Metabolitos de zCPTX <u>3b</u>	62
Figura 3.2	Espectros de absorción de zCPTX <u>3b</u> base libre en (●) hexano, (∇) EtOH, (■) MeOH y (◇) MeCN	64
Figura 3.3	Espectros de emisión de fluorescencia de zCPTX base libre en diferentes disolventes: (●) hexano, (∇) EtOH, (■) MeOH y (◇) MeCN	66
Figura 3.4	Emisión de fluorescencia a temperatura de salón (●) y a 77 K (∇) de zCPTX <u>3b</u>	67

- Figura 3.5 Fotólisis de destello láser ($\lambda_{exc} = 308 \text{ nm}$, MeCN, nitrógeno) de zCPTX-HCl. Espectro de absorción obtenido a: (●) 0.01 μs , (▼) 0.03 μs , (Δ) 0.04 μs y (■) 0.05 μs después del pulso de láser. DERECHA: Cinética de desactivación del intermedio a 360 nm en la fotólisis de destello laser de CPTX-HCl en MeCN bajo condiciones anaeróbicas 68
- Figura 3.6 Espectro de absorción (●), excitación (▼) y emisión (■, escala derecha) de 2-cloro-10-metilenotioxanteno (CMTX 3d) en acetonitrilo 69
- Figura 3.7 Fotólisis de destello láser de CMTX 3d en acetonitrilo bajo condiciones anaeróbicas a 355 nm: $A_{355} = 0.13$; $E \sim 19 \text{ mJ/pulso}$; (●) 0.049 s, (▼) 0.098 s, (■) 0.25 s y (◆) 0.49 s 70
- Figura 3.8 Intermedio propuesto por Wan para la formación de CTX 71
- Figura 3.9 Cinética de la fotoisomerización de CPTX 3b base libre en MeCN bajo condiciones anaeróbicas 72
- Figura 3.10 Espectro de absorción de zCPTX (●) y eCPTX (▼) en MeCN 73
- Figura 3.11 Espectro de absorción de zFPTX (●) y eFPTX (▼) en MeCN 73
- Figura 3.12 Espectro de absorción de la fotólisis de $1.93 \times 10^{-5} \text{ M}$ zCPTX 3b en acetonitrilo bajo condiciones anaeróbicas con 313 nm. Intervalo de tiempo 600 s entre cada espectro, con $t_{(a)} = 0 \text{ s}$ 74
- Figura 3.13 Espectro de absorción de los fotoproductos de zCPTX 3b en MeCN bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. INSERTADO: Cromatograma de (○) CTX, 6.53 min; (▼) zCPTX, 7.47 min; y (□) eCPTX, 8.01 min 76
- Figura 3.14 Cinética de la formación de CTX 3c por irradiación directa de zCPTX 3b o por fotosensibilización con CTX. Fotólisis de 0.019 mM zCPTX en acetonitrilo a 313 nm: (Δ) N_2 , (◇) Aire. Fotólisis de 0.0069 mM CTX y 0.0296 mM zCPTX en acetonitrilo a 400 nm: (○) N_2 , (□) Aire 77
- Figura 3.15 Fotólisis de 0.0069 mM CTX 3c y 0.0296 mM zCPTX 3b base libre en acetonitrilo bajo condiciones anaeróbicas irradiando a 400 nm. $A_{400} = 0.0124$. Lámpara de 1000 Vatios. $t_{(a)} = 0 \text{ s}$ y el intervalo de tiempo entre espectros es 600 s 77

Figura 3.16	Mecanismo propuesto para la formación de CTX <u>3c</u>	78
Figura 3.17	Cinética de ³ CTX* en presencia de zCPTX en MeCN bajo condiciones anaeróbicas a 630 nm. (●) 0.05 mM CTX, t = 14.6 s, r ² = 0.9980 ; (∇) 0.05 mM CTX and 0.50 mM zCPTX, t = 0.17 s, r ² = 0.9967 Energía del láser 5.0 mJ/pulso a 355 nm	79
Figura 3.18	Espectros de absorción de zCPTX (●), zCPTX-HCl (∇) y CTX (■) en MeOH.. .. .	80
Figura 3.19	Fotólisis de destello láser (λ _{exc} = 308 nm, MeOH, nitrógeno) de zCPTX <u>3b</u> . Espectro de absorción de obtenido a: (●)0.01 μs, (●) 0.03 μs, (▼) 0.04 μs y (Δ) 0.06 μs después del pulso de láser.. .. .	82
Figura 3.20	Espectros de absorción de la fotólisis de 0.0163 mM zCPTX en MeOH bajo condiciones aeróbicas con 313 nm. Intervalo de tiempo 600 s entre cada espectro con t _(a) = 0 s. INSERTADO: Cromatograma de la fotólisis anaeróbica de 0.024 mM zCPTX en MeOH durante 30 min.. .. .	83
Figura 3.21	Fotohidratación de alquenos.. .. .	84
Figura 3.22	Mecanismo para la formación de CTX en MeCN en atmósfera de nitrógeno.	85
Figura 3.23	Fotorreacción de zCPTX en MeOH.. .. .	86
Figura 3.24	Derivados de tioxantenol sintetizados por Bovincino.. .. .	86
Figura 3.25	Espectro de absorción en MeOH de: (●) 0.0018 mM CTX, (∇) 0.0076 mM CPTX, (■)0.0096 mM fotoproducto y (◇) 0.0096 mM 2-metoxi-9-(3-dimetilaminopropil) tioxanteno-9-ol.. .. .	87
Figura 3.26	Curva cinética de la fotólisis de zCPTX en MeOH irradiando a 313 nm. La longitud de onda para la cinética es 230 nm. (○) Nitrógeno, (●) Aire.. .. .	88
Figura 3.27	Espectro de absorción de zCPTX (●) y CTX (∇) en etanol.. .. .	89
Figura 3.28	Fotólisis de zCPTX base libre en EtOH bajo condiciones aeróbicas a 313 nm (A ₃₁₃ = 0.070). Los intervalos de irradiación son 600 s con t _(a) = 0 s. RECUADRO: Curva para A = -0.61 + 0.61e ^{-0.0001t} (r ² = 0.9999).. .. .	90

- Figura 3.29 Espectro de absorción en etanol de: (∇) 0.0128 mM CPTX, (\bullet) 0.0025 mM CTX y (\blacksquare) 0.0149 mM los fotoproductos... .. 91
- Figura 3.30 Fotólisis de 0.028 mM zCPTX base libre en EtOH bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm ($A_{313} = 0.073$). Los intervalos de irradiación son 600 s con $t_{(a)} = 0$ s. RECUADRO: Curva para $OD = -0.70 + 0.75e^{-0.0001t}$ ($r^2 = 0.9999$).. .. 92
- Figura 3.31 Espectro de absorción (\blacktriangle), excitación (\bullet) y emisión (∇) de zCPTX-HCl en solución tampón de fosfato (PBS/7.4).. .. 93
- Figura 3.32 Espectros de emisión de zCPTX-HCl en PBS/7.4 a distintas longitudes de onda de excitación... .. 94
- Figura 3.33 Espectro de absorción de la fotólisis a 313 nm de 0.0188 mM zCPTX-HCl en PBS/7.4 bajo condiciones anaeróbicas. Intervalo de tiempo de 600 s entre cada espectro [$t_{(a)} = 0$ s].. .. 95
- Figura 3.34 Espectro de absorción de la fotólisis a 313 nm de 0.036 mM zCPTX-HCl en PBS/7.4 bajo condiciones aeróbicas. Intervalo de tiempo de 600 s entre cada espectro [$t_{(a)} = 0$ s]... .. 96
- Figura 3.35 Cinética de la fotoquímica de zCPTX-HCl en PBS/7.4 bajo nitrógeno (\bullet) y aire (\circ).. .. 96
- Figura 3.36 Espectros de absorción de CTX 3c en mezclas de agua/MeCN:(\bullet) MeCN, (\blacktriangledown) MeCN/Agua (4:1), (\blacksquare) MeCN/Agua (2:1), (\blacklozenge) MeCN/Agua (1:1) y (\blacktriangle) TX (MeCN). INSERTADO: Espectro en la región 330 - 430 nm.. .. 99
- Figura 3.37 Espectros normalizados de emisión de CTX en soluciones acuosas de acetonitrilo: (\bullet) 100% MeCN, (\circ) MeCN/Agua (4:1), (\blacktriangledown) MeCN/Agua (2:1), (Δ) MeCN/Agua (1:1) y (\blacksquare) MeCN/Agua.. (1:4) 102
- Figura 3.38 Espectros normalizados de emisión de CTX en soluciones de MeCN/agua [(\blacksquare) excitación en MeCN]: (\bullet) MeCN, (\bullet) MeCN:H₂O (4:1), (\blacktriangledown) MeCN:H₂O (2:1), (\blacktriangle) MeCN:H₂O (1:1), y (\blacksquare) MeCN:H₂O (1:4).. .. 104

Figura 3.39	Curva de desactivación de la fluorescencia de CTX en solución de MeCN / H ₂ O (2:1) (línea azul), el ajuste mono-exponencial (línea roja, $\chi^2 = 1.109$), el IRF (línea negra) y los residuales correspondientes (inferior)...	104
Figura 3.40	Efecto del % de agua en el rendimiento cuántico de fluorescencia (■), el rendimiento cuántico del triplete (▲), y el tiempo de vida del triplete (●, escala de la derecha). Los valores para 100% de agua son extrapolados..	105
Figura 3.41	Espectros de absorción de los intermedios de una solución 0.050 mM CTX en N ₂ -MeCN después de un pulso de 355 nm ($E < 3$ mJ): (●) 0.83 ms, (○) 1.22 ms, (▼) 2.02 ms, y () 4.77 ms. RECUADRO: curvas de caída de los intermedios a 320 nm (●) y 630 nm (○)...	108
Figura 3.42	Dependencia de la absorción con la energía láser para CTX en MeCN (○, $r^2 = 0.9885$), TX en MeCN (●, $r^2 = 1.0000$, CTX en MeCN/H ₂ O (4:1) (▼, $r^2 = 0.9749$), y CTX en MeCN/H ₂ O (1:1) (Δ, $r^2 = 0.9802$)..	109
Figura 3.43	Espectro de absorción (▲), excitación (●) y emisión (∇) de LPZ <u>4c</u> en PBS 7.4...	114
Figura 3.44	Espectro de absorción de la fotólisis de 0.035 mM MTP <u>4c</u> en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. Se uso un intervalo de tiempo de 60 s con $t_{(a)} = 0$ s. INSERTADO: Diferencias de los espectros...	111
Figura 3.45	Espectros de absorción de MTP <u>4c</u> (∇) y MTPSO <u>4e</u> (●) en PBS 7.4..	115
Figura 3.46	Espectros de emisión de la fotólisis de 0.072 mM MTP <u>4c</u> en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas: $\lambda = 315$ nm, rejilla = 2.5 nm y tiempo de integración = 0.10 s. El intervalo de tiempo entre espectros es 60 s, donde $t_{(a)} = 0$ s...	116
Figura 3.47	Espectro de emisión de fluorescencia de (●) MTP <u>4c</u> y (∇) MTPSO <u>4e</u> en PBS7.4...	116

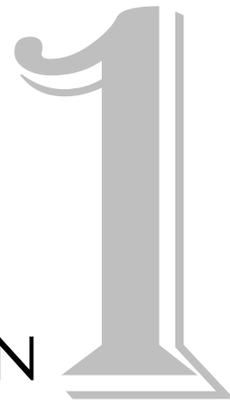
Figura 3.48	Cinética de la fotodegradación de MTP <u>4c</u> (●) y la fotoformación de MTPSO <u>4e</u> (▲) en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm.. .. .	117
Figura 3.49	Espectro de absorción de la fotólisis de 0.031 mM MTP <u>4c</u> en PBS 7.4 bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm. Se utilizó la técnica del vacío para eliminar el oxígeno. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.. .. .	118
Figura 3.50	Espectro de absorción de la fotólisis de 0.031 mM MTP en PBS 7.4 a 313 nm. La solución fue burbujeada con nitrógeno por 10 minutos. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.. .. .	118
Figura 3.51	Espectro de absorción de la fotólisis de 0.024 mM PZ-HCl en PBS 7.4 a 313 nm. La solución fue burbujeada con nitrógeno por 10 min. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.. .. .	120
Figura 3.52	Desactivación del intermedio a 533 nm formado en la fotólisis de 0.035 mM MTP en PBS 7.4, luego de burbujear la solución con N ₂ por 10 minutos. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.. .. .	120
Figura 3.53	Mecanismo para la formación del sulfóxido de MTP <u>4c</u> o PZ <u>2a</u> en PBS pH=7.4.. .. .	121
Figura 3.54	Cromatograma de MTP <u>4c</u> en MeOH (—), MeCN (●) y PBS 7.4 (■). En el recuadro puede verificarse que MTP se comporta igual en MeCN y en agua.. .. .	122
Figura 3.55	Espectro de absorción (▲), excitación (●) y emisión (▽) de MTP <u>4c</u> en MeOH y espectro de fosforescencia (■) en etanol.. .. .	124
Figura 3.56	Espectro de absorción de MTP <u>4c</u> (▽) y MOPH <u>1c</u> (●) en MeOH.. .. .	124
Figura 3.57	FDL de 0.73 mM MTP($\lambda_{exc} = 355$ nm, MeOH, N ₂ , E = 5.7 mJ/pulso). Espectro de absorción obtenido a: (●) 3.96 s, (○) 9.90 s, (▼) 19.8 s y (Δ) 49.5 s. RECUADRO: Curva cinética a 480 nm ($k_{obs} = 3.11 \times 10^4$ s ⁻¹ , t = 32.2 s, r ² = 0.9924).... .. .	126

Figura 3.58	FDL de 0.28 mM MTP y 0.28 mM FIND ($\lambda_{exc} = 355$ nm, MeOH, N_2 , $E = 2.5$ mJ/pulso). Espectro de absorción obtenido a: (●) 0.099 s, (▽) 0.49 s, (■) 0.99 s y (◇) 4.95 s. RECUADRO: Curvas cinéticas de la desactivación del $^3MTP^*$ a 480 nm (—, rojo) y del crecimiento de $^3FIND^*$ a 380 nm (—, azul)...	127
Figura 3.59	Fotólisis de 0.035 mM de MTP <u>4c</u> en MeOH bajo condiciones aeróbicas. El intervalo de tiempo entre cada espectro es de 300 s con $t_{(a)} = 0$ s...	128
Figura 3.60	Espectro de absorción de MTP <u>4c</u> (▽) y MTPSO <u>4e</u> (●) en MeOH..	128
Figura 3.61	Espectros de emisión de la fotólisis de 0.035 mM MTP <u>4c</u> en MeOH bajo condiciones aeróbicas: (●) 0 s, (▼) 300 s, (■) 600 s, (◆) 900 s, (▲) 1500 s, (◇) 2100, (●) 2700 s y (▽) 3600 s...	129
Figura 3.62	Cromatograma de la fotólisis de MTP <u>4c</u> en MeOH bajo condiciones aeróbicas por 10 minutos...	131
Figura 3.63	Espectro de absorción de MTP <u>4c</u> (●) y MTPSO <u>4e</u> (▼) en MeCN..	132
Figura 3.64	FDL de MTP ($\lambda_{exc} = 355$ nm, MeCN, N_2 , $E = 0.75$ mJ/pulso) a: (●) 9.9 s, (○) 29.7 s, (▼) 59.4 s, (Δ) 247 s después del pulso del Láser. RECUADRO: Curva de desactivación del intermedio a 470 nm, con $E = 2.77$ mJ/pulso...	133
Figura 3.65	Espectro de absorción de la fotólisis de 0.040 mM MTP en MeCN bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. Intervalo de tiempo de 600 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s...	135
Figura 3.66	Espectro de absorción de la fotólisis de 0.035 mM MTP en MeCN bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm. Intervalo de tiempo 600 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s...	135
Figura 3.67	Cinética de la fotodegradación de MTP en MeCN bajo condiciones aeróbicas (○) y anaeróbicas (●)...	136
Figura 3.68	Espectros de absorción de MTPSO <u>4e</u> en MeCN (●), MeOH (▽) y PBS/7.4 (■)...	139
Figura 3.69	Espectros de emisión de fluorescencia de MTPSO en MeCN (●), MeOH (▽), PBS/7.4 (■). Espectros de emisión de fosforescencia en etanol a 77 K de (▲)MTPSO y (◇) MOPHSO...	140

- Figura 3.70 FDL ($\lambda_{exc} = 355 \text{ nm}$, MeCN, N_2 , $E > 10 \text{ mJ/pulso}$) de 0.70 mM MTPSO. Espectros de absorción obtenido a: (●) 0.99 s, (▽) 3.96 s, (■) 9.90 s, (◇) 54.5 s después del pulso del Láser... .. 142
- Figura 3.71 FDL anaeróbica de 0.71 mM MTPSO y 0.70 mM Fenilindeno en MeCN (N_2 , $A_{355 \text{ nm}} = 0.19$, $E = 26 \text{ mJ/pulso}$) luego del pulso a: (◆) 0.20 s, (▽) 0.99 s, (■) 2.47 s, (◇) 4.95 s. RECUADRO: FDL anaeróbica de 0.71 mM MTPSO y 0.70 mM FIND en MeCN (N_2 , $A_{355} = 0.19$, $E \leq 2 \text{ mJ/pulso}$).. .. 143
- Figura 3.72 FDL ($\lambda_{exc} = 355 \text{ nm}$, MeOH, N_2 , $E > 10 \text{ mJ/pulso}$) de 0.50 mM MTPSO. Espectros de absorción obtenido a: (●) 1.98 s, (○) 9.90 s, (▼) 29.7 s, (▽) 79.2 s después del pulso del Láser. RECUADRO: Curvas de desactivación de los intermedios a (—, negro) 480 y (—, rojo) 560 nm.. .. 143
- Figura 3.73 Fotólisis de destello láser ($\lambda_{exc} = 355 \text{ nm}$, N_2 , $E > 10 \text{ mJ/pulso}$) de MTPSO en diferentes disolventes. Espectros de absorción obtenido luego de 1.98 s después del pulso del Láser: (■) MeOH, (▽) MeCN y (◆) PBS.. .. 144
- Figura 3.74 Espectros de absorción de la fotólisis de 0.0365 mM MTPSO en PBS/7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. Se usó un intervalo de tiempo de 600 s con $t_{(a)} = 0 \text{ s}$ 147
- Figura 3.75 Espectros de absorción de la fotólisis de 0.025 mM MTPSO en PBS/7.4 bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm. Se usó un intervalo de tiempo de 600 s con $t_{(a)} = 0 \text{ s}$ 147
- Figura 3.76 Fotocinética de la fotólisis de MTPSO en PBS 7.4 bajo condiciones (●) aeróbicas y (○) anaeróbicas midiendo la absorbancia a 250 nm... .. 148
- Figura 3.77 Espectros de emisión de la fotólisis de 0.010 mM MTPSO en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm ($\lambda_{exc} = 313 \text{ nm}$, monocromador = 2.5 nm, integración = 0.1 s)... .. 149

Figura 3.78	Espectros de absorción de 0.025 mM MTPSO en PBS/7.4 titrando con Thd. Los espectros de absorción teóricos de MTPSO y Thd se determinan con los coeficientes de absorptividad molar correspondientes y las concentraciones en la solución de titración	150
Figura 3.79	Espectros de absorción de (●) MTPSO y (▽) Thd en PBS/7.4..	151
Figura 3.80	Espectros de emisión de fluorescencia de 0.025 mM MTPSO, titrando con Thd. Concentraciones de Thd (mM): (●) 0.00, (■) 0.017, (○) 0.033, (□) 0.050, (◇) 0.066, (◆) 0.083, (▲) 0.099, (▼) 0.115..	152
Figura 3.81	Espectros de absorción de la fotólisis estacionaria de 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd en PBS/7.4 bajo condiciones anaeróbicas (N ₂). A ₃₁₃ = 0.064..	153
Figura 3.82	Cromatogramas HPLC de (—, rojo) 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd (—, amarillo) 0.025 mM MTP y 0.11 mM Thd, (—, negro) Luego de fotolizar 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd bajo nitrógeno y (—, marrón) Luego de fotolizar 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd bajo aire..	154
Figura 3.83	Espectros de absorción de los fotoproductos de MTPSO en presencia de Thd. (●) 3.27 minutos, (▲) 5.78 minutos, (■) 8.41 minutos y (◆) 9.14 minutos..	154
Figura 3.84	Espectros de absorción de la fotólisis estacionaria de 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd en PBS/7.4 bajo condiciones aeróbicas (aire). A ₃₁₃ = 0.063..	155
Figura 3.85	Espectro de (■) absorción, (●) excitación y (▼) emisión de CPZSO ₂ en MeOH..	156
Figura 3.86	Espectro de absorción de (●) CPZSO en etanol y (▽) CPZSO ₂ en MeOH....	156
Figura 3.87	Espectro de emisión de fluorescencia de (▼) CPZSO en etanol y (●) CPZSO ₂ en MeOH..	157

Tabla 1.1	Propiedades del estado raso y los estados excitados de las conformaciones más estables [$S_0(1)$ y $S_0(2)$] de los derivados de fenotiazinas.. .. .	27
Tabla 1.2	Propiedades de emisión de los derivados de las fenotiazinas.. ..	30
Tabla 1.3	Propiedades del estado triplete de los derivados de fenotiazinas... ..	32
Tabla 3.1	Propiedades fotofísicas de zCPTX-base libre <u>3b</u>	65
Tabla 3.2	Propiedades fotofísicas de zCPTX-HCl	93
Tabla 3.3	Propiedades fotofísica de CTX en soluciones acuosas de MeCN ..	100
Tabla 3.4	Propiedades fotofísicas de MTP <u>4c</u>	112
Tabla 3.5	Propiedades fotofísicas de MTPSO <u>4e</u>	136



OBJETIVOS e INTRODUCCIÓN

1.1) Trasfondo y Relevancia

La esquizofrenia es una enfermedad mental sumamente incapacitante que afecta el pensamiento, las emociones y la conducta del paciente. Esta condición tiene una prevalencia de por vida de aproximadamente 1%.^[1] Los fármacos antipsicóticos, también llamados neurolépticos, se caracterizan por mostrar su eficacia máxima en el tratamiento de algunas psicosis orgánicas, tóxicas e idiopáticas de naturaleza esquizofrénica. Estos fármacos se dividen en dos grupos: (a) antipsicóticos típicos (primera generación) y (b) antipsicóticos atípicos (segunda generación). El término neuroléptico proviene del síndrome farmacológico complejo que estos compuestos producen en los humanos y otros animales. Cuando los antipsicóticos se administran a personas no psicóticas, estos producen el denominado síndrome neuroléptico. Este síndrome se caracteriza por una quietud emocional, retraso psicomotor, indiferencia afectiva, y sueño aparente. La persona sufre una desaferentización sensorial (se bloquean los estímulos externos, se comporta en forma tranquila y sosegada), aunque ésta es capaz de responder y atender a estímulos suficientemente fuertes.^[2]

En el año 2002 la Organización Mundial de la Salud estimó que 154 millones de personas en el mundo sufrían de depresión. La carga económica y social que representan las enfermedades depresivas ha estado en un continuo aumento.^[3-4] De hecho, la depresión es una de las enfermedades más frecuentes en la población adulta de los Estados Unidos (EE.UU.) y Europa. Aproximadamente 19 millones de adultos estadounidenses (10% de la población mayor de 18 años) tiene un trastorno depresivo.^[5] El costo económico de la depresión en los (EE.UU.) en 1990 fue estimado en \$44 billones.^[6] Esta cantidad incluye solamente los costos directos del tratamiento y no los costos asociados a suicidios y la pérdida de productividad en el lugar de trabajo. En efecto, se estima que para el año 2020, la depresión ocupará el segundo lugar en términos del costo global de enfermedades.^[7] Después de que el Instituto Nacional de Salud Mental de los EE.UU. iniciara el programa de reconocimiento y tratamiento de la depresión, alrededor de un 80-90% de los pacientes depresivos son tratados exitosamente con antidepresivos.^[8] Los fármacos antidepresivos son el apoyo principal para el tratamiento de la depresión y aproximadamente 65% de los pacientes responden positivamente a la terapia con antidepresivos e, incluso, se recuperan completamente.

En 2010, el mercado mundial de los fármacos antipsicóticos obtuvo un margen de ganancias de más de \$1.8 billones. En este grupo, los productos líderes en venta corresponden al grupo de los antipsicóticos atípicos con más de \$1.5 billones en ganancias. Los antipsicóticos atípicos de mayor comercialización en España incluyen amisulprida, clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidona y ziprasidona. En marzo de 2004, la Agencia Española de Medicamentos alertó sobre los problemas de seguridad detectados en los antipsicóticos atípicos olanzapina y risperidona. Cuando se utilizan en pacientes ancianos con trastornos psicóticos y/o de conducta asociados a demencia, estos medicamentos aumentan el riesgo de accidentes cerebro-vasculares (ACV). En enero de 2005, el Ministerio de Sanidad y Consumo de España decidió que

los pacientes mayores de 75 años deberían de mantenerse bajo control antes y durante la dispensación de antipsicóticos atípicos.

Los antidepresivos se usan, en términos generales, para aliviar el dolor o la fiebre, prevenir los ataques epilépticos y tratar la ansiedad, la manía, la depresión y la esquizofrenia. Aunque hoy día existen más de 20 fármacos antidepresivos aprobados por la FDA, continúa la búsqueda de fármacos más eficaces que tengan menos efectos secundarios perjudiciales.^[9] Durante la última década, se han desarrollado nuevas clases de fármacos antipsicóticos, los que - a pesar de su diversidad estructural - comparten la capacidad para modular la neurotransmisión y producir efectos adversos indeseables. Los antidepresivos tricíclicos (ADT) de la primera generación siguen siendo una opción importante para el tratamiento farmacológico de la depresión. Estos habían sido substituidos por inhibidores selectivos a la serotonina (SSRI) como medicamentos antidepresivos de primera línea, principalmente por la tolerabilidad y seguridad de los nuevos compuestos.^[10-11] Sin embargo, estos nuevos antidepresivos no han probado ser más eficaces que los ADT, especialmente en el tratamiento de la depresión severa.^[10,12] Sin embargo, todos los antidepresivos tienen varios efectos adversos, los que pueden ser tan graves que no se pueden prescribir a ciertos pacientes. Dependiendo de la respuesta específica del paciente y la estructura molecular del fármaco, los antidepresivos pueden producir disquenia tardía, parkinsonismo, irregularidades menstruales, hipertensión, cataratas, alergia y fotosensibilización.^[13-16]

La fotosensibilización se produce por reacciones anormales en la piel de animales y humanos inducidas por radiación de ciertas longitudes de onda. Estas ocurren, específicamente, cuando la luz solar incide en la piel en presencia de compuestos fotosensibles (endógenos o exógenos), como fármacos, metabolitos de fármacos o sustancias fotodinámicas (colorantes).^[17-18] Este tipo de fotorreacciones se afectan por

factores como: la estructura molecular del fármaco, el lugar donde se localiza el fármaco en la piel, la concentración del fármaco, la frecuencia de medicación, la longitud de onda de la luz, la intensidad de la luz, el grado de pigmentación de la piel por la melanina, y el estado inmunológico de la persona afectada.^[19] La fotosensibilización, a su vez, es el evento inicial que induce muchos cambios biológicos, tales como: fotogenotoxicidad, fotogenomutagenicidad y fotocarcinogénesis.^[20-21] Si la intensidad o duración de la interacción fármaco-radiación es extensa, pueden dañarse algunos órganos internos. Los componentes biológicos propensos a la fotosensibilización son las membranas celulares, los orgánulos citoplásmicos y el núcleo^[22], los cuales producen efectos menores como reacciones cutáneas (eritema, prurito, urticaria y sarpullido) o efectos severos tales como mutaciones genéticas, melanoma, etc.^[23]. El uso de productos que contienen agentes fotorreactivos también puede agravar enfermedades pre-existentes en la piel (eccema, herpes, etc.) y precipitar enfermedades autoinmunes (VIH, lupus eritematoso, artritis reumatoide).^[24] La fototoxicidad es una forma de fotosensibilidad que no depende de una respuesta inmunológica^[19,25], está relacionada con la dosis y se produce en casi la totalidad de personas que tome o se aplique una cantidad moderada del agente fotosensible y radiación. La respuesta fototóxica se manifiesta como una inflamación y pigmentación en la piel.^[17]

Los antipsicóticos principales estudiados en este trabajo son cloroprotixeno (CPTX 3b) y metotrimeprazina (MTP 4b, actualmente conocida como Levomepromazina, LPZ), los cuales pertenecen a la familia de antipsicóticos tricíclicos (ADT, Fig. 1.1). CPTX y MTP se usan para en el tratamiento de trastornos psicóticos (esquizofrenia) y de la manía aguda que se produce como parte de los trastornos bipolares.^[1] MTP también puede usarse con precaución en el tratamiento de depresiones agitadas, ya que puede causar acatisia como efecto secundario, lo que podría empeorar la agitación. Se utiliza, además, en pequeñas dosis para el tratamiento de náuseas e

insomnio. En Europa, este medicamento está aprobado para el tratamiento del dolor crónico idiopático. CPTX, por su parte, tiene una fuerte actividad sedante, pero está acompañado de una alta incidencia de efectos adversos anticolinérgicos.

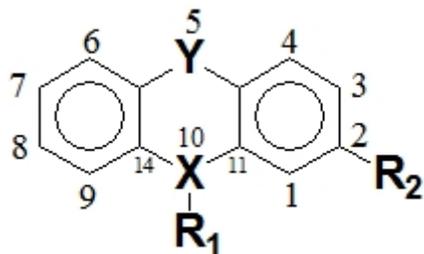


Figura 1.1

Estructuras, numeración y abreviaciones de los compuestos estudiados en este trabajo.

Grupo	R ₂	Nº.	Abrev.	Nombre Común
Fenotiazinas [X = N; R ₁ = H]				
Y = S	H	<u>1a</u>	PH	Fenotiazina
	Cl	<u>1b</u>	CPH	Clorofenotiazina
	OCH ₃	<u>1c</u>	MOPH	Metoxifenotiazina
Y = SO	H	<u>1d</u>	PHSO	Sulfóxido de Fenotiazina
	OCH ₃	<u>1e</u>	MOPHSO	Sulfóxido de MOPH
Promazinas [X = N; R ₁ = (CH ₂) ₃ N(CH ₃) ₂]				
Y = S	H	<u>2a</u>	PZ	Promazina
	Cl	<u>2b</u>	CPZ	Cloropromazina
	CF ₃	<u>2c</u>	TFMPZ	Trifluorometil promazina
Y = SO	H	<u>2d</u>	PZSO	Sulfóxido de PZ
	Cl	<u>2e</u>	CPZSO	Sulfóxido de CPZ
	CF ₃	<u>2f</u>	TFMPZSO	Sulfóxido de TFMPZ
Y = SO ₂	Cl	<u>2g</u>	CPZSO ₂	Cloropromazina-Sulfona

Grupo	R ₂	N ^o .	Abrev.	Nombre Común
Tioxanteno [X = C; R ₁ = Z-(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂] y Tioxantona [X = C; R ₁ = O]				
Y = S	H	<u>3a</u>	PTX	Protixeno
Z = CH	Cl	<u>3b</u>	CPTX	Cloroprotixeno
Y = S	Cl	<u>3c</u>	CTX	Clorotioxantona
X-R ₁ = C:O				
Y = S	Cl	<u>3d</u>	CMTX	Clorometilenotioxanteno
R ₁ = CH ₂				
Y = SO	Cl	<u>3</u>	CPTXSO	Sulfóxido de CPTX
Z = CH				
Y = S	Cl	<u>3f</u>	CTxOH	2-cloro-9-(3-dimetil-amino propil)tioxanten-9-ol
Z = (OH)CH ₂				
Y = S	Cl	<u>3g</u>	CTxOMe	[3-(2-cloro-9-metoxi-9H-tioxanten-9-il)- propil]-dietil amina
Z = (OCH ₃)CH ₂				
Y = S	Cl	<u>3h</u>	CTxOEt	[3-(2-cloro-9-etoxi-9H-tioxanten-9-il)-propil]- dietil-amina
Z = (OCH ₂ CH ₃)CH ₂				

Promazinas con actividad óptica [X = N; R₁ = CH₂(CHCH₃)CH₂NZ]

Y = S	H	<u>4a</u>	TP	Trimeprazina
Z = (CH ₃) ₂	Cl	<u>4b</u>	CTP	Clorotrimprazina
	OCH ₃	<u>4c</u>	MTP	Metotrimprazina
	CN	<u>4d</u>	CMZ	Ciamemazina
Y = SO	OCH ₃	<u>4e</u>	MTPSO	Sulfóxido de MTP
Z = (CH ₃) ₂				

Grupo	R ₂	N ^o .	Abrev.	Nombre Común
Y = S	OCH ₃	<u>4f</u>	MTPNO	N-Óxido de MTP
Z = O(CH ₃) ₂				
Y = SO	OCH ₃	<u>4g</u>	MTPSONO	N-Óxido de MTPSO
Z = O(CH ₃) ₂				

Como muchos otros medicamentos importantes, algunos antipsicóticos pueden tener isómeros ópticos y/o geométricos. A menudo estos isómeros difieren en sus propiedades farmacológicas, toxicológicas y farmacocinéticas.^[26-28] Por ejemplo, el isómero geométrico de CPTX con actividad terapéutica es el que tiene configuración Z.^[29-30] En el caso de MTP, el isómero óptico con actividad terapéutica es el R (rota la luz polarizada negativamente). La isomería, en general, tiene un efecto importante en la distribución^[31], la farmacocinética^[32] y el seguimiento terapéutico^[33] de los ADT y otros medicamentos psiquiátricos^[34-35]. Sin embargo, algunos medicamentos todavía se administran como mezclas de isómeros, obviamente bajo la suposición de que el isómero no-activo tampoco es tóxico. Además, debido a la dificultad de purificar los isómeros, hay variaciones en las formulaciones comerciales de estos fármacos.^[35] Sin embargo, también se ha demostrado que la isomería controla las vías metabólicas y fotoquímicas de estos fármacos, los que - a su vez - pueden determinar su fototoxicidad.^[34,35,36] Es por esta razón que la fotoisomerización en vivo de algunos fármacos puede afectar la actividad y el espectro de efectos adversos de dichos fármacos.^[35] Este es el caso de algunos derivados de tioxanteno como Flupentixol (FPX) y CPTX, cuya irradiación con $\lambda \geq 300$ nm induce una rápida isomerización Z/E. Las interacciones entre el fármaco y las diferentes dianas (enzimas metabólicas, proteínas de transporte y los receptores del sistema nervioso central) son tridimensionales. Esto hace que las interacciones sean específicas con una de las

formas isoméricas del fármaco. Por tal razón, el uso de fármacos enantioméricamente puros tiene las siguientes ventajas: reducción de la dosis total del fármaco administrado, la simplificación en la medición de dosis-respuesta y se minimiza la toxicidad que introduce el isómero inactivo.^[37-38]

1.2) Planteamiento del Problema

Los antipsicóticos típicos constituyen un grupo de medicamentos de naturaleza química muy heterogénea (Ver Fig. 1.1), pero con un mecanismo de acción a nivel de sistema nervioso central bastante común. Casi todos actúan fundamentalmente por bloqueo de receptores dopaminérgicos D₂. Sin embargo, la efectividad y la intensidad de los efectos secundarios de estos fármacos sí depende marcadamente de su estructura. La estructura molecular de estos medicamentos varía, principalmente, por los grupos sustituyentes del sistema fenotiazínico. En las promazinas 2, por ejemplo, la cadena amino-alifática es indispensable para el mantenimiento de las propiedades antipsicóticas. La substitución de un cloro en R₂ origina una asimetría en el núcleo fenotiazínico, lo que incrementa su acción farmacológica. La substitución por un grupo CF₃ en la misma posición, incrementa aún más las acciones antipsicóticas y antieméticas de las fenotiazinas. Las drogas menos potentes de esta familia son las que, en vez de la cadena amino-alifática, contienen una piperidina. La más conocida es la tioridazina, la cual se prescribe en casos de esquizofrenia con síndromes depresivos. En dosis iguales, si se toma la acción neuroterapéutica de CPZ 2b como referencia, la flufenazina es aproximadamente 20 veces más potente, y la trifluoperazina y tioproperazina son 10 veces más. La tioridazina, por otra parte, posee solo la mitad de la actividad farmacológica de CPZ. De igual forma, los derivados con un grupo piperazina o piperazinil en la cadena lateral son activos en

dosis menores que la CPZ. Los derivados de tioxanteno 3, que incluyen a CPTX 3b, tienen diferenciación geométrica. De todos estos compuestos, los que contienen halógenos en la posición R₂ inducen fototoxicidad en mayor grado.

Está implícito que, aunque la quiralidad no es requisito para la actividad farmacológica, si una sustancia activa es quiral se debe averiguar cuál es la orientación espacial de los átomos responsables de la actividad farmacológica. Esta información es de vital importancia debido a que los enantiómeros tienen el potencial de exhibir propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas diferentes, ya que el cuerpo humano es un sistema quiral y - como tal - es capaz de diferenciar entre enantiómeros. Es por eso que la legislación sobre estos compuestos exige que, en lo posible, los fármacos deben ser enantiopuros. Las ventajas en dicha pureza son las siguientes: se pueden disminuir las dosis a solo una fracción de lo requerido para la mezcla racémica, se reducen los efectos secundarios, y se mejora la actividad farmacológica. Las diferencias farmacocinéticas entre isómeros (enantiómeros, isómeros geométricos o isómeros estructurales) son de especial interés cuando hay diferencias farmacodinámicas notables entre ellos, como en el caso de CPTX. Por tal razón, la Administración de Alimentos y Drogas de los EE.UU. (FDA, por su siglas en inglés), comenzó a dar pautas para desarrollar drogas terapéuticas que exhiben estereoisomerismo en la década de los años 90, a saber: (a) La identidad del producto racémico, la calidad, la potencia y la pureza deben ser especificadas; (b) El perfil farmacocinético y la potencial interconversión entre los enantiómeros debe establecerse antes de su comercialización y debe diferenciarse entre animales y humanos; (c) Si la farmacocinética de ambos enantiómeros es diferente, deben de estudiarse completamente para cada uno por separado; (d) Debe de establecerse la actividad farmacológica de cada isómero; y (e) La toxicidad de cada isómero debe de establecerse primero por separado y luego como mezcla racémica, para excluir cualquier efecto por interacción entre los compuestos (sinergismo). Esta

reglamentación como resultado el que para en el año 2000 los fármacos quirales se comercializaban enantioméricamente puros.

En resumen, es importante entender cómo la estructura química de los fármacos en general, y la quiralidad en especial, afectan a la interacción fármaco-receptor y sus efectos secundarios. La fototoxicidad es uno de los efectos adversos más importantes observados en el tratamiento con ADT, pero el mecanismo que induce esta respuesta sigue siendo una incógnita. Este efecto adverso se afecta por factores tales como: la quiralidad molecular, la isomería cis/trans (Z/E) y la interacción del fármaco con las proteínas de la membrana. Estos factores también influyen otras propiedades farmacológicas de los ADT, tales como la solubilidad, la actividad biológica, la distribución, y la excreción (metabolismo). Además, la formación de metabolitos activos como consecuencia de la desmetilación o hidroxilación de los ADT puede contribuir positivamente al tratamiento terapéutico o intensificar los efectos adversos de estos compuestos.^[39] Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo es utilizar a CPTX y levopromazina 4 como modelos para conocer la fotofísica y la fotoquímica de estos fármacos con el fin de determinar los mecanismos de fotorreacción, los que deben estar correlacionados con su fototoxicidad. Esta información, a su vez, debe contribuir al desarrollo de nuevos fármacos más eficientes y con menos efectos adversos.

1.3) Objetivos

1.3.1) Determinar las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de zCPTX en diferentes microambientes

z-Cloroprotixeno (zCPTX) es un fármaco de baja potencia que se utiliza principalmente para el tratamiento de trastornos psicóticos. CPTX posee isomería

geométrica, propiedad determinante en su actividad terapéutica. La mayoría de los pacientes que usan este fármaco pueden tener una respuesta fotosensibilizante, que se expresa como fotoalergia o fototoxicidad. Uno de los objetivos de este proyecto es estudiar las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de CPTX en diferentes microambientes que simulen su comportamiento en vivo. A tales efectos, dichas propiedades se estudiarán en función de los siguientes parámetros: la polaridad del disolvente, la concentración de hidronio (pH) y la concentración de oxígeno, entre otros. Para detectar la formación de intermedios de corta vida (S_1 y T_1) y cuantificar sus propiedades, se utilizarán técnicas de absorción, de emisión, y espectroscopía de Láser. Esta información es vital para establecer los mecanismos de reacción que expliquen la posible formación de fotoproductos o fotoaductos con biomoléculas como ADN y proteínas, responsables de la respuesta fototóxica de zCPTX.

1.3.2) Determinar las propiedades fotofísicas de 2-clorotioxantona

2-Clorotioxantona (CTX) se utiliza como fotoiniciador para la reticulación de resinas sintéticas y para la preparación de productos farmacéuticos como CPTX. Se determinó previamente que CTX es uno de los fotoproductos que se obtiene al irradiar CPTX con luz de 313 nm. La formación de CTX es autocatalizada por un mecanismo de transferencia de energía entre el estado excitado triplete de CTX y el estado raso de CPTX. La razón para estudiar las propiedades fotofísicas de este fotoproducto es que el mismo tiene un coeficiente de absorción molar mayor que CPTX en la región visible (400-420 nm), precisamente donde CPTX no absorbe. Es sumamente conocido que la tioxantona (TX) posee un rendimiento cuántico de cruce intersistémico de 66% en acetonitrilo y que el mismo depende del microambiente. Un objetivo de este trabajo es medir las propiedades fotofísicas de CTX en soluciones de acetonitrilo / agua, con el propósito de determinar como se afectan las propiedades de los intermedios de corta vida (S_1 y T_1) en este microambiente. Esta

información puede contribuir a explicar los efectos secundarios de fotosensibilización de CPTX, los cuales se pueden intensificar como resultado de la formación de CTX. Además, estos resultados pueden ser utilizados para mejorar los estándares de calidad en la producción de CPTX (eliminar al máximo las impurezas de CTX) y el uso de empaques que no permitan la entrada de luz ultravioleta-visible.

1.3.3) Determinar si Levomepromazina o sus fotoproductos inducen la fotosensibilización de dímeros de timidina

Levomepromazina (LPZ) tiene una potencia antipsicótica más baja que la Clorpromazina (CPZ). Sin embargo, es usada en el tratamiento de la esquizofrenia y para calmar el dolor, la náusea y el vómito en pacientes con enfermedades terminales. La fotoconversión de LPZ o sus fotoproductos podrían tener el efecto secundario de inducir la formación de dímeros de timidina por transferencia de energía o promover la cicloreversión de estos dímeros por transferencia de electrones. Estudios previos hechos por nuestro grupo demuestran que los derivados de Carprofeno tienen la propiedad dual de fotosensibilizar la dimerización de timidina y reparar el fotoproducto (6-4). En términos estructurales la fenotiazina y el carbazol son sistemas tricíclicos y heterocíclicos muy similares, que se difieren solo en la cantidad de átomos del anillo central. La fenotiazina posee en las posiciones 5 y 10 (anillo central) un átomo de azufre y nitrógeno, respectivamente. Carbazol, por otro lado, posee un átomo de nitrógeno en la posición 9. Por lo tanto, es sumamente relevante estudiar la fotofísica y fotoquímica de LPZ para determinar si las similitudes entre LPZ, sus fotoproductos y el carprofeno se reflejan en sus efectos sobre timidina o si, por otro lado, las pequeñas modificaciones estructurales entre ellos redundan en un comportamiento diferente en la dimerización de timidina.

1.4) Conceptos Fundamentales

1.4.1) Fotofísica

La energía de un fotón está cuantizada, según describe la ecuación de Planck, donde $h = 6.6256 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}\cdot\text{fotón}^{-1}$ (constante de Planck), $c = 2.9979 \times 10^8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ (velocidad de la luz), $\lambda =$ longitud de onda de la radiación (m), $\nu =$ frecuencia de la radiación (s^{-1}) y $1/\lambda =$ número de onda correspondiente (m^{-1}):

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.1)$$

Las energías requeridas para las transiciones electrónicas son del orden de electrón-voltios ($1 \text{ eV} \approx 8000 \text{ cm}^{-1}$). Los fotones que pueden inducir cambios en la distribución electrónica se encuentran en la región ultravioleta-visible del espectro electromagnético. Las longitudes de onda visible comprenden desde $\sim 700 \text{ nm}$ (14000 cm^{-1} , luz roja) a 400 nm (25000 cm^{-1} , luz azul). La luz UV comprende la región de $200\text{-}400 \text{ nm}$ ($50000 \text{ cm}^{-1}\text{-}25000 \text{ cm}^{-1}$). Esta región se subdivide en UVA ($315\text{-}400 \text{ nm}$), UVB ($280\text{-}315 \text{ nm}$) y UVC ($200\text{-}280 \text{ nm}$). Cuando las moléculas absorben fotones de luz, ocurren cambios en su estructura electrónica que pueden inducir cambios en la estructura molecular. Luego de la absorción de un fotón, la desactivación de la molécula puede ocurrir por mecanismos físicos, químicos, o una combinación de ambos. En específico, la absorción de un fotón de luz ultravioleta o visible produce un estado electrónico excitado en el que se alteran las interacciones entre los átomos de la molécula. Como resultado, las moléculas en estados electrónicos excitados a menudo tienen propiedades diferentes a las del estado raso.

La intensidad de la radiación absorbida disminuye a medida que pasa a través de un medio absorbente, según la ley de Beer-Lambert-Bouguer (Ec. 1.2).

$$I_{ABS} = I_0 \times 10^{-\epsilon b C} \quad (1.2)$$

donde I_{ABS} = intensidad absorbida, I_0 = la intensidad incidente o total, b = longitud del paso óptico (cm), C = concentración molar de la especie absorbente (M) y ϵ = coeficiente de absorción molar ($M^{-1}cm^{-1}$). Esta expresión se puede reordenar para obtener una relación lineal entre la concentración y la absorción del medio (Ec. 1.3).

$$A = \epsilon b C = -\log \frac{I_{ABS}}{I_0} = -\log T \quad (1.3)$$

En esta ecuación, la transmitancia (T) es la fracción de la radiación incidente transmitida sin sufrir cambios y no tiene ningún efecto sobre el medio a través del cual pasa. Sólo la luz absorbida puede inducir “foto-alteraciones” a la materia. Este principio, denominado como la primera ley de la fotoquímica, fue propuesto por Grotthuss (1817) y Draper (1843). Sólo los fotones absorbidos pueden producir cambios fotoquímicos. La ley de Beer-Lambert-Bouguer (Ec.1.2) indica que la absorción es proporcional a la intensidad de la luz incidente. Por lo tanto, mientras el paso óptico y la concentración de la solución no cambien, el producto de una fotorreacción depende linealmente del número de fotones absorbidos. Esto significa que si la intensidad de la luz incidente se duplica, el efecto fotoquímico tendría la mitad de duración. Este fenómeno es denominado como reciprocidad y puede verificarse experimentalmente. Las desviaciones en el principio de reciprocidad se observan, principalmente, en los sistemas biológicos. Estas desviaciones son indicativas de que el mecanismo que conduce a los cambios observados es complejo. La complejidad del mecanismo puede deberse a, entre otros procesos, los efectos de

filtro internos, absorción de múltiples fotones, reacciones radicalarias, reacciones en cadena, etc. La ley de Beer-Lambert-Bouguer sólo aplica para procesos monofotónicos (baja intensidad), en los cuales los procesos de fototérmicos, electromecánicos o fotoablativos son mínimos. A altas intensidades de luz pueden ocurrir procesos multifotónicos no-lineales. Estos procesos y la dependencia exponencial de la intensidad de la luz son sumamente importantes en técnicas espectroscópicas como fluorescencia y fotólisis de destello láser (FDL).

Además de requerir un fotón de energía específico, las transiciones electrónicas requieren ciertas reglas generales como la regla de simetría de orbitales, la ley de multiplicidad de los estados, etc. La efectividad (permisividad) de una transición electrónica puede medirse mediante la fuerza del oscilador (f), según la Ec. (1.4).

$$f = \left[\frac{4\epsilon_0 m_e c^2}{N_0 e^2} \right] F \int_{\nu_1}^{\nu_2} \epsilon_\nu d\tilde{\nu} = 4.32 \times 10^{-9} F \int_{\nu_1}^{\nu_2} \epsilon_\nu d\tilde{\nu} \quad (1.4)$$

Este es un valor teórico proporcional al coeficiente de absorción molar (ϵ). En esta ecuación, el conjunto de constantes fundamentales dentro de los corchetes tiene el valor de $4.319 \times 10^{-9} \text{ M cm}^2$, F es un factor de corrección para los efectos del índice de refracción del disolvente, y el coeficiente de absorción molar integrado es el área bajo la curva de absorción del espectro (obtenido del número de onda, $\tilde{\nu}$ en cm^{-1}) y el coeficiente de absorción molar (ϵ en $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$). La fuerza del oscilador, al igual que la absorbancia, es una cantidad que no tiene unidades. Para valores de f cercanos a 1, la transición electrónica es altamente permitida. Para transiciones prohibidas por simetría o prohibidas por el spin ($S_0 \rightarrow T_1$), los valores de f son de aproximadamente 10^{-1} y 10^{-5} , respectivamente. Este último valor indica que la transición $S_0 \rightarrow T_1$ está prohibida y no ocurre.

La absorción de la luz es el primer y más fundamental paso en una cadena de procesos que describen la interacción de la luz con la materia (Fig. 1.2, Diagrama de Jablonski). La constante de rapidez de este primer paso es 10^{15} s^{-1} . La energía absorbida por la molécula provoca que un electrón sea promovido a un nivel electrónico superior. La Fig. 1.2 ilustra los principales procesos físicos (radiativos y no radiativos) que pueden ocurrir para eliminar el exceso de energía. Los símbolos S_0 , S_1 , T_1 , etc., se refieren al estado fundamental (S_0), el primer estado excitado singlete (S_1), primer estado excitado triplete (T_1) y así sucesivamente. Las líneas horizontales representan los niveles de vibración para cada estado electrónico, las flechas rectas indican las transiciones radiativas, y las flechas rizadas representan transiciones no-radiativas. Los cuadros representan la multiplicidad de los estados electrónicos, determinada por la sumatoria de los espines electrónicos. Todas las transiciones de un estado electrónico a otro se originan en el nivel vibracional más bajo del estado electrónico inicial. Por ejemplo, la fluorescencia se produce sólo desde el S_1 , debido a que los estados singlete excitados de mayor energía (S_2 , etc.) se desactivan rápidamente por conversión interna (Regla de Kasha). Esto implica que la constante de rapidez del proceso de conversión interna es mayor que la constante de rapidez de fluorescencia y, por lo tanto, es poco probable ver fluorescencia desde los estados singletes excitados de mayor energía.

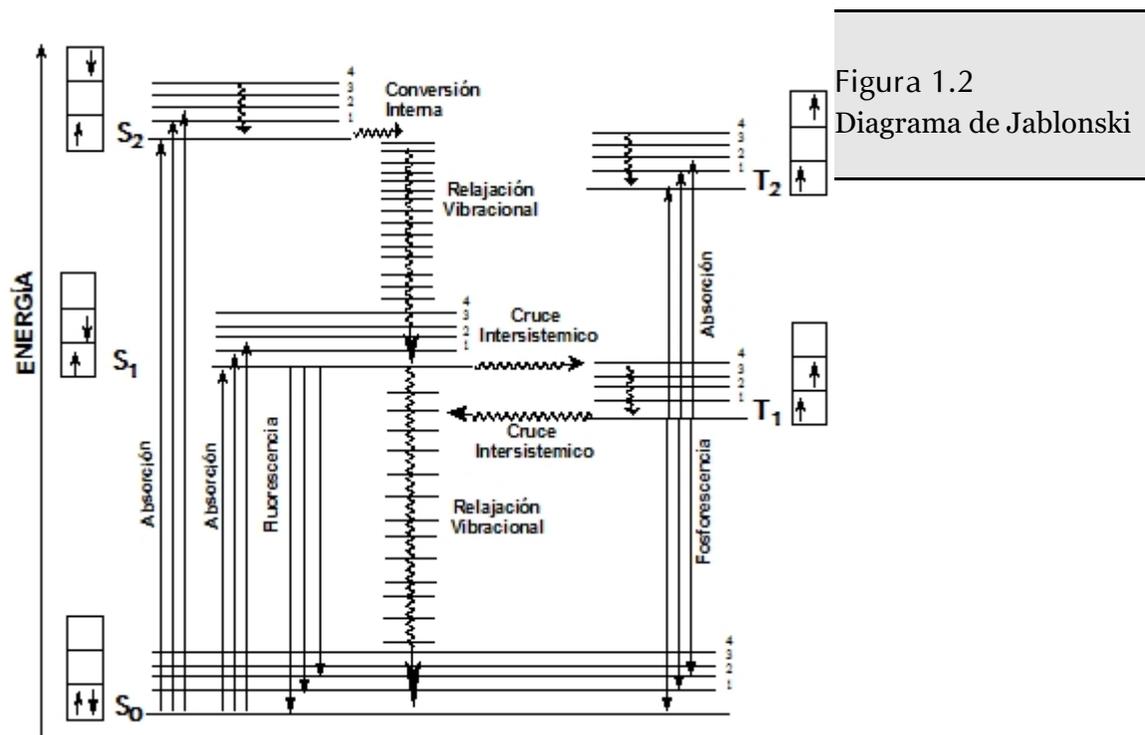


Figura 1.2
Diagrama de Jablonski

La fluorescencia (10^{-9} - 10^{-7} s) se define como la emisión producida entre dos estados de la misma multiplicidad, por ejemplo entre $S_1 \rightarrow S_0$. Considerando que la molécula puede ser excitada a niveles vibracionales de mayor energía dentro del estado singlete excitado ($v > 0$), estos pueden desactivarse rápidamente por relajación vibracional (relajación térmico, 10^{-9} - 10^{-7} s). En resumen, el estado singlete excitado se desactiva desde el estado vibracional cero ya sea por desactivación no-radiativa (colisiones con el disolvente o cruce intersistémico) o desactivación radiativa (emisión de fluorescencia). Entre los múltiples factores que afectan la fluorescencia: se encuentran: (a) las interacciones entre las moléculas excitadas y el entorno disminuyen la probabilidad de desactivación (eficiencia) por fluorescencia; (b) la rigidez del sistema excitado aumenta la eficiencia de la fluorescencia; y (c) la eficiencia de la fluorescencia es inversamente proporcional a la del cruce

intersistémico (ISC, por sus siglas en inglés). Además, la fluorescencia muestra dos características importantes: (a) puede aparecer como una imagen especular del espectro de absorción a longitudes de onda mayor (menor energía) y (b) puede mostrar una estructura vibrónica, la que puede proporcionar información sobre las constantes de fuerza de los enlaces en su estado fundamental. El estado singlete excitado se caracteriza por la longitud de onda de emisión, el tiempo de vida, la energía relativa al S_0 y la eficiencia de la fluorescencia. La diferencia entre el máximo de absorción y emisión se conoce como el desplazamiento Stokes (cm^{-1}), el cual provee información sobre la polaridad relativa del estado singlete excitado en comparación al estado electrónico fundamental. Mientras mayor es el valor del desplazamiento Stokes mayor es la diferencia en polaridad entre ambos estados electrónicos.

Aunque la regla del espín prohíbe las transiciones entre estados de diferente multiplicidad, el S_1 también puede desactivarse por cruce intersistémico $S_1 \rightarrow T_1$. La eficiencia de este proceso es variable ya que también es sensible a muchos parámetros, a saber: (a) la probabilidad de acoplamiento espín-orbital aumenta el cruce intersistémico; y (b) la presencia de átomos pesados (cobre, estaño, rutenio, bromo, yodo, etc.) en la molécula o el disolvente favorecen el acoplamiento espín-orbital. Sin embargo, estos parámetros también aumentan las transiciones no-radiativas (conversión interna). Luego, el triplete excitado T_1 puede desactivarse por conversión térmica ($10^{-9} - 10^{-7}$ s) o por emisión de fosforescencia ($10^{-3} - 10^{-2}$ s). Esta emisión se produce entre dos estados de multiplicidad diferente ($T_1 \rightarrow S_0$) y tiene un tiempo de vida mayor al de la fluorescencia. Usualmente, la fosforescencia se produce a una energía más baja (mayor longitud de onda) que la fluorescencia. Al igual que con fluorescencia, en muchos casos la emisión de fosforescencia se aproxima a una imagen especular de la absorción de estado fundamental. Del mismo modo la emisión de fosforescencia puede mostrar la estructura vibracional del estado

fundamental de la molécula. Una característica útil de medir el espectro de fosforescencia de una molécula es que puede proporcionar una medida directa de la energía del estado excitado triplete (T_1). El estado T_1 se caracteriza por la longitud de onda de emisión, el tiempo de vida, la energía relativa al S_0 , y la eficiencia de la fosforescencia.

Además de todos los mecanismos fotofísicos de desactivación discutidos para el S_1 y el T_1 (Fig.1.2, Diagrama de Jablonski), la molécula excitada (A) puede interactuar con una segunda molécula (A, B, C, . . .) que este en el mismo microambiente, ya sea excitada o en el estado raso. Esta interacción introduce un nuevo mecanismo de desactivación, el cual puede ser por inhibición física de la molécula excitada o por una reacción química (fotorreacción, Fig. 1.3). La inhibición puede ocurrir por una transferencia de energía (inhibición física) o de electrón (inhibición química). Si el electrón se transfiere de la molécula excitada a cualquier molécula que este en el microambiente, entonces se forma un catión radical, el cual suele ser menos reactivo que el S_1 y el T_1 (tiene un tiempo de vida mucho mayor al de ambas especies). Por otro lado, la desactivación por transferencia de energía puede ocurrir por dos mecanismos conocidos como dipolo-dipolo (Förster) o de intercambio de electrones (Dexter). En el mecanismo Förster la transferencia de energía de excitación ocurre entre entidades moleculares separadas por distancias que exceden considerablemente la suma de sus radios de Van der Waals. Esta transferencia se describe en términos de una interacción entre los momentos bipolares de transición (mecanismo dipolar). Este mecanismo es más probable en procesos de emisión por fluorescencia. En el mecanismo Dexter ocurre un intercambio simultáneo de electrones entre la molécula excitada (A) y la molécula no excitada (B). Este mecanismo es predominante entre estados de multiplicidad triplete.

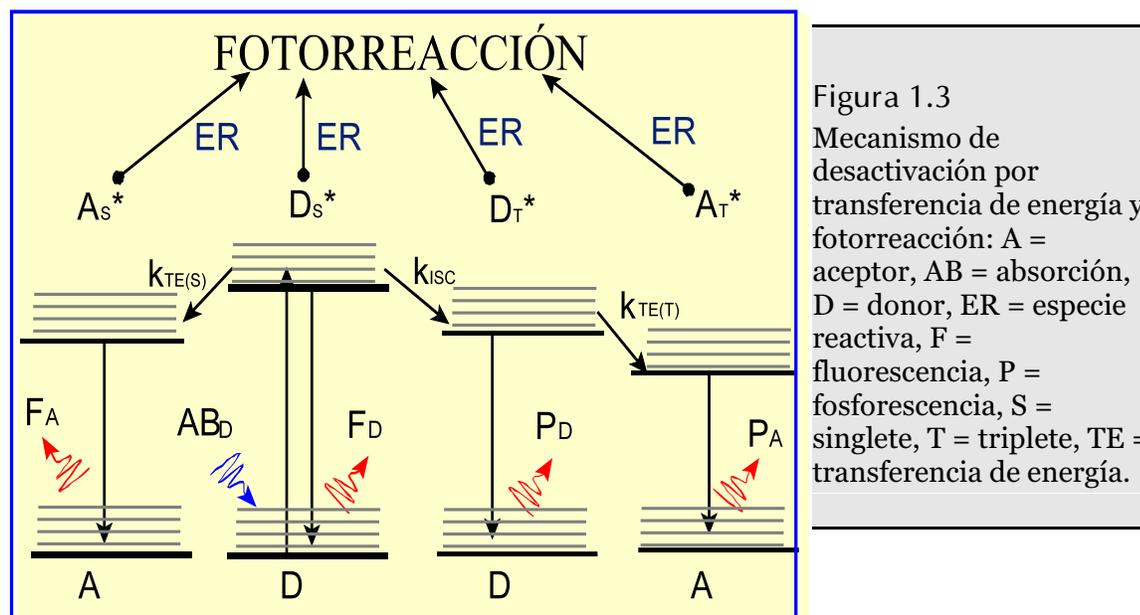


Figura 1.3
Mecanismo de desactivación por transferencia de energía y fotorreacción: A = aceptor, AB = absorción, D = donador, ER = especie reactiva, F = fluorescencia, P = fosforescencia, S = singlete, T = triplete, TE = transferencia de energía.

Las propiedades físicas y químicas de una molécula se determinan principalmente por la distribución de sus electrones (densidad electrónica). A diferencia de las reacciones en el estado base (térmicas), las fotoquímicas son el resultado de la nueva distribución electrónica del estado excitado producido por la absorción de fotones. La absorción de un fotón UV por cromóforos orgánicos puede promover la excitación de un electrón en un orbital molecular enlazante (π) a un orbital molecular anti-enlazante (π^*). Los orbitales anti-enlazantes son aquellos en los que las fuerzas electrónicas son repulsivas, debilitan los enlaces en la molécula y la hacen menos estable y más reactiva. Esta transición electrónica se representa de forma $\pi\pi^*$. Los fotones absorbidos con suficiente energía también pueden producir transiciones $n\pi^*$ (Fig.1.4). En ambos casos, el momento dipolar de la molécula debe cambiar durante la transición y la magnitud del coeficiente de absorción molar depende del grado de superposición espacial entre los orbitales moleculares inicial y final. En general, la superposición es menor entre el estado inicial n y el estado final π^* . Por esa razón, los valores de absorptividad molar para las transiciones $n\pi^*$ están en el intervalo de 10^1 a $10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, mientras que para las $\pi\pi^*$ tienen valores entre 10^4 y $10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

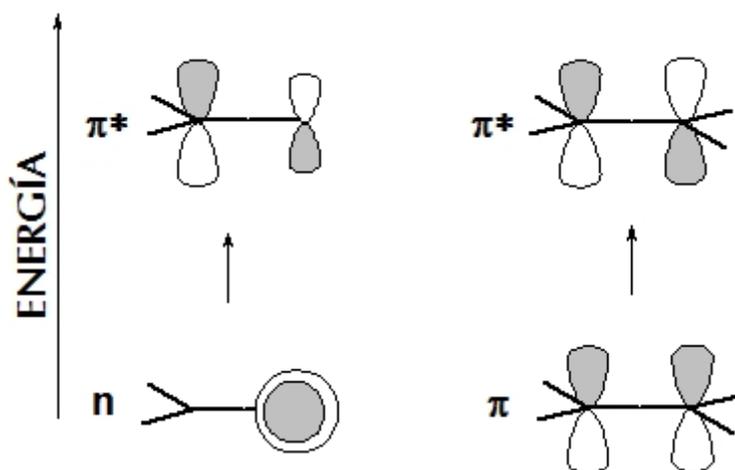
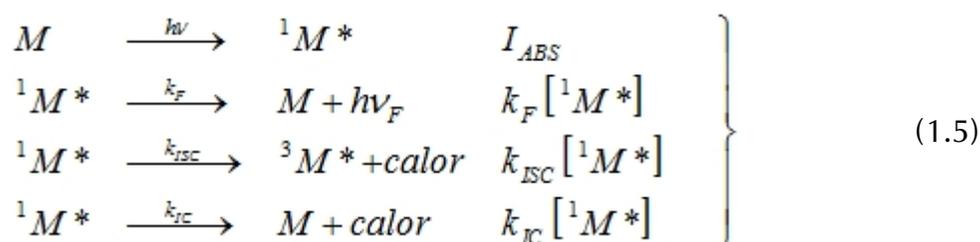


Figura 1.4
Transiciones electrónicas
n y π .

1.4.2) Fotocinética

El rendimiento cuántico (eficiencia cuántica) se define sólo para procesos iniciados por la absorción de un fotón. Numéricamente, este es igual al número de veces que ocurre dicho proceso por cada fotón absorbido ($\phi = \text{rapidez del proceso} / I_{\text{ABS}}$). Debido a que cada estado excitado tiene varios mecanismos paralelos de desactivación, incluyendo reacciones químicas, el rendimiento cuántico de cada proceso es típicamente un número entre 0 y 1 (excepto en circunstancias especiales, como las reacciones radicalarias). La suma de los rendimientos cuánticos de todos los procesos que se generan de la absorción de un fotón debe ser igual a uno. Si una molécula M absorbe fotones con intensidad I_0 , la cantidad de moléculas excitadas depende solo de la luz que absorba (I_{ABS} , Principio de Grotthuss–Draper). El esquema (1.5) es una representación matricial del diagrama de Jablonski para la formación del estado S_1 . La rapidez de cada proceso es proporcional a la concentración de $^1M^*$:



Como el estado excitado S_1 es un intermedio de corta duración, su tiempo de vida es extremadamente pequeño y se desactiva a su velocidad de formación (I_{ABS}). Por lo tanto, I_{ABS} tiene que ser numéricamente igual a la suma de la velocidad de todos los procesos de desactivación (aproximación del estado estacionario):

$$I_{ABS} = \sum_{i=p\alpha\alpha o} k_i [{}^1M^*] \quad (1.6)$$

Esta expresión considera el hecho de que todos los procesos fotofísicos del estado singlete son de primer orden. Luego, el rendimiento cuántico de la fluorescencia - por ejemplo - se determina mediante la siguiente ecuación:

$$\phi_F = \frac{k_F [{}^1M^*]}{I_{ABS}} = \frac{k_F [{}^1M^*]}{\sum_i k_i [{}^1M^*]} = \frac{k_F}{\sum_i k_i} \quad (1.7)$$

Estas relaciones y el mecanismo del esquema correspondiente (Ec. 1.5) pueden obtenerse aplicando el concepto de eficiencia fotoquímica (η) al siguiente diagrama resumido de Jablonski (B = otro reactivo). La eficiencia de un proceso fotoquímico mide la velocidad relativa del proceso que involucre una especie con respecto a la suma de las velocidades de todos los procesos paralelos que consumen dicha especie.^[40-42]

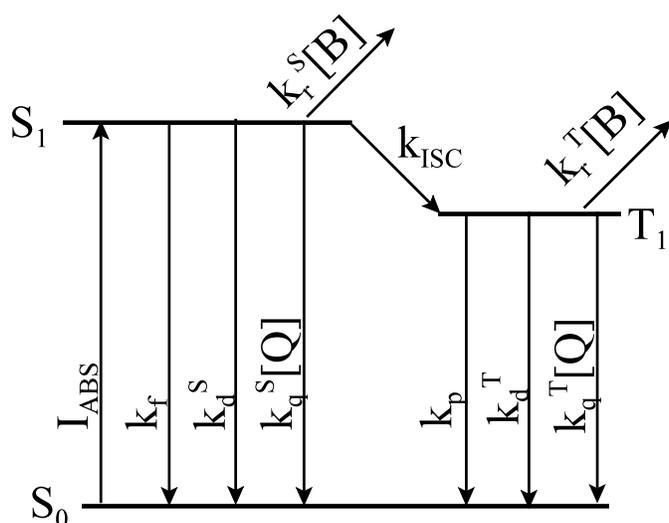


Figura 1.5

Diagrama de Jablonski de la Ec. (1.5):

f = Fluorescencia

d = Desactivación Térmica

q = Inhibición Química

Q = Inhibidor

p = Fosforescencia

ISC= Cruce Intersistémico

r = Reacción

Entonces, la expresión para la eficiencia de la fluorescencia (sin considerar el ISC ni las reacciones), está dada por:

$$\eta_f = \frac{k_f}{\sum k_i} = \frac{k_f}{k_f + k_d^S + k_q^S} = \varphi_f \quad (1.8)$$

Hay que resaltar que la eficiencia es igual al rendimiento cuántico, solo si la luz irradiada es absorbida completamente por la sustancia (baja intensidad, $\varphi_{ABS} = 1$). La relación general es $\varphi = \varphi_{ABS}\eta$. Análogo a la Ec. (1.8), el rendimiento de la inhibición del triplete por transferencia de energía a un inhibidor Q (sin considerar las reacciones) está dado por:

$$\begin{aligned} \frac{-d[T_1]}{dt} &= k_{ET}[T_1][Q] \\ &= \varphi_{ABS}I_{ABS}\eta_{ISC}\eta_{ET} \\ &= I_{ABS} \left(\frac{k_{ISC}}{k_f + k_d^S + k_{ISC} + k_q^S[Q]} \right) \left(\frac{k_q^T[Q]}{k_p + k_d^T + k_q^T[Q]} \right) \end{aligned} \quad (1.9)$$

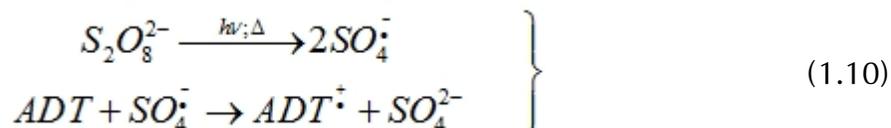
1.4.3) Identificación de Intermedios de Corta Vida

De acuerdo al diagrama de Jablonski (Fig. 1.2), casi todos los tricíclicos neurolépticos (Fig. 1.1) generan varios estados excitados con tiempos de vida en la escala de nano- a micro-segundos, a saber: estado excitado singlete, estado excitado triplete, catión radical, radical libre, etc. Estas especies pueden coexistir, pero - dependiendo del tiempo de vida y las propiedades fotofísicas de cada una ellas - pueden detectarse y, por lo general, pueden cuantificarse con métodos espectrofotométricos o por técnicas de inhibición. El triplete, por ejemplo, puede detectarse mediante la absorción triplete-triplete usando la técnica de destello láser (Secc. 2.7) o inhibiendo su formación por transferencia de energía a ciertos aceptores (Fig. 1.5). La inhibición de un estado excitado por transferencia de energía requiere que el aceptor tenga una energía menor que el donador. Fenilindeno (FIND), naftaleno (NP) y oxígeno molecular (O_2) son utilizados para identificar los estados tripletes excitados de MTP, MTPSO y CTX. Además, FIND y NP se utilizan como estándares para calcular los coeficientes de absorptividad molar de los estados excitados tripletes (ϵ_T) de dichos compuestos. Como actinómetro también puede utilizarse el triplete excitado de benzofenona ($^3BP^*$) o el de tioxantona ($^3TX^*$) en MeCN. Las propiedades del $^3BP^*$ son:^[43] $\lambda_{max} = 525 \text{ nm}$, $\epsilon_T = (6.5 - 0.7) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ y $\tau_T = 1$. Las propiedades del $^3TX^*$ son:^[70] $\lambda_{max} = 625 \text{ nm}$, $\epsilon_T = (2.2 - 0.3) \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y $\tau_T = 0.66$.

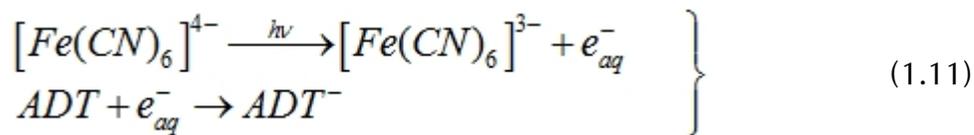
En el proceso de inhibición de un estado excitado triplete por oxígeno molecular, se produce oxígeno singlete ($^1O_2^*$). Las reacciones químicas con $^1O_2^*$ generalmente producen peróxidos o hidroperóxidos, que pueden ser cuantificados siguiendo la formación del producto o al consumo de oxígeno. En general, las reacciones químicas de un inhibidor con $^1O_2^*$ pueden identificarse cualitativamente si el consumo del inhibidor se reduce eficientemente al añadir un desactivador del $^1O_2^*$, como la azida de sodio (NaN_3 , $k_Q \approx 4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ en H_2O)^[44-46] ó 2,3-dimetil-2-buteno ($k_Q \approx 1 \times 10^6$

$M^{-1}s^{-1}$ en disolventes orgánicos)^[46]. NaN_3 se utilizó para determinar si la formación de MTPSO proviene de la generación de oxígeno singlete por la transferencia de energía entre el $^3MTP^*$ con oxígeno molecular y su subsiguiente reacción con MTP.

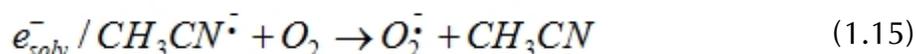
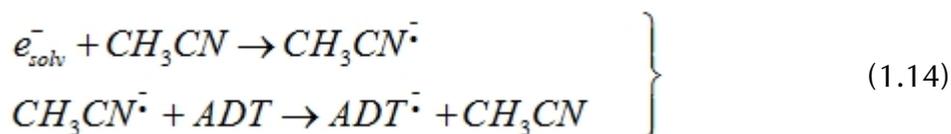
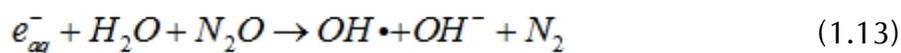
El catión radical de los ADT ($ADT^{\bullet+}$) puede generarse mediante fotólisis en presencia del ión persulfato, el cual ha sido utilizado para la degradación oxidativa de un sinnúmero de compuestos^[47-48]. El persulfato produce dos radicales aniónicos de sulfato ($SO_4^{\bullet-}$) fotoquímica^[49] o termicamente^[50] (Ec. 1.10). El ión $SO_4^{\bullet-}$ es un radical oxidante más fuerte que OH^{\bullet} porque su potencial de reducción es 2.3 V^[51].



El correspondiente anión radical ($ADT^{\bullet-}$) puede generarse mediante la reacción con un electrón solvatado. La fotólisis acuosa de $K_4Fe(CN)_6$, por ejemplo, produce un electrón hidratado y su oxidación simultánea a $K_3Fe(CN)_6$ (Ec. 1.11)^[52-54]. El electrón hidratado se puede visualizar como un exceso de electrones rodeado por una pequeña cantidad de moléculas de agua comportarse como un anión. Su intensa banda de absorción en la región visible facilita medir las constantes de velocidad de reacción usando FDL combinada con espectrofotometría cinética. Su potencial estándar de reducción de -2.9 V hace que este reaccione rápidamente con muchas especies con los potenciales de reducción más positivos.^[55] Su modo de reacción puede generalizarse como el proceso de transferencia de un electrón.



En la fotoionización directa de compuestos orgánicos se produce el catión radical y un electrón solvatado. Cuando las soluciones son saturadas con óxido nitroso (N_2O), este actúa atrapando los electrones solvatados y generando el anión radical del oxígeno (Ec. 1.12). En medio acuoso, dicho anión radical genera el radical $HO\bullet$ por reacción con el agua (Ec. 1.13).^[65] En MeCN se forma el anión radical $MeCN\bullet^-$ en ambiente anaeróbico, el cual - dependiendo de los potenciales de reducción - puede generar el anión radical $ADT\bullet^-$ (Ec. 1.14). En medio aeróbico, similar a la Ec. (1.12), solo se obtiene el anión radical de oxígeno (Ec. 1.15).



1.5) Propiedades Fotofísicas de los Neurolépticos Tricíclicos

1.5.1) Propiedades del Estado Raso

Las propiedades fotofísicas del estado raso de varias fenotiazinas sustituidas en la posición-2 y alquiladas en la posición-10 han sido medidas en varios disolventes para investigar la relevancia de la estructura molecular en sus propiedades fotofísicas y

fotoquímicas.^[56] Dado que los modos de interacción de cada fármaco y de sus especies correspondientes dependen fuertemente de la variedad de micro-ambientes en las células, las propiedades de cada una de estas especies también se debe determinar por separado para entender completamente el mecanismo de acción del fármaco y el mecanismo de sus efectos secundarios. La protonación de la amina terminal es un proceso térmicamente favorecido. La Tabla 1.1 muestra las propiedades de las dos conformaciones más estables de la cadena N,N-dimetilamino-propil en estas moléculas. La diferencia encontrada para los derivados no alquilados es probablemente debida al apilamiento de las moléculas más simples en el proceso de cristalización, lo que obliga a las moléculas a ser más planas.

Tabla 1.1 Propiedades del estado rasó y los estados excitados de las conformaciones más estables [$S_0(1)$ y $S_0(2)$] de los derivados de fenotiazinas

Moléc. ^{a)}	Estado	ΔH_f (kJ/mol)		Torsión anillos (grados)		Torsión de R1 (grados) ^{d)}	μ (D)
		proton.	base libre	PM3/RHF ^{b)}	Exp. ^{c)}		
PZ	$S_0(1)$	107.2	227.3	136.5	140 ^{e)}	-61.3	5.0
	$S_0(2)$	108.4		136.6		-61.2	5.0
	S_1	366.3	447.2	107.9		-13.9	5.3
	T_1	273.3	388.9	138.7		-9.5	6.6
	PZ^+	813.3	926.4	178.1	172.7 ^{f)}	-3.6	7.0
CPZ	$S_0(1)$	79.5	199.7	138.9	137.8 ^{g)}	-60.7	4.3
	$S_0(2)$	80.4		135.5		-59.5	4.3
	S_1	331.5	445.8	137.1		-3.5	4.2
	T_1	242.8	384.3	138.7		-8.6	5.6
	CPZ^+	791.6	951.9	149.4	169.9	-3.4	5.4
TFMPZ	$S_0(1)$	-550	-433.7	139.6	136 or 145 ^{h)}	-61.2	7.3
	$S_0(2)$	-548.4		140.2		-65.7	6.6

Moléc. ^{a)}	Estado	ΔH_f (kJ/mol)		Torsión anillos (grados)		Torsión de R1 (grados) ^{d)}	μ (D)
		proton.	base libre	PM3/RHF ^{b)}	Exp. ^{c)}		
	S ₁	-307.3	-194.7	161.4		-8.9	2.9
	T ₁	-385.5	-238.2	143.9		-33.8	7.5
	TFMPZ ⁺	183.3	294.7	179.9		-7.7	11.7
TMPZ	S ₀ (1)	98.8	225.2	135.5	141.1	-63	6.5
	S ₀ (2)	101.3		145.5		-58.5	6.5
	S ₁	357.1	473	152.1		-0.7	7.0
	T ₁	298	415.7	136.3		-5.1	7.0
	TMPZ ⁺	805.4	923.9	179.2		-0.6	7.2
PCP	S ₀ (1)		210.1	137.7	136.1	-63.9	1.3
	S ₀ (2)		218.5	137.6		-77.4	1.2
	S ₁		456.3	159.7		-2.9	2.4
	T ₁		368.4	139.8		-8.6	3.4
	PCP ⁺		916.3	174		-3.2	8.8
TFMP	S ₀ (1)	-656.8	-422.8	138.6	141.1	-66.3	3.4
	S ₀ (2)	-647.6		137.5		-56.6	3.7
	S ₁	-414	-183.8	159.2		-4.6	4.6
	T ₁	-464.7	-224.8	143.1		-33.8	4.6
	TFMP ⁺	85.8	306.8	149.3		-13.1	11.3
TR	S ₀ (1)	62.4	185.9	134.7	134.4 ó 145.8	-45.7	5.6
	S ₀ (2)	63.2		126		-45	5.9
	S ₁	314.8	433.3	120.1		-11.5	6.6
	T ₁	251.6	377.2	138.3		-33.6	6.5
	TR ⁺	755.2	879.1	167.9		-16.7	6.0

- a) CPH = 2-clorofenotiazina; CPZ = cloropromazina; FP = flufenazina; PCP = proclorperazina; PH = fenotiazina; PZ = promazina; TFMP = 2-trifluorometilperazina; TFMPH = 2-trifluorometilfenotiazina; TFMPZ = 2-trifluorometilpromazina; TMPZ = 2-tiometilpromazina; TR = tioridazina
- b) Valor teórico obtenido para el ángulo de torsión 7-14-10-3 (Ver Fig. 1.1).
- c) Valores de cristalografía experimentales de Gupta^[57] y las referencias incluidas.
- d) Medido para el ángulo de torsión 9-14-10-R₁ (Ver Fig. 1.1)
- e) Los valores cristalográficos y PM3/RHF para la fenotiazina correspondiente (PH) son 153 y 135.2, respectivamente.
- f) Los valores cristalográficos y PM3/RHF para el correspondiente catión radical de fenotiazina (PH) son 175.8 y 179.1, respectivamente
- g) Los valores cristalográficos y PM3/RHF para la fenotiazina correspondiente (CPH) son 153 y 135.1, respectivamente.
- h) Los valores cristalográficos y PM3/RHF para la fenotiazina correspondiente (TFMPH) son 171 y 135.8, respectivamente

1.5.2) Propiedades de los Estados Excitados Singlete y Triplete

Las propiedades fotofísicas de los estados excitados de las promazinas dependen más del disolvente y los sustituyentes R₂ que de la cadena dialquilaminopropil (Tablas 1.2 y 1.3). Los rendimientos cuánticos de fluorescencia, por ejemplo, son menores para los derivados 2-clorados, especialmente en metanol. Para las fenotiazinas 2-CF₃, el ϕ_f es prácticamente constante en los tres disolventes. El mismo comportamiento se observó para flufenazina^[58], aunque no está claro por qué este compuesto tiene un rendimiento cuántico de fluorescencia 20 veces mayor que la TFMP. Los análogos 2-SCH₃ muestran valores ϕ_f tres a seis veces mayor que el correspondiente CF₃-sustituido, pero son todavía menor al valor de la promazina. Todas las promazinas tienen valores de ϕ_f del orden de 10⁻² - 10⁻³. Por lo tanto, otros mecanismos de desactivación del estado S₁ deben de competir favorablemente con

el proceso de fluorescencia. La cadena 10-alkilamino es bien flexible en solución. Como todas las conformaciones son térmicamente accesibles, su interconversión debería disminuir los valores de la eficiencia cuántica de emisión. Además, el anillo de fenotiazina se aplana en la excitación, lo que también puede afectar al estado S_1 . El rendimiento cuántico de fluorescencia para fenotiazina (PH) es 0.0034 en MeOH y MeCN. La eficiencia de emisión de PZ es 10 veces mayor que la de PH.^[63] Esto sugiere que la cadena alquilamino tiene un efecto en la emisión de estos compuestos.

Tabla 1.2: Propiedades de emisión de los derivados de las fenotiazinas.

Fenotiazina	λ^{\max} (nm) , Stokes (cm^{-1}), $\phi_F \times 10^{-3}$ y τ_f (ns)				
	Acetonitrilo		Metanol	PBS (pH = 7.4)	
	García ^[56]	Elisei ^[58]		García ^[56]	Elisei ^[58]
PZ	444		444	452	
	8,924		10,050	10,449	
	20.0		4.5	14.3	
	1.85		1.75 ^{b)}	2.04 ^{b)}	
CPZ	451		449	453 ^{a)}	
	9,372		9,474	9,772	
	0.89		0.95	3.6	
	0.92		0.89 ^{b)}	0.35 ^{b)}	
TFMPZ	470		463	475	
	10,982		10,659	11,627	
	1.1		1.0	1.4	
	2.66		2.47	3.17	

Fenotiazina	λ^{\max} (nm) , Stokes (cm ⁻¹), $\phi_F \times 10^{-3}$ y τ_f (ns)				
	Acetonitrilo		Metanol	PBS (pH = 7.4)	
	García ^[56]	Elisei ^[58]		García ^[56]	Elisei ^[58]
TMPZ	460		455	475	
	10,007		9869	11,102	
	3.0		3.0	3.0	
	1.16		1.15	1.17	
PCP	449	458 ^{c)}	449	457 ^{a)}	467 ^{c)}
	8,688	--	9,175	9,174	--
	8.4	1.00	46.6	3.3	7.0
	0.91	0.81	0.89	--	--
TFMP	470	475 ^{d)}	467	482	470 ^{d)}
	10,981	--	10,844	11,720	--
	1.0	20	1.0	1.4	20
	2.68	2.7	2.52	3.01	3.3
TR	455	460	453	466	475
	9,668	--	9,772	10,592	--
	5.0	7.0	4.1	6.0	11.0
	1.03	1.1	0.96	1.47	1.7

a) medido en PBS (pH = 6.9)

b) Valores de García C. y colaboradores^[59]

c) Valores correspondientes para la perfenazina

d) Valores correspondientes para el clorhidrato de flufenazina

El mayor efecto en las propiedades del estado triplete de los derivados fenotiazínicos halogenados en la posición-2 se observa en medio acuoso (PBS, por sus siglas en inglés). El rendimiento cuántico y el tiempo de vida de este intermedio

decaen a menos del 5% del valor correspondiente en disolventes orgánicos (Tabla 1.3). El estado triplete de los derivados 2-halogenados de promazina se desactiva eficientemente mediante un mecanismo de transferencia de protones y la razón de dicha desactivación correlaciona muy bien con la fototoxicidad de estos fármacos. Por lo tanto, García y sus colaboradores postulan que esta especie debe de estar directamente relacionada con el efecto fototóxico de los fármacos neurolépticos.^[56]

Tabla 1.3 Propiedades del estado triplete de los derivados de fenotiazinas.

Fenotiazina	λ^{\max} (nm), $\epsilon_T \times 10^{-4}$ (M ⁻¹ cm ⁻¹), ϕ_T , τ_T (μ s)				
	Acetonitrilo		Metanol	PBS (pH = 7.4)	
	García ^[59]	Elisei ^[58]		García ^[59]	Elisei ^[58]
PZ ^{a)}	460		460	460	
	4.33 ^{b)}		2.65	--	
	0.57		0.41	0.58	
	62 ^{b)}		61	61	
CPZ ^{a)}	460		460	460	
	6 ^{b,c)}		1.95	--	
	0.73		0.90	--	
	0.91 ^{b)}		2.2 ^{b)}	--	
TFMPZ	470		460	460	
	2.84		2.2	2.52	
	0.68		0.67	0.39	
	49		91 ^{d)}	3.4	
TMPZ	470		470	475	
	--		1.3	--	
	0.84		0.89	0.90	
	--		59	33	

Fenotiazina	λ^{\max} (nm), $\epsilon_T \times 10^{-4}$ (M ⁻¹ cm ⁻¹), ϕ_T , τ_T (μ s)				
	Acetonitrilo		Metanol	PBS (pH = 7.4)	
	García ^[59]	Elisei ^[58]		García ^[59]	Elisei ^[58]
PCP	470	480 ^{e)}	470	--	490 ^{f)}
	4.2	--	3.5	--	--
	0.40	0.58	0.35	--	--
	0.80	0.66	55.0	--	2.9
TFMP	470	450 ^{g)}	470	470	480 ^{g)}
	3.23	1.15	2.38	2.8	3.3
	0.39	1.0	0.50	0.22	--
	66	0.95	111	2.13	--
TR	470	470	470	480	480
	1.8	1.1	1.54	1.27	3.3
	0.70	1.0	0.74	0.67	--
	100	4.2	143	35 ^{h)}	--

- a) Los valores son de García et. al.^[59], a menos que se indique lo contrario
- b) Valores de García et. al.^[59]
- c) La absorción requerida de merocianina540 es 0.1, lo que introduce un error de ~ 30%.
- d) 63 ns para una solución saturada de aire.
- e) Valores correspondientes para la perfenazina.
- f) Valores correspondientes para la perfenazina en agua.
- g) Valores correspondientes para el clorhidrato de flufenazina.
- h) 650 ns para una solución de aire saturado.

2

MATERIALES y MÉTODOS

2.1) Reactivos Genéricos

Todos los disolventes fueron obtenidos de proveedores conocidos y son de grado espectrofotométrico o HPLC. La siguiente Tabla muestra los reactivos usados más relevantes:

Compañía	Reactivos (Abreviación)	
Sigma- Aldrich	Acetonitrilo-deuterado (CD_3CN)	Fenantrolina
	Ácido Maleico	Fenilindeno (FIND)
	Ácido metacloroperbenzoico (m-CPBA)	Fosfato Disódico (Na_2HPO_4)
	Benzofenona (BP)	Fosfato Monosódico (NaH_2PO_4)
	n-Butil litio (n-BuLi)	Fenotiazina (PH)
	1-cloro-3-dimetilamino-2-metil propilo	Hidruro de sodio (NaH)

Compañía	Reactivos (Abreviación)	
	2-Clorofenotiazina (CPH)	Metanol deuterado (CD ₃ OD)
	Cloroformo-deuterado (CDCl ₃)	Oxalato de Potasio
	Cloropromazina- HCl (CPZ)	Promazina-HCl (PZ)
	Cloroprotixeno-HCl (CPTX)	Sulfato de Magnesio (MgSO ₄)
	2-Clorotioxantona (CTX)	Timidina (Thd)
	Cloruro Férrico	Tioxantona (TX)
	Dietil éter	Trietilamina (TEA)
	Dimetilsulfóxido-deuterado	Trifluorometilpromazina-HCl (TFMPZ)
	Dodecil sulfato de sodio (SDS)	
Fisher	Acetato de Etilo (EtOAc)	Hexano (HX)
	Acetato de Sodio (NaOAc)	Hidróxido de Amonio
	Acetonitrilo (MeCN)	Hidróxido de sodio (NaOH)
	Ácido Sulfúrico (H ₂ SO ₄)	Metanol (MeOH)
	Azida de Sodio (NaN ₃)	Naftaleno (NP)
	Diclorometano (CH ₂ Cl ₂)	30% Peróxido (H ₂ O ₂)
	Dimetilformamida (DMF)	Tetrahidrofurano (THF)
	Etanol (EtOH)	
Humacao Gas	Nitrógeno (N ₂)	

2.2) Actinometría

La intensidad de la lámpara se determinó con el actinómetro de Hatchard-Parker basado en el ferrioxalato de potasio (K₃[Fe (C₂O₄)₃]*3H₂O).^[60] Para la síntesis de

ferrioxalato de potasio se mezclaron 1.5 M de oxalato de potasio ($K_2C_2O_4$) con 1.0 M de cloruro férrico ($FeCl_3$) en una razón 3:1. El producto precipita, se recristaliza con agua, se seca a $45^\circ C$ en un horno y se mantiene en la oscuridad. Para determinar la intensidad de la lámpara, se prepara una solución 6.0 mM de ferrioxalato de potasio utilizando 2.5 mL de 1.0 N de H_2SO_4 y diluyendo a volumen con agua destilada. De esta solución se extraen 3.0 mL para cada tiempo de irradiación y se extrae una alícuota de 0.5 mL luego de ser irradiada. Esta alícuota es diluida a un volumen total de 5.0 mL, añadiendo 2.0 mL 0.1% 1,10 -fenantrolina, 0.250 mL de una solución tampón de acetato de sodio (8.2 g NaOAc + 1.0 ml de H_2SO_4 diluidos a 100 ml con agua destilada) y 2.0 mL con agua destilada. Estas soluciones se mantienen en la oscuridad durante aproximadamente una hora para asegurarse que todo el Fe^{2+} se compleje con la fenantrolina. Entonces, se mide la absorbancia de las soluciones a 510 nm utilizando como blanco una alícuota que no fue irradiada (paso óptico = 1 cm; $\epsilon_{510} = 11,100 \text{ dm}^{-3} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). La absorbancia de este complejo debe mantenerse dentro del rango de 0.4-1.8 y la conversión total no debe exceder del 5%. El flujo de fotones (I_0) se evaluó con la siguiente ecuación:

$$I_0 = \frac{\Delta A_{510} \times V}{\Delta \epsilon_{510} \times \phi \times \Delta t \times l} [\text{Einstein} \times s^{-1}] \quad (2.1)$$

2.3) Estudios Espectrofotométricos

Los espectros de absorción se registraron en un espectrofotómetro UV-Vis HP8453 con arreglo de fotodiodos o con un Cary 300 (UV0811M209, Varian). Las medidas de fluorescencia en estado estacionario se obtuvieron con los siguientes instrumentos: Photon Technology Internacional (PTI) modelo LPS-220B equipado con lámpara de

Xenón de 75 W, SPEX τ -3 equipado con una lámpara Xe-Hg de 250 W y Fluoromax-3 con una lámpara de 150 W. Las medidas de fluorescencia en tiempo resuelto se hicieron en un espectrofotómetro PTI modelo TM-2/2003 equipado con lámpara H₂/N₂ (50/50, duración del pulso de 1.8 ns) y un detector estroboscópico.

Los espectros Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de protón y carbono fueron hechos en un espectrómetro Bruker Avance NMR 400 con una sonda de 5 mm BBO (Bruker, MA).

2.4) Estudios Cromatográficos

2.4.1) Cromatografía de Gas acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)

La técnica de GC-MS fue utilizada para la separación y caracterización de los compuestos sintetizados y los fotoproductos. Para estos propósitos se utilizó un cromatografo de gas Thermo Finnigan Trace GC y un espectrómetro Polaris Q. La columna capilar fue de la compañía Restek 12623 (Fase Estacionaria: RTX-5MS: Crossbond 5% Difenil, 95 % dimetil polisiloxano, largo = 30 m). Las condiciones del horno fueron: Temperatura Inicial = 150°C, Temperatura Final = 250°C y una rampa de temperatura = 10°C min⁻¹. Las condiciones del detector se ajustaron a: Fuente de iones = 200°C, Línea de Transferencia = 275°C, Modo de rastreo = Rastreando Todo (Rango 50-650), Impacto Electrónico = 70 eV y Selector de Masas = Trampa de Iones. Condiciones del inyector fueron: Modo = Split, Temperatura = 200°C, Split Flow = 26 mL min⁻¹, Split Ratio = 17, Gas = Helio y Flujo Constante = 1.5 mL min⁻¹.

2.4.2) Cromatografía Líquida de alta Eficiencia- HRTIS (UPLC-HRTIS)

La técnica de UPLC-HRTIS fue utilizada para determinar la masa de varios de los compuestos sintetizados y fotoproductos. Para este propósito se utilizó el sistema 20 ACQUITY UPLC (Waters Corp.) Provisto con un inyector automático acondicionado a 4°C. La separación se llevó a cabo con una columna ACQUITY UPLC HSS T3 C18 (150 mm x 2.1 mm (diámetro interno), 1.8 μ m). La temperatura de la columna se mantuvo a 40°C durante la separación. La fase móvil para el análisis cromatográfico consistió de una mezcla de MeOH:H₂O (50:50 v:v), la cuál contiene un 0.01% de ácido fórmico) y esta se eluye con una velocidad de flujo de 0.5 mLmin⁻¹. El volumen de muestra inyectado en cada análisis fue de 1 μ L. El espectrómetro de masas es un Waters ACQUITY™ XevoQToF acoplado al UPLC con una interfaz de ionización por electro-aerosol (“electrospray”, ESI). La fuente del ESI opera en modo de ionización positiva con una tensión capilar (“capillary voltage”) de 3.0 kV. La temperatura de la fuente y la desolvatación se ajustaron a 100 °C y 400 °C, respectivamente. El cono y el flujo de gas para la desolvatación fueron ajustados a 100 L*h⁻¹ y 800 L*h⁻¹, respectivamente. Los datos fueron recopilados con el modo Centroid que se adquirió utilizando el programado Masslynx™ (Waters Corp). Leucina-encefalina fue utilizada para el control de la masa y el ión [M+H]⁺ tiene una razón de masa carga (m/z) equivalente a 556.2771, a una concentración de 500 pg*mL⁻¹ y una velocidad de flujo de 50 μ Lmin⁻¹ para asegurar la precisión durante el análisis de MS.

2.5) Fluorescencia y Rendimiento Cuántico de Fluorescencia

Los espectros de fluorescencia y los correspondientes rendimientos cuánticos fueron medidos en un espectrofluorímetro marca Spex Fluorolog Tau-3 de la compañía Horiba. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia (ϕ_f) para zCPTX 3b

se determinaron usando como referencia la emisión de triptófano en agua ($\epsilon_F = 0.13$).^[61] La longitud de onda excitación fue 280 nm y las rejillas del monocromador se ajustaron a 2.5 nm. Los espectros de emisión de zCPTX y del estándar fueron hechos en un rango de absorciones entre 0.01 y 0.08 a 280 nm. Para 2-clorotioxantona (CTX 3c), la longitud de onda de excitación fue 340 nm y se utilizó como estándar tioxantona (TX, $\epsilon_F = 0.0051$).^[62] Para MTP y MTPSO, la longitud de onda de excitación fue 334 nm y se utilizó como estándar fenotiazina (PH1a, $\epsilon_F = 0.0034$ en MeOH y EtOH).^[63] Se corrigió por la sensibilidad del instrumento y por diferencias en el índice de refracción de los disolventes utilizados. La energía singlete se obtuvo de la intersección del espectro de emisión con el espectro de excitación.

2.6) Fotólisis en Estado Estacionario

La fuente de luz para la fotólisis estacionaria es una lámpara de xenón-mercurio de alta presión (1000 vatios). La longitud de onda de mayor intensidad es la de 313 nm, la cual fue aislada con un monocromador de rejilla de 1/8". La intensidad en esta longitud de onda se midió antes y después de cada fotólisis. Todas las fotorreacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente usando una cubeta de cuarzo ($1 \times 1 \times 4 \text{ cm}^3$) durante el tiempo requerido para alcanzar entre un 10% a 80% de conversión del material de partida. Las soluciones fueron agitadas durante toda la fotólisis para evitar gradientes de concentración. La concentración de zCPTX fue determinada por cromatografía líquida de alta eficiencia. El protocolo seguido para la separación del material de partida de los fotoproductos fue el descrito por Li-Wan y colaboradores.^[29] Los cromatogramas fueron tomados en un cromatógrafo de la compañía Agilent Technologies modelo 1200. Los parámetros utilizados en el instrumento fueron: velocidad de flujo = 0.500 mL/min; Degasificador = G1322A;

Autoinyector = G1313A; Detector UV-Vis con arreglo de diodos = G1315B. Los fotoproductos fueron separados con una columna de fase inversa marca Partisil C8 de la compañía Waters. Las especificaciones de la misma son tamaño de poro 5 μm , longitud 250 mm y 4.6 mm diámetro interno. La fase móvil utilizada contiene acetato de etilo, metanol y 3% de hidróxido de amonio en proporción 84:15:1. La curva de calibración para determinar la concentración de zCPTX se preparó usando un rango de concentraciones desde 0.02 mM hasta 0.12 mM con una concentración constante de 0.062 mM de promazina (PZ 2a) como estándar interno. Todas las soluciones utilizadas para la calibración se inyectaron tres veces y se promediaron los resultados. Todas las integraciones y los cálculos se hicieron con el programa HP-ChemStation.

Para la fotólisis de MTP 4c en PBS 7.4 se usó la técnica de cromatografía HPLC-RP. Se utilizó como fase estacionaria una columna Eclipse XDB-C18 (Longitud = 250 mm, Diámetro = 4.6 mm, Tamaño de partícula = 5 μm). La fase móvil que se usó fue 50:50 [solución de pH = 5 compuesta por 500 mM acetato de amonio, 25 mM dodecil sulfato de sodio (SDS): 5% Tetrahidrofurano en MeCN.^[64] Las curvas de calibración para MTP y MTPSO 4c se prepararon en un rango de concentraciones de 0.0040 - 0.045 mM con una concentración constante de 0.025 mM de 2-cloro-10-(3-dimetilamino-2-metil)-fenotiazina (CTP 4b) como estándar interno.

2.7) Fotólisis de Destello Láser (FDL)

Los experimentos de fotólisis de destello láser (FDL) se llevaron a cabo con tres instrumentos: un láser pulsado de Nd-YAG (Spectron SL4004G-10, con duración de pulso de 10 ns y energía de 10-15 mJ/pulso a 355 nm), un láser pulsado de Nd-YAG (Surelite II Continuum, con duración de pulso de 10 ns y energía de 3 mJ/pulso), y un láser de excímero de XeCl (LEXTRA50 Lambda Physik LaserTechnik con duración de

ca. 17 ns y energía 40 mJ/pulso a 308 nm). Para el láser Nd-YAG Spectron SL4004-10 y el excímero, se empleó una lámpara de Xenón Oriel Lo255 (Strafford, CT) como fuente de luz para análisis de las especies transitorias. El sistema de FDL consiste en un láser pulsado, lámpara de Xe, un monocromador Oriel 77200, un sistema fotomultiplicador Oriel (PMT) formado por un tubo lateral 77348 PMT, una carcasa 70680 PMT, una fuente de potencia 70705 PMT y un osciloscopio Tektronik TDS-640A. La señal se transfirió a un ordenador personal para tratar los datos con el programa Onda. La estructura del láser pulsado Surelite II (Continuum) se describe detalladamente por García y colaboradores.^[56] Las muestras se analizaron en cubetas de cuarzo con un paso óptico de 10 mm y burbujeadas con nitrógeno o argón por 15 minutos antes de cada experimento. La concentración de CTX fue 0.050 mM, lo cual corresponde a una absorbancia de 0.12 a 355 nm. Para los experimentos de inhibición del estado triplete de CTX se adicionan volúmenes conocidos de una solución concentrada del inhibidor, manteniendo la concentración de CTX constante.

El coeficiente de absorción molar (ϵ) del estado triplete de CTX se midió utilizando el método de transferencia de energía descrito por Bensasson y colaboradores.^[65] Para este propósito, se prepara una solución 0.045 mM de CTX en MeCN saturada con nitrógeno o argón previo a la excitación a 355 nm. Este procedimiento se hace tanto en ausencia como en presencia del inhibidor. Como inhibidor de $^3\text{CTX}^*$ se usó naftaleno (NP). Bajo estas condiciones, la luz del láser es absorbida por CTX, se forma $^3\text{CTX}^*$, y este le transfiere la energía a NP. Es importante asegurarse que el 95% de la energía sea transferida para obtener resultados confiables.^[66] El valor de τ para $^3\text{CTX}^*$ se determinó con la siguiente ecuación:

$$\epsilon_{\text{CTX}} = \frac{\Delta OD_{\text{CTX}}}{\Delta OD_{\text{NP}}} \times 0.95 \times \epsilon_{\text{NP}} \quad (2.2)$$

Utilizando las diferencias en la absorción (OD) del ${}^3\text{CTX}^*$ y ${}^3\text{NP}^*$ se calcula entonces el ϕ_T de ${}^3\text{CTX}^*$, utilizando el $\phi_T(\text{NP}) = (1.1 \pm 0.2) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 412 nm.^[67-68]

El rendimiento cuántico del cruce intersistémico se obtiene por el método comparativo utilizando el estado triplete excitado de benzofenona (${}^3\text{BP}^*$) o tioxantona (${}^3\text{TX}^*$) como referencias. Las propiedades de ${}^3\text{BP}^*$ en acetonitrilo son: $\phi_T = 1.00$ y $\alpha_T = (6.5 \pm 0.7) \times 10^3 \text{ (M cm)}^{-1}$ a 520 nm.^[69] Las propiedades de ${}^3\text{TX}^*$ en acetonitrilo son: $\phi_T = 0.66$ y $\alpha_T = (2.2 \pm 0.3) \times 10^4 \text{ (M cm)}^{-1}$ a 625 nm.^[70] Para este experimento, tanto CTX como los estándares deben tener la misma absorbancia a 355 nm y deben ser pre-saturados con nitrógeno o argón. La absorbancia de ${}^3\text{CTX}^*$ a 630 nm y ${}^3\text{BP}^*$ a 520 nm o ${}^3\text{TX}^*$ a 625 nm se midió a diferentes intensidades del láser. De este experimento se obtiene una dependencia lineal entre el OD y la intensidad del láser. Los valores ϕ_T para CTX se calcularon con la siguiente ecuación:

$$\phi_T^{\text{CTX}} = \phi_T^{\text{STD}} \left(\frac{\alpha_T^{\text{CTX}} \epsilon_T^{\text{STD}}}{\alpha_T^{\text{STD}} \epsilon_T^{\text{CTX}}} \right) \quad (2.3)$$

donde α_T es el coeficiente de absorción molar del estado triplete, STD corresponde a los estándares (${}^3\text{BP}^*$ o ${}^3\text{TX}^*$), y α_T es la densidad óptica del triplete excitado por ml (pendiente de OD vs intensidad del láser). Las constantes de rapidez de desactivación intrínseco de ${}^3\text{CTX}^*$ y de autoinhibición (k_0) se obtienen de un análisis tipo Stern-Volmer ($Q = \text{CTX}$, Ec. 2.4). Los tiempos de vida de ${}^3\text{CTX}^*$ corresponden al recíproco de k_0 .

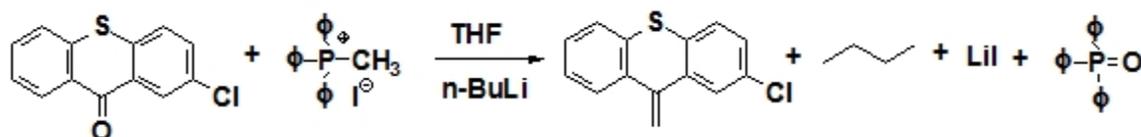
$$k_{obs} = k_0 + k_Q[Q] \quad (2.4)$$

Para determinar las propiedades de ${}^3\text{MTP}^*$ y ${}^3\text{MTPSO}^*$, se utilizó como aceptor fenilindeno (FIND) con $\phi_T = (3.1 \pm 0.5) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 380 nm y $E_T = 214 \text{ kJ/mol}$.^[71]

2.8) Cálculos Teóricos

Las energías relativas de los compuestos se obtuvieron con cálculos teórico-cuánticos. Todos los sistemas fueron pre-optimizados al vacío con el método semiempírico PM3 usando el gradiente conjugado de Polak-Ribiere (límite de convergencia es 1×10^{-5} y $0.01 \text{ \AA}^{-1} \text{ kcal/mol RMS}$).^[72] La optimización final se hizo con el método DFT[B3LYP/6-31G (d) OPT SCRF = (PCM, <solvente>] en Gaussian 03 en las instalaciones de computación de alto rendimiento de la Universidad de Puerto Rico-Río Piedras (High Performance Computer Facilities UPR). Todos los parámetros de conformación y las propiedades termodinámicas se obtuvieron con un cálculo de punto fijo DFT. Los orbitales que participan en las transiciones electrónicas se determinaron con el método de interacción de configuraciones PM3(CIS) con 5 orbitales ocupados y 5 desocupados. La energía de reacción se aproximó como la diferencia de la energía Hartree al vacío o en solución de cada especie.^[73]

2.9) Síntesis de 2-cloro-10-metilenotioxanteno (CMTX 3d)^[74]

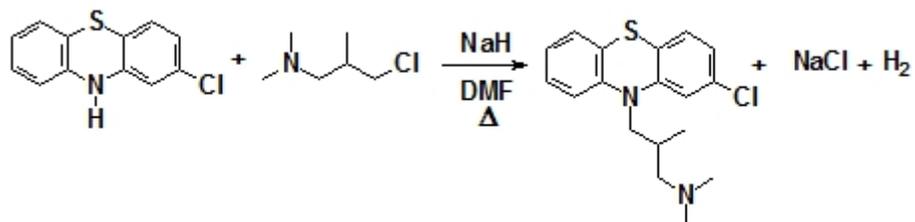


En un balón de 50 mL con agitador magnético y en atmósfera de nitrógeno se prepara una solución de yoduro de metiltrifenilfosfonio (4.14 mmol, 1.67 g) en 17 mL de tetrahidrofurano (THF). A esta solución se le añaden 1.7 mL de n-BuLi durante 5 minutos, se calienta hasta 66°C y se mantiene a esa temperatura por 30 minutos adicionales. Luego, el sistema se enfría a temperatura de salón y se le agregan 1.01 g de 2-clorotioxantona 3c (4.10 mmol). Después se pone la mezcla de reacción a reflujo por 1 hora y se enfría nuevamente a temperatura ambiente. Se añade n-

hexano a la mezcla de reacción y se lava con agua varias veces. El hexano es removido por evaporación y el residuo se purifica por cromatografía de columna. El producto purificado tiene un 50% rendimiento.

^1H -RMN (400 MHz, CD_3CN) δ (ppm) 5.67 (d, 2H, $J = 3.2$ Hz), 7.37 (m, 5H), 7.71 (m, 2H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CD_3CN) δ (ppm) 116.4, 127.2, 127.3, 128.6, 128.7, 129.2, 129.6, 131.0, 131.6, 133.6, 135.0, 137.3, 142.4; MS m/z [%Abundancia] 104 [18], 163 [30], 165[100], 208[40], 209[85], 244[90], 246[35]; UV-Vis (MeCN) λ_{max} (nm): 231, 270, 338.

2.10) Síntesis de ()-2-cloro-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)fenotiazina (Clorotrimепразина, CTP 4b).

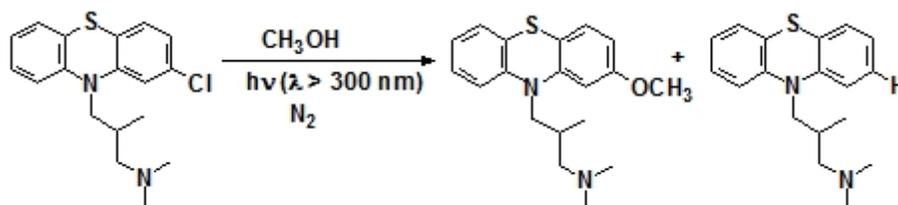


En un balón de 250 mL de tres bocas con agitador magnético, embudo de adición, termómetro y bajo condiciones anaeróbicas se agregan 25 mL de dimetilformamida (DMF) seca. La temperatura del sistema se baja a 5°C con un baño de hielo y se agregan 0.83 g de hidruro de sodio (NaH). Se añade gota a gota una solución de 2 gramos de 2-clorofenotiazina 1b disuelta en 10 mL de DMF. Inmediatamente se observa la evolución de gas (H_2) y la mezcla de reacción se torna color anaranjado. Durante la adición de la fenotiazina la temperatura no aumenta más de 5°C . La mezcla de reacción se agita por 20 minutos. Luego se añaden 1.82 gramos de 1-cloro-3-dimetilamino-2-metilpropilo disueltos en 40 mL de DMF. Entonces, se remueve el baño de hielo y se calienta la mezcla de reacción hasta 80°C por 3 horas.

La mezcla de reacción se agrega a 190 mL de agua con hielo y se extrae con dietil éter. La fase orgánica se trata con carbón activado y sulfato de magnesio como agente secante, se filtra y se evapora el disolvente. El producto crudo se purifica por cromatografía de columna usando como fase móvil una solución de 5% Trietilamina y 95% Hexano. Finalmente, se obtienen 2.42 gramos de un sólido blanco, lo que equivale a un 85% de rendimiento. Punto de fusión 67°C- 70°C.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 0.86 (d, 3H, $J = 6$ Hz), 2.02 (m, 2H), 2.10 (s, 6H), 2.25 (m, 1H), 3.60 (dd, 1H, $J = 8.0$ Hz, $J = 14.0$ Hz), 3.96 (d,d 1H, $J = 4.40$ Hz, $J = 13.6$ Hz), 7.00 (m, 4H), 7.15 (m, 3H); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm) 16.1, 28.8, 45.9, 51.5, 63.8, 116.2, 116.6, 122.1, 122.9, 123.3, 124.0, 127.3, 127.7, 128.1, 132.4, 144.5, 146.7. MS m/z [%Abundancia] 58 [100], 100 [50], 332[20], 334[8]. UV-Vis (MeOH) λ_{max} (nm) [log ϵ] 203[4.38], 257[4.45], 311[3.57].

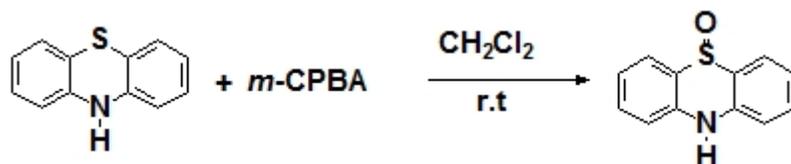
2.11) Síntesis de ()-2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)fenotiazina (MTP 4c)^[75]



Una solución 0.50 mM de ()-2-cloro-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)fenotiazina **4b** en metanol es transferida a un fotorreactor con capacidad de 350 mL y se burbujea con nitrógeno por espacio de 45 minutos. Luego, esta se irradia a longitudes de onda mayor de 300 nm por 15 minutos con una lámpara de 450 Watts. Se evapora el metanol y se purifican los fotoproductos por cromatografía de columna.

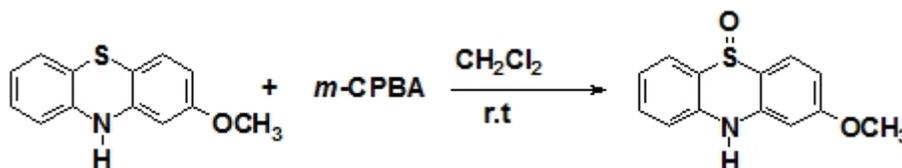
Se obtiene un 70% de rendimiento de MTP 4c y un 40% de ()-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)fenotiazina (TP 4a). El peso molecular de alta resolución (HRMS [MH⁺]) para C₁₉H₂₅N₂OS fue de 329.1672 (El calculado es 328.1688).

- a. Caracterización de MTP 4c: ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 0.88 (d, 3H, J = 6.0 Hz), 2.05 (m, 2H), 2.10 (s, 6H), 2.24 (m, 1H), 3.60 (d,d, 1H, J = 8.0 Hz, J = 14.0 Hz), 3.74 (s, 3H), 3.96 (d,d 1H, J = 4.40 Hz, J = 13.6 Hz), 6.56 (d,d, 1H, J = 2.4 Hz, J = 8.4 Hz), 6.60 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 6.94 (m, 1H), 7.04 (m, 2H), 7.18 (m, 2H). ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 17.1, 29.3, 46.4, 51.9, 55.8, 64.5, 103.8, 108.2, 115.6, 116.8, 122.9, 125.6, 127.6, 127.8, 128.1, 145.6, 147.2, 160.0. MS m/z [%Abundancia]: 58 [100], 100 [50], 229 [40], 283[15], 328[30]. UV-Vis (MeCN) _{max} (nm) [log ε]: 256[4.44], 310[3.71].
- b. Caracterización de ()-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)fenotiazinas 4a: ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 0.88 (d, 3H, J = 6.0 Hz), 2.05 (m, 2H), 2.09 (s, 6H), 2.25 (m, 1H), 3.60 (d,d, 1H, J = 7.6.0 Hz, J = 13.6 Hz), 3.74 (s, 3H), 3.96 (d,d 1H, J = 4.40 Hz, J = 13.6 Hz), 6.95 (d, d, d, 2H, J = 0.8 Hz, J = 8.0 Hz), 7.03 (d, 2H, J = 8.0 Hz), 7.18 (m, 4H). ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 17.1, 29.2, 46.3, 51.8, 64.4, 116.7, 123.0, 124.9, 127.7, 128.0, 128.1, 145.8. MS m/z [%Abundancia]: 58 [100], 100 [50], 180 [25], 199 [35], 252[25], 298[30]. UV-Vis (MeOH) _{max} (nm) [log ε]: 205[4.45], 255[4.50], 306[3.65].

2.12) Síntesis de 5-óxidofenotiazina (PHSO 1d)^[76]

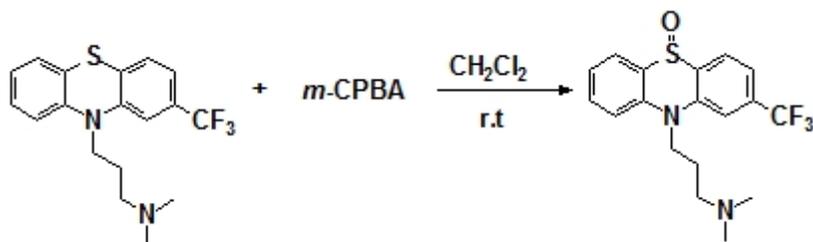
En un balón de 25 mL con agitador magnético se añaden 0.25 gramos de fenotiazina 1a (1.25 mmol) y se disuelven en 7 mL de diclorometano seco. A esta solución transparente se le agregan 0.29 gramos de ácido cloroperbenzoico en forma sólida, lo que instantáneamente cambia el color de la solución a azul intenso. A medida que se agita la solución a temperatura ambiente, el color azul intenso se transforma lentamente a color verde. La solución se deja agitando a temperatura ambiente por 24 horas, donde el color verde desaparece y el producto de interés precipita. PHSO se filtra y se lava con diclorometano varias veces. Se obtienen 0.15 gramos del producto, lo cual representa un 55% de rendimiento.

^1H -RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 7.20 (d,d,d, 2H, $J = 1.0$ Hz, $J = 7.6$ Hz), 7.40 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.62 (d,d, 2H, $J = 1.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz), 7.91 (d,d, 2H, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz); ^{13}C -RMN (100 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 117.3, 121.4, 121.6, 131.6, 133.2, 137.3; GCMS m/z (%) 167 (95), 199 (100), 215 (15); UV-Vis (λ_{max} (nm) en Me3CN): 228, 271, 303, 337; Emisión de fluorescencia (nm en MeCN) 383, 492.

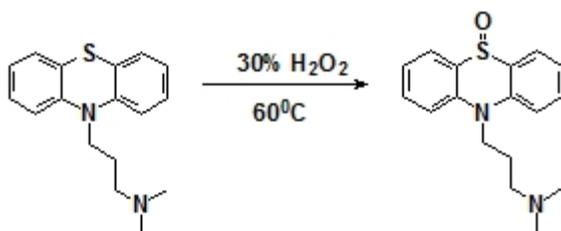
2.13) Síntesis de 2-metoxi-5-óxidofenotiazina (MOPHSO 1e)^[77]

Un balón de 50 mL con agitador magnético se coloca en un baño de hielo (0-5 °C) y se le añaden 0.47 mmol de 2-metoxifenotiazina 1c y 10 mL de diclorometano. A esta solución se le agregan gradualmente 0.47 mmol de ácido meta-cloroperbenzoico (*m*-CPBA) disueltos en 3 mL de diclorometano. La mezcla de reacción resultante se agita por 30 minutos. El baño de hielo es removido y la mezcla de reacción se agita por una hora a temperatura ambiente, hasta que el producto precipite. El producto se filtra y se enjuaga varias veces con diclorometano seco. El rendimiento es 49%.

¹H- (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 3.92 (s, 3H), 4.63 (s, 1H), 6.87 (m, 2H), 7.25 (m, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.64 (m, 1H), 7.84 (m, 1H), 7.92 (d,d, 1H, J = 0.6 Hz, J = 1.8 Hz); ¹³C-RMN (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 56.2, 100.7, 111.5, 113.2, 118.0, 120.8, 122.8, 132.2, 133.9, 134.3, 138.4, 140.6, 165.3; MS m/z [%Abundancia]: 58 [100], 100 [50], 180 [25], 199 [35], 252[25], 298[30]; UV-Vis (MeCN) _{max} (nm) [log ε]: 237[4.54], 273[4.12], 294[3.77], 326[3.64].

2.14) Síntesis de 5-óxido-2-trifluorometilpromazina (TFMPZSO 2f)^[76]

Se utilizó el procedimiento descrito para la síntesis de 5-óxidofenotiazina 1d modificado de la siguiente forma: Se disuelve el m-CPBA en diclorometano antes de añadirse a la 2-trifluoropromazina 2c y se baja la temperatura de reacción a 0°C. Además, para eliminar el exceso del m-CPBA, se utilizó dietilamina. Se evapora el disolvente y el producto crudo es purificado por cromatografía de columna (Fase móvil: 10% Trietilamina, 90% Acetato de Etilo). Se obtienen 0.24 gramos del producto lo que representa un 46% de rendimiento.

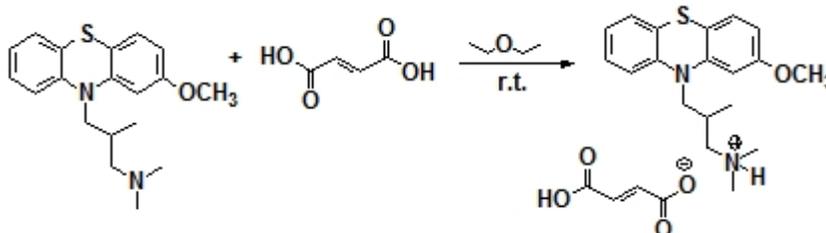
2.15) Síntesis de promazina-sulfóxido (PZSO 2d)^[78-79]

En un balón de 50 mL (con agitador magnético, termómetro y condensador), se mezclan 20 mL de agua deionizada y 0.500 gr (1.6 mmol) de PZ 2a. La solución resultante es calentada hasta 60°C. Luego, se adicionan a esta solución 485 mL de 30% H₂O₂, lo que en forma inmediata induce un cambio de color transparente a marrón intenso. El transcurso de la reacción fue seguido por cromatografía de gas y

cromatografía de capa fina. La reacción termina en 30 minutos y la solución adquiere un color violeta intenso. Esta mezcla de reacción es transferida a un baño de hielo/agua y se le aumenta el pH a aproximadamente 10 con una solución 20% hidróxido de sodio. Esto cambia el color de la solución de vino a anaranjado claro. Se hacen tres extracciones con 20 mL de dietil éter cada una y se seca la fase orgánica con sulfato de magnesio (MgSO_4). Luego, se evapora el disolvente y se purifica el producto crudo por cromatografía de columna (Fase móvil 50% Acetato de Etilo, 45% Hexano, 5% Trietilamina). Se obtienen 0.14 gramos (30% rendimiento) del producto.

^1H -RMN (400 MHz, CD_3SOCD_3) δ (ppm): 1.90 (m, 2H), 2.15 (s, 6H), 2.36 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz), 4.38 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz), 7.28 (m, 2H), 7.71 (m, 4H), 7.95 (m, 2H);
 ^{13}C -RMN (100 MHz, CD_3SOCD_3) δ (ppm): 24.0, 44.7, 45.3, 55.8, 116.3, 121.5, 124.0, 131.1, 132.9, 138.0.

2.16) Síntesis de la sal de maleato de ()-2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)fenotiazinas^[80]

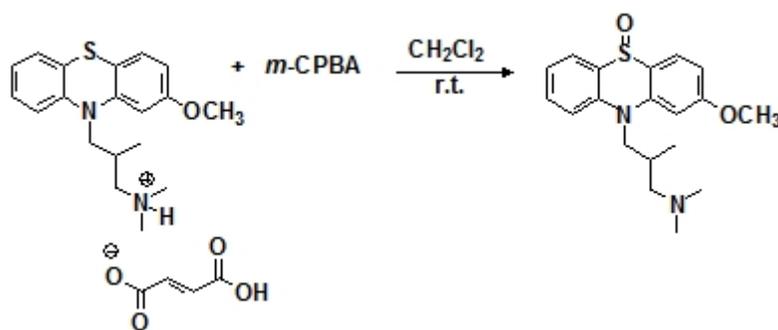


En un balón de 50 mL (con agitador magnético, embudo de adición y bajo atmósfera inerte), se agregan 0.57 gramos de ácido maleico (4.9 mmol) y se disuelven con 19 mL de dietil éter seco. Luego, 0.404 gramos de MTP 4c (1.2 mmol) se disuelven en 13 mL de dietiléter en un embudo de adición. Esta solución se añade gota a gota a la mezcla anterior e, inmediatamente, se debe de observar la precipitación de la sal de maleato de MTP. Luego, se filtra el sólido, se enjuaga

varias veces con dietil éter seco, y se seca al vacío. Se obtienen 0.52 gramos (98% de rendimiento).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.30 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz), 2.52 (s br 4H), 2.80 (s br 3H), 2.93 (d,d, 1H, $J = 90$ Hz), 3.29 (d, 1H, $J = 12.4$ Hz), 3.69 (d, d, 1H, $J = 3.2$ Hz, $J = 10.8$ Hz), 3.83 (s, 3H), 3.99 (d,d, 1H, $J = 4.4$ Hz, $J = 14.0$ Hz), 6.30 (s, 2H), 6.52 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 6.57 (d,d, 1H, $J = 2.4$ Hz, $J = 8.4$ Hz), 6.94 (d, 1H, $J = 8.4$), 7.02 (m, 1H), 7.13 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.27 (m, 2H), 12.23 (s, 1H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 17.0, 27.8, 42.0, 45.4, 51.5, 55.8, 62.7, 104.2, 108.1, 116.6, 117.3, 123.7, 127.2, 127.8, 128.1, 128.4, 135.6, 144.7, 146.5, 160.3, 169.5; UV-Vis (MeCN) λ_{max} (nm) [$\log \epsilon$]: 207[4.59], 248[4.36], 301[3.60].

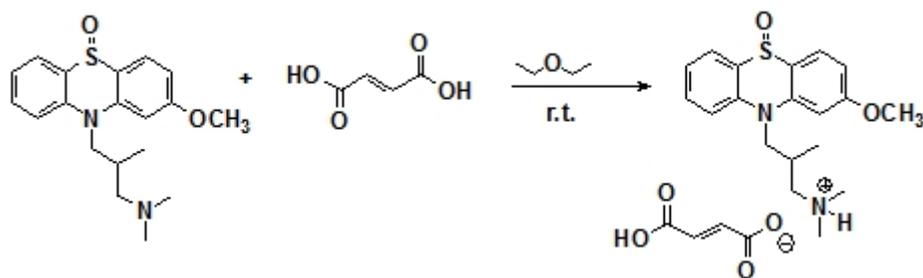
2.17) Síntesis de la mezcla de diastereoisómeros de 2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)-5-óxidofenotiazina (MTPSO 4e)



El procedimiento es igual al descrito para la síntesis de 5-óxidofenotiazina 1d, utilizando el maleato de MTP como reactivo inicial. Se usa este reactivo para evitar reacciones paralelas, como la oxidación del nitrógeno terminal de la cadena alifática. Durante la manipulación de la solución de reacción se pierde el contra-ión maleato y se obtiene un 71% de rendimiento.

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) (ppm): 0.86 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz), 2.13 (m, 1H), 2.26 (s, 6H), 2.31 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.99 (m, 1H), 4.51 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 7.00 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.53 (m, 2H), 7.80 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz), 7.87 (m, 1H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) (ppm): 17.0, 17.08, 30.69, 46.40, 46.52, 51.57, 51.61, 55.77, 55.85, 65.01, 102.45, 102.49, 107.99, 108.62, 116.88, 117.23, 119.26, 119.48, 121.86, 122.02, 126.41, 126.84, 131.01, 131.11, 132.20, 132.20, 132.41, 132.76, 132.95, 138.97, 140.51, 140.88, 142.44, 163.17, 163.24; MS m/z (% abundancia): 344 (2), 328 (35), 282 (18), 269(25), 242 (45), 226 (60), 185 (45), 58(100); UV-Vis (MeCN) (nm) [$\log \epsilon$]: 244[4.6], 280[4.1], 295 [3.9], 333[3.7]; El peso molecular HRMS $[\text{MH}^+]$ para $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ es 345.1628 (El calculado es 345.1637).

2.18) Síntesis de la sal de maleato de la mezcla de diastereoisómeros de 2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metilpropil)-5-óxidofenotiazina

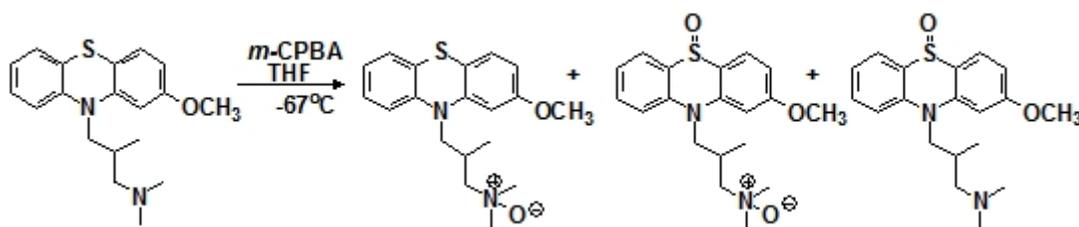


El procedimiento para la síntesis del maleato de MTPSO es el descrito para el maleato de MTP. El rendimiento fue 88%. El RMN de los productos es algo complejo porque se obtiene la mezcla de diastereoisómeros.

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) (ppm): 1.22 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz), 2.51 (s, 6H y m, 3H), 4.08 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 6.25 (s, 2H), 6.79 (m, 1H), 6.88 (d,d, 1H, $J = 2.2$ Hz, $J = 8.9$ Hz), 7.23 (m, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.80 (m, 2H), 11.00 (s,

1H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) (ppm): 16.52, 28.71, 28.75, 41.50, 45.40, 51.28, 51.34, 56.07, 60.96, 61.03, 103.03, 108.67, 109.22, 117.56, 117.77, 120.20, 121.08, 123.01, 123.22, 127.66, 128.59, 130.27, 130.38, 132.31, 132.41, 132.89, 133.33, 135.37, 138.02, 140.11, 140.88, 143.03, 163.37, 163.82, 169.24; UV-Vis (PBS/7.4) (nm) [log ϵ]: 248[4.5], 294[3.7], 332[3.7].

2.19) Síntesis del N-óxido de MTP (MTPNO 4f)^[81]



En un balón de dos bocas de 50 mL (con agitador magnético y atmósfera inerte), se introducen 0.200 g de MTP 4c y 2.0 mL de THF seco. La temperatura del sistema se baja a $-67\text{ }^\circ\text{C}$ y luego se añade 0.126 g de m-CPBA. La reacción es seguida por cromatografía de capa fina y, luego de 15 minutos, todo el reactivo inicial debe de haber reaccionado. Se observan al menos 3 productos en esta reacción. Se agregan 100 mL de dietilamina para destruir el exceso de m-CPBA y evitar la formación de compuestos adicionales. La mezcla de reacción es calentada hasta temperatura ambiente y luego se evapora el disolvente con alto vacío. El residuo se purifica por cromatografía de columna y se aíslan tres productos de la reacción: MTPSO 4e, N-óxido de MTP (MTPNO 4f) y el N-óxido de MTPSO (MTPSONO 4g).

- a. Caracterización de MTPNO **4f**: ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) (ppm): 0.86 (d, 3H, $J = 6.20$ Hz), 2.12 (m, 1H), 2.26 (d, 6H No tiene J asignado porque el doblete no está bien definido), 2.33 (m, 2H), 3.90 (d, 3H, $J = 1.2$ Hz), 4.00 (m, 1H), 4.51 (m, 1H), 6.78 (m, 1H), 7.00 (d,d, 1H, $J = 2.2$ Hz, $J = 30.6$ Hz), 7.20 (m, 1H), 7.54 (m, 2H), 7.80 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz), 7.87 (m, 1H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): 19.5, 27.6, 52.0, 55.7, 57.6, 60.2, 74.7, 104.0, 107.9, 116.4, 116.9, 123.2, 126.7, 127.6, 127.8, 128.2, 145.2, 146.8, 160.2; UV-Vis (MeCN) (nm) [log ϵ]: 254[4.43], 308[3.68]. El peso molecular HRMS [MH^+] para $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ es 345.1645 (El calculado es 345.1637).

MTPNO **4f** no es térmicamente estable bajo las condiciones del GC-MS^[82] (Fig. 2.1) y se descompone en, por lo menos, los siguientes cuatro productos: MOPH **1c** ($t_R = 13.59$ min., $m/z = 229$; Fig. 2.2a), 2-metoxi-10-(2-metil-alil)-10H-fenotiazina ($t_R = 14.90$ min., $m/z = 283$; Fig. 2.2b), MTP **4c** ($t_R = 18.32$ min., $m/z = 328$; Fig. 2.2c) y el derivado N-demetilado de MTP (Nombre IUPAC: [3-(2-Metoxifenotiazina-10-il)-2-metilpropil]-metilamina, $t_R = 19.35$ min., $m/z = 314$; Fig. 2.2d).

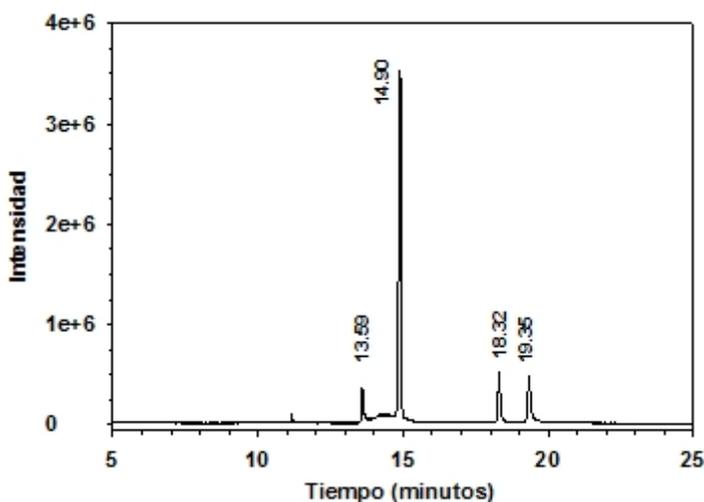
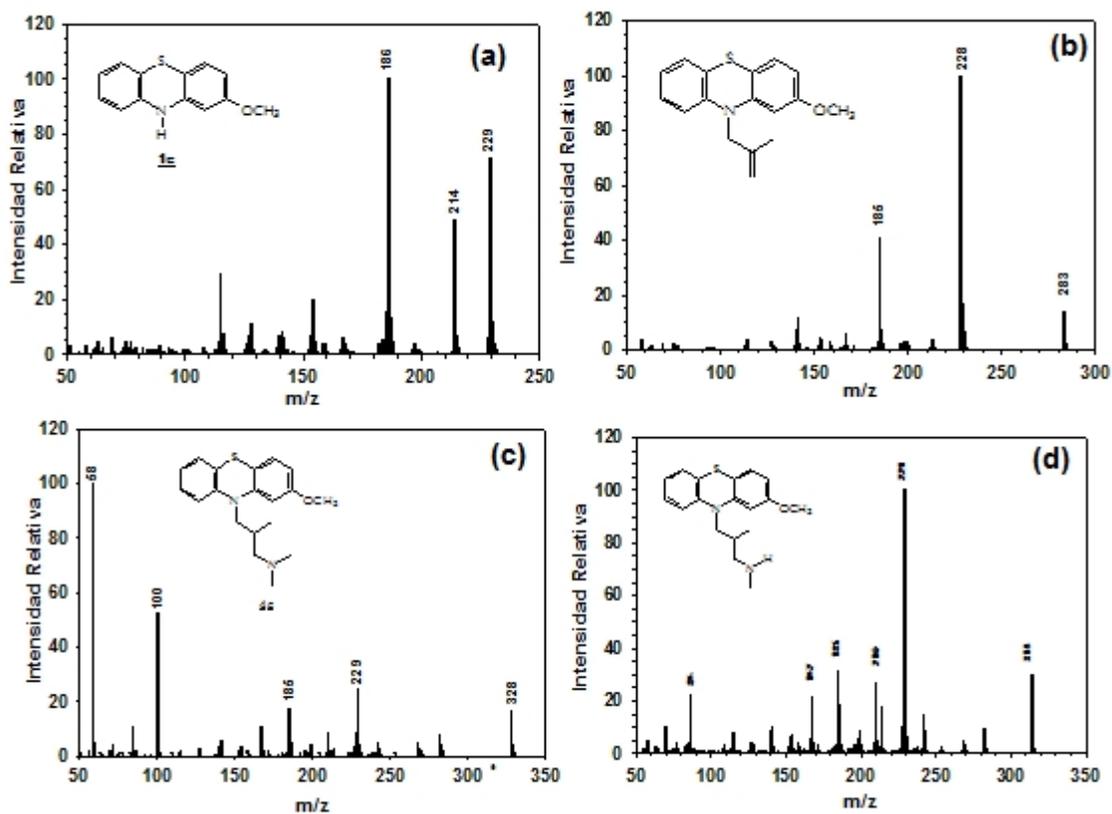


Figura 2.1
Cromatograma GCMS
obtenido para MTPNO **4f**.

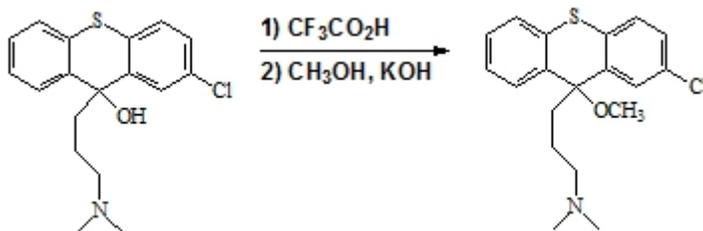
- b. Caracterización de MTPSONO **4g**: Los valores del RMN de este producto corresponden a la mezcla de enantiómeros y diastereoisómeros. El GCMS también muestra una descomposición térmica semejante a la de MTPNO. El espectro ultravioleta es parecido al de MTPSO.

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) d (ppm): 1.32 (d, d, 3H, $J = 1.1$ Hz, $J = 6.2$ Hz), 2.80 (d, 3H, $J = 24$ Hz), 2.94 (m, 2H), 3.06 (d, 3H, $J = 2.5$ Hz), 3.38 (m, 1H), 3.91 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 4.18 (m, 1H), 4.41 (m, 1H), 6.79 (m, 1H), 7.00 (d,d, 1H, $J = 2.2$ Hz, $J = 68$ Hz), 7.22 (m, 1H), 7.54 (m, 2H), 7.77 (d,d, 1H, $J = 1.5$ Hz, $J = 8.6$ Hz), 7.84 (m, 1H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): 19.2, 28.5, 51.6, 51.6, 55.8, 56.0, 57.7, 57.8, 60.4, 60.5, 72.2, 72.3, 102.6, 103.0, 108.4, 109.2, 117.5, 117.6, 119.9, 120.0, 122.5, 127.4, 130.4, 130.5, 132.2, 132.4, 132.4, 132.8, 139.0, 140.4, 141.0, 142.3, 163.1, 164.5. El peso molecular HRMS [MH^+] para $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ es 361.1587 (El calculado es 361.1586).

Figura 2.2 Espectros de masa de los productos de descomposición de MTPNO



2.20) Síntesis de 3-(2-cloro-9-metoxi-9H-tioxan-9-il)-N,N-dimetilpropan-1-amina (CTxOCH₃, 3g)^[83]



Una solución de CTxOH 3f (0.20 g, 0.6 mmol) en un 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA) es agitada a temperatura de salón por 2 horas. Inmediatamente que se agrega el TFA la solución resultante adquiere un color rojo intenso. Terminado el periodo de agitación, se agregan 10 mL de MeOH y la solución resultante se torna color amarillo pálido. Rápidamente la mezcla de reacción se agrega a una solución de 1.2 gramos de hidróxido de potasio (KOH) en 30 mL de metanol, agitando vigorosamente. Esta mezcla se mantiene en agitación por 1 hora a temperatura ambiente y luego se evapora el disolvente hasta que queden aproximadamente 5 mL del disolvente. Entonces se añaden 20 mL de dietil éter. La fase etérea se lava dos veces con 25 mL de agua y se seca con sulfato de magnesio. Luego, se filtra por gravedad y se evapora el disolvente. El producto crudo (0.166 g) se purifica por cromatográfica de columna usando como fase estacionaria sílica gel y la fase móvil 97% hexano, 2% acetato de etilo y 1% trietilamina. El producto final es un aceite incoloro y tiene un rendimiento de 55%.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 1.27 (m, 2H), 1.89 (m, 2H), 2.06 (s, 6H), 2.09 (t, 2H, $J = 7.60$ Hz), 7.35 (m, 5H), 7.68 (m, 2H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 22.4, 45.2, 45.6, 52.6, 60.4, 81.9, 126.6, 127.8, 128.1, 128.9, 129.2, 129.2, 129.3, 131.3, 131.8, 133.4, 134.9, 137.8. MS m/z [%Abund.]: 58 [100], 221 [25]; UV-Vis (MeOH, λ_{max} [log ϵ]): 252[3.81], 273[4.18] con una banda ancha a 285 nm.

2.21) Síntesis 3-(2-cloro-9-etoxi-9H-tioxanten-9-il)-N,N-dimetilpropan-1-amina (CTxOEt 3h)

Se usa el mismo procedimiento descrito para CTxOMe, cambiando metanol por etanol. El producto final es un aceite incoloro con un rendimiento de 37%.

^1H -RMN (400 MHz, CD_3CN) δ (ppm): 1.01 (m, 2H), 1.08 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.81 (s, m, 10H), 3.00 (m, 2H), 7.22 (m, 5H), 7.58 (m, 2H); ^{13}C -RMN (100 MHz, CD_3CN) δ (ppm) 15.7, 22.1, 45.4, 46.1, 59.9, 60.1, 80.7, 126.1, 127.5, 127.7, 128.7, 128.8, 128.9, 129.1, 130.4, 130.8, 132.6, 135.1, 138.0. MS m/z [%Abundancia]: 58 [100], 212 [37], 221 [72], 317 [30]. UV-Vis (EtOH, ϵ_{max} [log]) 252[3.80], 274[4.18] con una banda ancha a 290[3.88].

3

RESULTADOS y DISCUSIÓN

3.1) Fotofísica de Cloroprotixeno (CPTX 3b)

Z-Cloroprotixeno (zCPTX, 3b) es un compuesto heterocíclico que pertenece a la familia de la tioxantina (Fig. 3.1) y tiene efectos neurolépticos similares a los antipsicóticos fenotiazínicos. La principal indicación de zCPTX en Europa es para el tratamiento de desórdenes psicóticos como la esquizofrenia^[84] y el síndrome maniaco-depresivo que producen los desórdenes bipolares. Su potencia neuroléptica es más baja (~2/3) que la de su homólogo fenotiazínico, cloropromazina (CPZ, 2b). Por su baja toxicidad se usa también en el tratamiento de la depresión y la fobia^[85]. zCPTX actúa como antagonista del receptor dopamina y tiene gran afinidad por el receptor D2. Estudios *in vitro* muestran que la inhibición de la dopamina causa un estímulo en la actividad de la adenilil ciclase en el cerebro de ratas. Muchos de sus efectos secundarios son predecibles basados en la interacción entre la droga y el receptor. Los efectos secundarios más comunes son: sedación, continencia urinaria, resequedad bucal, visión borrosa, taquicardia sinusal de reposo y fototoxicidad.^[86] Los efectos secundarios extrapiramidales incluyen la acatisia, el parkinsonismo, las distonías, y otros.

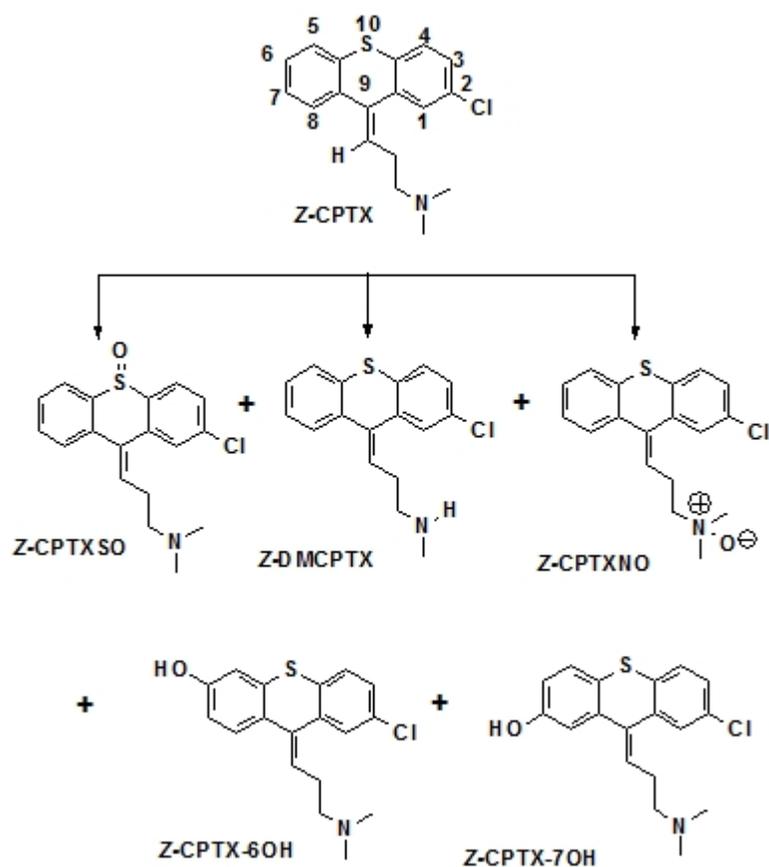


Figura 3.1
Metabolitos de zCPTX **3b**.

Es bien conocido que muchas drogas neurolépticas son fotosensibles, por lo que al exponerse a la luz solar pueden causar efectos adversos en la piel como erupciones, manchas y alergias. Esta fotosensibilización puede ser definida como reacción cutánea en respuesta a la interacción de la radiación solar con sustancias fotosensibilizantes que se encuentran en la superficie de la piel tras su administración tópica o sistémica. Si existe implicación inmunológica se denomina dermatitis fotoalérgica y si no dermatitis fototóxica.^[87] Se ha demostrado en estudios *in vitro* que, bajo radiación ultravioleta (UVA), estas drogas causan fotohemólisis, proceso que se usa como parámetro para determinar la potencia del agente fototóxico.

En los derivados de tioantina, un sustituyente en la posición 2 del heterociclo introduce un isómero geométrico (Z/E), porque en la posición 9 hay una insaturación que conecta al heterociclo con una cadena amino alifática. Se conoce que el isómero Z es el que tiene actividad terapéutica, por lo que es imprescindible evitar la formación del isómero E, porque disminuye la biodisponibilidad del isómero Z. Además, el isómero E es considerado como un contaminante en la formulación del fármaco.^[88] Para evitar su formación, es común el uso de empaques que protejan la droga de luz ultravioleta.

Los metabolitos más comunes de zCPTX en el ser humano son el sulfóxido (zCPTXSO 3e), el derivado N-desmetilado (zDMCPTX) y el N-óxido (zCPTXNO) (Fig. 3.1). Además, no se descartan los derivados fenólicos correspondientes en las posiciones 6 (zCPTX-6OH) y 7 (zCPTX-7OH) del heterociclo.^[89] Estos metabolitos son análogos a los de CPZ 2b y son de especial interés porque también poseen actividad terapéutica.

El espectro de absorción de zCPTX base libre en los diferentes disolventes muestra tres máximos de absorción a 229, 269 y 328 nm (Fig. 3.2). Estos máximos no cambian significativamente en disolventes polares apróticos (acetonitrilo), polares próticos (metanol y etanol) y no polares (hexano). Se observa que en hexano el coeficiente de absorción molar a 271 nm es más pequeño que en los demás disolventes. Esto implica que la probabilidad de la transición electrónica correspondiente depende del microambiente en que se encuentra la droga. En términos generales, zCPTX-HCl muestra un comportamiento similar a zCPTX base libre, con la diferencia de que la banda a 328 nm se desplaza hipsocrómicamente 3 nm cuando se mide en solución tampón PBS/7.4. Este comportamiento es característico de transiciones $n\pi^*$, aunque la banda también posee un pequeño componente $\pi\pi^*$. Según indican los cálculos DFT, esta banda tiene un máximo en

334 nm para zCPTX y se produce de la transición HOMO \rightarrow LUMO+1 con un pequeño componente de la transición HOMO \rightarrow LUMO.^[73] El orbital HOMO, a su vez, contiene los electrones n del azufre con una pequeña aportación de los electrones π del doble enlace.

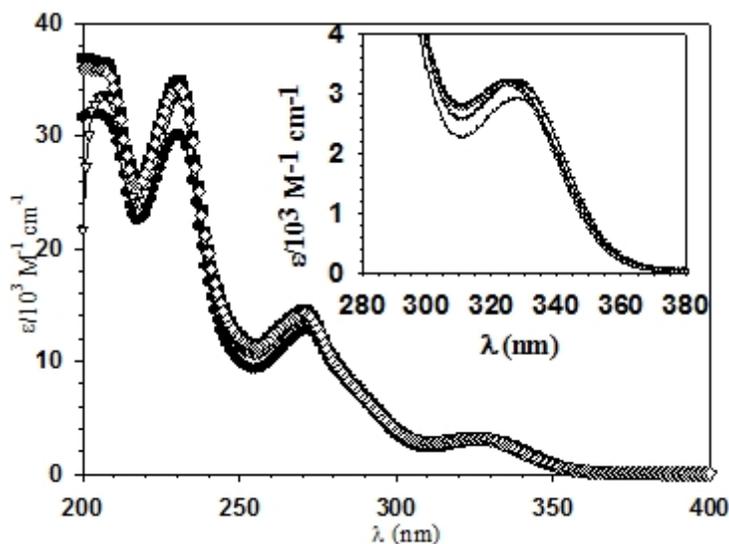


Figura 3.2
Espectros de absorción de zCPTX **3b** base libre en (●) hexano, (▽) EtOH, (■) MeOH, y (◇) MeCN

Las longitudes de onda máximas de emisión de zCPTX base libre y zCPTX-HCl son aproximadamente 393 y 403 nm, respectivamente (Fig. 3.3). Estos máximos son entre 58 y 68 nm menores a los de su homólogo CPZ **2b**. Esto confirma que el estado singlete excitado de $^1\text{zCPTX}^*$ es menos polar que el de $^1\text{CPZ}^*$, lo que puede ser inducido por la planaridad de la molécula en el estado excitado y su distribución electrónica. La energía singlete de zCPTX es 335 kJ/mol, la cual es similar a la CPZ (321 kJ/mol). Claramente, el intercambio del nitrógeno de la posición-10 de la fenotiazina por un alqueno no produce cambios significativos en la energía del estado singlete. Su desplazamiento de Stokes es aproximadamente $5 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, pero estos son mayores para zCPTX-HCl (Tabla 3.1). Este desplazamiento tiene la mitad de la magnitud que el reportado para CPZ.^[56] En resumen, el $^1\text{zCPTX}^*$ tiene un gran carácter de transferencia de carga y se estabiliza mejor mientras más polarizable es el disolvente. La eficiencia de emisión (ϕ_f) de zCPTX está en el rango de (2.0 - 6.0)

$\times 10^{-3}$ (Tabla 3.1), lo que indica que la desactivación por emisión de fluorescencia no es el mecanismo más favorecido, similar a CPZ ($\phi_F = 8.9 \times 10^{-4}$).^[56] Los rendimientos cuánticos de fluorescencia son pequeños, pero aumentan con la viscosidad del disolvente. Un comportamiento similar se ha observado para algunos alquenos, como el estilbena.^[90]

Tabla 3.1 Propiedades fotofísicas de zCPTX-base libre 3b

Solvente	Acetonitrilo ^{a)}	Metanol	Etanol	Hexano
η (cp) / T (°C)	0.38 / 15	0.59 / 20	1.1 / 25	1.0 / 20
Absorbancia				
λ_{\max} (nm) [log ϵ]	230 [4.53], 271 [4.15], 325 [3.50]	229 [4.50], 269 [4.13], 328 [3.50]	231 [4.52], 271 [4.14], 327 [3.51]	231 [4.18], 271 [4.10], 328 [3.46]
Emisión				
λ_{\max} (nm)	393	393	397	394
E_s (kcal/mol)	80.6	80.4	79.9	80.1
(kJ/mol)	337	336	334	335
Desplazam. Stokes (cm ⁻¹)	5324	5043	5392	5107
ϕ_F	0.0032	0.0034	0.0044	0.0064 ^{b)}

a) Propiedades de absorción de ECPTX base libre en MeCN: 270 (1.53 - 0.01; 4.18), 323 (0.30 - 0.07; 3.48). Este coeficiente fue obtenido de la resta de espectros de absorción de la fotólisis de zCPTX base libre en acetonitrilo.

b) Medido en ciclohexano (viscosidad = 0.98 cp a 25 °C)

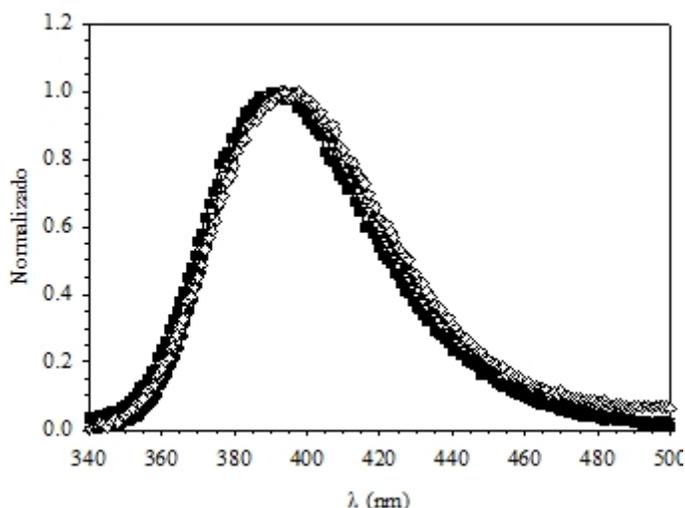


Figura 3.3

Espectros de emisión de fluorescencia de zCPTX base libre en diferentes disolventes.

- (●) hexano,
- (▽) EtOH,
- (■) MeOH, y
- (◇) MeCN.

Por otro lado, estos rendimientos disminuyen con la polaridad del disolvente por lo altamente polarizable que es $^1\text{zCPTX}^*$.^[91] El tiempo de vida del $^1\text{zCPTX}^*$ no se pudo medir con exactitud, porque es menor que la resolución del sistema utilizado ($\tau > 1.8$ ns). La regresión matemática de los resultados produce valores que fluctúan entre 0.1 y 0.4 ns, que están por debajo de la resolución del equipo. Estudios previos de moléculas que se fotoisomerizan como el estilbeno (ESB), indican que el tiempo de vida del estado excitado singlete ($^1\text{ESB}^*$) depende de la viscosidad del disolvente. Los valores de tiempo de vida descritos para $^1\text{ESB}^*$, están en la región de los picosegundos, lo que concuerda con los valores obtenidos para $^1\text{zCPTX}^*$. Solamente cuando el estilbeno está congelado en un vidrio a 77 K se observa un aumento en su rendimiento cuántico de fluorescencia ($\phi_f = 0.95$) y su tiempo de vida ($\tau_f = 1.6$ ns).

Las propiedades del estado excitado triplete de zCPTX ($^3\text{zCPTX}^*$) fueron determinadas mediante fosforimetría y fotólisis de destello láser (FDL). La emisión de zCPTX en un vidrio de etanol a 77 K, tiene un máximo de emisión a 406 nm (Fig. 3.4). Si comparamos el máximo de emisión de fluorescencia de zCPTX (397 nm) en el mismo disolvente, la diferencia entre ambos máximos es 9 nm. Esto sugiere que la emisión que se observa debe ser emisión de fluorescencia y no fosforescencia,

como ocurre con el ESB. Este resultado coincide con los estudios reportados para ESB, en donde se concluye que el proceso de isomerización disminuye a 77 K y la molécula puede desactivarse mejor por fluorescencia.

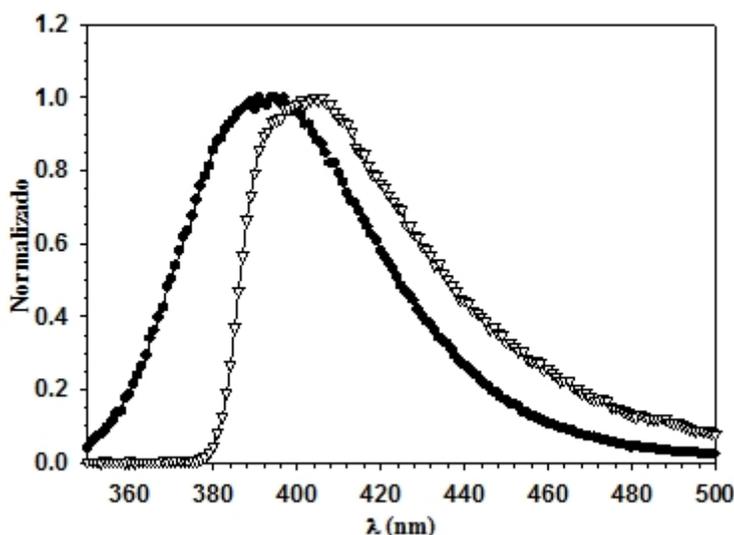
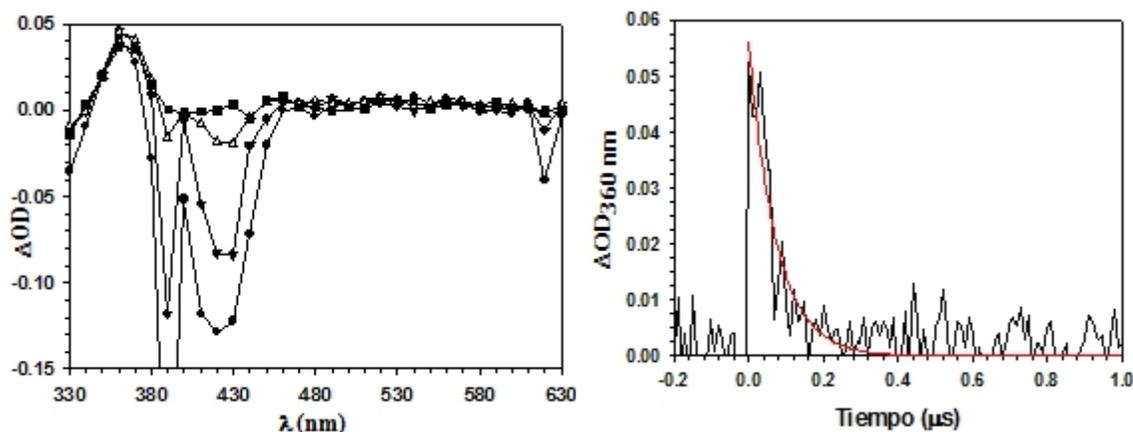


Figura 3.4
Emisión de fluorescencia
a temperatura de salón
(●) y a 77 K (▽) de zCPTX
3b.

La FDL de zCPTX-HCl a 308 nm bajo nitrógeno produce una especie transitoria de corta vida a 360 nm con un tiempo de vida de 56 ns ($r^2 = 0.8805$, Fig. 3.5). Además, se observa una banda de emisión desde 380 a 450 nm. Curiosamente, la emisión producida tiene un máximo en 390 nm, el cual coincide con el máximo de fluorescencia de $^1\text{zCPTX}^*$, con un tiempo de vida no mayor a 35 ns. Por otro lado, la emisión con un máximo a 420 nm corresponde a una energía de 284 kJ/mol. Este fenómeno de emisión puede ser atribuido a fluorescencia tardía tipo P, observada por primera vez para el pireno. El mecanismo de este proceso consiste en la autoinhibición de dos tripletes excitados para producir un singlete excitado y un estado raso, obedeciendo la regla del espín. El estado singlete excitado se desactiva entonces por fluorescencia, dando lugar a fluorescencia tipo P. Además, la eficiencia de este proceso es proporcional al cuadrado de la potencia de radiación. En otras

palabras, a altas intensidades de irradiación mayor la emisión tardía. En este experimento se utilizó el láser excímero con una energía suficiente para inducir este comportamiento (40 mJ/pulso).

Figura 3.5 Fotólisis de destello láser ($\lambda_{exc} = 308$ nm, acetonitrilo, nitrógeno) de zCPTX-HCl. Espectro de absorción obtenido a: (●) 0.01 μ s, (▼) 0.03 μ s, (Δ) 0.04 μ s y (■) 0.05 μ s después del pulso de láser. DERECHA: Cinética de desactivación del intermedio a 360 nm en la fotólisis de destello laser de CPTX-HCl en MeCN bajo condiciones anaeróbicas.



Para identificar el intermedio de corta vida que se observa a 360 nm en la FDL de zCPTX, se sintetizó el 2-cloro-9-metilenotioxanteno (CMTX 3d, ver Cap. 2). Este compuesto modelo no tiene la cadena lateral alquil-amino que tiene zCPTX en la posición 9, pero mantiene el cromóforo intacto. El espectro de absorción de CMTX en acetonitrilo muestra tres máximos a 231, 270 y 338 nm (Fig. 3.6). Estos máximos de absorción son similares a los reportados por Kim Sung y colaboradores para 9-metilenotioxanteno (MTX, $\lambda_{max} = 229, 266.5, 333$ nm en hexano)^[74]. El desplazamiento batocrómico que experimenta CMTX en sus longitudes de onda referente a MTX, se deben a la sustitución del átomo de cloro en la posición 2 del heterociclo y al disolvente utilizado.^[56,92] El espectro de absorción de CMTX es muy parecido al de zCPTX, la diferencia se encuentra en el desplazamiento batocrómico

de la banda n * en la región UVA (~10 nm). Esta diferencia sugiere que CMTX es más plana que zCPTX y que los electrones se pueden deslocalizar mejor. De hecho, los resultados DFT de λ (nm [oscilador]), ángulo de torsión 14-10-11-12 (grados; ver Fig. 1.1), y ángulo de torsión 14-10-11-1 para zCPTX son, respectivamente: 322 [0.06] & 334 [0.13] nm, 42.1, 137.5. Los valores correspondientes para CMTX, son, respectivamente: 336 [0.10] & 344 [0.11] nm, 17.5, y 163.3. Estos resultados explican las diferencias en las propiedades de ambos compuestos.

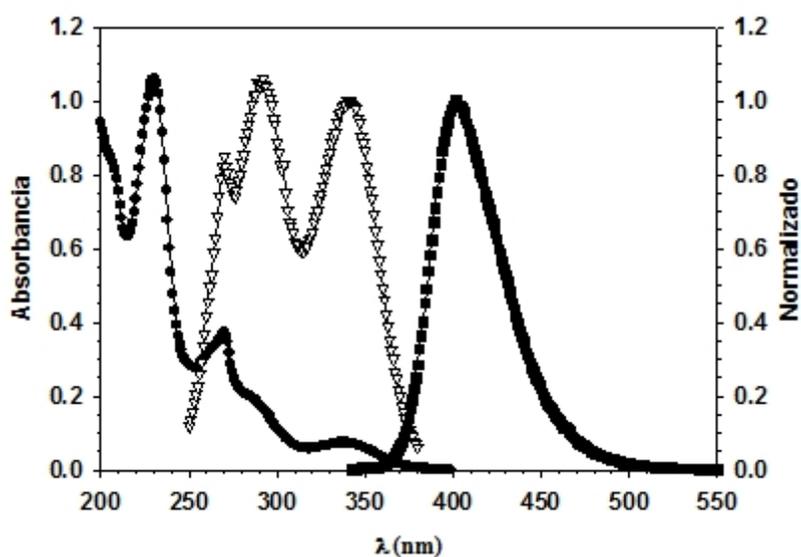


Figura 3.6
Espectro de absorción (●),
excitación (▽) y emisión
(■, escala derecha) de 2-
cloro-10-
metilenotioxanteno
(CMTX **3d**) en
acetonitrilo.

El $^1\text{CMTX}^*$ posee un máximo de emisión en 402 nm y un desplazamiento Stokes de 4710 cm^{-1} (Fig. 3.6). Además, tiene una energía singlete de 319 kJ/mol (76.2 kcal/mol). Estas propiedades fotofísicas confirman que la cadena alquil-amino de zCPTX no introduce grandes cambios en las propiedades fotofísicas de CMTX y permite a su vez eliminar procesos de desactivación del movimiento de la cadena alquil-amino. La FDL de CMTX bajo condiciones anaeróbicas muestra una especie de corta vida ($< 50\text{ ns}$) con un máximo a 390 nm (Fig. 3.7). Esta banda de absorción

llega hasta los 440 nm y puede ser atribuida al estado triplete excitado de CMTX ($^3\text{CMTX}^*$) o una especie diradical del alqueno. Según los cálculos teóricos, este intermedio corresponde al triplete. Los resultados predicen una absorción a 415 y 440 nm para el triplete, mientras la del diradical debe aparecer a 363 y 383 nm. Bajo condiciones aeróbicas se observa un comportamiento similar y el máximo de absorción se desplaza a 410 nm. Es interesante señalar que esta especie de corta vida básicamente decae durante el pulso. Esto sugiere, que en presencia de la cadena alquil-amino, este intermedio debe tener un tiempo de vida menor, ya que la misma introduce procesos de desactivación por movimientos vibracionales y rotacionales. Es por esta razón que es difícil medir las propiedades de este intermedio con la instrumentación disponible. Estos datos confirman que la especie transitoria que se ve a 360 nm para zCPTX puede ser la misma especie de corta vida que se observa para CMTX (390 nm). La diferencia en los máximos de absorción se puede atribuir a la planaridad de ambos sistemas, como se mencionó anteriormente.

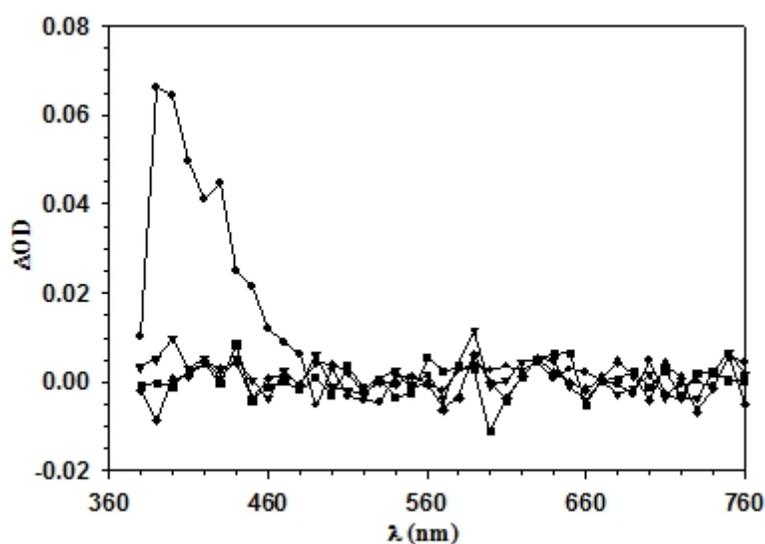


Figura 3.7
Fotólisis de destello láser
de CMTX **3d** en
acetonitrilo bajo
condiciones anaeróbicas a
355 nm: $A_{355} = 0.13$; $E \sim$
19 mJ/pulso; (●) 0.049
s, (▼) 0.098 s, (■) 0.25
s y (◆) 0.49 s.

La fotoquímica de zCPTX-HCl en agua fue previamente descrita por Li-Wan y colaboradores.^[35] Estos autores observaron que, en ausencia de oxígeno, ocurre la fotoisomerización Z/E. En presencia de oxígeno, por otro lado, ocurre la isomerización junto con la formación de 2-clorotioxantona (CTX 3c). Para la formación de este último compuesto proponen un mecanismo con un reordenamiento 1,4-sigmatrópico del zCPTX* que produce el compuesto [3-(2-cloro-9H-tioxanten-9-il)-propenil]-dimetilamina (Fig. 3.8). La fotodescomposición de este compuesto en presencia de oxígeno y luz produce CTX. La reorganización antes descrita no aparece reportada en la literatura y, además, no se espera la formación del compuesto que reportan. Encontraron, además, que irradiar zCPTX en condiciones anaeróbicas produce una fotoisomerización lenta y la formación de un producto desconocido bien inestable. Más aún, los rendimientos cuánticos de estos procesos no fueron reportados, ni los efectos del pH y la concentración sobre ellos. Tomando en consideración que la fotoquímica de este compuesto depende del microambiente donde se encuentra, en este trabajo se estudió sus propiedades fotoquímicas controlando la longitud de onda de excitación, la concentración de hidronio, la polaridad del medio y la presencia o ausencia de oxígeno, para proponer un mecanismo que explique mejor los productos que se obtienen.

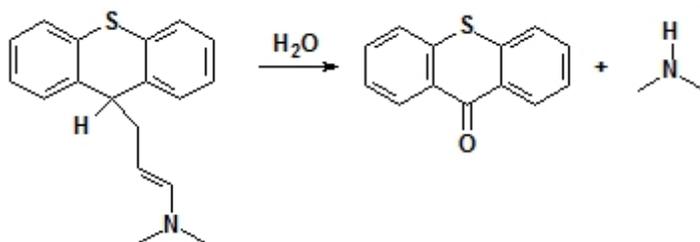


Figura 3.8
Intermedio propuesto por
Wan para la formación de
CTX.^[35]

3.2) Fotoquímica de CPTX **3b** en Acetonitrilo

Las reacciones de fotoisomerización son de mucha relevancia en procesos fotobiológicos como la visión y en procesos industriales como la producción de Vitamina A y Vitamina D. La fotoisomerización de zCPTX y zCPTX-HCl en acetonitrilo bajo condiciones anaeróbicas es de primer orden en los primeros 90 segundos de reacción (Fig. 3.9). Durante este periodo esencialmente lo que ocurre es la isomerización de zCPTX a ECPTX. La absorción a 230 nm disminuye porque el coeficiente de absorción molar de ECPTX es menor al de zCPTX (Fig. 3.10). El espectro de absorción de ECPTX se calculó matemáticamente mediante la resta de la absorción que aporta zCPTX del espectro resultante de la fotólisis. Esto es posible porque la cantidad de zCPTX se cuantificó y, durante los periodos de reacción considerados, solo ocurre isomerización. Por lo tanto, la absorción total en el espectro resultante está dada por $[zCPTX] + [ECPTX]$. El espectro calculado es muy similar a los espectros de absorción de z-Flupentixol (zFPTX) y E-Flupentixol (EFPTX) (Fig. 3.11).

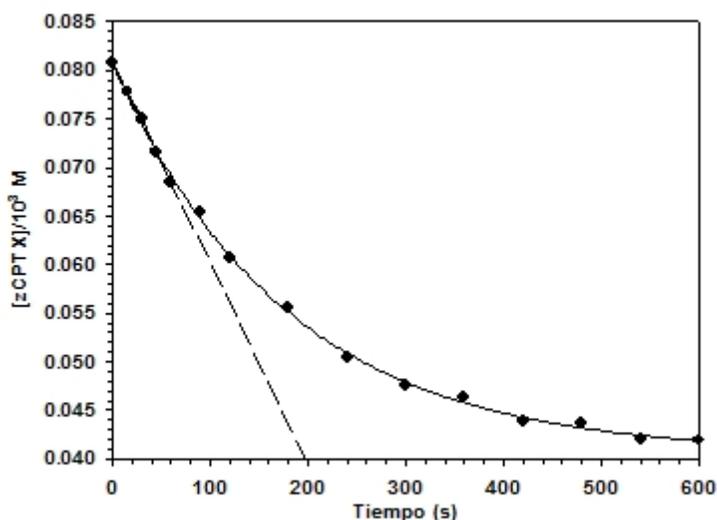


Figura 3.9
Cinética de la
fotoisomerización de
CPTX **3b** base libre en
MeCN bajo condiciones
anaeróbicas.

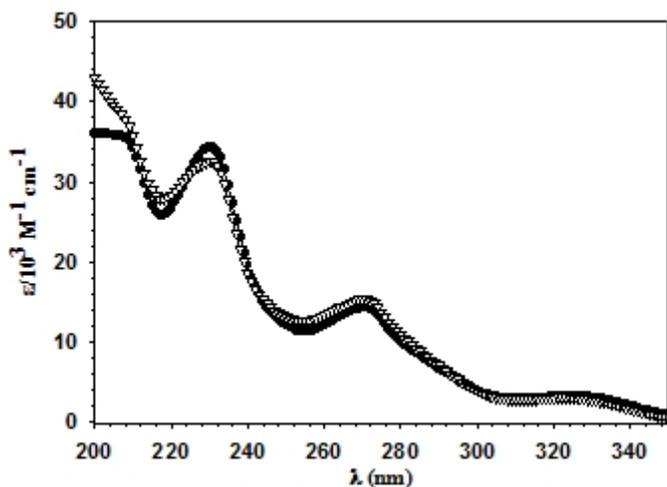


Figura 3.10

Espectro de absorción de zCPTX (●) y ECPTX (▽) en acetonitrilo.

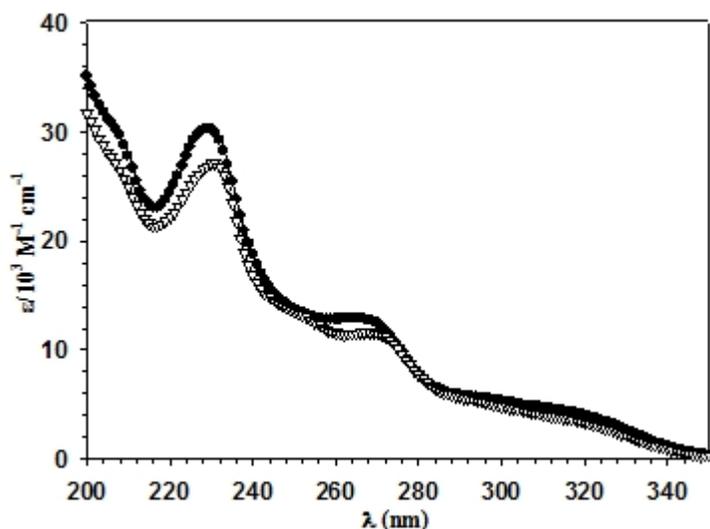


Figura 3.11

Espectro de absorción de zFPTX (●) y EFPTX (▽) en acetonitrilo.

Después de 400 segundos de irradiación se forma un equilibrio entre ambos isómeros, con una razón $[E]/[Z]$ igual a 1.62. Si se irradia por periodos más largos, la absorción a 324 nm disminuye, mientras que aumenta a 250 y 386 nm (Fig. 3.12). Esto produce puntos isobésticos a 310 nm, 345 nm y varios otros a longitudes de onda más cortas. El espectro de absorción resultante concuerda con el de CTX.

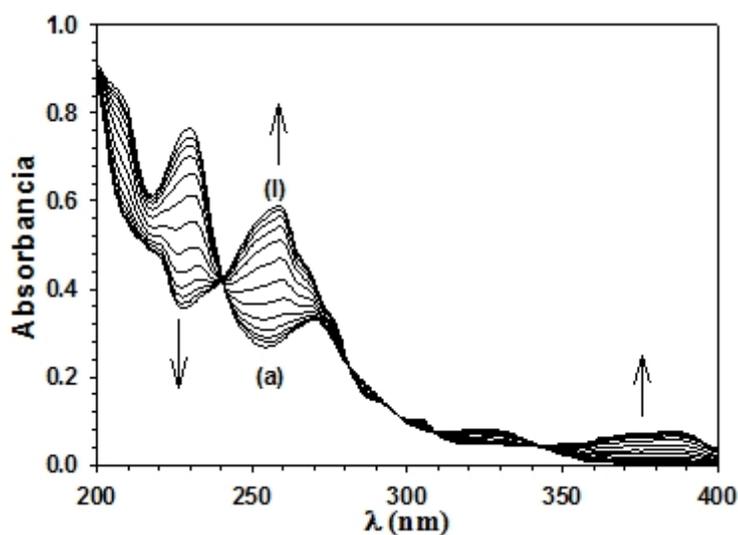


Figura 3.12

Espectro de absorción de la fotólisis de 1.93×10^{-5} M zCPTX **3b** en acetonitrilo bajo condiciones anaeróbicas con 313 nm. Intervalo de tiempo 600 s entre cada espectro, con $t_{(a)} = 0$ s.

Cuando se hace el mismo experimento utilizando zCPTX-HCl se observa la fotoisomerización Z/E a tiempos cortos y se establece el mismo equilibrio de isómeros. Sin embargo, a tiempos prolongados de irradiación, no se observa ningún aumento en la absorción a 386 nm, pero sí se observa una reducción en el máximo de absorción a 230 nm. Estos resultados muestran que la protonación de la amina terminal en el heterociclo inhibe la formación de CTX, lo que sugiere que los electrones libres de la amina están involucrados en el mecanismo de fotodestrucción. Los rendimientos cuánticos de fotoisomerización Z/E (ϕ_{Z-E}) de zCPTX (medidos al comienzo de la fotorreacción) fueron de 0.22 en nitrógeno y 0.21 en aire. Si utilizamos la ecuación del estado estacionario (Ec. 3.1) en el proceso de fotoisomerización, se puede calcular que el ϕ_{E-Z} es 0.13. Estos resultados difieren de los reportados para estilbena (ESB), donde el $\phi_{E-Z} > \phi_{Z-E}$, pero puede explicarse en términos de que la distribución electrónica entre los isómeros Z/E de CPTX no cambia demasiado, a diferencia de los isómeros Z/E del ESB.

$$\frac{[E]}{[Z]} = \frac{\epsilon_Z^\lambda \phi_{Z-E}}{\epsilon_E^\lambda \phi_{E-Z}} \quad (3.1)$$

Los resultados demuestran que aproximadamente el 20% de la desactivación del $^1zCPTX^*$ es por la fotoisomerización y emisión de fluorescencia. Se puede concluir que la mayor desactivación del $^1zCPTX^*$ es por mecanismos no radiativos (conversión interna o cruce intersistémico) y que la fotoisomerización proviene esencialmente del $^1zCPTX^*$.

La fotólisis de zCPTX en acetonitrilo produce a eCPTX como producto primario a tiempos cortos de irradiación y un producto secundario en periodos prolongados de irradiación asignado a CTX. Ambos fotoproductos se identificaron inicialmente usando sus espectros de absorción obtenidos en un HPLC-UV (Fig. 3.13) y luego se confirmaron por espectrometría de masas. La banda de absorción a 386 nm es característica del compuesto CTX. Sin embargo, se encontró que la formación de este compuesto es favorecida bajo condiciones anaeróbicas, contrariamente a lo reportado en la literatura.^[35] Este hecho indica que su formación no está determinada por la concentración de oxígeno, lo que apunta a una fotorreacción que ocurre desde el estado excitado triplete de zCPTX. El hecho de que la formación de CTX no sea instantánea se puede adjudicar al proceso de fotoisomerización inicial y a que el cruce intersistémico no es eficiente, lo cual es característico de los alquenos.^[93] Se observa además que al cambiar el contenido de agua disuelta en acetonitrilo, se acelera el proceso de formación de CTX. Esto sugiere que el oxígeno del enlace carbonilo proviene del agua.

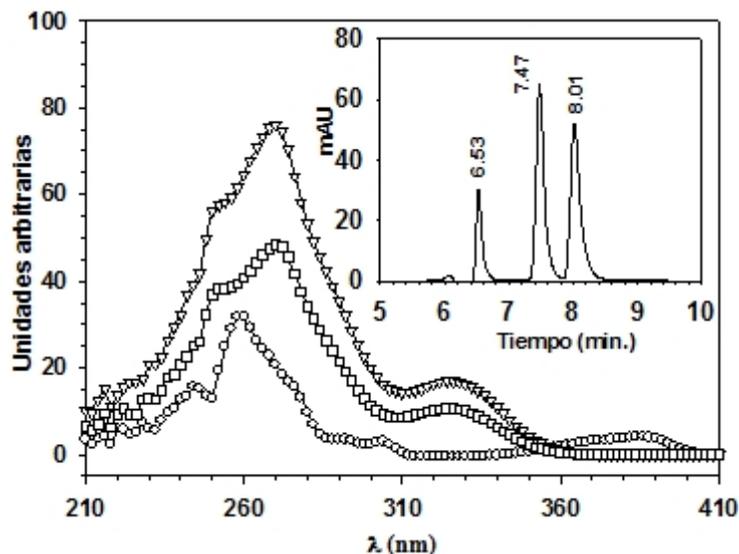


Figura 3.13

Espectro de absorción de los fotoproductos de zCPTX **3b** en MeCN bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. INSERTADO: Cromatograma de (○) CTX, 6.53 min; (▽) zCPTX, 7.47 min; y (□) ECPTX, 8.01 min.

Además, se observa que cuando el 50% del reactivo inicial se ha consumido para formar CTX, ocurre una fotosensibilización autocatalítica (Fig. 3.14). Bajo estas condiciones, CTX puede competir por la absorción de luz a 313 nm. Este comportamiento se puede explicar en términos de la formación del $^3\text{CTX}^*$ y la transferencia de energía triplete que puede hacer a zCPTX. Esto puede ocurrir porque el estado excitado triplete de CPTX parece tener una energía similar a la de CPZ, similar a lo que ocurre con la energía del singlete. El valor experimental de dicha energía no pudo obtenerse, ya que no pudo medirse la fosforescencia de CPTX en un vidrio de EtOH a 77K. Sin embargo, cálculos de TD-DFT predicen una energía triplete para CPTX de 235 kJ/mol, la cual es menor a la de CTX ($E_T = 259.5$ kJ/mol) y CPZ ($E_T = 251$ kJ/mol). En condiciones aeróbicas, ambos estados tripletes excitados ($^3\text{zCPTX}^*$ y $^3\text{CTX}^*$) se desactivan por oxígeno. Por lo tanto, ocurre una competencia entre la transferencia de energía entre el $^3\text{zCPTX}^*$ y O_2 , lo que da lugar a que el rendimiento de CTX sea menor. Si CTX se añade a la mezcla de reacción y se irradia a 400 nm, donde zCPTX no absorbe, se observa un aumento inmediato en su concentración (Fig. 3.15).

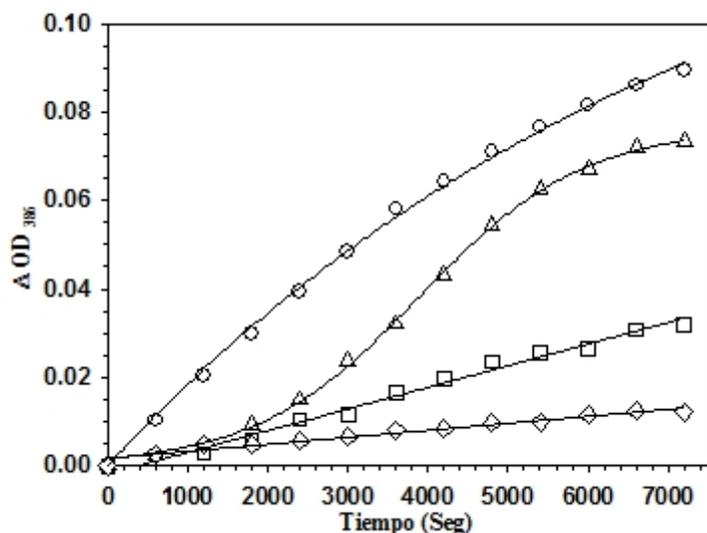


Figura 3.14

Cinética de la formación de CTX **3c** por irradiación directa de zCPTX **3b** o por fotosensibilización con CTX. Fotólisis de 0.019 mM zCPTX en acetonitrilo a 313 nm: (Δ) N_2 , (\diamond) Aire. Fotólisis de 0.0069 mM CTX y 0.0296 mM zCPTX en acetonitrilo a 400 nm: (\circ) N_2 , (\square) Aire.

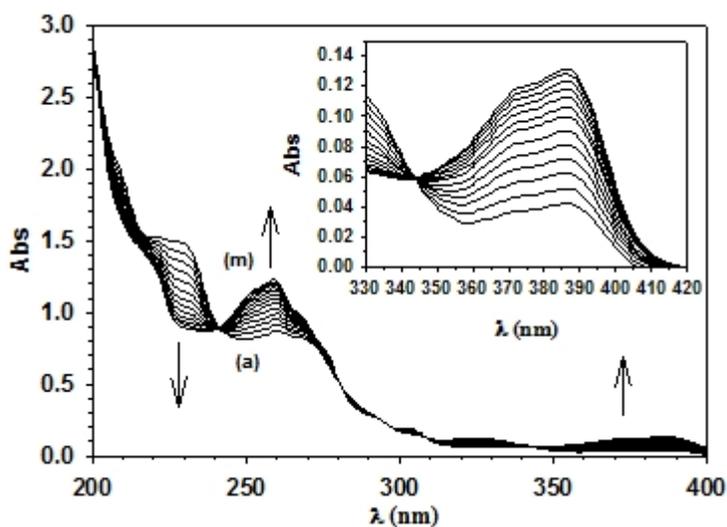
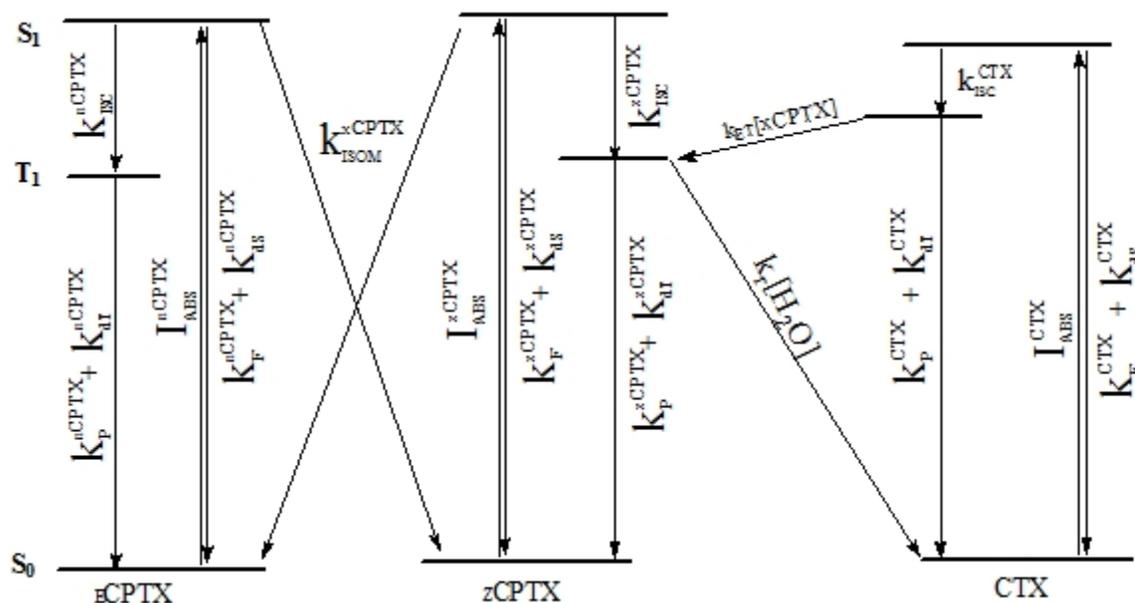


Figura 3.15

Fotólisis de 0.0069 mM CTX **3c** y 0.0296 mM zCPTX **3b** base libre en acetonitrilo bajo condiciones anaeróbicas irradiando a 400 nm. $A_{400} = 0.0124$. Lámpara de 1000 W. t(a) o s y el intervalo de tiempo entre espectros es 600 s.

Del análisis de la mezcla de reacción, por cromatografía de gas con detección de masas, se obtiene que la cantidad de CTX aumenta y, además, se obtiene el isómero ECPTX. Cuando se hace el mismo experimento, pero usando a CMTX **3d** como aceptor de la energía triplete de CTX, no ocurre dicha reacción. Estas observaciones pueden ser resumidas en un mecanismo general para la formación de CTX y la fotosensibilización de la destrucción de zCPTX (Fig. 3.16).

Figura 3.16 Mecanismo propuesto para la formación de CTX **3c**.

De acuerdo con este mecanismo ($x = Z$ ó E), la rapidez de formación CTX es:

$$\frac{d[CTX]}{dt} = \sum_{x=Z,E} I_{ABS}^{xCPTX} \left(\frac{k_{ISC}^{xCPTX}}{k_{ISC}^{xCPTX} + k_S^{xCPTX} + k_{ISOM}^{xCPTX}} \right) \left(\frac{k_r[H_2O]}{k_r[H_2O] + k_T^{xCPTX}} \right) + I_{ABS}^{CTX} \left(\frac{k_{CIS}^{CTX}}{k_{ISC}^{CTX} + k_S^{CTX}} \right) \left(\frac{k_{TE}[xCPTX]}{k_{TE}[xCPTX] + k_T^{CTX}} \right) \left(\frac{k_r[H_2O]}{k_r[H_2O] + k_T^{xCPTX}} \right) \quad (3.2)$$

donde $k_S = k_F + k_d^S$; $k_T = k_p + k_d^T$. Usando $[zCPTX]_0 = [CTX] + [xCPTX]$ y la ley de Beer-Lambert-Bouguer, se obtiene la expresión matemática más simple (Ec. 3.3),

$$\frac{d[CTX]}{dt} = \alpha([zCPTX]_0 - [CTX]) + \frac{\beta([CPTX]_0 - [CTX])[CTX]}{\gamma + \delta([CPTX]_0 - [CTX])} \quad (3.3)$$

donde α y β son funciones de las constantes de rapidez, y se asume que la

concentración de agua se mantiene constante. La gráfica de esta ecuación ($[CTX]$ vs tiempo de fotólisis), reproduce excelentemente el comportamiento experimental.

Experimentos de FDL para determinar si el $^3CTX^*$ era inhibido por la presencia de zCPTX, muestran que la cinética de $^3CTX^*$ en presencia de zCPTX cambia drásticamente. Cuando CTX está solo, la desactivación del $^3CTX^*$ dura aproximadamente $15 \mu s$ ($k_{obs} = 6.7 \times 10^4 s^{-1}$), mientras que en presencia de zCPTX decae en $170 ns$ ($k_{obs} = 5.9 \times 10^6 s^{-1}$). Con estos resultados se obtiene una constante de inhibición de orden difusional ($k_q = 1.2 \times 10^{10} M^{-1}s^{-1}$) (Fig. 3.17). Lo que no es fácil de precisar es la formación de $^3zCPTX^*$, porque su tiempo de vida es muy corto, según se especifica anteriormente. Además, en la región donde absorbe, se observa una decoloración por la absorción del estado raso de CTX (“bleaching”).

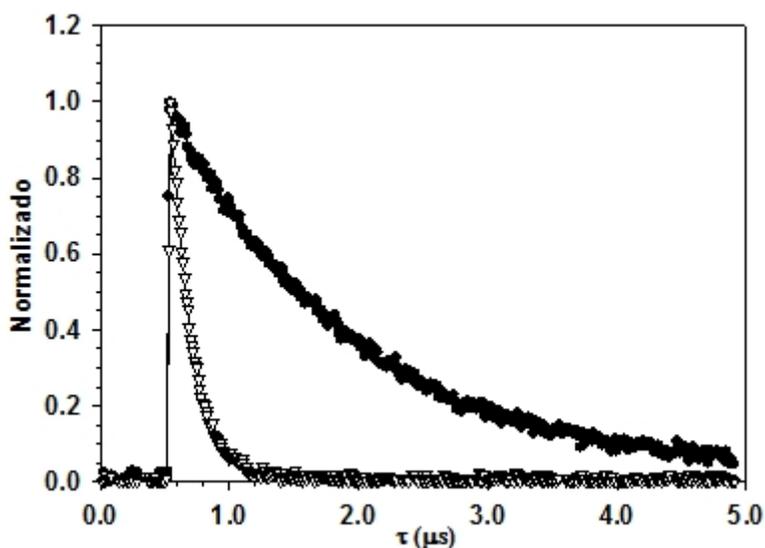


Figura 3.17
Cinética de $^3CTX^*$ en presencia de zCPTX en MeCN bajo condiciones anaeróbicas a $630 nm$. (●) $0.05 mM CTX$, $\tau = 14.6 s$, $r^2 = 0.9980$; (▽) $0.05 mM CTX$ and $0.50 mM zCPTX$, $\tau = 0.17 s$, $r^2 = 0.9967$ Energía del láser $5.0 mJ/pulso$ a $355 nm$.

De los datos se puede concluir que la fotoisomerización Z/E no depende de si la atmósfera es aeróbica o anaeróbica. Sin embargo, la cantidad de CTX aumenta con el tiempo de irradiación y es 2-3 veces más rápida bajo nitrógeno (Fig. 3.14).

3.3) Fotoquímica de zCPTX 3b en Metanol

La fotoquímica de zCPTX en MeOH no había sido estudiada previamente. Breyer-Pfaff y colaboradores reportaron la fotólisis del derivado fenólico (E)-7-hidroxicloroprotixeno en este disolvente a 254 nm.^[89] El fotoproducto primario de esta fotorreacción es (Z)-7-hidroxicloroprotixeno. Según este trabajo, los parámetros que controlan la fotólisis hecha bajo condiciones aeróbicas son la concentración inicial (~3mM), la longitud de onda de irradiación (lámpara para revelar los TLC). Factores como la presencia o ausencia de oxígeno, la intensidad de la lámpara y la protonación del grupo amino terminal, no se tomaron en consideración. Sin embargo, estos autores midieron las propiedades fotofísicas como la longitud de onda máximo de absorción y el coeficiente de absorción molar para los isómeros E/Z y concluyen que la geometría de la molécula no tiene efecto alguno en estos valores.

Los espectros de absorción de zCPTX y zCPTX-HCl en MeOH (Fig. 3.18) muestran máximos en 229, 269 y 328 nm (Tabla 3.1). Estos máximos son muy parecidos a los reportados por Breyer-Pfaff para dichos compuestos en soluciones acuosas a pH = 1 ó pH = 9.^[89] El coeficiente de absorción molar de ambos compuestos es parecido, lo que indica que la protonación en el amino terminal no influye al cromóforo.

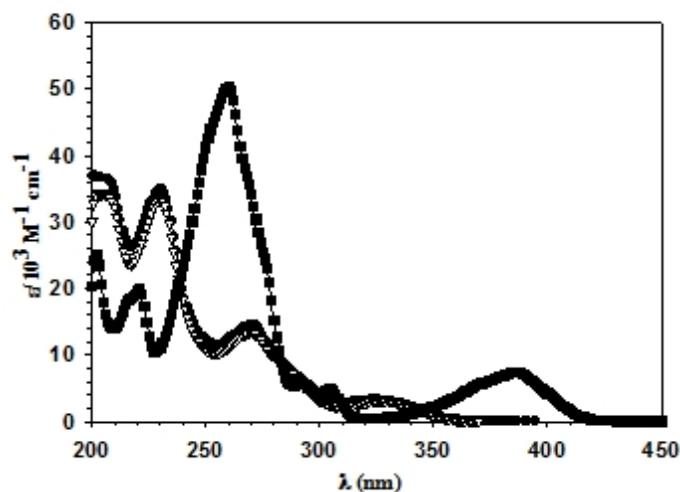


Figura 3.18
Espectros de absorción de
zCPTX (●), zCPTX-HCl
(∇) y CTX (■) en metanol.

Las propiedades del estado excitado singlete de zCPTX en MeOH están también reportadas en la Tabla (3.1). A diferencia de acetonitrilo, el máximo de emisión en metanol no depende del estado de protonación. Esto puede ser atribuido a que, en metanol, no existe la forma protonada de zCPTX, sino la base libre. En general, los resultados indican que la fluorescencia no es un mecanismo de desactivación favorecido para este fármaco.

La FDL de zCPTX en metanol es muy parecida a la observada en acetonitrilo, donde se observa una región de emisión desde 380 hasta 430 nm (Fig. 3.19). El tiempo de vida de esta emisión es menor a 60 ns. Además, se observa una especie de corta vida a 360 nm que dura aproximadamente 32 ns en aire y 42 ns en nitrógeno. La región de emisión en nitrógeno es muy compleja porque muestra tres máximos a aproximadamente 390, 410 y 435 nm. La emisión a 390 nm coincide con el máximo de fluorescencia reportado para zCPTX (Tabla 3.1). Con estos datos se puede concluir que las especies de corta vida que se producen básicamente decaen durante el pulso del láser. Más aún estas bandas de emisión podrían deberse a fluorescencia tardía. Como se explicó anteriormente, este fenómeno puede ocurrir porque las intensidades del láser son altas y pueden inducir la autoinhibición de $^3\text{zCPTX}^*$. Además, dada la limitación de la instrumentación y un tiempo de vida de $^1\text{zCPTX}^*$ menor a 1 ns, este evento ocurriría durante el pulso y no se observaría emisión por fluorescencia normal. Es por esa razón que nuestra instrumentación no nos permite caracterizar estas especies con detalle.

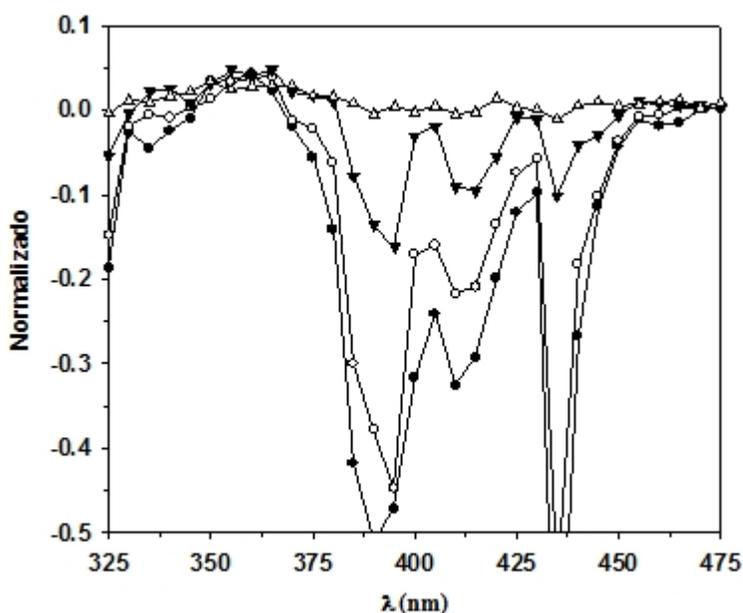


Figura 3.19

Fotólisis de destello láser ($\lambda_{exc} = 308$ nm, metanol, nitrógeno) de zCPTX **3b**. Espectro de absorción de obtenido a: (●) 0.01 μ s, (●) 0.03 μ s, (▼) 0.04 μ s y (Δ) 0.06 μ s después del pulso de láser.

La fotólisis estacionaria de zCPTX en metanol bajo condiciones anaeróbicas se muestra en la Fig. 3.20. Durante el tiempo de irradiación, se observa que la absorción a 230 y 328 nm disminuye, mientras que la absorción a 260 y 386 nm aumenta. Es evidente que el aumento en absorción en estas longitudes de onda se debe a la formación de CTX, el cual tiene un coeficiente de absorción molar mayor (Fig. 3.18). La disminución en absorción a 230 nm también se debe a que la razón entre estos coeficientes a esta longitud de onda es de 3:1 (CPTX/CTX), pero no puede ser atribuido únicamente a la formación de CTX. Si asumimos como correctos los datos reportados por Breyer-Pfaff^[89], entonces el cambio en absorción a 230 nm no es influenciado por la formación de ϵ CPTX. Esto hace evidente que debe haber formación de otros fotoproductos. Al terminar el periodo de irradiación, solamente un 10% de CTX se ha formado y no se observa la formación de puntos isobésticos. Si se comparan estos resultados con la fotoquímica en acetonitrilo bajo condiciones similares, se obtiene que la formación de CTX es 30% en la mitad del tiempo y al menos tiene cuatro puntos isobésticos. El hecho de que se observen tantos puntos isobésticos en acetonitrilo demuestra que la reacción es simple y que estos coinciden

con las longitudes de onda donde CTX y CPTX tiene el mismo coeficiente de absorción molar (Fig. 3.18)^[41]. Estos datos demuestran que la fotoquímica de zCPTX en metanol es más compleja y la formación de CTX no es favorecida.

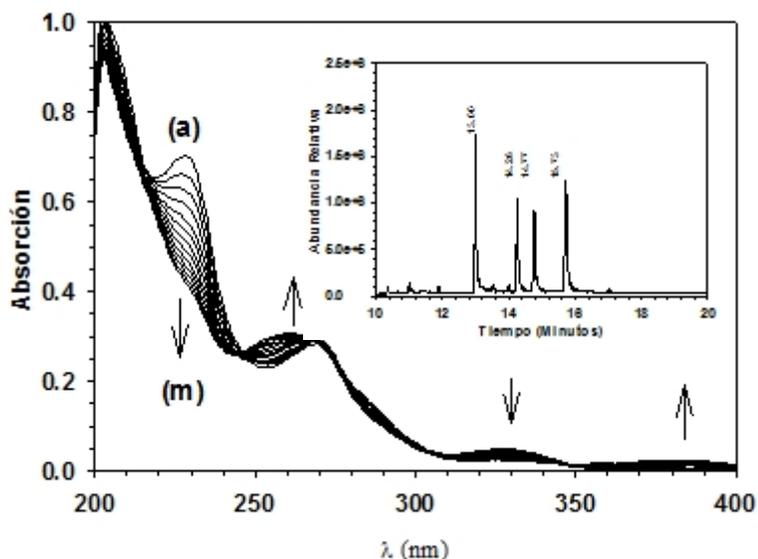


Figura 3.20

Espectros de absorción de la fotólisis de 0.0163 mM zCPTX en MeOH bajo condiciones aeróbicas con 313 nm. Intervalo de tiempo 600 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s. INSERTADO: Cromatograma de la fotólisis anaeróbica de 0.024 mM zCPTX en MeOH durante 30 min.

En el mecanismo propuesto anteriormente para la formación de CTX en la fotólisis de CPTX en MeCN/agua se establece que el ³zCPTX* lleva a cabo una fotohidratación tipo Markovnikov en el doble enlace (Fig. 3.21). Estas fotorreacciones están descritas en la literatura para alquenos acíclicos y aromáticos, tanto en agua, metanol y soluciones acídicas.^[94-95] Kropp y colaboradores concluyen que estas fotorreacciones ocurren desde ambos estados excitados (S_1 y T_1) y que, dependiendo del sustrato, se favorece uno de ellos. Se han reportado ejemplos donde el estado excitado que se favorece produce el producto Markovnikov o anti-Markovnikov.

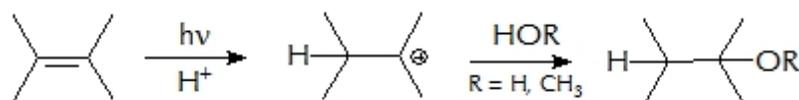
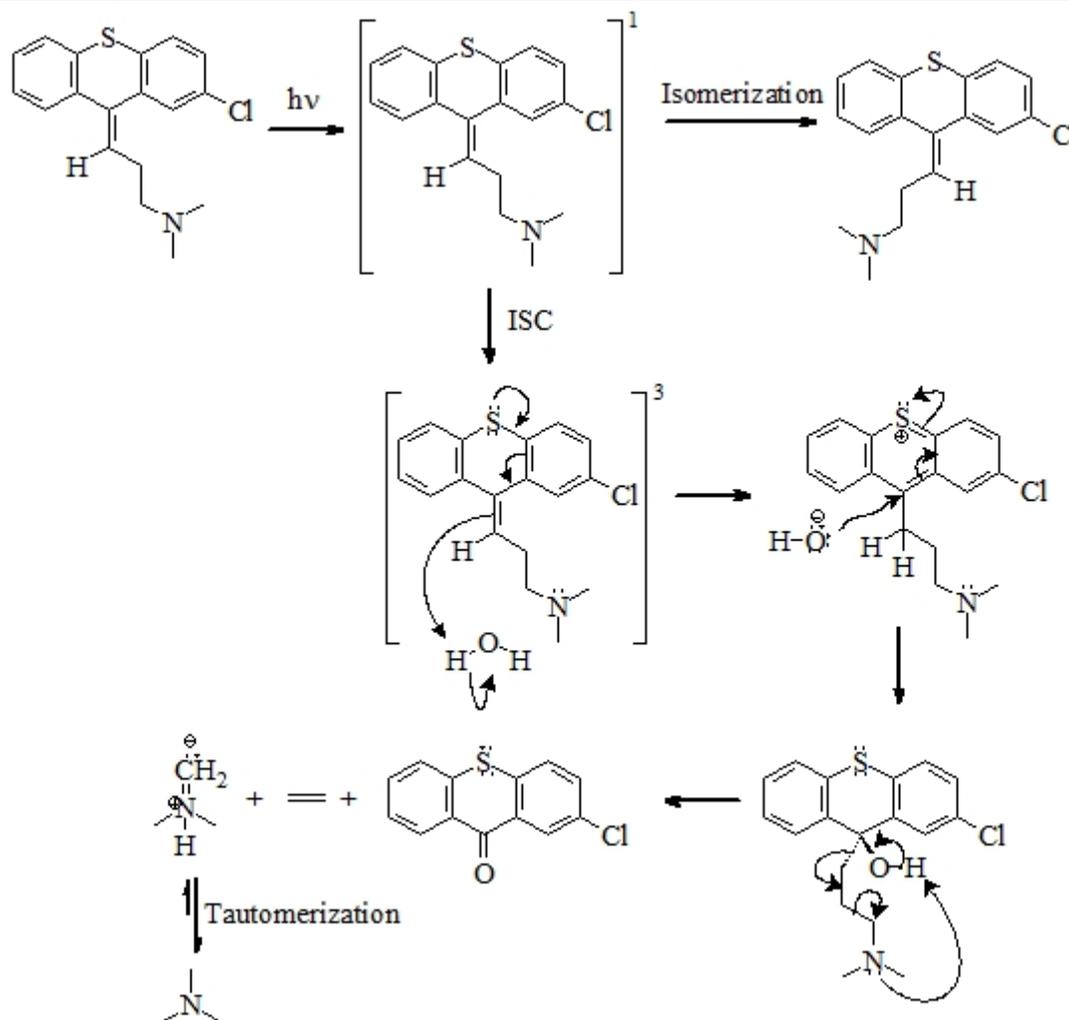


Figura 3.21
Fotohidratación de alquenos.

Ya que la fotólisis fue hecha en exceso de metanol, el producto de la fotorreacción de la Fig. 3.23 puede ser el [3-(2-cloro-9-metoxi-9H-tioxanten-9-il)-propil]-dietil amina (CTxOMe 3g), de acuerdo a la reacción de fotohidratación. Para determinar con mayor exactitud la naturaleza de los fotoproductos de zCPTX en metanol y corroborar la formación de este fotoproducto, se estudió su fotoquímica a tiempos cortos de irradiación. Además, se sintetizó el compuesto CTxOMe 3g a partir de CTxOH 3f para comparación. La irradiación de zCPTX en metanol bajo condiciones anaeróbicas durante 30 minutos permite identificar los siguientes 3 fotoproductos principales (Insertado Fig. 3.20): ECPTX ($t_r = 14.77$ min), CTxOH (3f, $t_r = 15.73$ min) y CTxOMe (3g, $t_r = 13.00$ min). Además, se observó la formación del alcohol terciario, por efecto de las trazas de agua presentes en el disolvente. Este experimento también confirma que este disolvente no facilita la formación de CTX porque el alcohol terciario que se forma no produce CTX. Sin embargo, a este tiempo de irradiación no se observa la formación de CTX. Este hecho es de gran relevancia porque confirma el mecanismo de fotohidratación propuesto anteriormente. La formación de CTxOH no se observa en la fotólisis de zCPTX en acetonitrilo bajo condiciones similares. Por lo tanto, se puede concluir que la formación de CTX depende del disolvente. Este resultado puede explicarse en términos de la pobre estabilización de la sal cuaternaria de la amina en MeOH (Fig. 3.22). Por consiguiente, CTX no es un producto principal bajo estas condiciones.

Figura 3.22 Mecanismo para la formación de CTX en MeCN en atmósfera de nitrógeno.



Como se desprende de la Fig. (3.21), en el primer paso la fotoprotonación produce el carbocatión más estable (Markovnikov). Luego ocurre un ataque nucleofílico del agua o del metanol. Si el ataque es hecho por agua, se forma el alcohol terciario correspondiente (CTxOH 3f), el cual - bajo ciertas condiciones - permitiría a la formación de CTX. Bajo las condiciones de reacción descritas se debe favorecer el ataque nucleofílico del metanol y, por consiguiente, la formación del compuesto 3g

(Fig. 3.23). Este fotoproducto tiene propiedades fotofísicas similares a los derivados 9-(3-dimetilaminopropil)tioxanteno-9-ol, sustituidos en la posición 2 (Fig. 3.24), los cuales fueron sintetizados por Bovincino y colaboradores.^[96] De hecho, el derivado con 2-cloro es usado como precursor en la síntesis de zCPTX. Los coeficientes de absorción molar de estos alcoholes terciarios a 230 nm ($\sim 7500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) son menores que los de su alqueno correspondiente. Este comportamiento también se ha observado en la longitud de onda máxima para el estireno ($\sim 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y su alcohol secundario ($\sim 100\text{-}400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) correspondiente.

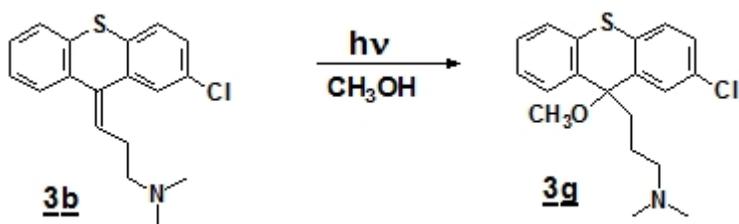


Figura 3.23
Fotorreacción de zCPTX
en metanol.

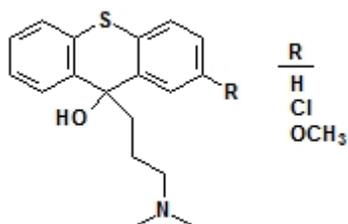


Figura 3.24
Derivados de tioxanteno
sintetizados por
Bovincino.^[96]

La formación del éter en la posición-9 del tioxanteno explicaría la gran disminución en absorción a 230 nm. Además, estos alcoholes terciarios son transparentes a $\lambda \geq 320 \text{ nm}$. De estos datos y de la cantidad de CTX que se formó, se determinó el espectro de absorción de los fotoproductos (Fig. 3.25). Primeramente, la absorción de la solución 0.0018 mM de CTX que se formó se restó de la absorción total de la mezcla de reacción. Del espectro resultante (xCPTX + Fotoproducto, $x = Z$ ó E) se asume que la absorción a 330 nm pertenece exclusivamente al Z/E-CPTX

restante, ya que los alcoholes terciarios no absorben en esta longitud de onda). Con este dato se puede calcular la concentración de CPTX y su espectro de absorción. El espectro de absorción de los fotoproductos (CTxOH y CTxOMe) que se obtiene mediante este método debe ser similar al del alcohol terciario sustituido en la posición-2 con un grupo metoxil(2-metoxi-9-(3-dimetilaminopropil)tioxanteno-9-ol) (Fig. 3.25). Además, este espectro coincide con el del producto sintetizado.

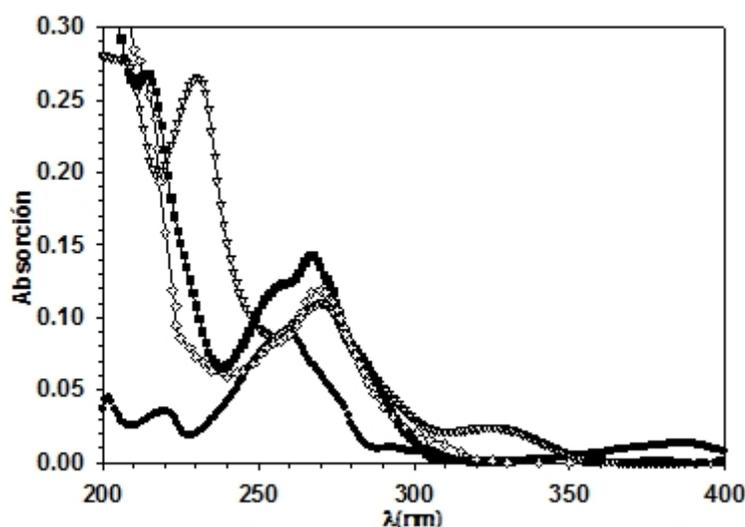


Figura 3.25

Espectro de absorción en metanol de: (●) 0.0018 mM CTX, (▽) 0.0076 mM CPTX, (■) 0.0096 mM fotoproducto y (◇) 0.0096 mM 2-metoxi-9-(3-dimetilaminopropil)tioxanteno-9-ol.

Bajo condiciones aeróbicas se observa un comportamiento similar tanto en el espectro de absorción como en la formación de fotoproductos de zCPTX. Este comportamiento es interesante porque los fotoproductos que se favorecen aparentemente no son derivados de fotorreacciones del cromóforo de zCPTX* con oxígeno. Obviamente, no se descartan reacciones de oxígeno singlete formado por la sensibilización de $^3\text{zCPTX}^*$ o del $^3\text{CTX}^*$, pero probablemente ocurran con la amina terminal, lo cual no altera las propiedades del cromóforo. De acuerdo con los resultados, la formación de CTX es 19% bajo estas condiciones y las curvas cinéticas a 230 nm en ambos microambientes son iguales como muestra la Fig. 3.26).

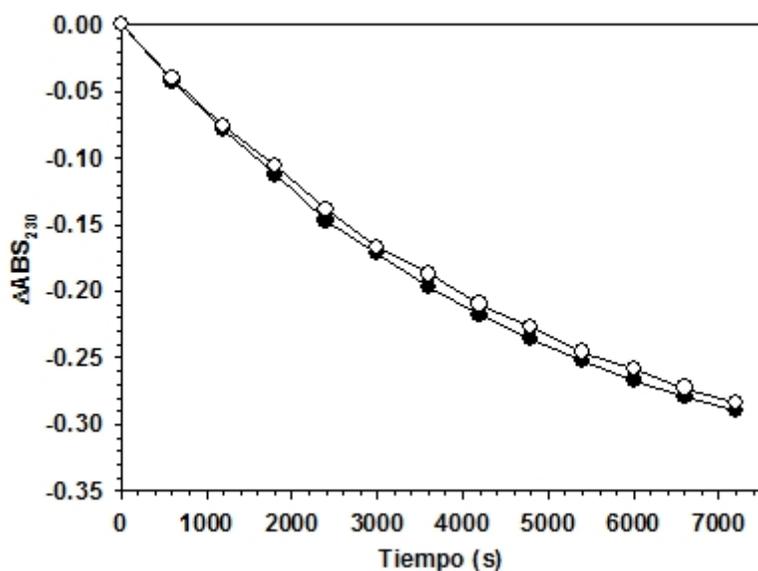


Figura 3.26

Curva cinética de la fotólisis de zCPTX en metanol irradiado a 313 nm. La longitud de onda para la cinética es 230 nm. (○) Nitrógeno, (●) Aire

Las soluciones de ambas fotorreacciones fueron analizadas por cromatografía de gas usando un detector de masas (GC-MS). Ciertamente, la cantidad de fotoproductos volátiles que se obtiene en metanol es mayor al de los productos caracterizados en acetonitrilo. Se pueden identificar la formación de tioxantona (TX), CTX y ECPTX. Los otros fotoproductos son difíciles de identificar porque, básicamente, no muestran la masa molecular exacta. Sin embargo, por el patrón de fragmentación, se puede predecir que son compuestos muy parecidos a zCPTX. La formación de TX debe provenir de la fotodescloración de CTX, porque este fotoproducto se observa en soluciones utilizadas para la FDL de CTX. El 19% de formación de CTX se determinó por absorción. En realidad, este por ciento debe de ser menor, porque TX aporta a la absorción en la longitud de onda utilizada.

3.4) Fotoquímica de zCPTX 3b en Etanol

El espectro de absorción de zCPTX en etanol posee máximos a 230, 270 y 327 nm (Fig. 3.27). La fotofísica y la fotoquímica de zCPTX en etanol no han sido estudiadas previamente. CTX es un fotoproducto de la fotoquímica de zCPTX en MeCN y MeOH. Por tal razón, también se determinó el espectro de absorción de CTX en etanol (Fig. 3.27). Entre los espectros de absorción de zCPTX y CTX puede observarse la formación de 5 puntos isobésticos (238, 284, 292, 310 y 344 nm).

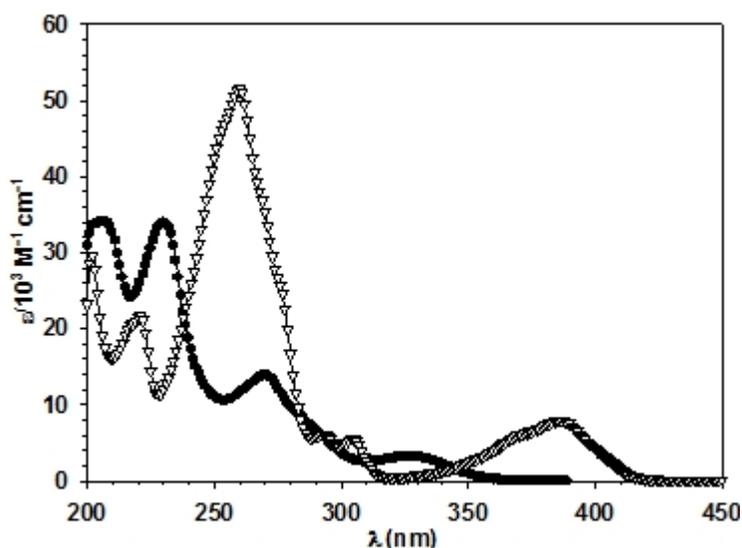


Figura 3.27
Espectro de absorción de zCPTX (●) y CTX (▽) en etanol.

La fotólisis de 0.028 mM zCPTX en EtOH bajo condiciones aeróbicas produce una disminución en la absorbancia a 230 y 327 nm, mientras se observa un aumento en la absorción a 260 y 386 nm (Fig. 3.28). A primera impresión, la fotodegradación de zCPTX en EtOH es parecida a la observada en MeOH (Fig. 3.20). Sin embargo, la fotoquímica de zCPTX en EtOH es compleja, ya que la misma no muestra ningún punto isobéstico. Como la absorción a 386 nm corresponde a la formación de CTX, se puede calcular que después de una hora de fotólisis sólo se ha formado un 7% de CTX. Si asumimos que zCPTX se está convirtiendo solo en CTX, entonces debería de

observarse una disminución en la absorción a 230 nm de un 10%. Sin embargo, la disminución en absorción a esta longitud de onda es de aproximadamente un 25%. Estos resultados apuntan a la formación de otros fotoproductos con un coeficiente de absorción molar más pequeño que los de CTX y zCPTX en esta región. Según el mecanismo descrito anteriormente, este fotoproducto puede adjudicarse al [3-(2-cloro-9-etoxi-9H-tioxanten-9-il)-propil]-dietil-amina (CTxOEt 3h). Tomando en consideración el espectro de absorción final de la fotólisis, se puede determinar que se formó 0.0025 mM de CTX. La absorción de CTX puede ser restada y obtener el espectro de absorción de CPTX + fotoproductos. Asumiendo que toda la absorción a 322 nm de este espectro le pertenece a CPTX, se obtiene una concentración de 0.0128 mM. Finalmente se obtiene el espectro de absorción del fotoproducto o fotoproductos (Fig. 3.29). Es evidente que en EtOH no se favorece la formación de CTX, como ocurre en MeCN.

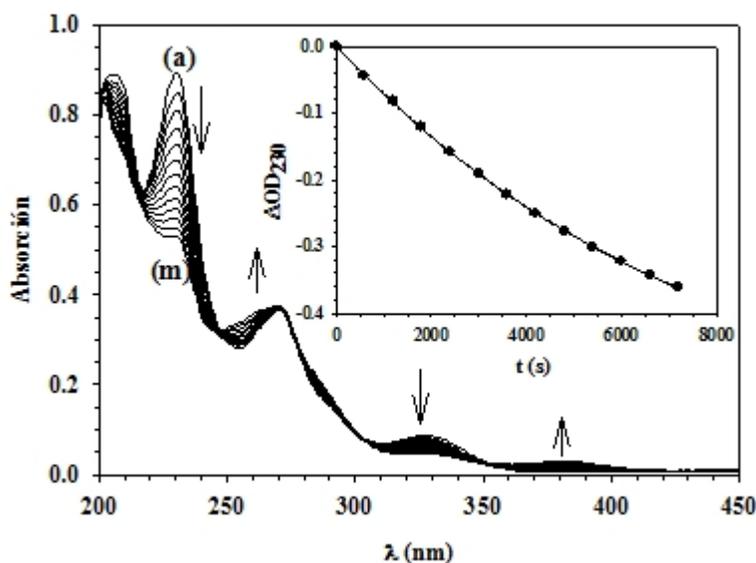


Figura 3.28

Fotólisis de zCPTX base libre en EtOH bajo condiciones aeróbicas a 313 nm ($A_{313} = 0.070$). Los intervalos de irradiación son 600 s. con $t_{(a)} = 0$ s. RECUADRO: Curva para $A = -0.61 + 0.61e^{-0.0001t}$ ($r^2 = 0.9999$).

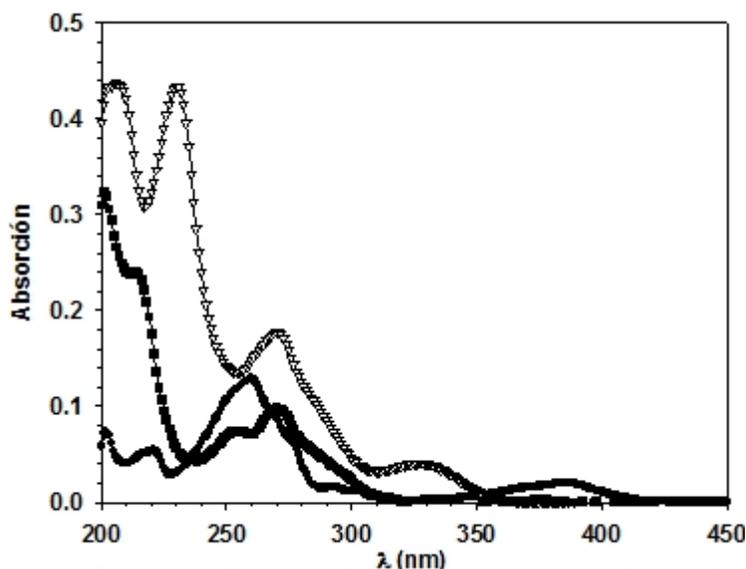


Figura 3.29

Espectro de absorción en etanol de: (▽) 0.0128 mM CPTX, (●) 0.0025 mM CTX y (■) 0.0149 mM los fotoproductos.

La fotoquímica de CPTX en EtOH bajo condiciones anaeróbicas muestra un comportamiento similar al descrito para el proceso aeróbico (Fig. 3.30). La diferencia principal inducida por la atmósfera del sistema se observa en el máximo a 206 nm. En esta longitud de onda, el coeficiente de absorción molar de las especies es mayor bajo aire. Sin embargo, la constante de rapidez medida a 230 nm no se afecta por la presencia de oxígeno. Este hecho puede sugerir que la fotoprotonación del alqueno de zCPTX puede ocurrir desde el estado excitado singlete bajo irradiación directa. Por esta razón, la cinética de la fotodegradación de zCPTX a 230 nm es la misma en PBS/7.4, MeOH y EtOH. El paso determinante en la fotodegradación de zCPTX es la fotoprotonación del alqueno y como la acidez del agua ($pK_w = 14$), del MeOH ($pK_a = 15.5$) y del EtOH ($pK_a = 15.9$) son similares, no se observa diferencia alguna en este proceso.

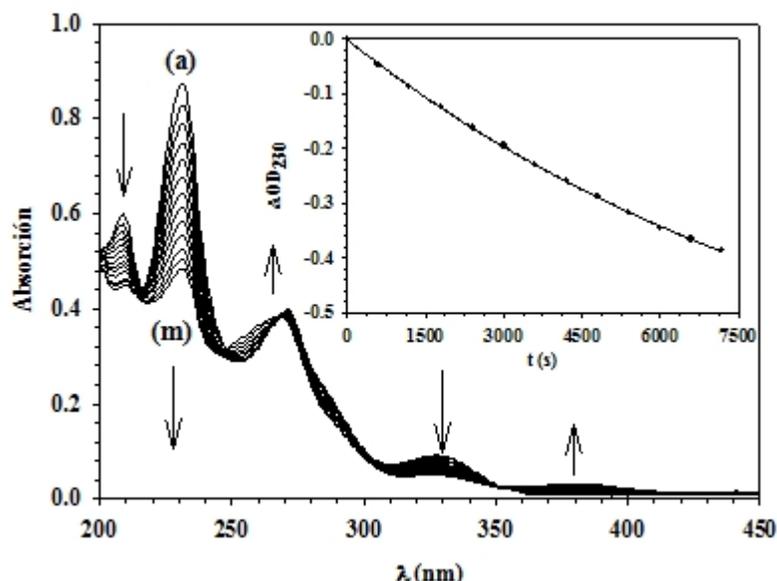


Figura 3.30

Fotólisis de 0.028 mM zCPTX base libre en EtOH bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm ($A_{313} = 0.073$). Los intervalos de irradiación son 600 s. con $t_{(a)} = 0$ s. RECUADRO: Curva para $OD = -0.70 + 0.75e^{-0.0001t}$ ($r^2 = 0.9999$).

3.5) Fotoquímica de zCPTX-HCl en solución tampón de fosfato con pH = 7.4

La fotofísica y fotoquímica de zCPTX-HCl en solución tampón de fosfato (PBS/7.4) no ha sido reportada anteriormente. El espectro de absorción de zCPTX-HCl en PBS/7.4 muestra tres máximos en la región ultravioleta a 230, 267 y 324 nm (Fig. 3.31, Tabla 3.2). Estos máximos coinciden con los reportados por Misiuk, Bovincino y colaboradores.^[85,96] El máximo de absorción a 324 nm se desplaza hipsocrómicamente con un aumento en la polaridad del disolvente. Este cambio es característico de transiciones n- π^* en medio polar prótico. Sin embargo, cálculos teórico-cuánticos indican que esta transición electrónica no es completamente n- π^* . Además, Bovincino señala que esta transición es característica de la insaturación que hay en la posición 9 del tioxanteno.^[96] Es importante señalar que este fármaco precipita a concentraciones mayores de 120 μ M.

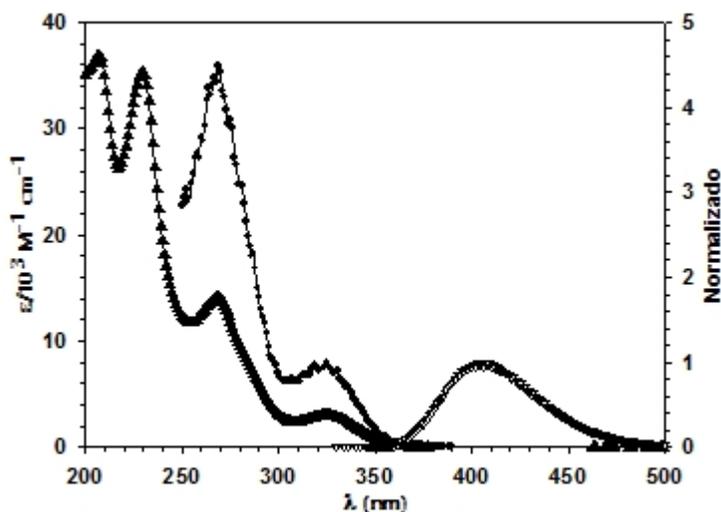


Figura 3.31
Espectro de absorción (▲), excitación (●) y emisión (▽) de zCPTX-HCl en solución tampón de fosfato (PBS 7.4).

Tabla 3.2 Propiedades fotofísicas de zCPTX-HCl

Solvente	Acetonitrilo	Metanol	PBS/7.4
Absorbancia			
λ_{\max} (nm) [log ϵ]	231 [4.53], 270 [4.13], 328 [3.50]	230 [4.52], 270 [4.13], 328 [3.50]	229 [4.54], 269 [4.14], 325 [3.43]
Emisión			
λ_{\max} (nm)	403	389	405
E_s (kcal/mol)	80.1	80.8	78.7
(kJ/mol)	335	338	329
Desplazamiento Stokes (cm^{-1})	5674	4781	6173
ϕ_F	0.0022	0.0023	0.0024

Las propiedades del estado singlete excitado de zCPTX-HCl también fueron medidas en PBS/7.4 (Fig. 3.31, Tabla 3.2). La longitud de onda de emisión se

desplaza batocrómicamente en 10 nm relativo a la de zCPTX ($\lambda_{\text{max}} = 393 \text{ nm}$). Esta longitud de onda de emisión es independiente de la longitud onda de excitación en el rango 250-340 nm (Fig. 3.32). Esto implica que la molécula solo tiene un fluoróforo. El espectro de excitación (Fig. 3.31) confirma que transiciones electrónicas del estado raso contribuyen a la emisión de 405 nm. La energía singlete es 329 kJ/mol (78.7 Kcal/mol), la cual es similar a la obtenida en acetonitrilo y metanol (Tabla 3.2). El desplazamiento Stokes de este fármaco en PBS/7.4 es $6 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, lo que representa el mayor desplazamiento Stokes obtenido en cualquiera de los disolventes utilizados. Este valor, además, es indicativo de la alta polaridad del estado excitado singlete del fármaco y, por consiguiente, su estabilidad térmica en disolventes polares próticos. El rendimiento cuántico de fluorescencia de zCPTX-HCl en PBS/7.4 es 2.4×10^{-3} , medido a 280 nm. Este valor de la eficiencia de emisión es el mismo en metanol y acetonitrilo y, en ambos disolventes, es ligeramente menor al de zCPTX. Por lo tanto, la desactivación por fluorescencia no es el mecanismo favorecido para esta molécula. Finalmente se observa que la eficiencia de emisión depende de la longitud de onda de excitación (Fig. 3.32).

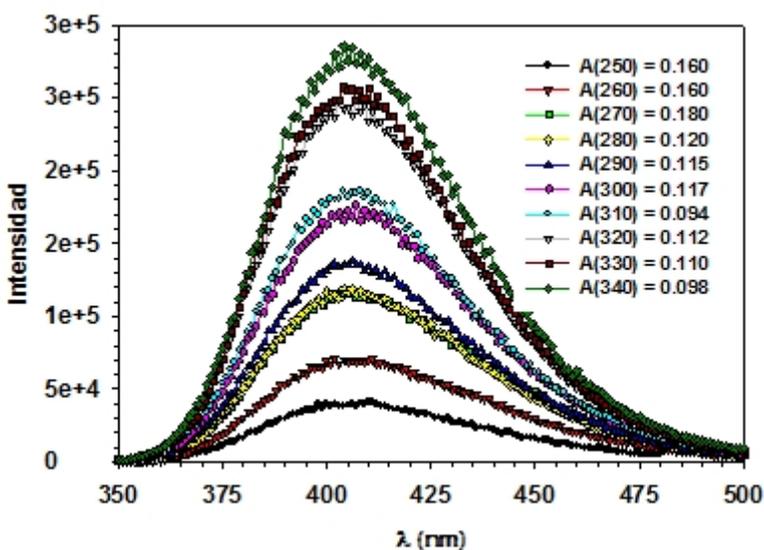


Figura 3.32
Espectros de emisión de zCPTX-HCl en PBS /7.4 a distintas longitudes de onda de excitación.

La fotólisis de zCPTX-HCl (18.8 M) en PBS/7.4 bajo condiciones anaeróbicas muestra una disminución drástica en la absorción de 230 nm (Fig. 3.33). Este mismo comportamiento se observa para las fotólisis en MeCN y alcoholes. Durante la fotólisis se forman tres puntos isobésticos a 203, 293 y 310 nm, lo que sugiere que la fotoquímica tiene un mecanismo simple y, probablemente, se forma un solo producto. A diferencia de la fotoquímica de zCPTX en MeCN y MeOH, no se observa un aumento claro en la absorción a 386 nm. Esto sugiere que, bajo estas condiciones, la formación de CTX no es favorecida.

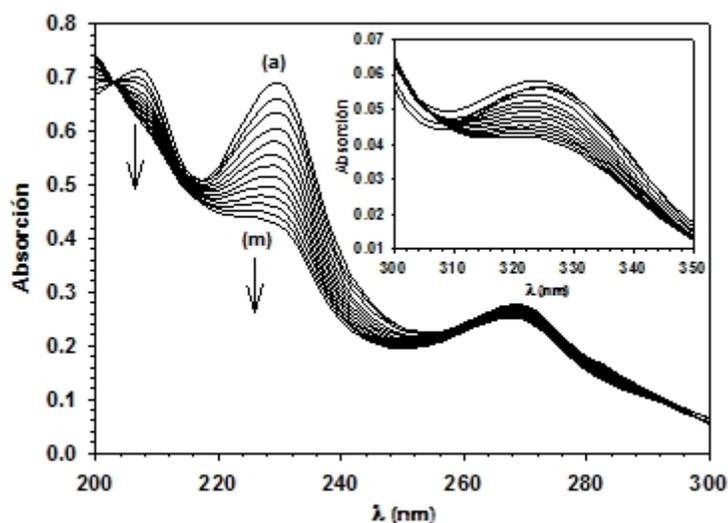


Figura 3.33

Espectro de absorción de la fotólisis a 313 nm de 0.0188 mM zCPTX-HCl en PBS/7.4 bajo condiciones anaeróbicas. Intervalo de tiempo de 600 s entre cada espectro ($t_a = 0 \text{ s}$).

La fotólisis bajo condiciones aeróbicas muestra resultados similares (Fig. 3.34), pero la constante de rapidez es menor por un factor de aproximadamente 2 (Fig. 3.35). Además, el punto isobéstico a 203 nm no se define bien en condiciones aeróbicas. Esto se debe adjudicar a que el oxígeno disuelto aporta cierta absorción en esta región, como lo confirma el hecho de que burbujear con nitrógeno disminuye las absorciones en la región de 200 a 210 nm. Por otro lado, los restantes dos puntos isobésticos se definen claramente. La mayor constante de fotodegradación bajo nitrógeno se debe a que solo se usó la mitad de la concentración inicial de zCPTX-HCl (18.8 M) para la fotólisis en condiciones anaeróbicas. De hecho, ambas

soluciones se preparan con la misma concentración inicial, pero luego de burbujear con nitrógeno, se observa una disminución en la absorción (Fig. 3.33). Esto se puede atribuir a que, durante el burbujeo, la temperatura de la solución disminuye e induce la precipitación del fármaco.

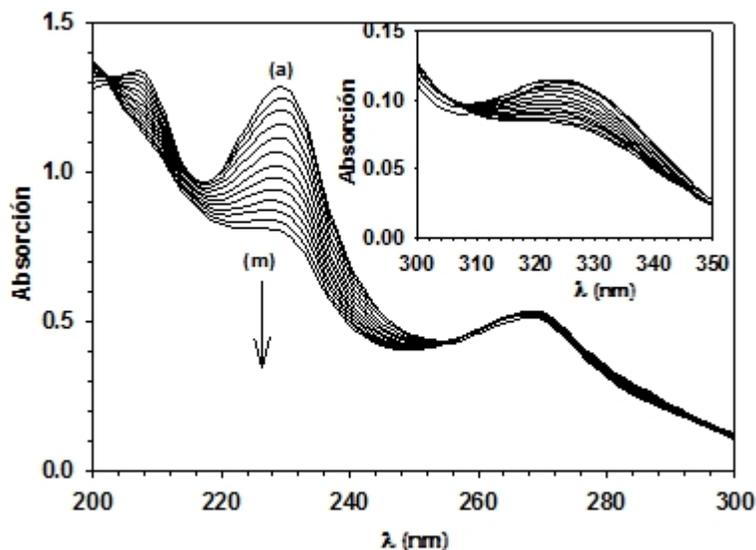


Figura 3.34
Espectro de absorción de la fotólisis a 313 nm de 0.036 mM zCPTX_HCl en PBS/7.4 bajo condiciones aeróbicas. Intervalo de tiempo de 600 s entre cada espectro ($t_a = 0$ s).

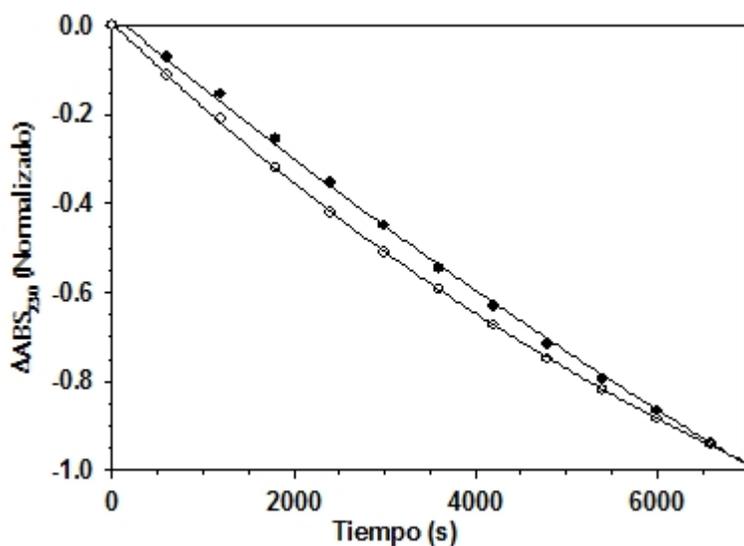


Figura 3.35
Cinética de la fotoquímica de zCPTX-HCl en PBS/7.4 bajo nitrógeno (●) y aire (○).

CTX no se forma en la fotólisis de zCPTX-HCl en PBS/7.4, a diferencia de la fotoquímica en acetonitrilo, metanol y etanol. Esto indica que los pares de electrones libres del amino terminal están involucrados en el mecanismo de formación de CTX. Más aún, la disminución en absorción a 230 nm no se debe a la formación del isómero ECPTX. Esta disminución puede ser atribuida a la formación de 2-cloro-9-(3-dimetilaminopropil)tioxanten-9-ol (CTxOH 3f), el cual tiene un coeficiente de absorción molar menor en esta región, según reporta Bovincino y colaboradores.^[96]

3.6) Fotofísica de CTX 3c en soluciones acuosas de acetonitrilo

Tioxantona (TX) ha sido utilizada por décadas como sensibilizador en fotoisomerizaciones cis-trans y la dimerización de sistemas α,β -insaturados (enonas).^[97-98] Esta aplicación es posible gracias a sus excelentes propiedades fotofísicas, a saber: (a) su cruce intersistémico (ISC) tiene un rendimiento mayor de 0.50; (b) su energía del estado triplete es mayor a 251 kJ/mol y, (c) para un gran número de aceptores, participa en procesos de transferencia de energía con rapidez difusional ($k_{ET} \sim 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Los derivados de TX se utilizan como fotoiniciadores en reacciones de polimerización, debido a que pueden inducir la formación de radicales libres ($k_{\text{radicales}} \sim 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) mediante la transferencia de electrones. Se conoce que la iniciación de la polimerización se debe a la formación de radicales del disolvente y no a la formación del radical cetilo. Esta propiedad es usada en aplicaciones como el curado ultravioleta para el secado de pinturas y barnices. Además, se usan en técnicas como la formación de imágenes con láser directo y la fotoestereolitografía 3D. En la odontología, los derivados de tioxantona son utilizados en presencia de resinas fotopolimerizables para reconstrucciones dentales. También son útiles en la terapia fotodinámica y han demostrado que son eficaces en el tratamiento de tumores

sólidos.^[99] Los derivados de TX clorados en la posición 1 (Ver Fig. 1.1) son utilizados en la fotogeneración de ácidos inorgánicos que inducen polimerización catiónica.^[100] Esta técnica de fotopolimerización es utilizada en resinas epoxídicas, las cuales inician su polimerización luego que se produce el ácido fuerte (HCl).

La 2-clorotioxantona (CTX 3c) es un derivado de TX que se utiliza para la preparación de productos farmacéuticos como zCPTX. Además, se determinó previamente que CTX es un fotoproducto secundario de la fotólisis de zCPTX, cuando éste es irradiado a 313 nm. Este fotoproducto es favorecido en ambientes anaeróbicos contrario a lo reportado por Li-Wan^[35] y se forma de la fotorreacción del estado triplete excitado de zCPTX con agua. Luego este se autocataliza por el mecanismo de transferencia de energía triplete-triplete entre $^3\text{CTX}^*$ y zCPTX.^[73] En este trabajo, las propiedades fotofísicas de CTX se midieron en soluciones de acetonitrilo/agua para determinar si la magnitud de los efectos secundarios relacionados con la fototoxicidad de zCPTX, se correlacionan con la formación de CTX.

El espectro de absorción de CTX en MeCN muestra cuatro máximos a 259, 292, 305 y 386 nm (Fig. 3.36, Tabla 3.3). A medida que aumenta el contenido de agua, los máximos a 259 y 386 nm experimentan un pequeño desplazamiento batocrómico de aproximadamente 2 y 3 nm, respectivamente. También se observa un cambio hipercrómico con el aumento del contenido de agua, el cual disminuye cuando la relación de MeCN/Agua es 1:1. Este comportamiento indica que esta transición tiene un carácter $\pi \rightarrow \pi^*$. Las transiciones electrónicas que ocurren a longitudes de ondas mayores de 300 nm, pero menores de 386 nm, no se ven afectadas por la composición del disolvente, con la excepción de la banda a 305 nm. Esta última banda muestra un desplazamiento hipsocrómico que desaparece en la mezcla MeCN / agua (1:4). Los cálculos DFT indican que la banda a 386 nm es producida por la combinación de las transiciones electrónicas $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$. El orbital n

corresponde a los átomos de cloro y azufre y el orbital π^* pertenece al sistema de anillos. Para fines de comparación, el espectro de absorción de TX se midió en acetonitrilo. Relativo a TX, los máximos de absorción en la región UVB y UVA se desplazan hacia el azul por aproximadamente 6 nm, pero no se observa ningún efecto en la magnitud del coeficiente de absorción molar (Tabla 3.3). Estos resultados son semejantes a los reportados por Neumann y colaboradores.^[101] Estos autores encontraron que las sustituciones en el sistema aromático de la TX introduce sólo pequeños cambios en el máximo de absorción ($\lambda = 10$ nm) y el coeficiente de absorción molar ($\log \epsilon = 0.2$). Además, cambiar el disolvente no induce cambios significativos en las longitudes de onda máxima y en la intensidad de absorción.^[102]

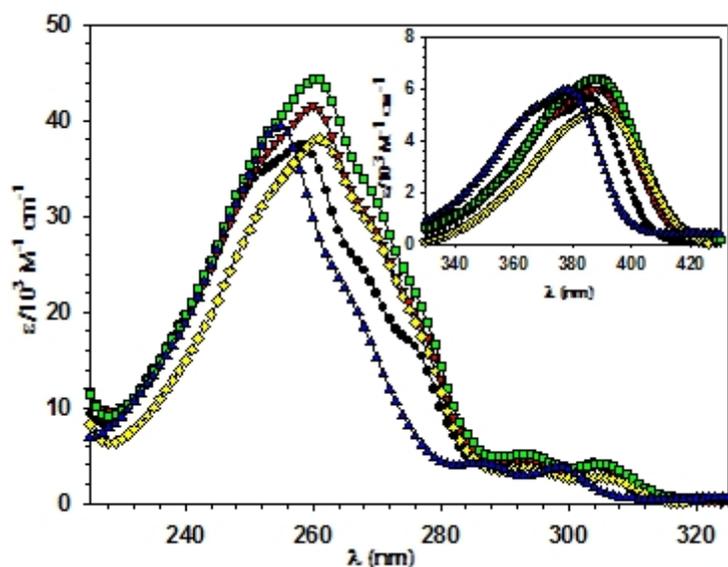


Figura 3.36

Espectros de absorción de CTX **3c** en mezclas de agua/MeCN:

- (●) MeCN,
- (▼) MeCN/Agua (4:1),
- (■) MeCN/Agua (2:1),
- (◆) MeCN/Agua (1:1) y
- (▲) TX (MeCN).

INSERTADO: Espectro en la región 330 - 430 nm.

Tabla 3.3 Propiedades fotofísica de CTX en soluciones acuosas de MeCN

Solvente	100% MeCN	4:1 MeCN-H ₂ O	2:1 MeCN-H ₂ O	1:1 MeCN-H ₂ O	1:1 MeCN-D ₂ O	1:4 MeCN-H ₂ O
Absorbancia						
$\lambda_{\max} \pm 1$ (nm)	221 [4.22],	219 [4.18],	221 [4.24],	216 [4.19],	221 [4.42],	202[-] ^{a)} ,
$[\log \epsilon \pm 0.1]$	259 [4.59],	258 [4.59],	260 [4.65],	261 [4.54],	261 [4.84],	262[-] ^{a)} ,
	292 [3.68],	290 [3.62],	293 [3.71],	294 [3.61],	293 [3.88],	292[-] ^{a)} ,
	305 [3.65],	303 [3.55],	305 [3.62],	305 [3.50],	305 [3.77],	394[-] ^{a)}
	386 [3.77]	386 [3.74]	389 [3.80]	389 [3.70]	389 [4.00]	
Emisión						
$\lambda_{\max} \pm 2$ (nm)	415	431	433	438	436	443
$E_s \pm 0.4$ kcal/mol	71.5	69.9	69.6	69.4	69.4	68.5
$E_s \pm 3$ (kJ/mol)	299	292	291	290	290	286
Despl. Stokes (cm ⁻¹)	1810	2705	2612	2876	2771	2807
ϕ_F	0.0080 ^{b)}	0.12 ^{c)}	0.18 ^{d)}	0.31 ^{c)}	0.29 ^{e)}	0.39 ^{c,f)}
τ_s (ns)	0.91 ⁱ⁾	3.85 (Aire) 4.00 (Ar)	3.47 (Aire) 3.63 (N ₂)	4.78 (Aire) 5.40 (N ₂)	4.42 (Aire) 4.65 (N ₂)	7.62 (Aire) 7.68 (N ₂)
$k_F^0 \times 10^7$ (s ⁻¹)	0.88	3.11	5.19	6.48	6.56	5.11

Solvente	100% MeCN	4:1 MeCN-H ₂ O	2:1 MeCN-H ₂ O	1:1 MeCN-H ₂ O	1:1 MeCN-D ₂ O	1:4 MeCN-H ₂ O
Estado Triplete						
λ_{\max} (nm)	310, 630	310, 610	330, 610	310, 610	310, 600	
$\epsilon \times 10^{-4}$ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	2.5 ± 0.3					
τ_T (μs)	77	125	138	167	201	
ϕ_T	0.91 ^{h)}	0.57 ^{f,i)}	0.43	0.25 ^{f,i)}		
$k_{sq} \times 10^{-8}$ (M ⁻¹ s ⁻¹)	1.1 ± 0.1	0.64 ± 0.03	0.59 ± 0.08	0.56 ± 0.07	1.0 ± 0.2	
k_{O_2} (M ⁻¹ s ⁻¹)	1.83 × 10 ⁹	8.46 × 10 ⁸				
k_{lspOH} (M ⁻¹ s ⁻¹)	6.54 × 10 ⁷					

- a) El coeficiente no pudo determinarse en esta solución por problemas de solubilidad.
- b) Para CTX, la λ excitación fue 340 nm y el estándar fue TX ($\phi = 0.0051$ en MeCN y $\phi = 0.12$, en MeOH).^[62]
- c) El compuesto estándar fue CTX en MeCN.
- d) El compuesto estándar fue CTX en 4:1 MeCN:Agua ($\phi_F = 0.12$)
- e) El compuesto estándar fue CTX en 1:1 MeCN:Agua ($\phi_F = 0.31$)
- f) El compuesto estándar fue sulfato de quinina en 0.10 M H₂SO₄ ($\phi_F = 0.53$) a 366 nm. Rejilla = 1.0 nm.
- g) Tomado de Encinas y colaboradores.^[102]
- h) El compuesto estándar fue naftaleno (NP) en MeCN ($\phi_T = 0.75$, ϵ (412 nm) = 14533 M⁻¹ cm⁻¹).
- i) El compuesto estándar fue TX en MeCN ($\phi_T = 0.66$, ϵ (625 nm) = 22000 M⁻¹ cm⁻¹).
- j) El rendimiento cuántico del triplete fue calculado con el coeficiente de absorción molar en MeCN.

El espectro de emisión de fluorescencia de CTX en las soluciones de MeCN/Agua a temperatura ambiente consiste de una banda ancha con máximo en $\lambda > 400$ nm (Fig. 3.37). Cuando CTX se excita en la región de longitudes de onda entre 250-400 nm, se obtiene el mismo espectro de emisión. Estos resultados indican que el fluoróforo de CTX no cambia con el longitud de onda de excitación. Sin embargo, la eficiencia de emisión sí depende de la longitud de onda de excitación, como se reportó para zCPTX. Por otro lado, la longitud de onda de emisión sufre un desplazamiento batocrómico de aproximadamente 28 nm al cambiar de MeCN puro a MeCN/Agua (1:4). Evidentemente existe una dependencia entre la polaridad del medio y las propiedades de emisión de CTX, según reportado para TX.^[62]

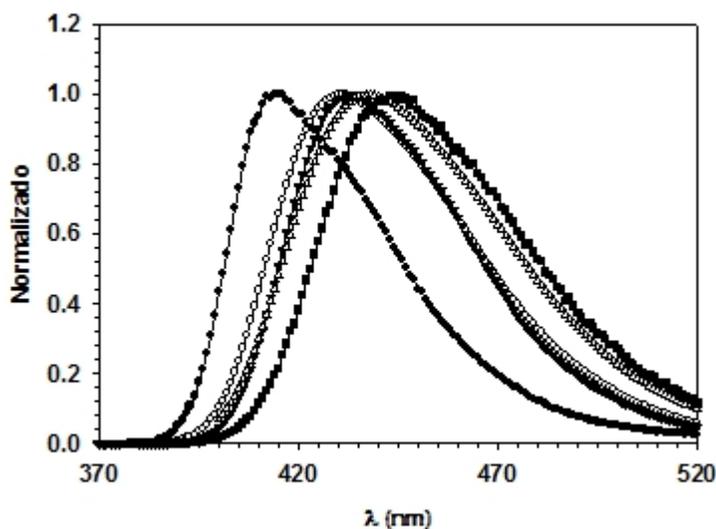


Figura 3.37

Espectros normalizados de emisión de CTX en soluciones acuosas de acetonitrilo:

- (●) 100% MeCN,
- (○) MeCN/Agua (4:1),
- (▼) MeCN/Agua (2:1),
- (Δ) MeCN/Agua (1:1) y
- (■) MeCN/Agua (1:4).

El desplazamiento Stokes, sin embargo, aumenta significativamente con la polaridad del disolvente. Esto indica que el ${}^1\text{CTX}^*$ es más polar que el estado raso correspondiente. Los cálculos cuánticos predicen una diferencia de casi 2 D en el momento dipolar entre el estado raso de CTX y ${}^1\text{CTX}^*$. Para los estados excitados singlete con carácter n en disolventes no polares, aumentar la capacidad del

disolvente para hacer puentes de hidrógeno induce un desplazamiento en la longitud de onda de emisión hacia el azul. La ausencia de tal desplazamiento sugiere que el $^1\text{CTX}^*$ tiene carácter $^* \pi \rightarrow \pi^*$ en todas las soluciones en agua/MeCN, en acuerdo con las propiedades reportadas para TX en disolventes hidroxílicos.^[62]

La energía promedio del estado singlete excitado de CTX en soluciones acuosas es (291 ± 4) kJ/mol, 45 kJ/mol menor a la de zCPTX en los solventes estudiados (336 \pm 1 kJ/mol; Tabla 3.3). Este valor concuerda con las energías del singlete excitado $^1\text{TX}^*$ en MeCN (306 kJ/mol) y en MeCN:H₂O (4:1) (297 kJ/mol). Estos resultados demuestran que la sustitución en la posición 2 de TX, no afecta la energía del S₁. Los desplazamientos Stokes de TX en estos disolventes son $(1.8 \pm 0.2) \times 10^3$ y $(2.8 \pm 0.2) \times 10^3$ cm⁻¹, respectivamente. El desplazamiento Stokes reportado para TX en MeCN es de 2.5×10^3 cm⁻¹, lo que concuerda con nuestros datos.^[103] Estos valores también coinciden muy bien con los de CTX (Tabla 3.3) y son menores a los reportados para zCPTX, lo que corrobora el $^1\text{zCPTX}^*$ es más polar que $^1\text{CTX}^*$.

El tiempo de vida de fluorescencia de $^1\text{CTX}^*$ se midió en soluciones de MeCN/Agua para entender el efecto del microambiente en su dinámica de relajación (Fig. 3.38)^[92]. Este parámetro tiene un comportamiento monoexponencial (Fig. 3.39), según lo confirman los valores χ^2 ($0.88 \leq \chi^2 \leq 1.11$). Al igual que los valores reportados para TX^[104], el oxígeno disuelto no afecta significativamente el tiempo de vida del $^1\text{CTX}^*$, pero se observa que son ligeramente más altos en ausencia de oxígeno. El tiempo de vida del $^1\text{CTX}^*$ en MeCN no puede ser medido con la instrumentación disponible, pero Encinas y colaboradores reportaron un valor de 0.91 ns.^[102] Nuestros resultados demuestran que el tiempo de vida del $^1\text{CTX}^*$ aumenta con el contenido de agua. Este mismo comportamiento se ha observado para TX y sus derivados, cuyos tiempos de vida son bien cortos en disolventes polares no hidroxílicos, como MeCN y acetato de etilo.

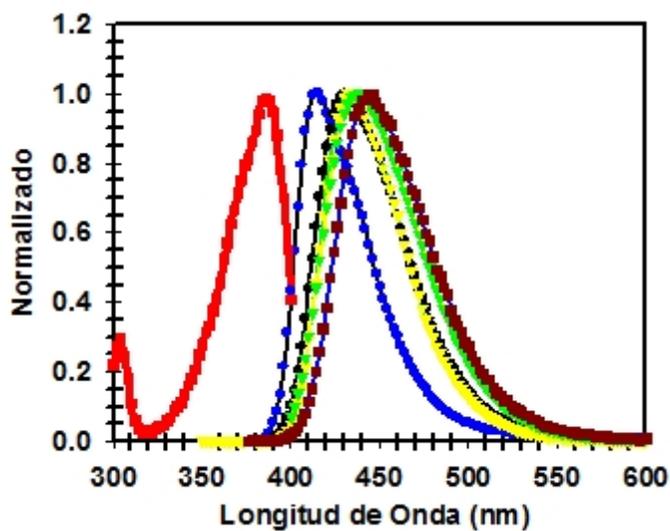


Figura 3.38

Espectros normalizados de emisión de CTX en soluciones de MeCN/agua [(■) excitación en MeCN]: (●) MeCN, (●) MeCN:H₂O (4:1), (▼) MeCN:H₂O (2:1), (▲) MeCN:H₂O (1:1), y (■) MeCN:H₂O (1:4).

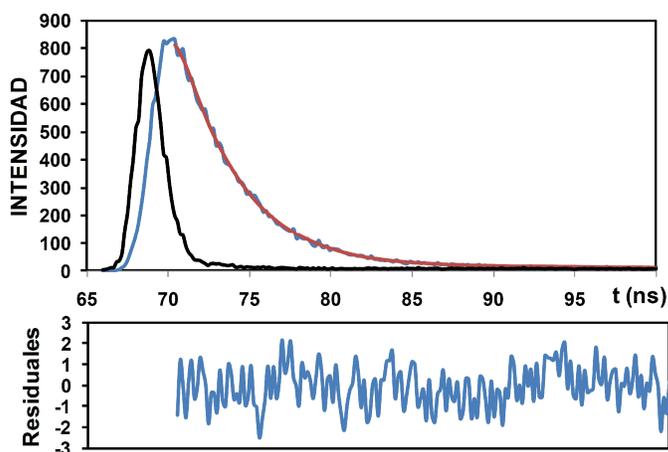


Figura 3.39

Curva de desactivación de la fluorescencia de CTX en solución de MeCN / H₂O (2:1) (línea azul), el ajuste mono-exponencial (línea roja, $\chi^2 = 1.109$), el IRF (negro) y los residuos correspondientes (inferior).

El rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_f) de ¹CTX* fue medido en MeCN y soluciones de MeCN/H₂O. Al igual que el tiempo de vida de fluorescencia, el rendimiento cuántico depende del contenido de agua en la solución: a mayor polaridad y proticidad de la mezcla, mayor el rendimiento de emisión. Por ejemplo, el rendimiento cuántico en MeCN puro es igual a $\phi_f = 0.008$, valor muy similar al reportado para TX ($\phi_f = 0.006$, $\tau_f = 0.13$ ns).^[101] Este ϕ_f es también comparable con

el reportado para CTX en tolueno ($\phi_f = 0.006$).^[105] Esto implica que aproximadamente el 1% de la energía radiante absorbida por CTX se desactiva por este mecanismo. Esto sugiere, a su vez, que el 99% de la desactivación de $^1\text{CTX}^*$ en MeCN se disipa por mecanismos no radiativos (cruce intersistémico o desactivación colisional). La dependencia de los ϕ_f de $^1\text{CTX}^*$ con el contenido de agua es lineal (Fig. 3.40, $r^2 = 0.9792$), de la cual se puede extrapolar un valor de 0.51 para el ϕ_f de $^1\text{CTX}^*$ en agua pura. Este valor concuerda completamente con el comportamiento de grupos electrodonantes en la posición 2 del anillo de la TX, los que inducen un aumento en los rendimientos cuánticos de fluorescencia en microambientes hidroxílicos.^[101]

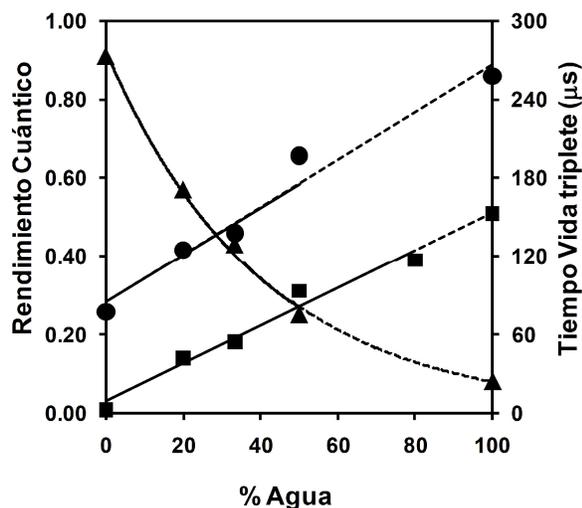


Figura 3.40

Efecto del % de agua en el rendimiento cuántico de fluorescencia (■), el rendimiento cuántico del triplete (▲), y el tiempo de vida del triplete (●, escala de la derecha). Los valores para 100% de agua son extrapolados.

El efecto del disolvente en las propiedades fotofísicas de los derivados de TX se atribuye a la separación energética entre los estados excitados n^* y * , inducida principalmente por la alta densidad electrónica del sistema aromático. De acuerdo con la teoría de proximidad entre ambos estados, el momento dipolar del S_1 (*) es mayor que el del S_2 (n^*) o el estado raso S_0 .^[106] En disolventes polares, la estabilización del estado singlete excitado S_1 (*) es mayor que para el S_2 (n^*). Esto provoca que la diferencia energética entre ambos estados excitados sea mayor. Por consiguiente, se espera que las propiedades de emisión y tiempo de vida se reduzcan

en disolventes no polares. Este marcado efecto las propiedades del estado excitado singlete es típico para sistemas con poca diferencia energética entre ambos estados excitados^[107], lo que ha sido interpretado con el uso de parámetros solvatocrómicos.^[104]

Los postulados de la fotoquímica cuántica moderna establecen que las interacciones entre los estados S_2 ($n \rightarrow \pi^*$) y S_1 ($\pi \rightarrow \pi^*$) son menos accesibles en disolventes polares. Esto provoca que la rapidez con la que la energía del estado excitado se disipa al estado fundamental por conversión interna disminuye y el rendimiento cuántico de fluorescencia aumenta.^[108] Basado en este argumento, un mecanismo propuesto para la desactivación de ${}^1\text{TX}^*$ se basa en el modelo de cuatro estados excitados [S_2 (${}^1n \rightarrow \pi^*$), S_1 (${}^1\pi \rightarrow \pi^*$), T_2 (${}^3n \rightarrow \pi^*$) y T_1 (${}^3\pi \rightarrow \pi^*$)].^[109-110] En este modelo existen dos mecanismos intramoleculares donde puede ocurrir el ISC para poblar el primer estado excitado triplete (T_1). El primer mecanismo establece la desactivación directa desde el S_2 al T_1 , lo que constituye un proceso cinéticamente favorecido. El segundo mecanismo es más indirecto y la cinética es más lenta. En este se sugiere que el estado T_2 es accesible desde el S_1 ($S_1 \rightarrow T_2 \rightarrow T_1$). La formación del T_1 depende directamente de la desactivación del S_1 , lo que se afecta por los disolventes utilizados. Aunque las energías exactas de los estados excitados S_2 y T_2 para TX no se conocen con precisión, los cálculos teóricos cuánticos predicen los siguientes valores (kJ/mol): $S_1 = 327$, $S_2 = 335$, $T_1 = 310$ y $T_2 = 330$.^[108] Esta tendencia se correlaciona bien con la de los valores relativos experimentales (kJ/mol): $S_1 = 299$ y $T_1 = 270$.^[92,110] Este comportamiento es similar al del estado singlete excitado de benzofenona (BP), cuyo estado excitado T_2 (${}^3n \rightarrow \pi^*$) tiene una energía mayor al S_1 (${}^1\pi \rightarrow \pi^*$) en disolventes altamente polares e hidroxílicos.^[111] Esto induce un ISC lento y, por consiguiente, aumenta la desactivación por fluorescencia. Por otra parte, según las reglas de El Sayed, la rapidez del ISC desde el estado excitado singlete al estado excitado triplete es

relativamente grande si la transición no radiativa envuelve cambios en el tipo de orbital molecular que se puebla. Por lo tanto, la desactivación del estado singlete excitado S_2 ($^1n^*$) al T_2 ($^3n^*$) no debe tener ninguna contribución.^[109,110] De manera similar, se ha reportado que la desactivación del singlete excitado de BP también sigue un mecanismo de dos pasos: S_1 ($^1n^*$) \rightarrow T_2 ($^3n^*$) \rightarrow T_1 ($^3n^*$)^[112], sólo que el carácter de los estados excitados difiere de los de TX^[110]. El carácter de los estados excitados de BP depende de la polaridad y la acidez del disolvente.^[113]

La fosforescencia del $^3\text{CTX}^*$ se midió en un vidrio de etanol a 77K (datos no publicados). El máximo de emisión del estado triplete excitado bajo estas condiciones es 464 nm, lo que equivale a una energía de 257 kJ/mol. Esta energía es solamente 13 kJ/mol menor a la reportada para TX ($E_T = 270$ kJ/mol) y es reproducible con métodos teóricos TD-DFT (259.5 kJ/mol). Esto implica que la sustitución de un átomo de hidrógeno por uno de cloro en la posición-2 de la TX estabiliza el estado excitado triplete .

El espectro de FDL para el $^3\text{CTX}^*$ fue obtenido excitando a 355 nm en MeCN, bajo condiciones anaeróbicas (Fig. 3.41). El espectro presenta dos bandas de absorción a 310 y 630 nm. Además, se observa una decoloración en la región entre 350 y 400 nm. El máximo de absorción del $^3\text{CTX}^*$ cambia con la polaridad del disolvente: el máximo se mueve a longitudes de onda más cortas al aumentar la polaridad del disolvente, similar a lo reportado para el $^3\text{TX}^*$.^[114] La cinética medida en ambas bandas de absorción indica una desactivación de primer orden, el cual depende del disolvente utilizado. En soluciones de MeCN/H₂O, los espectros presentan los mismos máximos y desactivaciones monoexponenciales que en MeCN. Sin embargo, el tiempo de vida del $^3\text{CTX}^*$ depende del disolvente. El tiempo de vida menor de $^3\text{CTX}^*$ se obtuvo, precisamente, en acetonitrilo puro (77 ns, Tabla 3.3). Este valor se obtuvo de un análisis tipo Stern-Volmer, lo que implica que es el tiempo de vida

intrínseco del $^3\text{CTX}^*$ en ausencia de cualquier efecto de autoinhibición. Esto es relevante para situaciones in vivo, donde las concentraciones de CTX son bajas y, por lo tanto, no se esperan procesos de autoinhibición. Para CTX, el tiempo de vida del triplete se comporta similar al del estado singlete excitado con el aumento en el contenido de agua. Por ejemplo, el tiempo de vida de $^3\text{CTX}^*$ en la solución 1:1 MeCN:H₂O es 2.17 veces el valor correspondiente en MeCN puro.

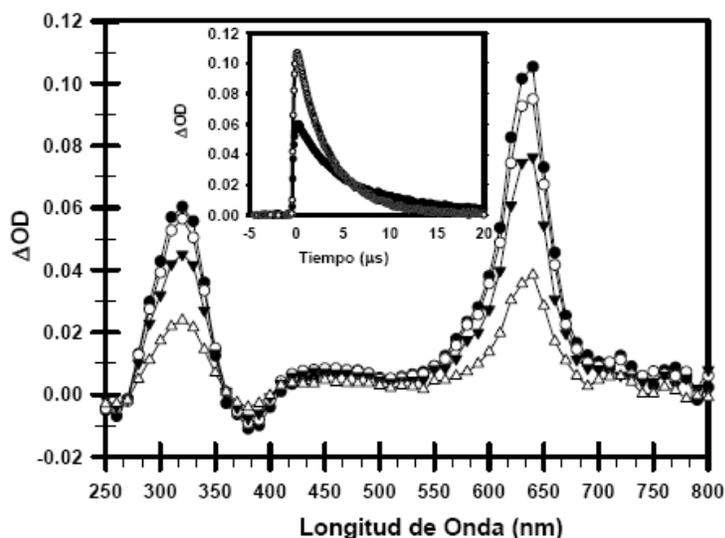


Figura 3.41

Espectros de absorción de los intermedios de una solución 0.050 mM CTX en N₂-MeCN después de un pulso de 355 nm ($E < 3$ mJ): (●) 0.83 s, (○) 1.22 s, (▼) 2.02 s, y (Δ) 4.77 s. RECUADRO: curvas de caída de los intermedios a 320 nm (●) y 630 nm (○).

Se ha propuesto que el estado triplete de algunos derivados clorados de promazina son desactivados mediante una transferencia de protones del disolvente.^[59] Los experimentos en MeCN/D₂O (1:1) se utilizaron para verificar si el tiempo de vida y el rendimiento cuántico del $^3\text{CTX}^*$ se afectan por la presencia del isótopo de deuterio. Similar a lo reportado para TX^[103], el rendimiento cuántico de fluorescencia y el tiempo de vida del $^1\text{CTX}^*$ en MeCN/D₂O (1:1) no se afectan por el cambio de isótopo. Sin embargo, el tiempo de vida del $^3\text{CTX}^*$ es ligeramente mayor al de MeCN/H₂O, lo que concuerda con el comportamiento del estado triplete de promazinas halogenadas.^[59] Este comportamiento puede deberse a la formación de un complejo

excitado (exciplejo) formado entre el disolvente prótico y ambos estados excitados ($^1\text{CTX}^*$ y $^3\text{CTX}^*$).^[103,115-116] El hecho de que el $^1\text{CTX}^*$ no es sensible al efecto del isótopo indica que la desactivación del singlete es más rápida que la formación del exciplejo.^[103] Por otro lado, las propiedades de $^3\text{CTX}^*$ no se pueden medir en la solución de 1:4 MeCN:H₂O debido a la poca solubilidad de CTX en esta mezcla. El tiempo de vida de $^3\text{CTX}^*$ depende linealmente de la cantidad de agua ($r^2 = 0.9761$), de donde se extrapola un tiempo de vida de $^3\text{CTX}^*$ en agua de 258 s.

Los rendimientos cuánticos del $^3\text{CTX}^*$ son altos y disminuyen con la polaridad del disolvente (Tabla 3.3). Este comportamiento no es del todo extraño, porque la eficiencia de emisión de fluorescencia aumenta con la polaridad del disolvente, lo que permite que la rapidez del ISC disminuya. En MeCN el rendimiento cuántico es 0.91 relativo a BP, pero en MeCN:Agua (1:1) es sólo 0.25 relativo a TX. Estos valores se obtienen asumiendo que el coeficiente de absorción molar del triplete no cambia con el contenido de agua (Ec. 2.3, Fig. 3.42). La extrapolación para una solución acuosa de $^3\text{CTX}^*$ predice una vida de 258 s, pero su rendimiento cuántico es de solo $\tau = 0.07$ ($r^2 = 0.9919$, asumiendo una dependencia exponencial).

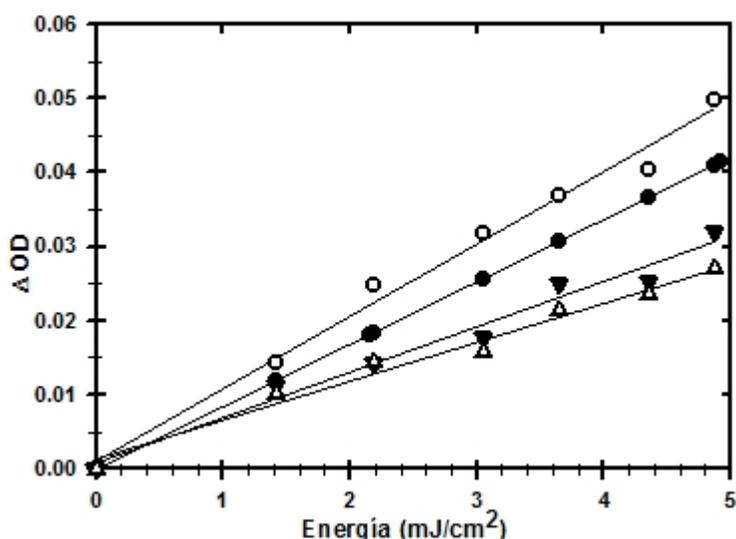


Figura 3.42

Dependencia de la absorción con la energía láser para CTX en MeCN (○, $r^2 = 0.9885$), TX en MeCN (●, $r^2 = 1.0000$), CTX en MeCN /H₂O (4:1) (▼, $r^2 = 0.9749$), y CTX en MeCN /H₂O (1:1) (△, $r^2 = 0.9802$).

Los rendimientos cuánticos reportados para el triplete de TX son menores a la unidad, valor que a veces se asume para los compuestos con un grupo carbonilo (cetonas aromáticas)^[117] y disminuyen con la polaridad del disolvente (0.85 en n-hexano y 0.56 en metanol)^[70]. El rendimiento cuántico de ³CTX* disminuye con el contenido de agua, porque el agua tiene una mayor capacidad de enlace de hidrógeno con el grupo carbonilo de CTX^[70,115]. Una de las razones principales para la poca reproducibilidad en los valores del rendimiento cuántico del triplete es el hecho de que su determinación requiere valores precisos de los coeficientes de extinción molar de los intermedios. Esto constituye una limitación experimental de los métodos convencionales de actinometría. Las constantes de auto-inhibición de ³CTX* están en el intervalo de $(0.56 - 1.10) \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, ligeramente menores que los valores correspondiente de otros derivados de TX, $(2.0 \text{ a } 4.0) \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.^[118] El efecto del isótopo de deuterio en estas constantes ($k_{\text{D}_2\text{O}}/k_{\text{H}_2\text{O}} = 1.79$) es típico de los procesos del estado de triplete, lo que indica una mayor interacción vibracional entre el disolvente y CTX.

En resumen, el CTX tiene un coeficiente de absorción molar mayor en la región visible (400-420 nm). Además, posee rendimientos cuánticos de triplete superiores a los de zCPTX y similares a los de tioxantona (TX). Al igual que TX, las propiedades de sus estados excitados dependen en gran medida de la polaridad/proticidad del disolvente. Su rendimiento cuántico de triplete es similar a los reportados para los antidepresivos fenotiazínicos, que son de las drogas más fototóxicas. Por lo tanto, los efectos secundarios de fotosensibilización CPTX se pueden intensificar con la producción de CTX.

3.7) Fotofísica y Fotoquímica de ()2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metil)-fenotiazina (MTP 4c) en solución tampón de fosfato con pH = 7.4

El espectro de absorción de la sal de maleato de ()2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metil)fenotiazina (maleato de metotrimeprazina, MTP 4c) en PBS/7.4 muestra máximos a 250 nm ($\epsilon = [3.0 \pm 0.2] \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y 302 nm ($\epsilon = [0.42 \pm 0.02] \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (Fig. 3.43, Tabla 3.4). Estos valores coinciden con los reportados en la Farmacopea Europea para el enantiómero de configuración absoluta R (levomepromazina, LPZ 4c) y los estudios hechos por Karpinska.^[119] El máximo de emisión de fluorescencia de MTP en PBS/7.4 es 451 nm, lo que corresponde a un desplazamiento Stokes de 10018 cm^{-1} .

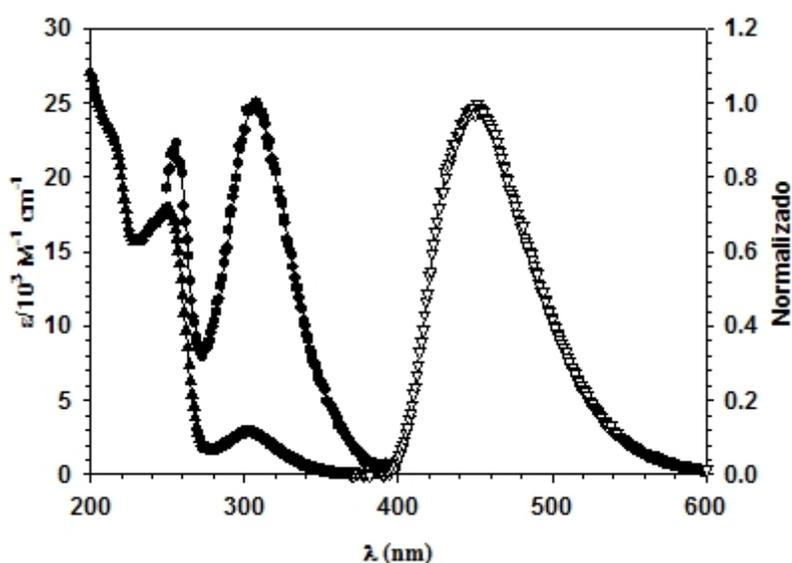


Figura 3.43
Espectro de absorción (\blacktriangle), excitación (\bullet) y emisión (∇) de MTP 4c en PBS 7.4.

Tabla 3.4 Propiedades fotofísicas de MTP 4c

Disolvente (ϵ a 20°C)	Acetonitrilo (37.5)	Metanol (32.6)	PBS/7.4 ^{f)} (78.5)	Teoría
Absorbancia				
λ_{\max} 2 (nm) [log ϵ 0.03]	256 [4.44], 310 [3.73] ^{a)}	254 [4.50], 309 [3.79]	250 [4.30], 303 [2.51]	256 [1.03] ^{g)} 308 [0.16]
Emisión				
λ_{\max} 2 (nm)	450	448	451	446
E_s 2 (kJ/mol)	321	317	301	268
Des. Stokes 8 (cm ⁻¹)	10035	10040	10830	
ϕ_f 10%	0.01 ^{b)}	0.01 ^{b)}		
τ_s 0.02(ns)	2.35 (Aire)	2.14 (Aire) 2.35 (N ₂)	2.33 (Aire) 2.25 (N ₂)	
Triplete				
$\lambda^{(T-T)}$ 2 (nm)	470	480	475	478
[τ 0.3] x 10 ⁻⁴ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	1.5 ^{c)}	1.5		
E_T 2 (kJ/mol)	251 ^{d)}			251
τ (s)	143 9	57 5	5.1 0.1	
τ 0.08	0.68	0.64		
[k_{SQ} 0.3] x 10 ⁻⁷	1.2	2.8	54.1	
[k_q (O ₂) 0.06] x 10 ⁻⁹	6.66 ^{e)}		5.87	

- a. 2-metoxifenotiazina λ_{\max} [log ϵ]: 214 [4.5], 252[4.5], 316 [3.6].
- b. Se usó fenotiazina como referencia ($\lambda_{exc} = 334$ nm, $\phi_f = 0.0034$ en MeOH o EtOH).^[63]
- c. Valor determinado por transferencia de energía T-T con 2-Fenilindeno como aceptor. ($\lambda_{\max} = 380$ nm, $\tau = 31000$ M⁻¹cm⁻¹, $E_T = 51.2$ kcal/mol^[71], $k_q = (1.8 \cdot 0.1) \times 10^{10}$ M⁻¹s⁻¹). Los valores reportados para N-metilfenotiazina en hexano son 23000 M⁻¹cm⁻¹ ^[120] y 27000 M⁻¹cm⁻¹ para fenotiazina en metanol^[121].
- d. El espectro de fosforescencia se midió a 77 K en un vidrio de EtOH ($A_{311} = 0.32$, $\ell = 1$ cm, Aperturas de las rejillas = 5 nm, Máximo de emisión de fosforescencia = 475 nm).

- e. El valor reportado para 2-metoxifenotiazina 1c es $6 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.^[122]
- f. Las propiedades se midieron en una solución de LPZ-MS. La solubilidad de LPZ en PBS/7.4 es bien baja, especialmente si se satura con nitrógeno.
- g. Valor teórico de absorción máxima con la fuerza del oscilador correspondiente obtenidos con PM3/RHF seguido de AM1/CIS (3/3). Todos los demás valores teóricos se obtuvieron con DFT y el funcional B3LYP/6-31G(d) y los modificadores SCRF=(PCM, Solvent= Acetonitrile). Las propiedades de los estados excitados se obtuvieron con TD-DFT (NStates = 6).

La fotoquímica de MTP 4c en PBS 7.4 no había sido estudiada previamente. En este trabajo se caracterizaron sus fotoproductos y el rendimiento cuántico de la fotorreacción correspondiente. Este conocimiento es fundamental para entender las propiedades fotofísicas y fotoquímicas del fármaco en sistemas complejos y sus interacciones con aminoácidos, proteínas, bases nucleicas, ácido desoxiribonucleico (ADN) o lípidos.

En general, la fotoquímica de los derivados fenotiazínicos es muy compleja. La misma depende de múltiples parámetros como grupos sustituyentes en el sistema fenotiazínico, la longitud de onda de excitación, la concentración, el disolvente, el pH de la solución, la cantidad de oxígeno, etc. Por lo tanto, para minimizar el número de parámetros en este estudio, la fotoquímica que se muestra a continuación se hizo irradiando con 313 nm en PBS 7.4. Esta longitud de onda se seleccionó para poder excitar la transición electrónica n^* , la cual ocurre bajo condiciones normales con radiación solar. En el espectro de absorción puede observarse que la transición n^* comprende las regiones UVB (280-315 nm) y UVA (315-400 nm). Por otro lado, las fotorreacciones se llevaron a cabo en solución acuosa (PBS 7.4) para simular el microambiente del cuerpo humano.

La fotólisis estacionaria de MTP en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas muestra la formación de tres puntos isobécticos a 221, 302 y 315 nm (Fig. 3.44). La aparición de puntos isobécticos durante la fotólisis es indicativo de procesos simples, en los que generalmente se forma solo un producto.^[41] Durante la fotólisis de MTP se observa un aumento en la absorción en las regiones de 230-300 nm y 320-350 nm. Esto se debe a que, en estas regiones, el fotoproducto tiene coeficientes de absorptividad mayores a los del reactivo. De hecho, al final de la reacción se observa que el fotoproducto tiene al menos tres máximos de absorción: 249, 295 y 330 nm.

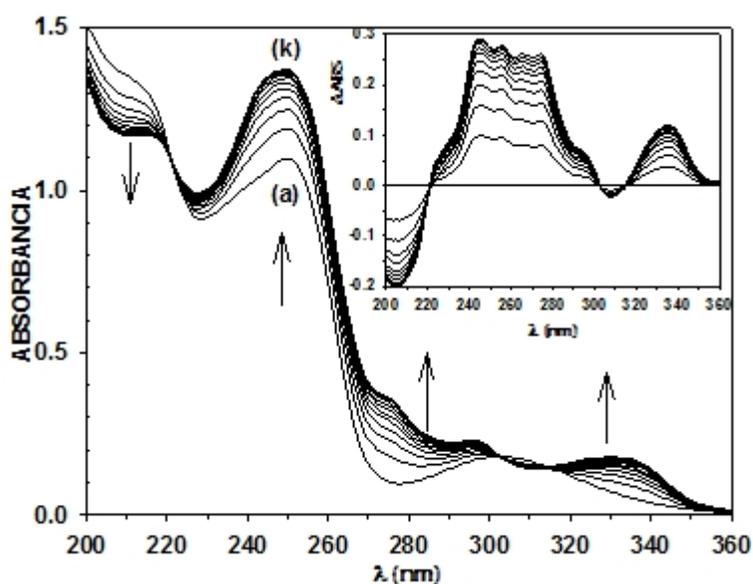


Figura 3.44

Espectro de absorción de la fotólisis de 0.035 mM MTP **4c** en PBS/pH= 7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. Se usó un intervalo de 60 s con $t_{(a)} = 0$ s. INSERTADO: Diferencias de los espectros

Para obtener una mejor resolución en los cambios de absorción que ocurren durante la fotólisis, el espectro inicial se restó de todos los demás (Insertado en Fig. 3.44). En los espectros resultantes se observa mejor: (a) la formación de tres puntos isobécticos; (b) el aumento en absorción en la región de 220-302 nm y 315-360 nm; (c) que en la región de 200 a 221 nm el fotoproducto tiene un coeficiente de absorción molar menor al de MTP; y (d) se pueden identificar claramente los nuevos máximos de absorción (205, 245, 255, 265, 274, y 335 nm).

Estos máximos de absorción concuerdan con los reportados para la levopromazina hidrociorada^[119] y con los del maleato del sulfóxido de metotrimpezina (MTPSO **4e**) en PBS 7.4, a saber: () = 217 ($2.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), 248 ($3.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), 293 ($0.47 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) y 332 ($0.45 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), los cuales coinciden con los reportados por Karpinska.^[119] Más aún, entre los espectros de absorción de MTP y MTPSO en PBS 7.4 se observan 3 puntos isobésticos en 216, 304, y 312 nm. (Fig. 3.45), los que también coinciden con los observados durante la fotólisis de MTP.

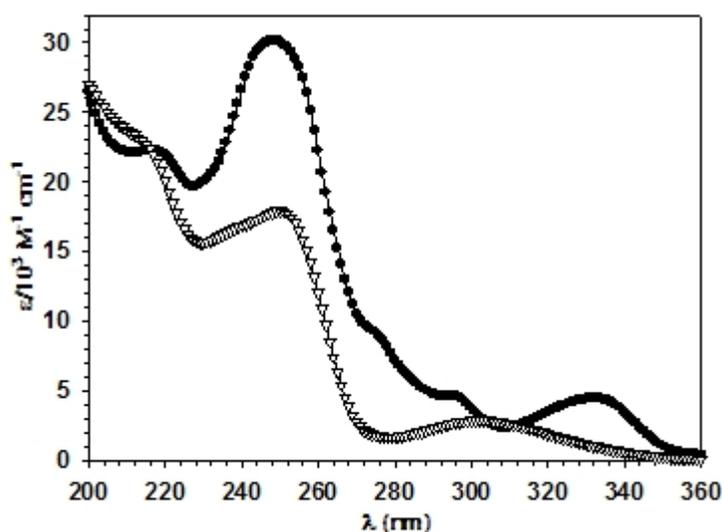


Figura 3.45
Espectros de absorción de
MTP **4c** (∇) y MTPSO **4e**
(●) en PBS 7.4.

La fotólisis de MTP bajo condiciones aeróbicas en PBS 7.4 también se estudió midiendo la emisión de fluorescencia (Fig. 3.46). La longitud de onda de excitación fue 315 nm, donde la absorbancia no cambia con el tiempo de fotólisis. Los resultados muestran una disminución en la emisión a 451 nm y la formación de un máximo de emisión a 379 nm. Además se observa la formación de un punto isobéstico a 423 nm, lo que también sostiene el hecho de que es una fotorreacción simple. De estos resultados también se infiere que la eficiencia de emisión del fotoproducto es mayor a la del reactivo inicial. Estas conclusiones son refrendadas por las propiedades de emisión de MTP y MTPSO en PBS 7.4 (Fig. 3.47).

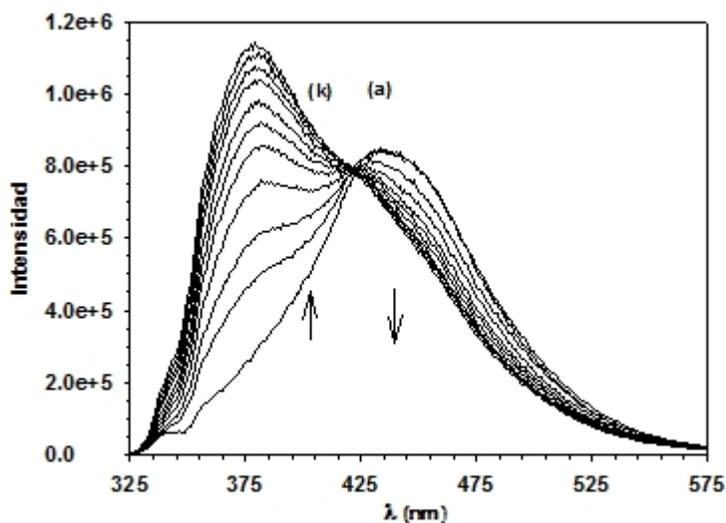


Figura 3.46

Espectros de emisión de la fotólisis de 0.072 mM MTP **4c** en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas: $\lambda = 315$ nm, rejilla = 2.5 nm y tiempo de integración = 0.10 s. El intervalo de tiempo entre espectros es 60 s, donde $t_{(a)} = 0$ s.

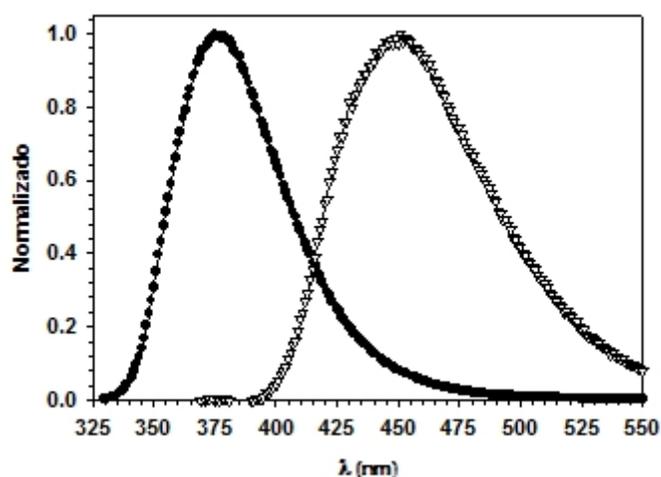


Figura 3.47

Espectro de emisión de fluorescencia de (●) MTP **4c** y (▽) MTPSO **4e** en PBS 7.4.

El rendimiento cuántico de la fotólisis aeróbica de MTP en PBS 7.4 se determinó en términos de la fotodegradación de MTP y de la fotoformación de MTPSO (Fig. 3.48). Se puede observar claramente que la cinética de fotodegradación coincide con la de la formación de MTPSO. La constante de rapidez de fotodegradación de MTP es $[7.6 \pm 0.2] \times 10^8 \text{ Ms}^{-1}$ ($r^2 = 0.9970$), mientras que la constante de rapidez de formación de MTPSO es $[7.8 \pm 0.2] \times 10^8 \text{ Ms}^{-1}$ ($r^2 = 0.9952$). Con estos resultados se obtienen rendimientos cuánticos de fotodegradación y fotoformación de 0.14.

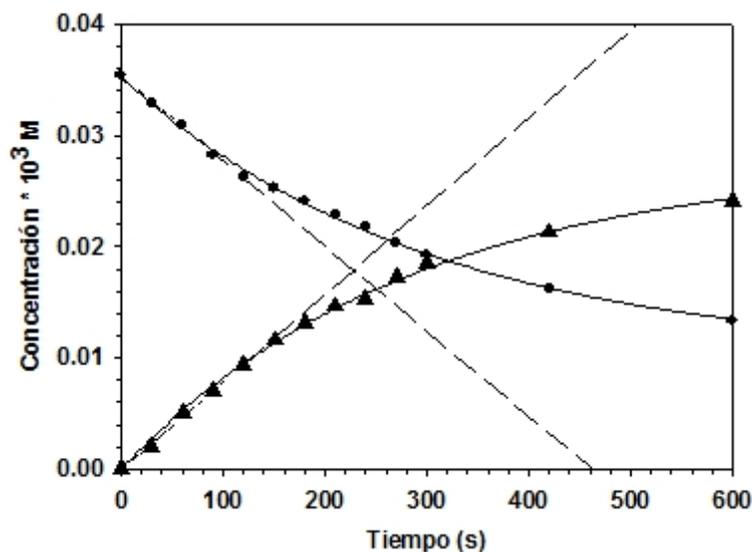


Figura 3.48
Cinética de la fotodegradación de MTP **4c** (●) y la fotoformación de MTPSO **4e** (▲) en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm

La fotoquímica de MTP en PBS 7.4 bajo condiciones anaeróbicas tampoco ha sido reportada anteriormente. En términos generales, MTP es fotoestable bajo estas condiciones, según se reporta para 10-metilfenotiazina, 10-acetilfenotiazina y otros derivados de fenotiazina sustituidos en la posición-10 (Fig. 3.49).^[123] Para obtener resultados reproducibles en condiciones anaeróbicas, fue necesario eliminar el oxígeno utilizando prolongados tiempos de burbujeo con nitrógeno o utilizando vacío. En experimentos donde se varió la concentración de oxígeno burbujeadando la solución con nitrógeno a diferentes tiempos, se observa la formación de una banda de absorción a 566 nm (Fig. 3.50). Esta absorción es adjudicada a la formación del catión radical de la fenotiazina correspondiente.^[123] Según ha reportado Vázquez y colaboradores, la longitud de onda máxima (nm) a pH~3 para el catión radical de CPZ, PZ, CF₃PZ y Tioridazina son: 530 ($\epsilon=11800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), 518 ($\epsilon=7700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), 500 ($\epsilon=7400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) y 633 ($\epsilon=7700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), respectivamente.^[124] Además, durante la oxidación enzimática de CPZ a pH 4.8, Piette y colaboradores reportan la formación del catión radical a 530 nm.^[125] La formación de este catión radical también se observa en la fotoquímica de PZ-HCl en PBS 7.4.

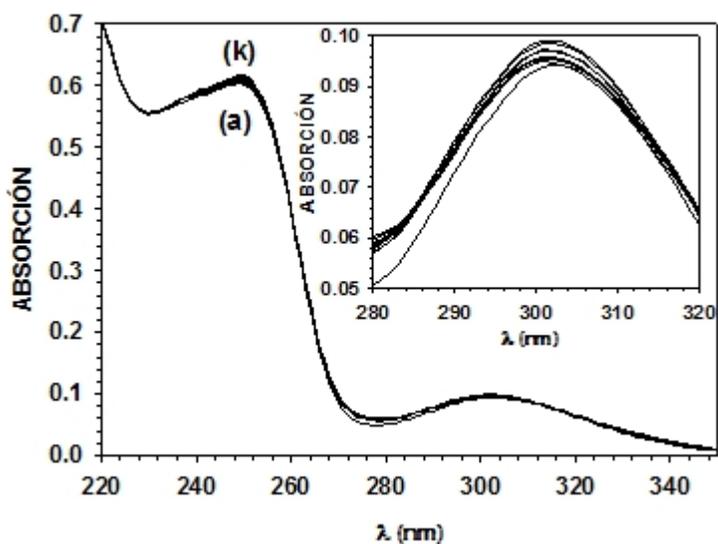


Figura 3.49

Espectro de absorción de la fotólisis de 0.031 mM MTP **4c** en PBS 7.4 bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm. Se utilizó la técnica del vacío para eliminar el oxígeno. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t(a) = 0$ s.

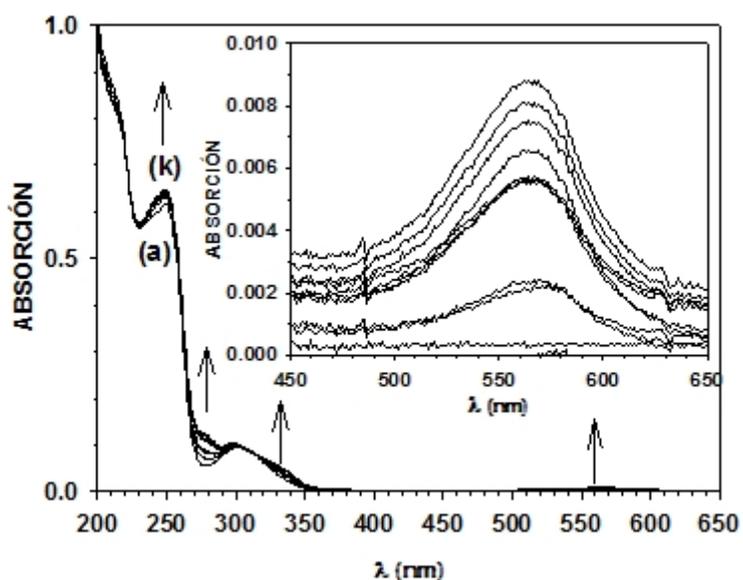


Figura 3.50

Espectro de absorción de la fotólisis de 0.031 mM MTP en PBS 7.4 a 313 nm. La solución fue burbujada con nitrógeno por 10 minutos. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.

El máximo de absorción de este intermedio ($PZ\bullet^+$) se encuentra en 513 nm (Fig. 3.51), el cual concuerda con el máximo de absorción del catión radical de N-metilfenotiazina formado en poros de sílice^[126] y tiene unos 53 nm de diferencia con el catión radical de MTP. Otra diferencia entre ambas fotoquímicas es que la banda de absorción a 252 nm disminuye para PZ-HCl durante la fotólisis, lo que se adjudica

a un menor coeficiente de absorción molar del sulfóxido de promazina (PZSO 2d). Es evidente que la longitud de onda máxima del catión radical depende del sustituyente en la posición 2 del heterociclo y del pH de la solución. Más aún, el tiempo de vida media del catión radical también depende del pH de la solución. Piette y colaboradores reportan que, a pH fisiológico, el catión radical puede durar varios minutos.^[125] Este resultado es fácil de corroborar para MTP, ya que el catión radical absorbe a 566 nm y tiene un tiempo de vida de 2-3 minutos (Fig. 3.52). Hovey y colaboradores enfatizan que el catión radical se forma monofotónicamente solo en presencia de oxígeno. El mecanismo propuesto establece la transferencia de un electrón entre el estado triplete excitado de la fenotiazina y oxígeno, formando el catión radical y superóxido. El hecho de que en condiciones donde la concentración de oxígeno es alta no se observe la formación del catión radical, se puede adjudicar que el catión radical reacciona rápidamente con el oxígeno para producir el intermedio peróxido en el átomo de azufre, el cual forma el sulfóxido como reporta Motten.^[127] La constante de rapidez para la reacción del catión radical de ciamamezina con oxígeno es $2 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.^[128] Por otro lado, cuando la concentración de oxígeno es baja, la formación del catión radical es apreciable. Como en este caso no hay suficiente oxígeno y la rapidez de la reacción disminuye, entonces éste reacciona con el agua del medio para formar el sulfóxido.^[129]

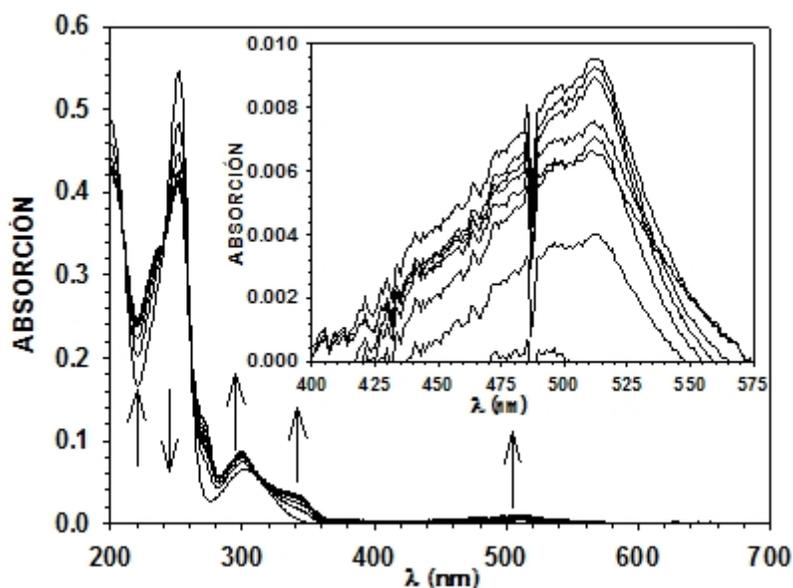


Figura 3.51

Espectro de absorción de la fotólisis de 0.024 mM PZ-HCl en PBS 7.4 a 313 nm. La solución fue burbujada con nitrógeno por 10 min. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.

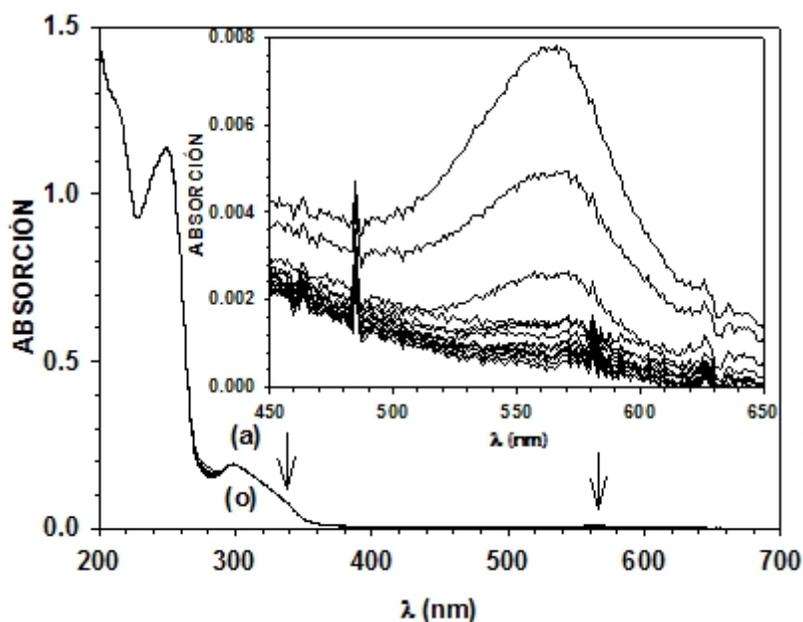


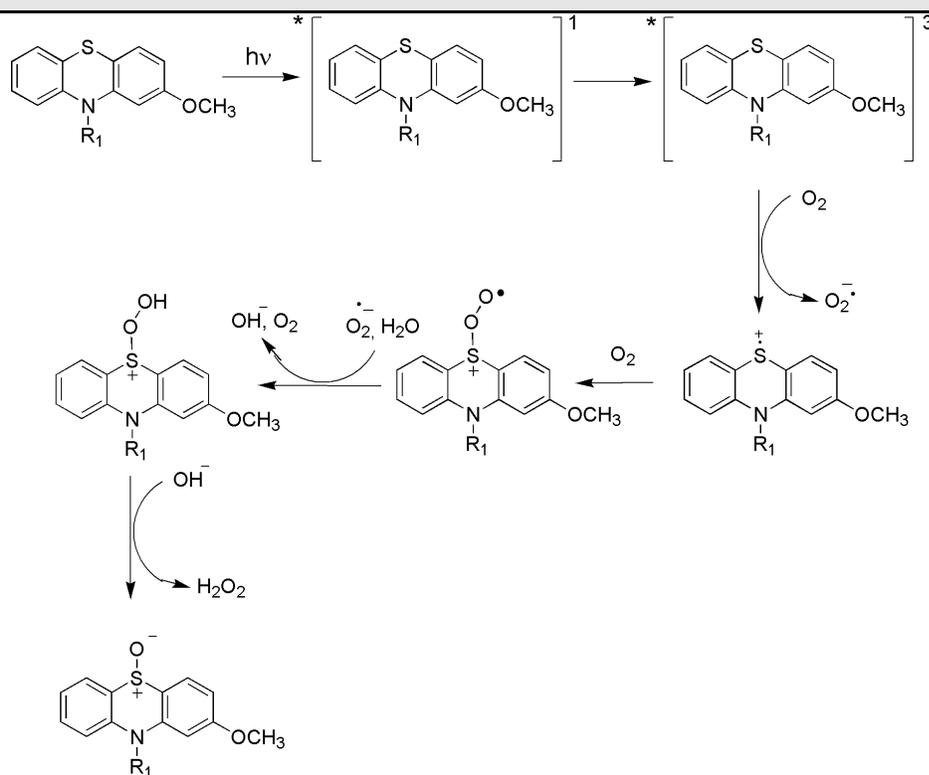
Figura 3.52

Desactivación del intermedio a 533 nm formado en la fotólisis de 0.035 mM MTP en PBS 7.4, luego de burbujear la solución con N_2 por 10 minutos. Intervalo de tiempo de 60 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.

Cheng y colaboradores señalan que el producto y la cinética de reacción del catión radical depende del nucleófilo. Además, reportan que el tiempo de vida del catión radical es mayor cuando el nucleófilo es agua. Esto significa que la constante

de rapidez de dicha reacción es pequeña. También señalan que, a menor carácter nucleofílico, más rápida es la reacción. Basado en estos datos se sugiere el mecanismo de la Fig. 3.53. En contraposición a este mecanismo, Motten y colaboradores establecen que, por cada fotón se producen 2 moléculas de sulfóxido. Si el mecanismo propuesto por Motten fuera correcto, entonces se deberían obtener diferentes rendimientos cuánticos para la fotodegradación de MTP y la fotoformación del sulfóxido. Nuestros resultados indican que el rendimiento cuántico para ambos es el mismo. Por lo tanto, el estado raso de MTP no participa en el mecanismo de formación del sulfóxido.

Figura 3.53

Mecanismo para la formación del sulfóxido de MTP **4c** o PZ **2a** en PBS 7.4.

3.8) Fotofísica y fotoquímica de MTP 4c en Metanol

La fotofísica y fotoquímica de la sal de maleato de metotrimeprazina (MTP 4c) no pueden determinarse en metanol, porque el contra-ión maleato se pierde instantáneamente en este medio, dejando libre el par de electrones de la amina terminal. Este comportamiento no es exclusivo del maleato, según se comprobó con la promazina-hidroclorada (PZ-HCl). El contra ión Cl^- también se pierde en este medio. Por lo tanto, Vargas estudió la fotofísica y fotoquímica de MTP usando la base libre.^[130] Para corroborar estos resultados, se inyectaron soluciones de MTP de igual concentración disueltas en PBS 7.4, MeOH o MeCN (Fig. 3.54). Las áreas de los tres cromatogramas son iguales, pero se observa que la disuelta en MeOH tiene una banda ancha a tiempos cortos (“tailing”), lo que indica la presencia de la base libre.

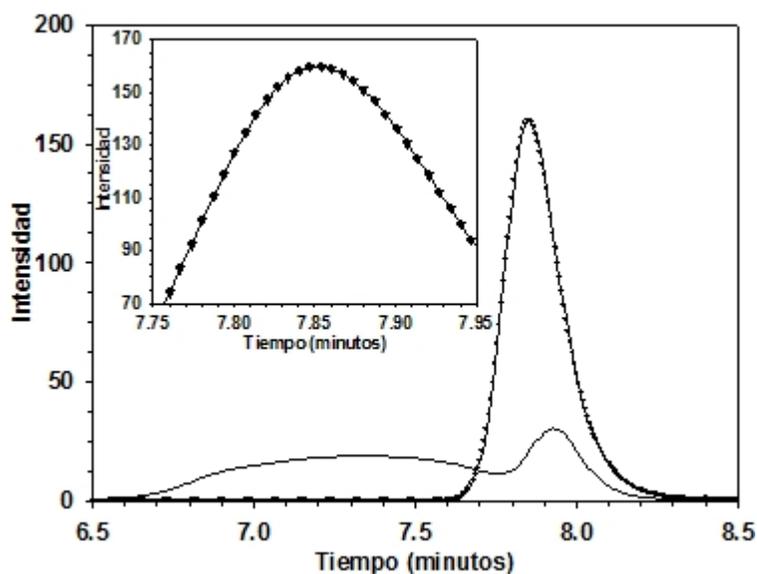


Figura 3.54
Cromatograma de MTP 4c en MeOH (—), MeCN (●) y PBS 7.4 (■). En el recuadro puede verificarse que MTP se comporta igual en MeCN y en agua.

Para la separación de levomepromazina (LPZ 4c) y sus metabolitos, Lönnechen y colaboradores desarrollaron varios métodos de separación por cromatografía líquida usando fase reversa (HPLC-RP).^[131] Estos investigadores observaron que, cuando la fase móvil es 100% metanol, los picos cromatográficos son bien anchos y asimétricos

("tailing"). Ellos no explican la razón de este comportamiento, pero nuestros resultados indican que el metanol no estabiliza el complejo iónico que forma la amina terminal y, por lo tanto, este grupo se desprotona (o se libera del contra-ión correspondiente). La base libre tiene un momento dipolar mayor que el de su sal correspondiente y, por ende, tiene mayor afinidad por columnas no-polares. Este fenómeno que produce el cambio de hasta 3 Debyes en la polaridad entre las promazinas base libre y su análogo hidroclorado fue reportado por García y colaboradores.^[56]

El espectro de absorción de MTP en metanol muestra tres máximos de absorción a 208, 254 y 309 nm (Tabla 3.4, Fig. 3.55). La transición electrónica π^* de MTP aparece a 254 nm, mientras que la del compuesto padre (2-metoxifenotiazina, MOPH 1c) está a 252 nm. Es evidente, entonces, que esta transición electrónica (π^*) no se afecta por la sustitución de la cadena 10-aminoalquilo. Sin embargo, la transición $n \rightarrow \pi^*$ sí se afecta por esta sustitución, y se desplaza hipsocrómicamente en MTP ($\lambda_{max} = 10$ nm) (Fig. 3.56). Esta propiedad está relacionada a la planaridad de ambas moléculas, según los estudios de García, los que demuestran que la diferencia en planaridad entre la fenotiazina y su análogo sustituido en la posición 10 es de 8 a 23 grados.^[56] Por consiguiente, los electrones no-enlazantes del nitrógeno en el sistema heterocíclico pueden interactuar mejor con el sistema π de los anillos aromáticos cuando no hay sustituyente en la posición 10.

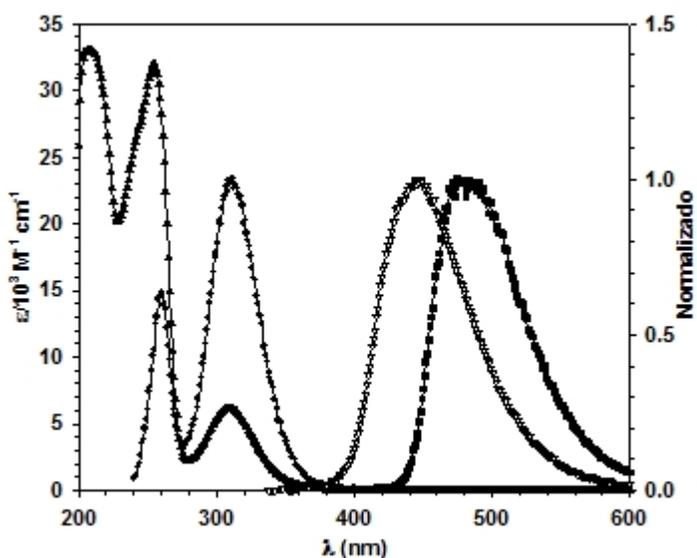


Figura 3.55
Espectro de absorción (▲), excitación (●) y emisión (▽) de MTP **4c** en metanol y espectro de fosforescencia (■) en etanol.

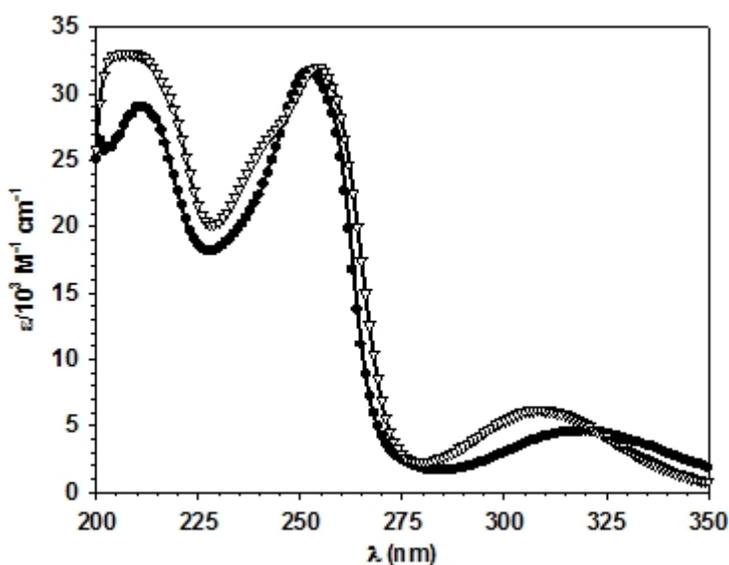


Figura 3.56
Espectro de absorción de MTP **4c** (▽) y MOPH **1c** (●) en MeOH.

El máximo de emisión de fluorescencia del estado singlete excitado de MTP ($^1\text{MTP}^*$) es 448 nm (Fig. 3.55, Tabla 3.4). Este máximo coincide con el reportado por Vargas para el fármaco ópticamente activo LPZ^[130] y es parecido al obtenido para MOPH (445 nm). El desplazamiento de Stokes correspondiente es de 10041 cm^{-1} , el cual coincide con los reportados para las promazinas por García y colaboradores.^[56]

El tiempo de vida del $^1\text{MTP}^*$ es de 2.35 ns en ambiente anaeróbico y no se afecta por la presencia de oxígeno ($\tau_F = 2.15$ ns). Este valor de τ_F también coincide con los reportados en la literatura para los derivados de promazinas. El rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_F) es de 0.01, mientras que Vargas reporta un valor de 2%. Para MOPH, el ϕ_F es la mitad del reportado para MTP. Es evidente que la relajación del $^1\text{MTP}^*$ no es por emisión de fluorescencia y que se favorecen mecanismos no radiativos.

La fosforescencia del estado triplete excitado de MTP ($^3\text{MTP}^*$) fue medida en un vidrio de etanol a 77 K. El máximo de emisión de fosforescencia del $^3\text{MTP}^*$ bajo estas condiciones es 475 nm, lo que equivale a una energía triplete de 251 kJ/mol (Fig. 3.55, Tabla 3.4). La FDL para MTP en metanol bajo condiciones anaeróbicas produce un intermedio de corta vida que absorbe en la región desde 370-560 nm (Fig. 3.57). El tiempo de vida de este intermedio no depende de la longitud de onda en esta región, lo que indica que la banda corresponde a un solo intermedio. Para caracterizar dicha especie se añadió oxígeno o fenilindeno (FIND, $E_T = 214$ kJ/mol), en cuyo caso el tiempo de vida se reduce drásticamente. Por lo tanto, dicho intermedio se caracterizó como el $^3\text{MTP}^*$. De los estudios de auto-inhibición del $^3\text{MTP}^*$ en función de la concentración de MTP en el estado raso se obtiene una constante de auto-inhibición de $(2.8 \pm 0.3) \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y un tiempo de vida natural de 53 ns. Además, se determinó el coeficiente de absorción molar de la transición triplete-triplete de $^3\text{MTP}^*$ (ϵ) utilizando FIND como aceptor de energía, ya que su constante de inhibición es difusional (Tabla 3.4). En presencia de FIND, el $^3\text{MTP}^*$ desaparece instantáneamente y se ve la formación $^3\text{FIND}^*$ a 380 nm (Fig. 3.58). El ϵ del $^3\text{MTP}^*$ es $15097 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, obtenido de la resta de la absorción que aporta el $^3\text{MTP}^*$ a 380 nm. Esta corrección es necesaria porque, de lo contrario, se obtiene un valor menospreciado ($\sim 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Con estos datos y usando tioxantona como

estándar, se obtiene un rendimiento cuántico de triplete de 0.63. Con el valor de $\tau_T = 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, el rendimiento cuántico sería de 0.93. Es sumamente importante señalar que el τ_T reportado para fenotiazina ($27000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) tiene un 56% de error.^[132] Por otro lado, García y colaboradores reportan que el τ_T de los derivados de promazina depende del sustituyente en la posición-2. Por ejemplo, el τ_T de tioridazina ($R_2 = \text{SCH}_3$) en metanol es $15400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, el cual es muy similar al obtenido para MTP ($R_2 = \text{OCH}_3$).

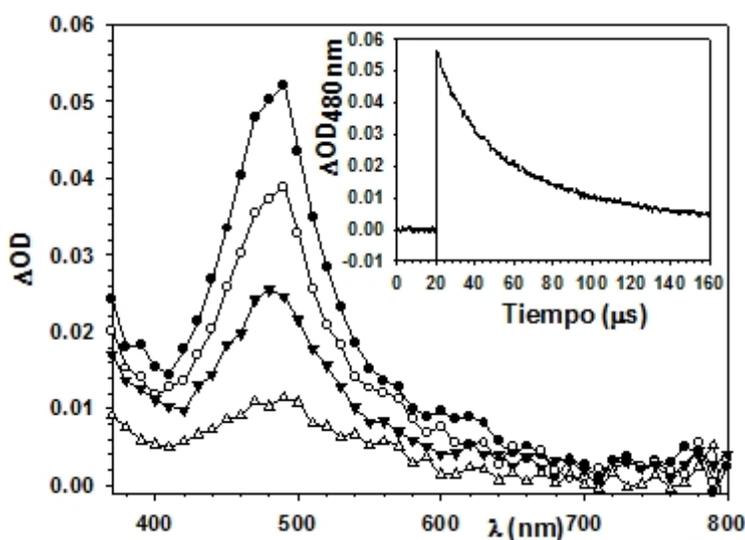


Figura 3.57

FDL de 0.73 mM MTP ($\lambda_{exc} = 355 \text{ nm}$, MeOH, N_2 , $E = 5.7 \text{ mJ/pulso}$). Espectro de absorción obtenido a: (●) 3.96 s, (○) 9.90 s, (▼) 19.8 s y (Δ) 49.5 s. RECUADRO: Curva cinética a 480 nm ($k_{obs} = 3.11 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$, $\tau = 32.2 \text{ s}$, $r^2 = 0.9924$).

La fotólisis estacionaria de MTP en metanol bajo condiciones aeróbicas muestra que la absorción disminuye en las regiones de longitudes de onda de 200-224, 257-265 y 302-321 nm (Fig. 3.59). En estas regiones, además, se forman mínimos de absorción a 210, 261 y 310 nm, respectivamente. Por otro lado, la absorción aumenta en las regiones de longitudes de onda de 225-257, 266-301 y 322-346 nm.

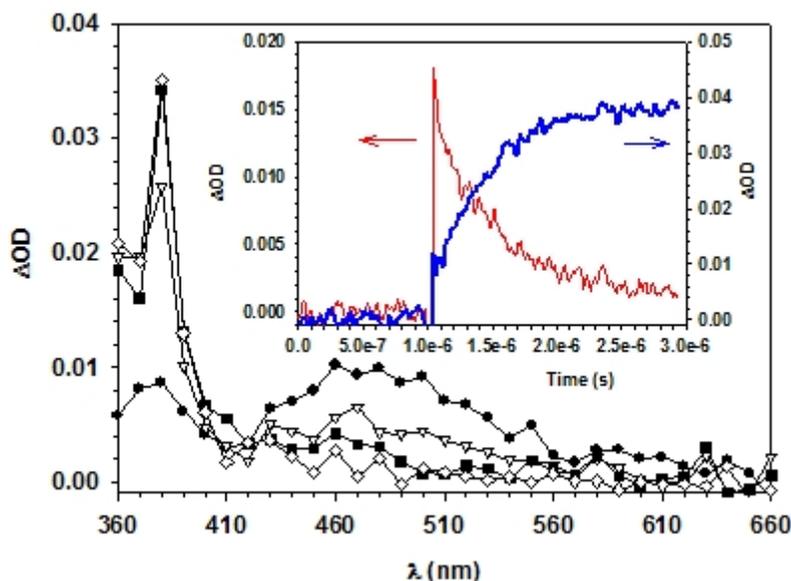


Figura 3.58

FDL de 0.28 mM MTP y 0.28 mM FIND ($\lambda_{exc} = 355$ nm, MeOH, N_2 , $E = 2.5$ mJ/pulso). Espectro de absorción obtenido a: (●) 0.099 s, (▽) 0.49 s, (■) 0.99 s y (◇) 4.95 s. RECUADRO: Curvas cinéticas de la desactivación del $^3MTP^*$ a 480 nm (—) y del crecimiento de $^3FIND^*$ a 380 nm (—).

Correspondientemente, se forman unos máximos de absorción a 244, 277 y 335 nm. Estos máximos de absorción son similares a los obtenidos para el sulfóxido de MTP en metanol (MTPSO $4e$, $\lambda_{max} = 248, 277, 295$ y 333 nm, Tabla 3.5). En el periodo de fotólisis estudiado, las características observadas coinciden con las propiedades de absorción de MTP y MTPSO (Fig. 3.60). Estos resultados difieren de los reportados por Vargas ya que él observa una desactivación en la absorción a 254 nm, cuando debería observarse un desplazamiento hipsocrómico. Por otro lado, a diferencia de la fotoquímica de MTPMS en PBS 7.4, no se pueden identificar claramente puntos isobésticos en metanol. Esto contrasta marcadamente con los 5 puntos isobésticos que tienen en común los espectros de absorción de MTP y MTPSO en este disolvente (Fig. 3.60). Esto sugiere que la fotoquímica en este medio es compleja y puede producir fotoproductos adicionales que compiten con la formación de MTPSO o que MTPSO es más fotorreactivo que MTP en este disolvente.

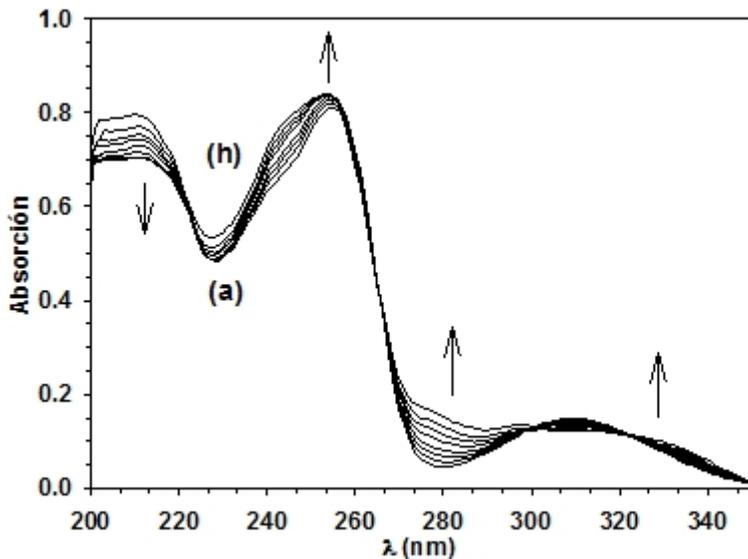


Figura 3.59

Fotólisis de 0.035 mM de MTP **4c** en metanol bajo condiciones aeróbicas. El intervalo de tiempo entre cada espectro es de 300 s con $t_{(a)} = 0$ s.

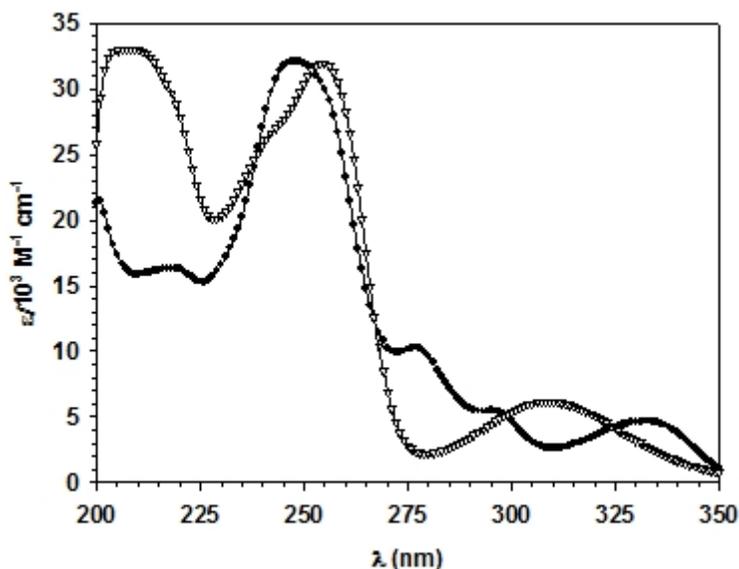


Figura 3.60

Espectro de absorción de MTP **4c** (∇) y MTPSO **4e** (●) en MeOH.

Para determinar la complejidad de la fotoquímica de MTP en MeOH con mejor exactitud, se repitió el mismo experimento descrito anteriormente, pero midiendo la fluorescencia (Fig. 3.61). Claramente se observa que la emisión a 448 nm disminuye, lo cual es consistente con la fotodegradación de MTP. Sin embargo, se observa un aumento en la emisión de fluorescencia en la región de 325 a 395 nm, cuyo máximo

cambia en el transcurso de la fotólisis. En los primeros 10 minutos de fotólisis, dicho máximo está en los 373 nm, el cual coincide con el máximo de emisión de MTPSO ($\lambda_{\text{max}} = 375 \text{ nm}$, Tabla 3.4). Esto sugiere que, a tiempos cortos, el fotoproducto favorecido es MTPSO. Después de los 10 minutos de fotólisis, el máximo se va desplazando hipsocrómicamente hasta 355 nm y se produce un punto isobéptico a 412 nm. Este comportamiento confirma que la fotoquímica de MTP en este disolvente es compleja y se forman varios fotoproductos, diferente a lo que se observa cuando el disolvente es PBS 7.4.

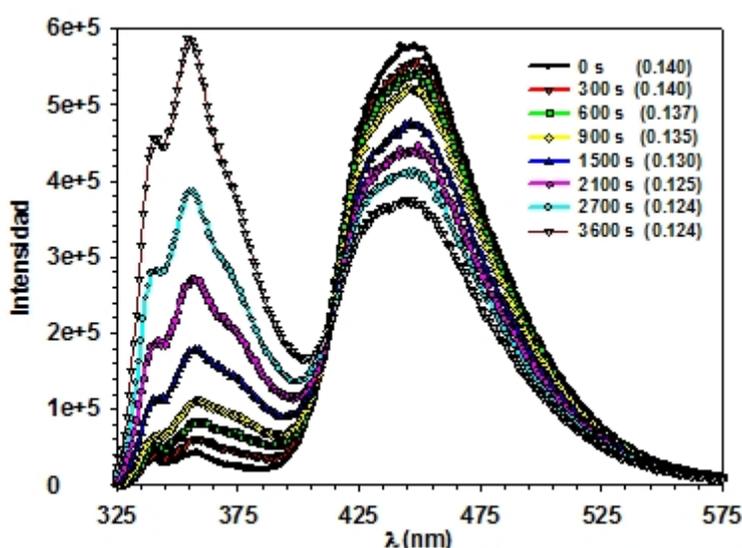


Figura 3.61

Espectros de emisión de la fotólisis de 0.035 mM MTP **4c** en metanol bajo condiciones aeróbicas: (●) 0 s, (▼) 300 s, (■) 600 s, (◆) 900 s, (▲) 1500 s, (◇) 2100 s, (●) 2700 s y (▼) 3600 s.

MTP es evidentemente más fotoestable en metanol que en PBS 7.4, pero su fotoquímica es más compleja. Ese dato se corroboró irradiando la muestra por el mismo tiempo y con la misma intensidad de luz en ambos disolventes. En MeOH, sólo el 19% de MTP ha fotorreaccionado, mientras que en PBS 7.4 reacciona el 90%. Este valor se obtiene comparando la fotólisis en ambos disolventes usando la misma concentración y la misma intensidad de irradiación. Podemos, entonces, extrapolar que el rendimiento cuántico de fotodestrucción de MTP en MeOH es de sólo 0.02. Este resultado difiere por un factor de 10 al reportado por Vargas, el cual es 0.18 en la región UVB.^[130] Vargas también reporta que el rendimiento de conversión de MTP

a MTPSO es de 80%, mientras que los resultados de este estudio indican que es solo de 55%. Por otro lado, el comportamiento de su espectro de absorción de una solución 1 mM no debe ser el que reporta Vargas, porque a esta concentración la absorción debe ser mayor a la reportada.^[130] Además, una inspección detallada del espectro de absorción inicial del compuesto que utilizó Vargas para la fotólisis, permite ver que éste se parece más al espectro del sulfóxido (LPZSO) que al de LPZ.

Cuando la solución fotolizada se analiza en el HPLC, se observan al menos 5 fotoproductos (Fig. 3.62). En este cromatograma, los picos cromatográficos son simétricos (“no tailing”), porque el MeOH se evaporó y luego se diluyó con la fase móvil utilizada en la cromatografía. Esto permite que los fotoproductos que tienen la cadena alquilamino estén debidamente protonados. Sin embargo, si se inyecta la mezcla de fotorreacción sin remover el metanol se observa el comportamiento descrito al principio de esta sección. Estos resultados son muy diferentes a los observados en la fotoquímica de MTP en PBS 7.4, donde el único fotoproducto que se forma es MTPSO. El reactivo inicial (MTP) y el estándar interno ()-2-cloro-10-(3-dimetilamino-2-metil)-fenotiazina, eluyen a 8.70 y 13.01 min, respectivamente. El fotoproducto que eluye a 5.34 min es MTPSO. Los fotoproductos que eluyen a 4.07 y 4.46 min tienen espectros de absorción y emisión parecidos a los de MTPSO. No fue posible determinar el espectro de absorción del fotoproducto que eluye a 7.71 min por la poca cantidad que se forma, pero la longitud de emisión máxima es 354 nm. Además, la eficiencia de emisión del fotoproducto que eluye a 7.71 minutos es mayor a la del sulfóxido.

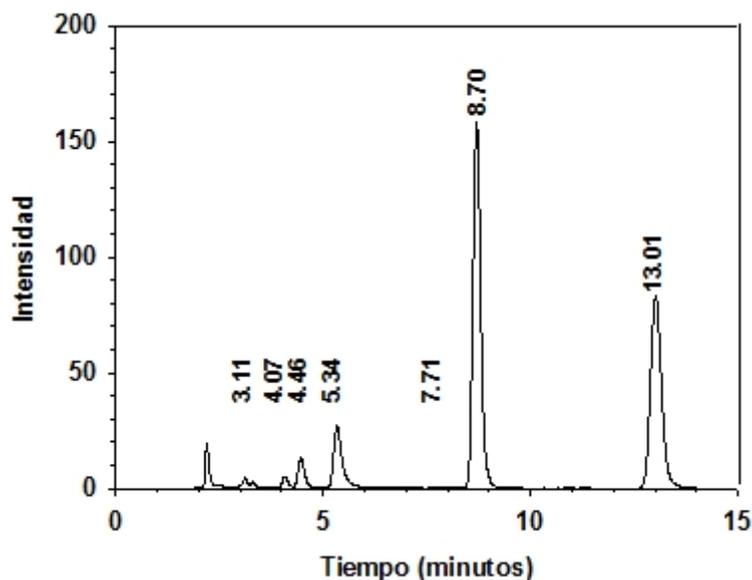


Figura 3.62
Cromatograma de la
fotólisis de MTP **4c** en
metanol bajo condiciones
aeróbicas por 10 minutos.

En conclusión, la fotoquímica de MTP **4c** depende del disolvente utilizado. También queda establecido que las sales de estos derivados son inestables en metanol y la fotoquímica que se observa en este medio proviene de su base libre. Por consiguiente la formación de derivados N-óxidos no queda descartado como sucede en solución tampón pH = 7.4, donde la mayoría del fármaco se encuentra con el amino terminal protonado.

3.9) Fotofísica y Fotoquímica de () 2-metoxi-10-(3-dimetilamino-2-metil)-fenotiazina (MTP **4c**) en acetonitrilo

El espectro de absorción de MTP en MeCN exhibe dos máximos de absorción a 256 nm ($\epsilon = [2.7 \pm 0.2] \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) y 310 nm ($\epsilon = [0.54 \pm 0.03] \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) (Fig. 3.63, Tabla 3.4). Los cálculos cuánticos asocian estas bandas a las transiciones correspondientes de HOMO-1 \rightarrow LUMO (278 nm, transferencia de carga del S y OCH₃ al sistema π) y HOMO \rightarrow LUMO + 3 (310 nm, transición $\pi\pi^*$ con poca participación del S).

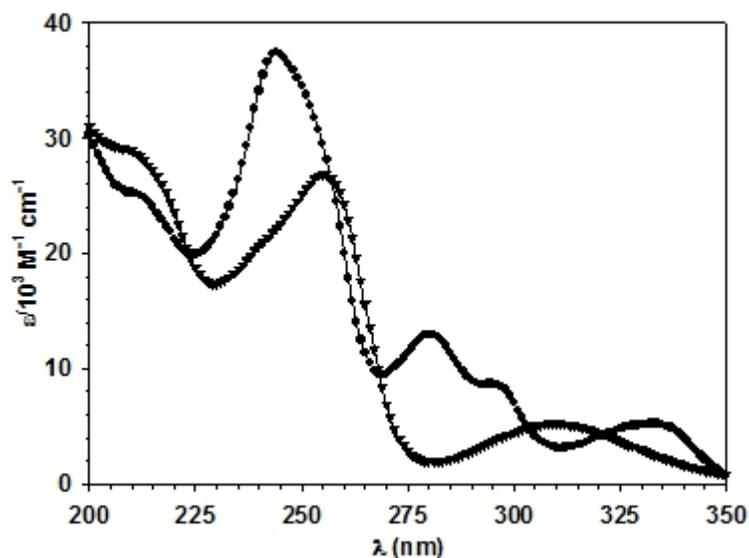


Figura 3.63

Espectro de absorción de MTP **4c** (●) y MTPSO **4e** (▼) en MeCN.

El máximo de emisión del estado singlete excitado de MTP ($^1\text{MTP}^*$) en MeCN es 450 nm, el cual es similar al obtenido en metanol y PBS 7.4. Además, MTP tiene un desplazamiento de Stokes de 10035 cm^{-1} y un rendimiento cuántico de emisión de 0.01 en este disolvente. El tiempo de vida de $^1\text{MTP}^*$ es 2.35 ns bajo condiciones aeróbicas.

Las FDL de MTP en MeCN muestra una especie de corta vida que absorbe en la región desde 420 a 520 nm (Fig. 3.64). El máximo de absorción de este intermedio es aproximadamente 470 nm y su tiempo de vida se ve afectado por la presencia de oxígeno, fenilindeno y otros aditivos. De forma similar a los casos discutidos anteriormente, este intermedio se caracterizó como el estado triplete excitado de MTP ($^3\text{MTP}^*$). La longitud de onda máxima de la transición triplete-triplete del $^3\text{MTP}^*$ es comparable al valor reportado para el estado excitado triplete de 2-metoxifenotiazina en diglima ($^3\text{MTPH}^*$, $\lambda_{\text{max}} = 475\text{ nm}$).^[122] La diferencia estructural entre ambos compuestos es que MTP está sustituido en la posición 10 de la fenotiazina con una cadena alifática alquil-amino. La constante de inhibición del

$^3\text{MTP}^*$ en presencia de oxígeno es $6.7 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y es similar a la medida por Barra para el $^3\text{MTPH}^*$ ($k_q = 6 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)^[122]. Además, la constante de inhibición del $^3\text{MTP}^*$ en presencia de fenilindeno es $(1.8 \pm 0.1) \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Como la constante de inhibición del $^3\text{MTP}^*$ con fenilindeno es de orden difusional, se utilizó este aceptor de energía para cuantificar el coeficiente de absorción molar de la transición triplete-triplete de $^3\text{MTP}^*$. El coeficiente de absorción molar del $^3\text{MTP}^*$ es $15000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, el cual es comparable al de 10-metilfenotiazina ($\epsilon = 23000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ en hexano)^[120], 2-cloropromazina ($\epsilon = 19500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$; $\tau = 0.90$ en MeOH y 0.73 en MeCN y derivados de promazinas)^[59]. El rendimiento cuántico del $^3\text{MTP}^*$ es aproximadamente 0.70 , el cual es comparable a los reportados para los derivados de promazinas. La constante de autoinhibición del $^3\text{MTP}^*$ es $1.2 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y tiene un tiempo de vida de 143 ns en ausencia de autoinhibición. La energía del $^3\text{MTP}^*$ es 251 kJ/mol , la cual fue medida usando la técnica de fosforescencia en un vidrio de etanol a 77 K .

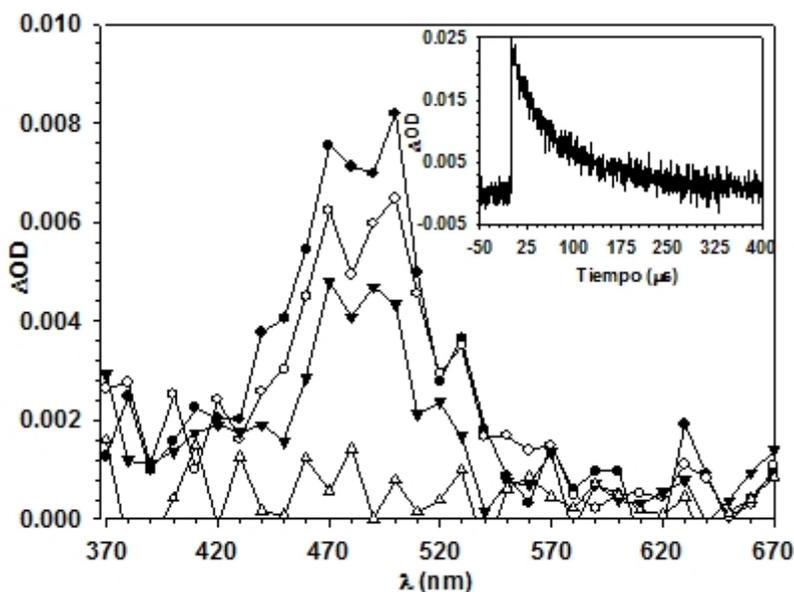


Figura 3.64

FDL de MTP ($\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, MeCN, N_2 , $E = 0.75 \text{ mJ/pulso}$) a: (●) $9.9 \text{ } \mu\text{s}$, (○) $29.7 \text{ } \mu\text{s}$, (▼) $59.4 \text{ } \mu\text{s}$, (Δ) $247 \text{ } \mu\text{s}$ después del pulso del Láser. RECUADRO: Curva de desactivación del intermedio a 470 nm , con $E = 2.77 \text{ mJ/pulso}$.

El máximo de absorción a 256 nm disminuye durante la fotólisis de MTP en acetonitrilo bajo condiciones aeróbicas, mientras que en la región de 280 a 290 nm

hay un aumento (Fig. 3.65). El mismo comportamiento se observa bajo condiciones anaeróbicas (Fig. 3.66). La cinética de la reacción se midió a 256 nm, donde los cambios en absorción son más definidos que a 280 nm (Fig. 3.67). Los resultados demuestran que la fotodegradación es más rápida en el sistema anaeróbico que en el aeróbico. Se puede concluir que, bajo condiciones aeróbicas, la formación de MTPSO no es favorecida. Un indicador de que MTPSO no es un fotoproducto bajo estas condiciones es que el coeficiente de absorción molar a 256 nm es mayor para MTPSO que para MTP (Fig. 3.63). Por lo tanto, se debería observar un aumento (y no una disminución) en la absorción en esta región. Curiosamente, en MeOH se observa la formación de MTPSO (2% de eficiencia) cuando la cantidad de oxígeno disuelto en acetonitrilo (9.1 mM) es comparable a la que hay en metanol (10.2 mM). Además, la cantidad de oxígeno disuelto en agua (1.27 mM) es inferior a los disolvente orgánicos y la formación de MTPSO ocurre con un 14% de eficiencia. Más aún, se conoce que el $^3\text{MTPH}^*$ puede generar oxígeno singlete con una eficiencia de 0.21 en MeCN.^[122] Asumiendo que el rendimiento cuántico de triplete de $^3\text{MTPH}^*$ es igual al de $^3\text{MTP}^*$, se puede argumentar que el 27% del $^3\text{MTP}^*$ se desactiva mediante la formación de oxígeno singlete. Por lo tanto, se podría esperar un rendimiento de oxígeno singlete similar o mayor para el $^3\text{MTP}^*$, porque este compuesto no tiene otras rutas de desactivación como ruptura homolítica del enlace N-H, como se observa en la fotofísica de la fenotiazina (PH).^[133] El hecho de que el valor de rendimiento de oxígeno singlete sea tan alto y que no se observe la formación de MTPSO indica que el oxígeno singlete no reacciona con MTP.

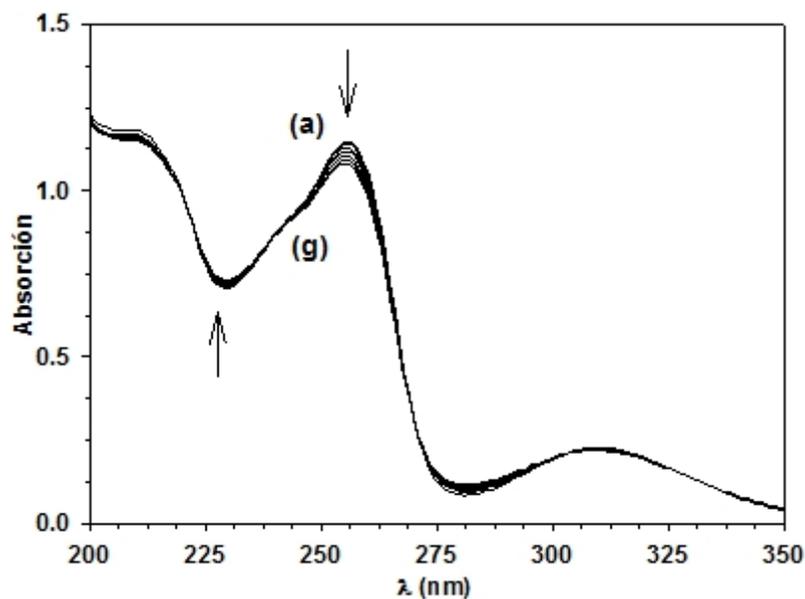


Figura 3.65

Espectro de absorción de la fotólisis de 0.040 mM MTP en MeCN bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. Intervalo de tiempo de 600 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.

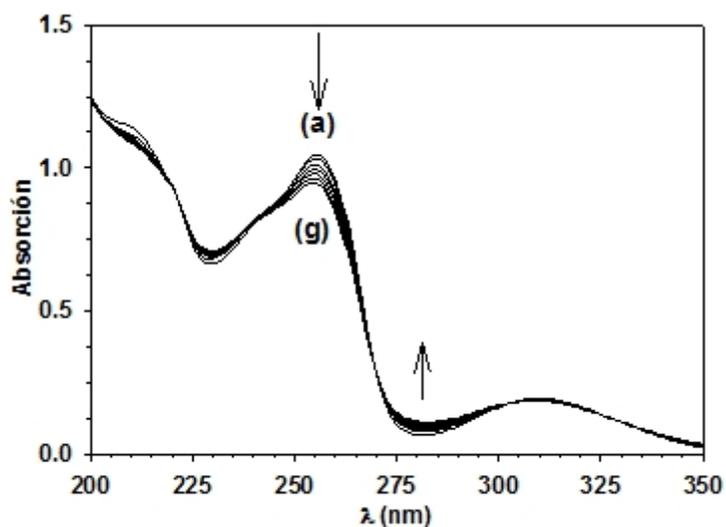


Figura 3.66

Espectro de absorción de la fotólisis de 0.035 mM MTP en MeCN bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm. Intervalo de tiempo 600 s entre cada espectro con $t_{(a)} = 0$ s.

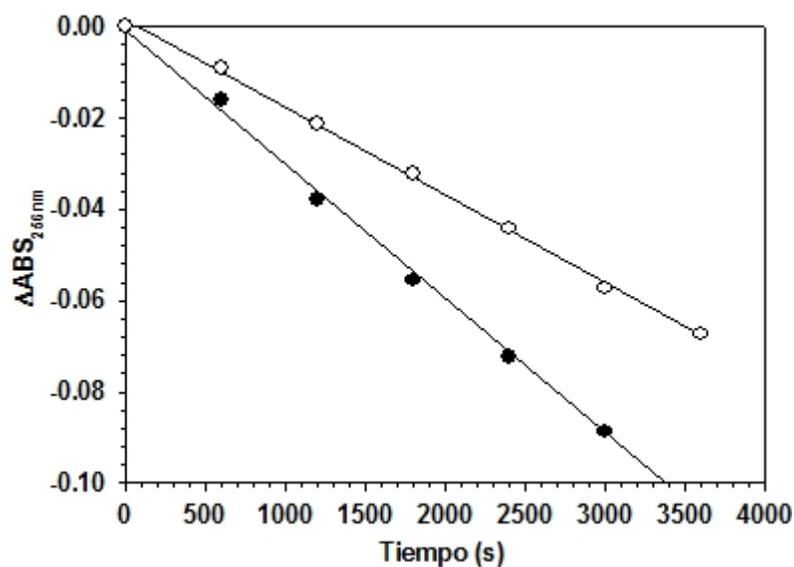


Figura 3.67
Cinética de la
fotodegradación de MTP
en MeCN bajo
condiciones aeróbicas (○)
y anaeróbicas (●).

3.10) Fotofísica de MTPSO 4e

La principal ruta metabólica de MTP en el ser humano es la oxidación del átomo de azufre en la posición 5 del grupo fenotiazina.^[134] MTP en un ambiente aeróbico, acuoso y en presencia de luz ultravioleta forma el mismo sulfóxido (MTPSO 4e) con una eficiencia de 14% (Secc. 3.7). Ambos mecanismos influyen la biodisponibilidad de MTP en vivo y la fotoquímica es, además, un parámetro de alta relevancia en la manipulación y almacenamiento del fármaco. Por lo tanto, estudiar la fotofísica de este metabolito/fotoproducto podría ayudar a explicar la respuesta fototóxica del fármaco.

El MTPSO tiene propiedades conformacionales muy similares a MTP, pero su afinidad por el receptor dopamina es mucho menor. Sin embargo, MTPSO tiene cierta afinidad por el receptor α -adrenérgico, mientras que el sulfóxido correspondiente de CPZ tiene baja afinidad por ambos receptores.^[134] La oxidación de la posición 5 de la fenotiazina en MTPSO disminuye la afinidad por el receptor

dopaminérgico. Esto implica que el átomo de azufre tiene una fuerte interacción con este receptor, pero el impedimento estérico que introduce el átomo de oxígeno le reduce la afinidad a MTPSO con el receptor de dopamina. También puede considerarse el hecho de que la distribución electrónica cambia cuando el azufre se oxida. Este cambio en densidad electrónica puede inducir una menor afinidad por el receptor.

El espectro de absorción de MTPSO en acetonitrilo muestra cuatro longitudes de onda máxima en la región ultravioleta: 244, 280, 295 y 333 nm (Fig. 3.68, Tabla 3.5). Estas longitudes de onda máxima coinciden con las reportadas por Karpinska y colaboradores para MTPSO.^[119] Además, estos máximos son comparables con los de varios derivados de promazina oxidados en una diversidad de disolventes: prometazina-sulfóxido en agua (PMZSO, $\lambda_{\max} = 274, 299 \text{ y } 342 \text{ nm}$)^[135], cloropromazina-sulfóxido en PBS/7.0 (CPZSO 2e, $\lambda_{\max} = 239, 274, 299 \text{ y } 342 \text{ nm}$)^[136], ciamemazina-sulfóxido en PBS/7.0 (CMZSO, $\lambda_{\max} = 276, 308 \text{ y } 368$)^[137] y trifluorometilpromazina-sulfóxido en acetonitrilo (TMPZSO, $\lambda_{\max} = 278, 304 \text{ y } 350 \text{ nm}$). Es evidente que los grupos electroatrayentes como ciano, trifluorometil y cloro desplazan la banda UVA batocrómicamente.

Tabla 3.5 Propiedades fotofísicas de MTPSO 4e

Disolvente (ϵ a 20 °C)	Acetonitrilo (37.5)	Metanol (32.6)	PBS/7.4 ^{c)} (78.5)
Absorbancia			
λ_{\max} 2 (nm) [log ϵ 0.03]	280 [4.11], 295 [3.94], 333 [3.72]	277 [4.00], 295 [3.76], 332 [3.70]	248 [4.53], 294 [3.71], 332 [3.71]
Emisión			
λ_{\max} 2 nm	373	375	376
E_s 2 (kJ/mol)	344	345	344
Desplazamiento Stokes 8 (cm ⁻¹)	3220	3453	3525
ϕ_F 10%	0.0007 ^{b)}	0.0065 ^{b)}	0.015 ^{b)}
Estado Triplete			
λ_{\max}^{T-T} 2 (nm)	480	480	
(M ⁻¹ cm ⁻¹)	3487		
E_T 2 (kJ/mol)	297 ^{a)}		

- Medido en un vidrio de etanol a 77K
- Para 2-metoxifenotiazina, la excitación se hizo con $\lambda = 334$ nm y se usó fenotiazina en MeOH como referencia ($PH, \epsilon = 0.0034$)^[63].
- Sal de maleato de MTPSO (diastereoisómeros)

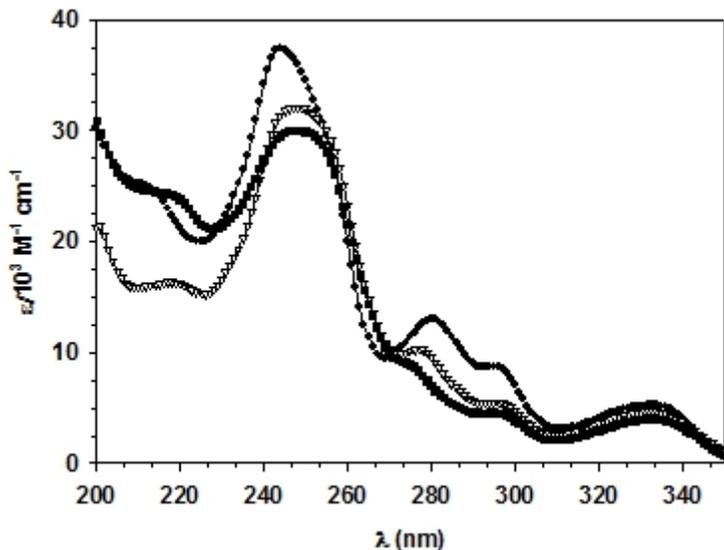


Figura 3.68

Espectros de absorción de MTPSO **4e** en MeCN (●), MeOH (▽) y PBS/7.4 (■).

El máximo de absorción de MTPSO se desplaza un poco en MeOH y PBS/7.4 y la banda de 280 nm desaparece en PBS/7.4. También se observa que los coeficientes de absorción molar son mayores en MeOH, lo que demuestra que la probabilidad de la transición electrónica es dependiente del disolvente. La banda de absorción en la región UVA, sin embargo, no se afecta por la polaridad del disolvente.

La longitud de onda máxima de emisión de fluorescencia de MTPSO en todos los disolventes es aproximadamente 375 nm (Fig. 3.69, Tabla 3.5). Este máximo de emisión de MTPSO es comparable con los obtenidos para CPZSO ($\lambda_{\text{max}} = 373$ nm) y PZSO ($\lambda_{\text{max}} = 374$ nm) en etanol. Por otro lado, el máximo de emisión de CMZSO es 420 nm en etanol.^[137] Se observa claramente que el sustituyente en la posición 2 del heterociclo cambia drásticamente la polaridad del estado singlete excitado. A diferencia de MTP, la longitud de onda máxima de emisión no depende del disolvente. Este máximo de emisión se desplaza hipsocrómicamente de 75 nm respecto a MTP ($\lambda_{\text{max}} = 448$ nm). El desplazamiento de Stokes correspondiente es $3.2 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ en MeCN y aumenta en disolventes polares próticos como el MeOH y el PBS 7.4 (Tabla 3.5). Estos desplazamientos de Stokes concuerdan con los de PZSO

(2332 cm^{-1}) y CPZSO (2516 cm^{-1}) en etanol. Sin embargo, el desplazamiento de Stokes de MTPSO contrasta con el de MTP, el cual es $1.2 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$. Este resultado establece que el desplazamiento de Stokes de MTP es un orden de magnitud mayor al de MTPSO y que, a su vez, el $^1\text{MTP}^*$ es más polar que el $^1\text{MTPSO}^*$ en los disolventes estudiados. La energía singlete de MTPSO es 344 kJ/mol y es independiente del disolvente. Esta energía es aproximadamente 23 kJ/mol mayor a la de MTP.

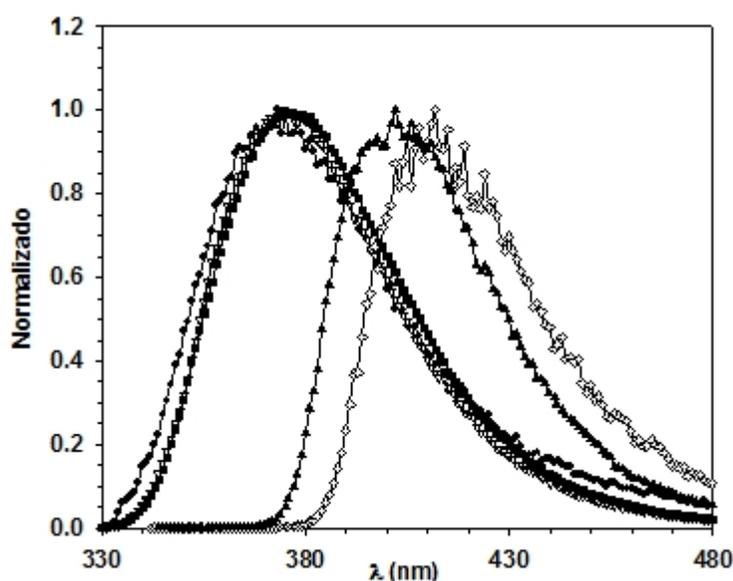


Figura 3.69

Espectros de emisión de fluorescencia de MTPSO en acetoneitrilo (●), metanol (∇), PBS/7.4 (■). Espectros de emisión de fosforescencia en etanol a 77 K de (▲)MTPSO y (◇) MOPHSO.

El rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_f) depende del disolvente (Tabla 3.5) y es mayor en PBS/7.4. Tomando los resultados de Bosca y colaboradores^[137] como referencia, la eficiencia de emisión es menor por exactamente un orden de magnitud. Esto puede ser adjudicado a que el grupo nitrilo aumenta la eficiencia de emisión, según reporta Tucker y colaboradores para p-cianofenilalanina ($\phi_f \sim 0.11$), el cual es 5 veces mayor que el fenilalanina ($\phi_f = 0.025$)^[138]. Sin embargo, la eficiencia de emisión de MTPSO concuerda con la de CPZSO ($\phi_f = 0.017$ en PBS/7.0 y $\phi_f = 0.0065$ en etanol; Tabla 3.5). En resumen, el rendimiento de fluorescencia de MTPSO

aumenta en disolventes polares próticos (MeOH, EtOH, PBS). No empero, la desactivación por fluorescencia no es un mecanismo favorecido para este metabolito. Por el contrario, $^1\text{MTPSO}^*$ tiene que desactivarse por mecanismos no-radiativos como cruce intersistémico o colisiones con el disolvente. Este comportamiento es similar al observado para MTP, con la diferencia de que su τ_F no cambia con el disolvente (Tabla 3.5).

Las propiedades del estado triplete excitado de MTPSO ($^3\text{MTPSO}^*$) fueron estudiadas por fosforescencia y FDL. La emisión máxima de fosforescencia de $^3\text{MTPSO}^*$ en un vidrio de etanol a 77 K es 402 nm (Fig. 3.69). Estos resultados confirman una energía del estado triplete de 297 kJ/mol, la cual coincide con la obtenida para 2-metoxi-5-óxido fenotiazina (MOPHSO, $E_T = 289$ kJ/mol). Las diferencias en energía entre MTPSO y MOPHSO deben ser adjudicadas a la diferencia en planaridad entre ambos sistemas.

La FDL de MTPSO en acetonitrilo bajo condiciones anaeróbicas muestra un intermedio de corta vida con un máximo de absorción a 480 nm a tiempos cortos (< 15 ns) y un intermedio de larga vida (> 40 ns) a 560 nm (Fig. 3.70). El tiempo de vida del intermedio disminuye a 480 nm en presencia de oxígeno y fenilindeno (FIND). Por lo tanto, esta banda se atribuye a la transición triplete-triplete de $^3\text{MTPSO}^*$. Este experimento tuvo que llevarse a cabo con alta intensidad (~ 26 mJ/pulso), porque a baja intensidad (~ 2 mJ/pulso) no se detecta ninguno de los intermedios descritos anteriormente. Aparentemente, el coeficiente de absorción molar de la transición triplete-triplete es pequeño ($\tau \leq 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). El valor de τ para $^3\text{CMZSO}^*$ reportado en la literatura es $5300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 660 nm.^[137] Además, es altamente probable que el intermedio a 560 nm sea el catión radical de MTPSO ($\text{MTPSO}^{\bullet+}$). Más aún, este intermedio debe formarse bifotónicamente, porque no se observa a baja intensidad. El máximo de $\text{MTPSO}^{\bullet+}$ es parecido al del catión radical

de PZSO y CPZSO, los cuales absorben a 520 nm, según reporta Buettner.^[139] Coincidentalmente, Buettner determinó estos intermedios usando 22 mJ/pulso, lo cual demuestra la necesidad de altas intensidades para su formación.

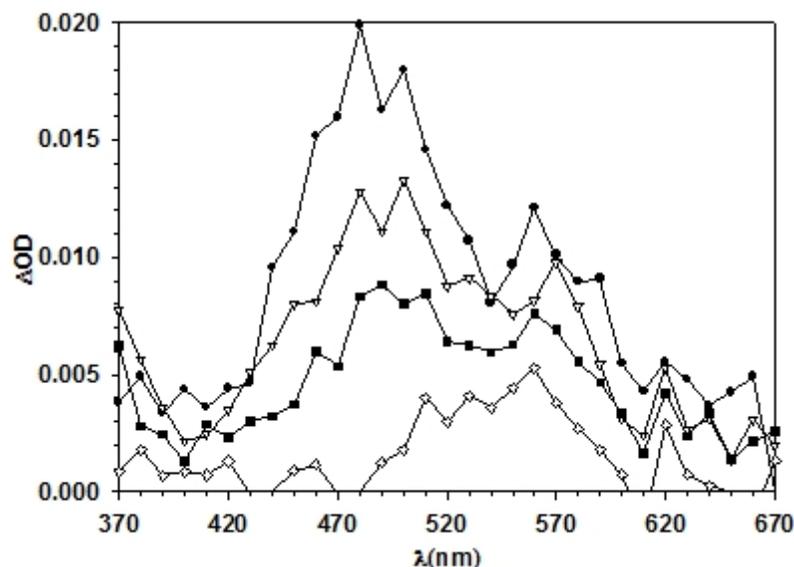


Figura 3.70

FDL ($\lambda_{exc} = 355$ nm, MeCN, N_2 , $E > 10$ mJ/pulso) de 0.70 mM MTPSO. Espectros de absorción obtenidos a: (●) 0.99 s, (▽) 3.96 s, (■) 9.90 s, (◇) 54.5 s después del pulso del Láser.

Experimentos a alta intensidad utilizando a FIND como inhibidor del $^3\text{MTPSO}^*$, muestran que el $^3\text{MTPSO}^*$ decae rápidamente y se forma el $^3\text{FIND}^*$ ($\lambda_{max} = 380$ nm). En el espectro a tiempos largos queda una absorción residual que decae más lento y que se adjudica a $\text{MTPSO}^{\cdot\pm}$ (Fig. 3.71). Además se observa claramente que, después de 1 s, el $^3\text{FIND}^*$ comienza a decaer. Esto también confirma que la absorción residual que se menciona anteriormente no se debe al $^3\text{MTPSO}^*$, sino al catión radical. El mismo experimento, pero a bajas intensidades, muestra únicamente el crecimiento del $^3\text{FIND}^*$ a 380 nm, pero no se puede ver el $^3\text{MTPSO}^*$ (Fig. 3.71, Recuadro). Esto implica que el catión radical se forma bifotónicamente. Además, este experimento demuestra que el τ de la transición triplete-triplete es pequeño y puede ser extrapolado a aproximadamente $3.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Esto confirma que el uso de bajas intensidades del láser no produce suficiente concentración de $^3\text{MTPSO}^*$.

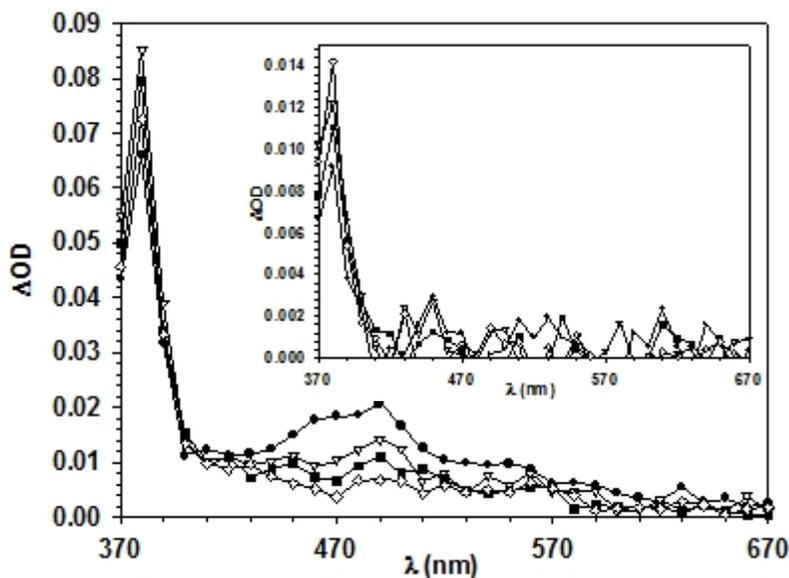


Figura 3.71

FDL anaeróbica de 0.71 mM MTPSO y 0.70 mM Fenilindeno en MeCN (N_2 , $A_{355} = 0.19$, $E = 26$ mJ/pulso) luego del pulso a: (◆) 0.20 s, (∇) 0.99 s, (■) 2.47 s, (◇) 4.95 s. RECUADRO: FDL anaeróbica de 0.71 mM MTPSO y 0.70 mM FIND en MeCN (N_2 , $A_{355} = 0.19$, $E \leq 2$ mJ/pulso).

La energía triplete de las timidinas en el ADN es aproximadamente 270 kJ/mol, según Bosca y colaboradores.^[140] Estos compuestos podrían fotosensibilizar la formación de los dímeros de timidina vía transferencia de energía triplete-triplete.

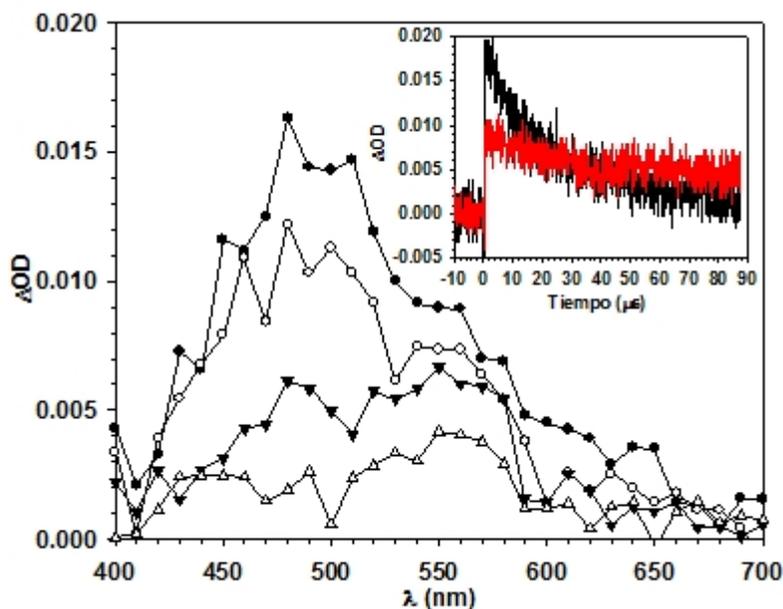


Figura 3.72

FDL ($\lambda_{exc} = 355$ nm, MeOH, N_2 , $E > 10$ mJ/pulso) de 0.50 mM MTPSO. Espectros de absorción obtenidos a: (●) 1.98 s, (○) 9.90 s, (▼) 29.7 s, (∇) 79.2 s después del pulso del Láser. RECUADRO: Curvas de desactivación de los intermedios a (—) 480 y (—) 560 nm.

Los estudios de FDL para MTPSO en metanol muestran un comportamiento similar al observado en MeCN (Fig. 3.72). En el espectro de absorción se observa un intermedio a 480 nm con un tiempo de vida de 19 ns, y otro intermedio a 560 nm, el cual no decae en la escala de tiempo utilizada.

Por último, los estudios de FDL para MTPSO en PBS 7.4 muestran un comportamiento totalmente distinto a lo observado en MeCN y MeOH (Fig. 3.73). En solución acuosa solamente se observa la formación del intermedio a 570 nm. Este mismo comportamiento fue observado por Buettner en la fotofísica de PZSO y CPZSO en PBS 7.0.^[139] En este caso, el máximo de absorción del intermedio es $\lambda_{\text{max}} = 520$ nm y fue adjudicado al catión radical correspondiente. En el caso del sulfóxido de ciamemazina (CMZSO) y el sulfóxido-N-óxido de CMZ (CMZNOSO) se identifica el estado triplete excitado con un máximo de 660 nm ($\tau = 5300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). En este reporte no se incluye información alguna relacionada a la formación del catión radical. El sustituyente ciano en CMZ introduce cambios drásticos en la fotofísica de estos compuestos. Por ejemplo, el λ_{max} del $^3\text{CMZ}^*$ es 420 nm, mientras que el de $^3\text{CMZNOSO}^*$ está desplazado batocrómicamente por 240 nm.

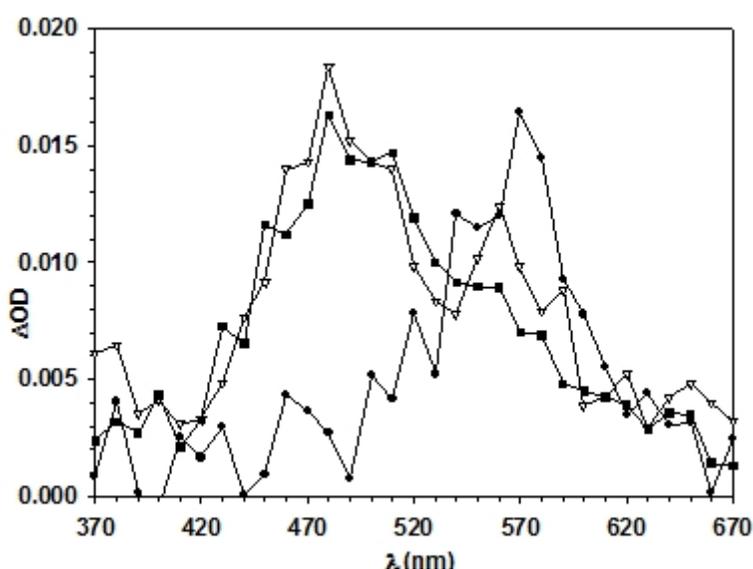


Figura 3.73

Fotólisis de destello Láser ($\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, N_2 , $E > 10 \text{ mJ/pulso}$) de MTPSO en diferentes disolventes. Espectros de absorción obtenido luego de 1.98 ns después del pulso del Láser: (■) MeOH, (▽) MeCN y (◆) PBS.

3.11) Fotoquímica de MTPSO 4e en PBS (pH =7.4)

La fotólisis estacionaria de la sal de maleato de MTPSO en PBS 7.4 no había sido estudiada previamente. Por otro lado, la fotofísica de los sulfóxidos de promazina (PZSO 2d) y cloropromazina (CPZSO 2e) en PBS/7.0 fue estudiada por Buettner y colaboradores.^[139] Ambos compuestos se forman metabólicamente en el ojo y causan daño a los lentes.^[141] Según estos autores, el daño mayor es el producido por la fotosensibilización de queratitis observado en los ojos de terneros. La fotólisis de PZSO y CPZSO produce el radical hidróxilo ($\bullet\text{OH}$), especie capaz de oxidar ascorbato, cisteína ($k_{\text{rex}} = 2.0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), glutatión, NADH, azidas, dimetilsulfóxido y etanol.^[139] Según el mecanismo propuesto, el $\bullet\text{OH}$ proviene de la ruptura homolítica del enlace $\text{S}=\text{O}$, luego que el estado excitado (S_1 o T_1) del sulfóxido se protona. Además, esta ruptura homolítica produce el catión radical de la fenotiazina. Por lo tanto, se ha postulado que el $\bullet\text{OH}$ puede estar involucrado en el mecanismo que produce los efectos secundarios producidos por la fotosensibilización. Curiosamente, Buettner y colaboradores no observan la formación del estado triplete excitado de ambos compuestos utilizando FDL (22 mJ/pulso).^[142] En este estudio no se caracterizaron los fotoproductos formados de los radicales, los que sí fueron caracterizados por FDL y Resonancia de Espín Electrónico.

Por otro lado, Bosca y colaboradores reportan las propiedades fotofísicas de 2-ciano-10-(3-[dimetilamino, N-óxido]-2-metilpropil)-5-óxido-fenotiazina (CMZNOSO), producto mayoritario de la fotodegradación de ciamemazina (CMZ 4d) en PBS/7.0 bajo condiciones aeróbicas.^[137] En especial, estos autores comparan las propiedades fotofísicas de CMZNOSO con las del derivado oxidado únicamente en el azufre (CMZSO). Ellos determinaron que el rendimiento cuántico de fluorescencia de CMZNOSO es independiente de los disolventes utilizados (PBS y etanol), mientras que para CMZSO este valor sí depende del disolvente. Además, caracterizaron el

estado triplete excitado de ambos compuestos y determinaron que estos reaccionan con triptófano, indol y cisteína. Las constantes de rapidez bimolecular correspondientes son $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para cisteína y $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ para triptófano e indol. Sin embargo, en este estudio no se caracterizan los fotoproductos de CMZNOSO o CMZSO, ni se menciona nada sobre la producción del radical hidroxilo. Más aún, estos autores indican que el $^3\text{CMZNOSO}^*$ reacciona con cisteína, mientras que Buettner señala que es el radical hidroxilo el que reacciona con cisteína.^[137,139]

Por lo tanto, el estudio de las fotorreacciones de MTPSO es de suma importancia porque este compuesto es el producto metabólico mayoritario en vivo y se produce de la fotodegradación de MTP en medio acuoso bajo condiciones aeróbicas con un 14 % de eficiencia. Su coeficiente de absorción molar en la región UVA es mayor a la del fármaco MTP. Esta característica también se observa para CPZ y CPZSO en las longitudes de onda de 310 y 370 nm, donde CPZSO absorbe el doble que CPZ.^[143]

Durante la fotólisis de MTPSO en PBS/7.4 bajo condiciones aeróbicas, la absorción en la región de longitudes de onda entre 200-230 nm, 285-320 nm y 345-415 nm, aumenta (Fig. 3.74), mientras la absorción a 250 nm disminuye. Análogo al caso de MTP, los cálculos cuánticos reproducen estas longitudes con bastante exactitud. Los máximos correspondientes de las últimas dos bandas son: 290 nm (HOMO \rightarrow LUMO + 3, $\pi\pi^*$) y 348 nm (HOMO \rightarrow LUMO, $\pi\pi^*$ con poca contribución del OCH_3). Los espectros resultantes de la sustracción del espectro a tiempo cero, forman un punto isobéptico a 320 nm. En los primeros 1800 segundos la cinética de la fotorreacción es de orden cero, cuando se mide la diferencia en absorción a 250 nm. La fotodegradación correspondiente a condiciones anaeróbicas es más rápida y se obtiene un producto fotoestable (Fig. 3.75). Como se aprecia en esta figura, 1800 s son más que suficientes para fotodegradar todo el MTPSO bajo condiciones anaeróbicas. Curiosamente, el fotoproducto tiene un espectro de

absorción similar al de MTP ($\lambda_{\text{max}} = 250$ y 302 nm, Tabla 3.4) con máximos de absorción correspondientes a 247 y 298 nm. Estos resultados sugieren que el $^3\text{MTPSO}^*$ participa en el mecanismo de fotodegradación de MTPSO, porque bajo condiciones anaeróbicas se acelera la cinética de la fotorreacción (Fig. 3.76).

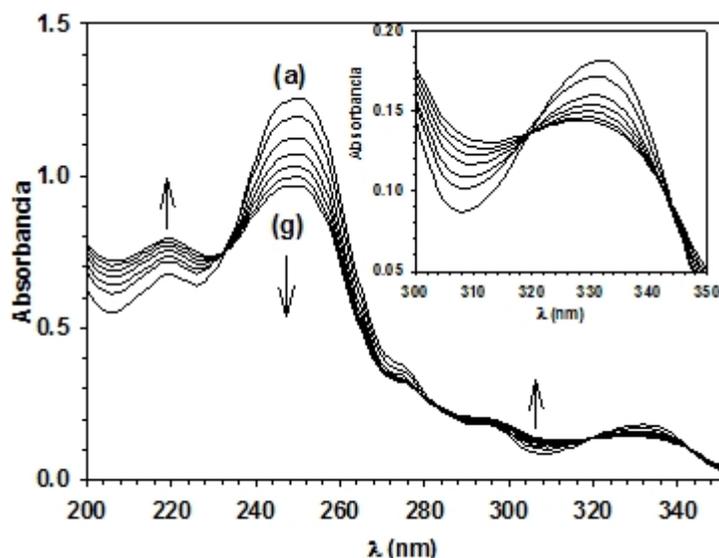


Figura 3.74

Espectros de absorción de la fotólisis de 0.0365 mM MTPSO en PBS/7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm. Se usó un intervalo de tiempo de 600 s con $t_{(a)} = 0$ s.

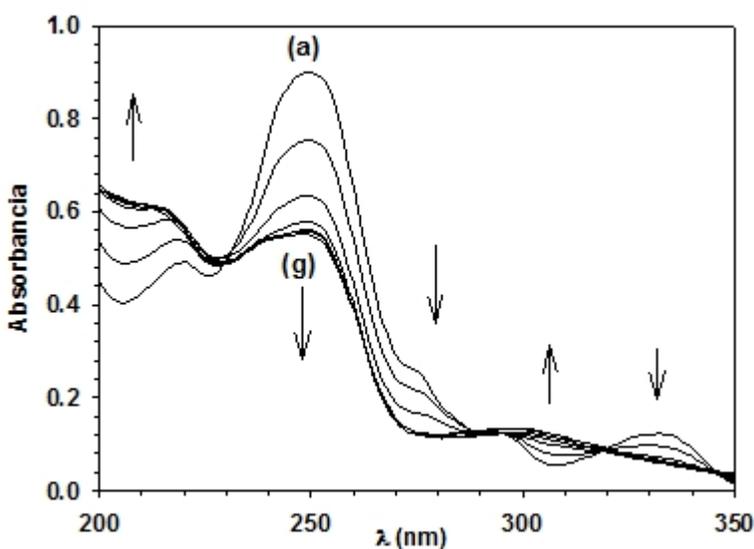


Figura 3.75

Espectros de absorción de la fotólisis de 0.025 mM MTPSO en PBS/7.4 bajo condiciones anaeróbicas a 313 nm. Se usó un intervalo de tiempo de 600 s con $t_{(a)} = 0$ s.

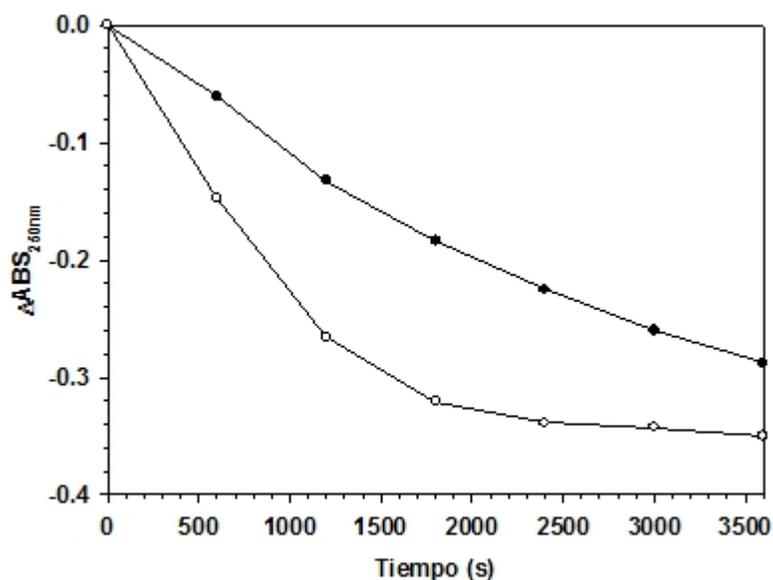


Figura 3.76
Fotocinética de la fotólisis de MTPSO en PBS 7.4 bajo condiciones (●) aeróbicas y (○) anaeróbicas midiendo la absorbancia a 250 nm.

Para entender mejor las fotorreacciones antes descritas, la cinética se determinó midiendo la emisión de fluorescencia. Se observó que, cuando la fotólisis de MTPSO se hace bajo condiciones aeróbicas, la emisión de fluorescencia disminuye en los primeros 600 s de reacción (Fig. 3.77). Esto confirma que ocurre una disminución en la concentración de MTPSO. Curiosamente, a tiempos de irradiación mayores de 600 s se observa un aumento en la emisión de fluorescencia y el máximo de emisión se desplaza hipsocrómicamente ($\lambda_{\text{max}} = 358 \text{ nm}$). Además, se observa un pequeño aumento en la emisión a longitudes de onda mayores de 435 nm. Esto indica que el fotoproducto tiene una eficiencia de emisión mayor a la de MTPSO. Lo más curioso de esta fotorreacción es que el fotoproducto tiene un espectro de absorción similar al de MTP, pero sus propiedades de emisión son distintas.

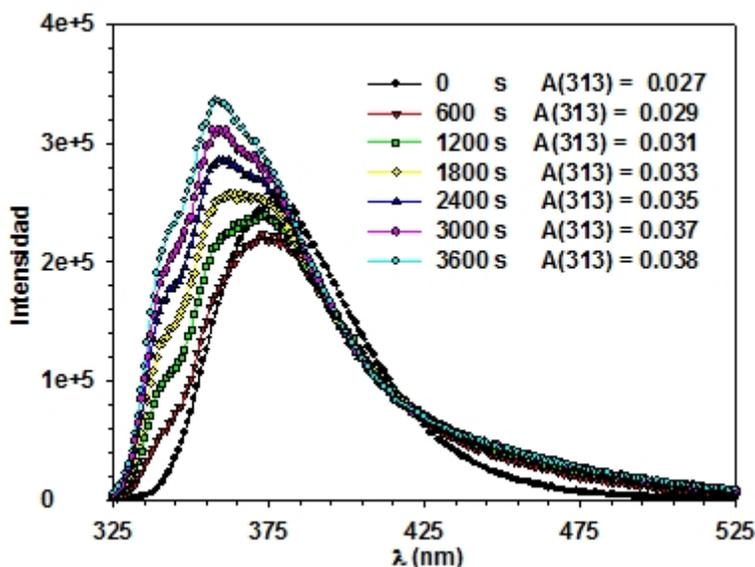


Figura 3.77

Espectros de emisión de la fotólisis de 0.010 mM MTPSO en PBS 7.4 bajo condiciones aeróbicas a 313 nm ($\lambda_{ex} = 313$ nm, monocromador = 2.5 nm, integración = 0.1 s.)

3.12) Fotofísica y Fotoquímica de MTPSO $4e$ en PBS (pH =7.4) en presencia de Timidina (Thd)

Las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de MTPSO en PBS 7.4 discutidas en la sección anterior plantea la interrogante de si el triplete $^3\text{MTPSO}^*$ puede transferir energía a componentes biológicos. La timidina en el ADN (Thd, $E_T = 270$ kJ/mol), por ejemplo, tiene una energía triplete menor a la de MTPSO ($E_T = 297$ kJ/mol, Tabla 3.5).^[140] Estos valores sugieren que $^3\text{MTPSO}^*$ puede hacer una transferencia de energía a Thd, inducir la formación de dímeros de Thd, y causar mutaciones en la cadena de ADN. Además de la transferencia de energía triplete-triplete, también puede considerarse la formación del radical hidroxilo durante la fotólisis de MTPSO, según reporta Buettner para PZSO y CPZSO.^[139] Este radical reacciona con la base purina (guanina) y la pirimidina (timidina), dando lugar a productos de oxidación como hidroperóxidos.^[144] El radical hidroxilo es la especie oxidante endógena que más contribuye al daño celular en el ADN. Más aún, la constante de rapidez de la reacción del radical hidroxilo con las bases nucleicas es difusional.

En primer lugar hay que descartar la formación de complejos en el estado raso entre MTPSO y Thd. Para tales efectos se determinó el espectro de absorción de MTPSO en presencia de diferentes concentraciones de Thd (Fig. 3.78). Los espectros de absorción correspondientes de MTPSO y Thd en PBS 7.4 se muestran en la Fig. 3.79. La Fig. 3.78 muestra los espectros de absorción experimentales y los teóricos, calculados con los coeficientes de absorción de la Fig 3.79 y las concentraciones en la solución de titulación. No hay diferencia alguna entre ambos espectros. Por lo tanto, puede concluirse que no hay formación de complejos en el estado raso.

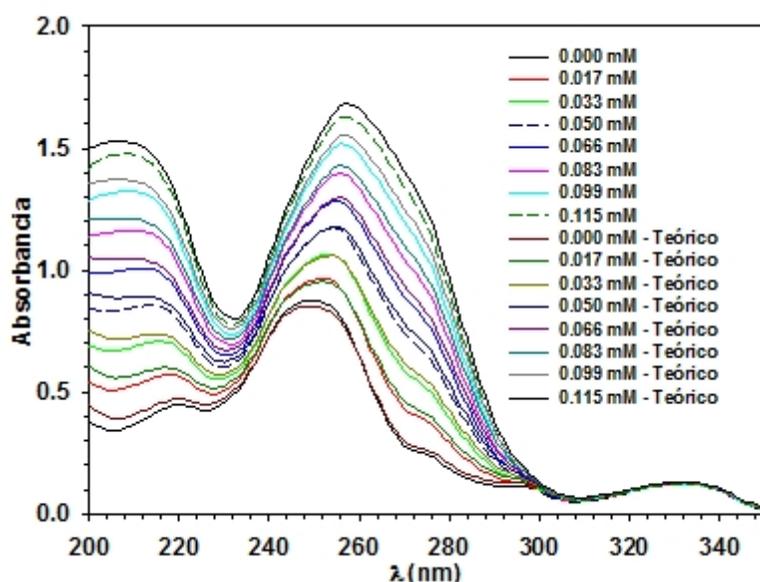


Figura 3.78

Espectros de absorción de 0.025 mM MTPSO en PBS/7.4 titrado con Thd. Los espectros de absorción teóricos de MTPSO y Thd se determinan con los coeficientes de absorción molar correspondientes y las concentraciones en la solución de titulación.

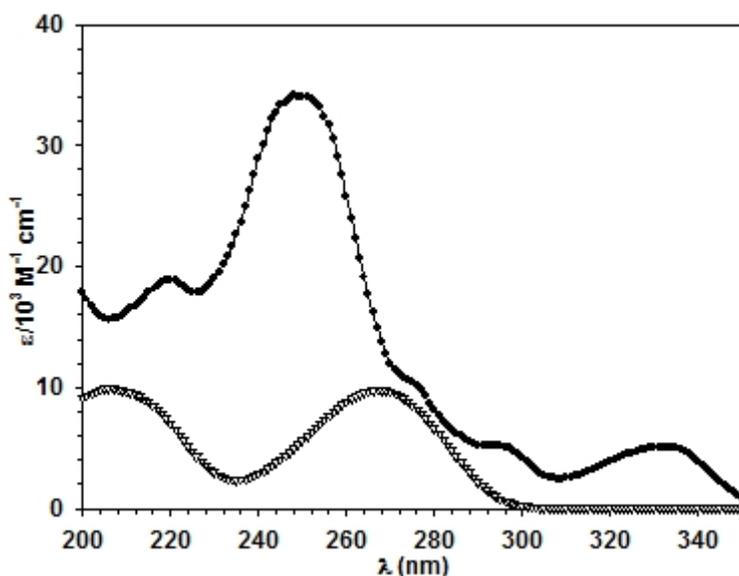


Figura 3.79
Espectros de absorción de
(●) MTPSO y (▽) Thd en
PBS/7.4.

Puede observarse que Thd no absorbe a longitudes de onda mayores de 300 nm (UVA). Esto es sumamente importante porque no hay interferencia en la absorción a estas longitudes de onda entre MTPSO y Thd. La concentración usada de MTPSO fue 0.025 mM por dos razones principales: asegurar que el rango de concentraciones de timidina obedezca la ley de Beer-Lambert-Bouguer ($Abs < 2$) y que la absorción a 320 nm sea aproximadamente 0.10 para evitar efectos de filtro en los experimentos de fluorescencia. Bajo estas y las condiciones del experimento anterior, se verificó si la emisión de fluorescencia de MTPSO es inhibida por Thd (Fig. 3.80). En el rango de concentraciones de Thd utilizado (0.017-0.11 mM), no se observan cambios significativos en la emisión de fluorescencia de MTPSO. Por lo tanto, Thd no inhibe el ¹MTPSO*. Este resultado demuestra que, bajo estas condiciones, no ocurre transferencia de electrones entre estos compuestos. La transferencia de energía singlete-singlete está descartada a priori, porque la energía singlete de Thd ($E_s = 420$ kJ/mol^[145]), es mayor a la de MTPSO ($E_s = 344$ kJ/mol, Tabla 3.5).

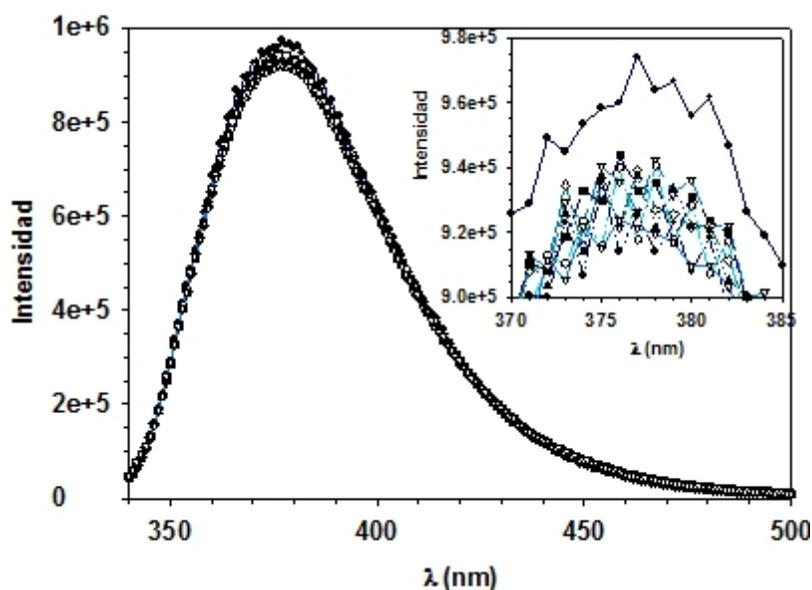


Figura 3.80

Espectros de emisión de fluorescencia de 0.025 mM MTPSO, tirando con Thd. Concentraciones de Thd (mM): (●) 0.00, (■) 0.017, (○) 0.033, (□) 0.050, (◇) 0.066, (◆) 0.083, (▲) 0.099, (▼) 0.115.

La fotólisis estacionaria de 0.025 mM MTPSO con 0.11 mM Thd bajo condiciones anaeróbicas se muestra en la Fig. 3.81. Durante la irradiación se observa que la absorción a 258 nm disminuye y se forman tres puntos isobéuticos a 298, 320 y 346 nm. Este comportamiento es muy similar al observado en la fotólisis de MTPSO en ausencia de Thd. Además, el cambio en absorción que ocurre a 258 nm es de 0.23 unidades, igual al cambio en absorción para MTPSO en ausencia de Thd. La fotodegradación de MTPSO se observa claramente en el máximo de absorción a 334 nm. También se observa que la fotocinética no cambia en presencia o ausencia de Thd, lo que implica que los procesos de transferencia de energía triplete-triplete entre MTPSO y Thd no se favorecen. Estos resultados concuerdan con una energía triplete para Thd de 310 kJ/mol reportado por Wood y Redmond.^[146]

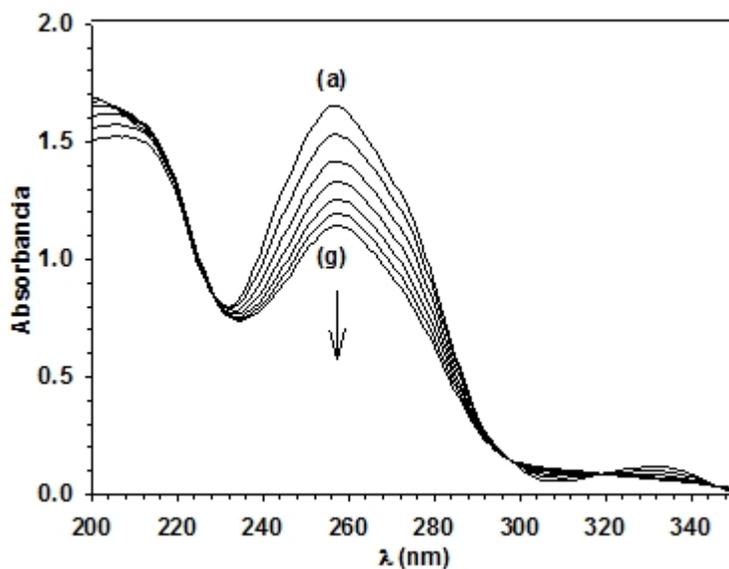


Figura 3.81

Espectros de absorción de la fotólisis estacionaria de 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd en PBS/7.4 bajo condiciones anaeróbicas (N_2). $A_{313} = 0.064$.

Para corroborar estos resultados, la mezcla de reacción fue analizada con HPLC. En el cromatograma puede observarse que a los 4.60 minutos el sulfóxido ha reaccionado básicamente en su totalidad (Fig. 3.82). Sin embargo, hay un 34% de los fotoproductos que no pueden ser caracterizados por esta técnica porque se quedan atrapados en la columna. Esto indica, a su vez, que deben ser productos de baja polaridad. Uno de los fotoproductos identificables de la fotoquímica de MTPSO es MTP, aunque no es el producto principal. El compuesto con tiempo de retención de 2.43 minutos es Thd. Durante la fotólisis no se observa que este compuesto disminuya su concentración considerablemente. Esto puede ser atribuido a que su concentración es 4 veces mayor a la de MTPSO. Además, el cromatograma de la fotólisis de MTPSO sin Thd indica que básicamente se forman los mismos productos, con la excepción del que aparece a los 3.18 minutos. Es posible que este fotoproducto provenga de alguna fotorreacción entre MTPMS o MTPSO y la timidina. Esto se asume porque este fotoproducto tiene un espectro de absorción parecido al de MTP (Fig. 3.83).

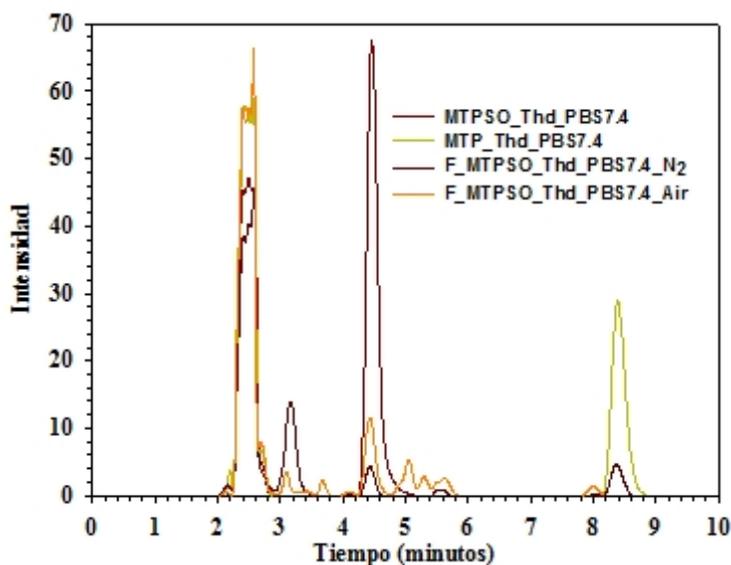


Figura 3.82

Cromatogramas HPLC de (—) 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd, (—) 0.025 mM MTP y 0.11 mM Thd, (—) Luego de fotolizar 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd bajo nitrógeno y (—) Luego de fotolizar 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd bajo aire.

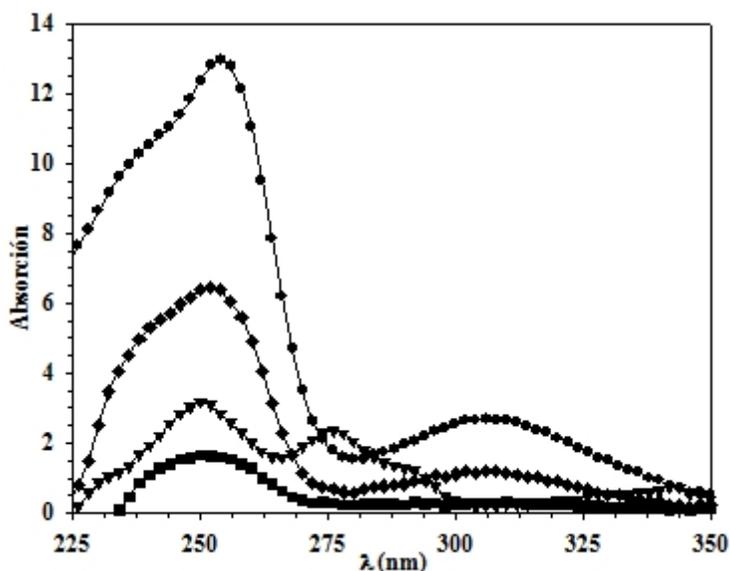


Figura 3.83

Espectros de absorción de los fotoproductos de MTPSO en presencia de Thd. (●) 3.27 minutos, (▲) 5.78 minutos, (■) 8.41 minutos y (◆) 9.14 minutos.

Los espectros de la fotólisis de MTPSO y Thd bajo condiciones aeróbicas (Fig. 3.84) muestra un comportamiento similar al hecho bajo condiciones anaeróbicas. La diferencia más significativa está en el hecho de que la fotocinética bajo condiciones

aeróbicas es más lenta. Para esta comparación se midió el cambio en absorción a 258 nm, el cual tiene un valor de 0.51 unidades de absorbancia para condiciones anaeróbicas y solo 0.24 para las anaeróbicas. Al igual que para la fotoquímica en ambiente anaeróbico, el producto principal de esta fotorreacción no puede ser caracterizado.

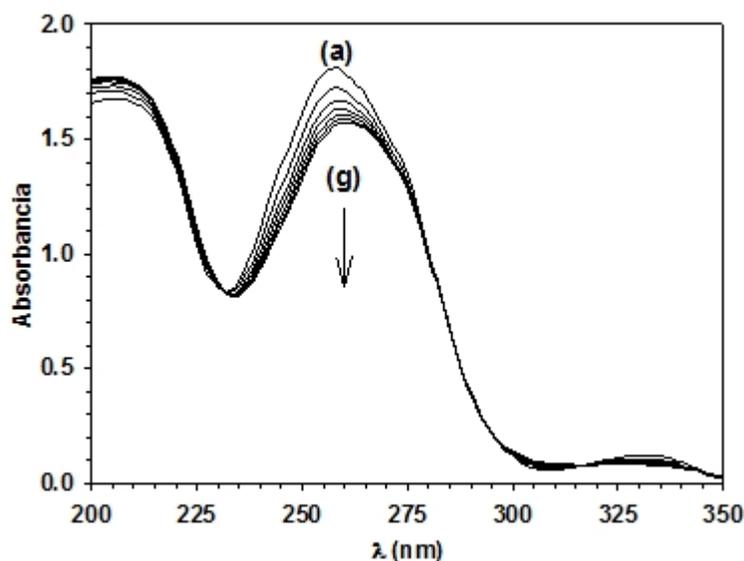


Figura 3.84

Espectros de absorción de la fotólisis estacionaria de 0.025 mM MTPSO y 0.11 mM Thd en PBS/7.4 bajo condiciones aeróbicas (aire). $A_{313} = 0.063$.

3.13) Fotofísica de Cloropromazina-Sulfona (CPZSO₂ 2g)

El espectro de CPZSO₂ 2g en metanol muestra cuatro máximos de absorción a 233, 274, 297 y 334 nm (Fig. 3.85). La forma del espectro de CPZSO₂ es similar a la del sulfóxido de cloropromazina (CPZSO, $\lambda_{\text{max}} = 240, 276, 298, 341$ nm) en etanol (Fig. 3.86). La diferencia entre ambos espectros de absorción es que las longitudes de onda de CPZSO están desplazadas batocrómicamente entre 1 y 7 nm. Sólo en las regiones entre 240-260 nm y 340-360 nm, el coeficiente de absorción molar de CPZSO es mayor al de CPZSO₂.

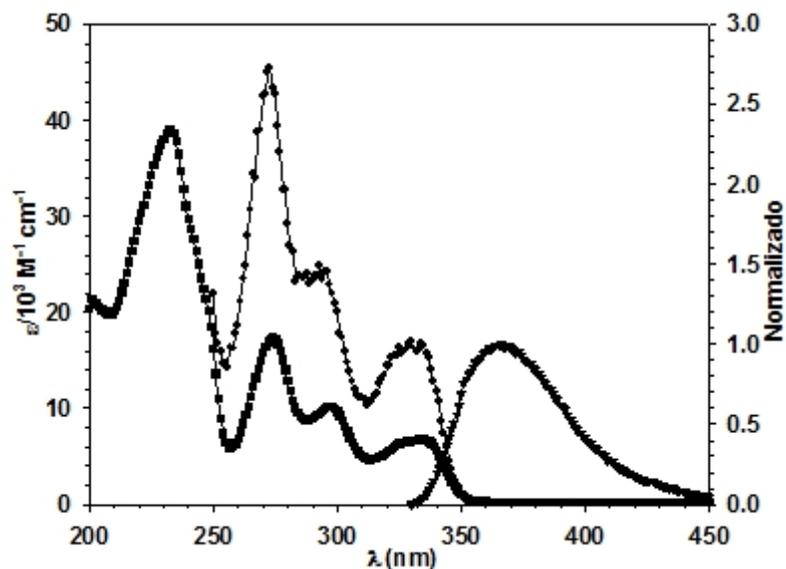


Figura 3.85
Espectro de (■) absorción,
(●) excitación y (▼)
emisión de CPZSO₂ en
metanol.

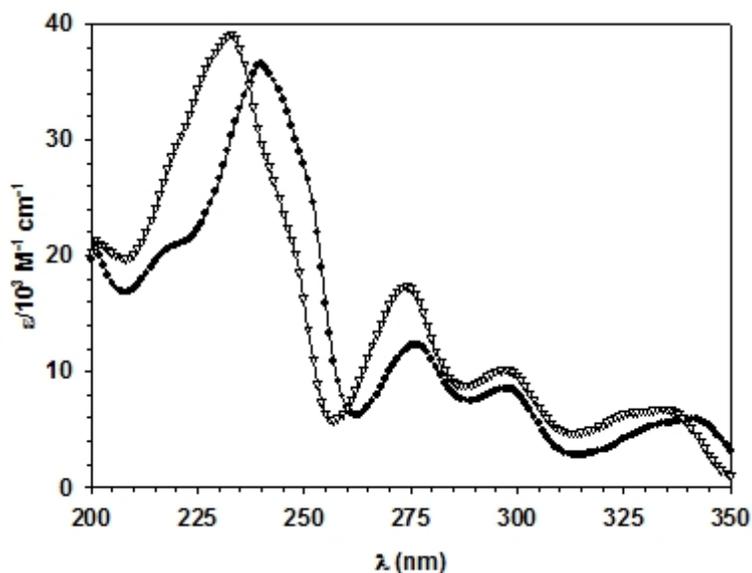


Figura 3.86
Espectro de absorción de
(●) CPZSO en etanol y (▼)
CPZSO₂ en metanol.

El espectro de emisión de fluorescencia de CPZSO₂ muestra una longitud de onda máxima a 366 nm (Fig. 3.87). Su energía singlete es 347 kJ/mol (82.8 Kcal/mol) y tiene un desplazamiento de Stokes de 2618 cm⁻¹. El máximo de emisión de CPZSO₂

se diferencia del de CPZSO ($\lambda_f = 373 \text{ nm}$, $E_s = 340 \text{ kJ/mol}$) en 7 nm. La energía singlete de CPZSO₂ es ligeramente mayor a CPZSO por 7 kJ/mol. El desplazamiento Stokes de CPZSO en etanol es de 2516 cm^{-1} y es similar al de CPZSO₂. En conclusión, las propiedades fotofísicas y energéticas de CPZSO y CPZSO₂ son similares.

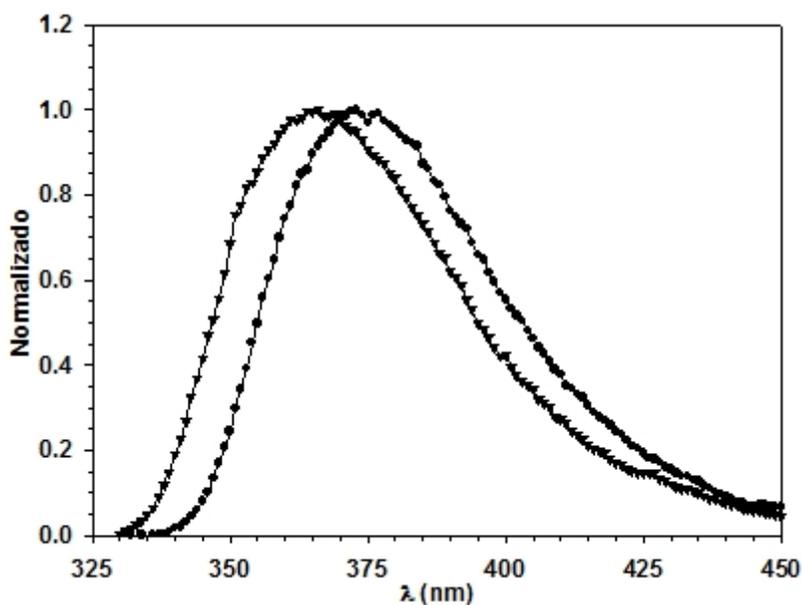


Figura 3.87
Espectro de emisión de fluorescencia de (▼)
CPZSO en etanol y (●)
CPZSO₂ en metanol.



CONCLUSIONES

4.1) Propiedades Generales de los Derivados de Promazina

La mayoría de los derivados de promazinas utilizados como fármacos neurolépticos (CPZ, LPZ y otros) producen en general fotosensibilización (fototoxicidad y fotoalérgias). Estos fármacos son utilizados para el tratamiento de la esquizofrenia y otros trastornos esquizoafectivos. En especial LPZ posee propiedades sedantes que se utilizan en pacientes de enfermedades terminales. Sin embargo, la biodisponibilidad del fármaco se ve afectada por la formación de metabolitos y por su fotodegradación bajo luz UV-A y UV-B en condiciones aeróbicas. Tanto la ruta metabólica como la fotodegradación de la droga producen principalmente el sulfóxido mediante la oxidación del átomo de azufre del grupo fenotiazínico. Este metabolito o fotoproducto pierde la propiedad farmacológica y es más soluble en agua lo que permite una mejor eliminación del fármaco.

4.1.1) Conformaciones del Estado Electrónico Fundamental (S_0)

Según cálculos teóricos PM3 sobre fenotiazinas, la protonación del amino terminal es un proceso térmicamente favorecido. Para la promazina (PZ), por ejemplo, la entalpía de formación (ΔH_f) de la base libre es 227 kJ/mol y la del derivado protonado es solo 107 kJ/mol. Para otros compuestos similares, el proceso de la protonación disminuye la entalpía de formación entre 105-146 kJ/mol, lo que hace que el sistema protonado sea más soluble en disolventes polares ($\Delta\mu > 3D$). Además, los sistemas con cadena alifática (N,N-dimetilaminopropil) en la posición 10 de la fenotiazina tienen al menos nueve conformaciones de baja energía, las cuales se diferencian energéticamente por más 1.3 kJ/mol. Los derivados fenotiazínicos con el grupo perazina, como proclorperazina (PCP), no tienen más de 6 a 7 conformaciones equivalentes estables. El menor número de conformaciones puede ser explicado en términos del efecto estérico del grupo perazina, resultando en un menor número grados de libertad de rotación. Sin embargo, todas las conformaciones son térmicamente accesible, debido a que la diferencia de energía es menos de 21 kJ/mol.

La magnitud del desdoblamiento o plegado del anillo tricíclico en los compuestos fenotiazínicos sustituidos en la posición 2, depende de la naturaleza de los sustituyentes y del estado físico. El ángulo de desdoblamiento se mide entre los dos planos que forman los anillos bencénicos de la fenotiazina (ángulo de torsión 13-14-10-11, Fig. 1.1 y Tabla 1.1). Para la fenotiazina (PH), Bell y colaboradores midieron un ángulo de 153.3° en la estructura monoclinica cristalina utilizando la técnica de rayos X. Cálculos teóricos al vacío predicen un valor de 135.2° para este ángulo. Por lo tanto, la fenotiazina en solución debe tener un ángulo de torsión que fluctúa entre 135° - 153° . El mismo comportamiento se observa para clorofenotiazina (CPH). La cadena sustituida en la posición 10 obliga al sistema fenotiazínico a disminuir su ángulo de desdoblamiento entre 8 y 23 grados. Tanto los valores cristalográficos

como los cálculos teóricos indican que el ángulo diedro del compuesto de referencia clorofenotiazina y CPZ difieren entre 7 y 12 grados. En general, la predicción teórica del ángulo de desdoblamiento para las fenotiazinas alquiladas en la posición-10, utilizando el método PM3/RHF/CI es impresionantemente bueno. La diferencia encontrada para los compuestos no alquilados se puede atribuir al apilamiento de las moléculas más simples en el proceso de cristalización, lo que obliga a las moléculas a tener una conformación más plana. Estos resultados permiten decir que el impedimento estérico que produce la sustitución en la posición 10 de la fenotiazina evita el apilamiento y, por lo tanto, los valores teóricos son más parecidos al valor experimental.

La magnitud del ángulo de desdoblamiento a lo largo del eje S-N en las fenotiazinas depende, en gran medida de la naturaleza y posición de los sustituyentes en la posición 2 y 10. Los derivados de las fenotiazinas psicoactivas tienen un ángulo de desdoblamiento en el eje S-N que fluctúa entre 134° y 146° grados. Para la sal de maleato de 2-metoxipromazina (MPZ-MS), el cual se considera un agente neuroléptico relativamente débil, el sistema de anillos es más plano (ángulo = 157°). Por lo tanto, el sustituyente 2-OCH₃ debe ser el responsable de introducir una desviación en este ángulo si se compara con CPZ. Por otro lado, el ángulo correspondiente en metotrimeprazina (MTP, 138°) está en el rango de valores que previamente se han observado para los derivados fenotiazinas psicoactivos. Además, es sumamente interesante que la cadena lateral queda más cercana al anillo sustituido que al que no está sustituido. Esta flexión y la alta polaridad de la molécula protonada no permiten que las promazinas se intercalen entre las bases del ADN en condiciones fisiológicas, como demostraron Kochevar y colaboradores con experimentos de inhibición de fluorescencia. Los derivados fenotiazínicos considerados en este trabajo pueden tener variaciones en el ángulo de desdoblamiento, pero estos no son suficientes como para explicar la diferencia en sus

efectos adversos. Por lo tanto, la contribución de esta propiedad en la fototoxicidad de estos derivados fenotiazínicos debe ser mínima.

4.1.2) Conformaciones de los Estados Excitados Singlete y Triplete

El estado excitado singlete (S_1) de las promazinas adopta una conformación más plana a la del estado fundamental (S_0). En general, el ángulo de torsión de los anillos de las moléculas en el S_0 no se ven afectados por la protonación del amino terminal (diferencia de ángulo es ~ 5 grados). En el S_1 , por el contrario, las moléculas no-protonadas son más planas que las protonadas por más de 20 grados de diferencia. La forma protonada en el S_1 presenta un ángulo entre 140-160 grados, mientras que las no protonadas son prácticamente planas (~ 178 grados). Este hecho puede explicar las diferencias en el tiempo de vida del S_1 correspondiente; se observa que a mayor planaridad del sistema menor el tiempo de vida del S_1 .

El estado triplete excitado (T_1) tiene aproximadamente el mismo ángulo de torsión que las moléculas en el S_0 , pero - curiosamente - los radicales catiónicos de todas las promazinas son casi planos. Estos resultados concuerdan con los valores experimentales determinados con técnicas de Resonancia Electrón-Espín (ESR), Raman y cristalografía. Sin embargo, esto no debería tener un gran aporte en la intercalación al ADN, ya que la formación de radicales catiónicos tiene un rendimiento bajo y se producen solo a altas intensidades de luz. La formación del catión radical puede favorecerse con la presencia de oxígeno y luz ultravioleta. Además, si se forma el catión radical mientras la promazina está como base libre, aún no se ha medido si su tiempo de vida corresponde al mínimo requerido para que ocurra la intercalación.

4.1.3) Espectro de absorción de los derivados fenotiazínicos

En general, los espectros de absorción de las fenotiazinas presentan dos bandas principales en los 250-265 nm y 300-325 nm. La primera banda de absorción se atribuye mayoritariamente a la transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ y la segunda a una transición $n \rightarrow \pi^*$, debido a la presencia de los electrones no-enlazantes de los átomos de azufre y nitrógeno en el sistema fenotiazínico. Estas transiciones electrónicas dependen de la planaridad del sistema, el disolvente, el carácter electrostático (electrodonante o electroatrayente) del sustituyente en las posiciones bencénicas y el sustituyente en el nitrógeno de la posición 10. Además, estos compuestos sufren un desplazamiento hipsocrómico en la banda de 300-325 nm en disolventes polares, lo que confirma que esta transición tiene un carácter $n \rightarrow \pi^*$. En general, las fenotiazinas no sustituidas en la posición 10 tienen un desplazamiento batocrómico en la transición $n \rightarrow \pi^*$ referente a las sustituidas. Resultados cuánticos-teóricos indican que sustituyentes en las posiciones bencénicas con electrones no enlazantes contribuyen significativamente a la transición $n \rightarrow \pi^*$. Curiosamente, cuando el sustituyente es el grupo 2-nitrilo (Ciamemazina, CMZ), la transición $n \rightarrow \pi^*$ pierde su forma gaussiana (lo que no permite identificar un máximo con exactitud) y su coeficiente de absorción molar disminuye. Este efecto se debe a que el grupo electroatrayente tiene una transición $n \rightarrow \pi^*$ que solapa la transición $n \rightarrow \pi^*$ de la fenotiazina. Más aún, la interacción $n \rightarrow \pi^*$ del grupo carbonilo se pierde cuando es el carboxilato está en la posición 2. En general, estos resultados demuestran claramente que el sustituyente en la posición 2 de la fenotiazina afecta sus propiedades de absorción y termodinámicas.

4.1.4) Propiedades del estado singlete excitado y fluorescencia

Los espectros de emisión de las fenotiazinas alquiladas en la posición 10 consisten en una banda ancha con un máximo entre 440 y 470 nm en todos los disolventes. Estas propiedades de emisión cambian cuando grupos electroatrayentes como ciano, acetilo o metoxicarbonilo son sustituidos en la posición 2. Por ejemplo, para CMZ el máximo de emisión es de 535 nm en solución tampón de fosfato (PBS/7.4), mientras que el máximo de emisión de acepromazina (APZ) es de 547 nm en acetonitrilo y 600 nm en metanol. Estos compuestos también poseen un desplazamiento de Stokes mayor a 10^4 cm^{-1} , el cual es de una magnitud considerable. El máximo de emisión depende más del disolvente que el máximo de absorción correspondiente. En todos los sistemas, la emisión se desplaza batocrómicamente con el aumento de polaridad del disolvente. Este comportamiento es contrario al efecto observado en el espectro de absorción en la región 300-325 nm y es característico del carácter del S_1 . Este desplazamiento se puede atribuir a los orbitales moleculares que participan en la transición, los cuales corresponden principalmente al sistema fenotiazínico. Por lo tanto, no hay ninguna contribución de la cadena alifática asociada a la posición 10 en las propiedades de emisión de las fenotiazinas. Esto se sustenta en el hecho de que el máximo de emisión de las fenotiazinas que no están alquiladas es el mismo: Fenotiazina (442 nm), Clorofenotiazina (450 nm) y Trifluorometilfenotiazina (471 nm).

Las fenotiazinas, en general, tienen transiciones con carácter de transferencia de carga, es decir, la absorción a longitudes de onda mayores de 270 nm se deben principalmente a transiciones $n \rightarrow \pi^*$ procedentes de la densidad electrónica del azufre. En el estado excitado, la densidad de electrones se transfieren desde los heteroátomos a los anillos de benceno, que tienen un mayor carácter π . Esta transferencia de carga se correlaciona con una disminución en el ángulo de torsión, que induce un aumento

en el momento dipolar del estado singlete excitado con respecto al estado fundamental. Con el aumento del momento dipolar de la excitación, disolventes polares estabilizan el S_1 y ocurre una disminución en energía entre éste y el S_0 en el mismo disolvente. Esta disminución de la energía o efecto solvatocrómico se manifiesta en un desplazamiento Stokes relativamente alto, según se indica en la sección anterior.

Como se mencionó anteriormente, los sustituyentes en la posición 2 de la fenotiazina no cambian el ángulo de torsión del anillo en el S_0 en gran medida. Para el S_1 , sin embargo, estos ángulos de torsión varían desde 107.9° a 161.4° , dependiendo del 2-sustituyente. Estudios de fotoionización indican que un aumento en el ángulo diedro (aumento en la planaridad) permite un mejor solapamiento de los orbitales entre los carbonos del anillo aromático y el átomo de nitrógeno, al igual que entre los carbonos del anillo aromático y átomo de azufre.

4.1.5) Rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_f)

En comparación con la promazina, los derivados clorados tienen un ϕ_f más pequeño, especialmente en MeOH. Por otro lado, el rendimiento cuántico de fluorescencia de la fenotiazina es 0.0034 en MeOH y MeCN, aproximadamente un orden de magnitud menor al de su análogo promazina. Todos los derivados de promazinas tienen valores de ϕ_f en el orden de 10^{-2} - 10^{-3} . Cuando el sustituyente en la posición 2 es electroatrayente por resonancia, el valor cambia significativamente. Por ejemplo, para los sustituyentes ciano, acetilo y metoxicarbonilo, los ϕ_f son 0.11(PBS/7.4), 0.001(MeOH) y 0.035 (MeOH), respectivamente. Por lo tanto, existen otros mecanismos de desactivación del S_1 que son más favorecidos que el proceso de

fluorescencia. En términos de la sustitución en la posición 2 y utilizando PBS/7.4 como disolvente, el grupo tiometilo (SCH_3 , $\phi_F = 0.060$) es responsable del aumento en el ϕ_F relativo a los sustituyentes trifluorometilo (CF_3 , $\phi_F = 0.014$) y cloro (Cl , $\phi_F = 0.0036$). El ϕ_F es mayor para SCH_3 , lo que se explica en términos de una mayor planaridad que imponen estos sustituyente a la promazina en el S_1 . Esto, a su vez, permite una mayor interacción entre los orbitales del sustituyente (efecto electrodonante) y el anillo tricíclico. Toda esta información lleva a la conclusión de que la fluorescencia no es el mejor mecanismo de disipación de energía para estos compuestos. Solamente entre un 0.1% a 0.6% de la energía se disipa por este proceso. Este bajo rendimiento indica que la desactivación principal del S_1 es por mecanismos no radiativos como conversión interna o cruce intersistémico (ISC). En resumen, las propiedades de emisión de las promazinas son sensibles al disolvente y al sustituyente en la posición-2, pero no a la cadena amino-alquil.

4.1.6) Tiempo de vida de fluorescencia (τ_F)

Este parámetro fotofísico muestra también una dependencia del disolvente y del sustituyente en la posición 2 de la fenotiazina. La cadena 10-alquilamino no tiene un efecto significativo sobre los valores de τ_F . Esto puede deducirse del hecho de que, dentro del error experimental, todas las fenotiazinas tienen tiempos de vida de fluorescencia parecidos al de promazina: Fenotiazina ($\tau_F \leq 1$ ns) y Clorofenotiazina ($\tau_F \leq 1$ ns). El aumento que se observa en el tiempo de vida de la fluorescencia en disolventes polares es indicativo del efecto solvatocrómico del estado S_1 . Los tiempos de vida están dentro del rango de los valores descritos para promazina en PBS ($\tau_F = 1.75$ a 2.04 ns). Los valores τ_F de los derivados clorados como CPZ y PCP muestran una mayor diferencia entre PBS y MeOH, con valores de 350 ps y 890 ps,

respectivamente. El principal problema con PCP (y perfenazina) en PBS es la solubilidad, lo que impide medir el τ_F . Los valores de τ_F son bien pequeños para los derivados clorados (<1.0 ns), porque este sustituyente favorece el acoplamiento espín-orbital (efecto del átomo pesado) tanto en la desactivación no radiativa $S_1 \rightarrow S_0$ o el proceso de ISC. Otros experimentos demostraron que, de hecho, el ISC es la principal vía de desactivación del S_1 .

4.1.7) Coeficiente de absorción molar del estado triplete excitado (ϵ_T), rendimiento cuántico (ϕ_T) y tiempo de vida (τ_T)

En general, el espectro de fotólisis de destello láser de las fenotiazinas sustituidas en la posición 10 en solución tampón de fosfato (PBS/pH=7.4) saturada con nitrógeno y a alta intensidad ($E > 10$ mJ/pulso) consta de una banda de absorción máxima entre 460-480 nm, una cerca de 530 nm y otra muy amplia que se extiende a la región roja del espectro. En estas condiciones, el intermedio que aparece a 530 nm es el catión radical y la banda que se extiende hasta el rojo es el electrón solvatado. Un comportamiento similar se observó para los otros derivados fenotiazínicos, como en MeCN (aunque en este disolvente no se observa el electrón solvatado) y MeOH ($\lambda_{max} = 470 \pm 10$ nm). A bajas intensidades del láser ($E \leq 5$ mJ pulso) sólo se observa la banda de absorción en la región de 460-480 nm. El intermedio que produce esta señal es el estado triplete excitado (T_1), porque su cinética se afecta por la presencia de oxígeno y 1,3-ciclohexadieno. Además, se observó que las constantes de velocidad de la desactivación de T_1 aumentan con el aumento en la concentración del estado raso, lo que indica un proceso de auto-inhibición. De la gráfica de la concentración del estado raso vs la constante de rapidez (k_{obs}), se puede determinar la constante de autoinhibición (k_{sq}) para los diferentes derivados fenotiazínicos. Por ejemplo, para trifluorometilpromazina los valores de k_{sq} ($M^{-1}s^{-1}$) son: 4.0×10^7 , 4.5

$\times 10^7$ y 2.4×10^8 en MeCN, MeOH y PBS, respectivamente. En general, los valores para el resto de los derivados fenotiazínicos son del orden de 10^7 - 10^8 $M^{-1}s^{-1}$ y coinciden perfectamente con los descritos previamente para las fenotiazinas no sustituidas. Los valores de k_{sq} son más altos en PBS y se debe al comportamiento de tenso-activo (surfactante) de las fenotiazinas, ya que los anillos heterocíclicos imparten un carácter hidrofóbico y el grupo alquil-amino protonado es polar. Por lo tanto, el aumento de la k_{sq} en PBS debe ocurrir por las fuertes interacciones hidrofóbicas entre las moléculas. A altas concentraciones del fármaco, las moléculas en el T_1 están en un contacto más cercano con moléculas en el estado fundamental, lo que resulta en una rápida desactivación del T_1 . Sin embargo, el mecanismo de autoinhibición no debe ser relevante para los estudios en vivo, debido a que la concentración del fármaco utilizado y la concentración correspondiente de T_1 son normalmente más pequeñas que la concentración crítica requerida para la autoinhibición efectiva (0.1-0.8 mM).

Los coeficientes de absortividad molar del estado triplete excitado (ϵ_T) obtenidos de la absorción máxima del T_1 , son del orden de 1.5 a 7.8×10^4 $M^{-1}cm^{-1}$. Estos valores están dentro del rango reportados para CPZ (19500 $M^{-1}cm^{-1}$) y PZ (26500 $M^{-1}cm^{-1}$) en MeOH y compuestos similares. Estos valores son, además, sensibles a la metodología utilizada para medirlos.

Los rendimientos cuánticos del cruce intersistémico para los derivados fenotiazínicos están en el rango de 0.2 a 0.9, dependiendo del disolvente. Por ejemplo, para los derivados clorados, los valores de τ no pueden ser determinados en solución tampón de fosfato (PBS), debido a que el T_1 se desactiva rápidamente en solución acuosa. El rendimiento cuántico de fotodestrucción de CPZ-HCl en PBS/6.6 y solución acuosa (MeOH:H₂O = 1:1) bajo condiciones anaeróbicas tiene valores respectivos de 0.59 ± 0.03 y 0.80 ± 0.04. Esto indica que, a pesar de que el $^3CPZ^*$

se desactiva rápidamente en medio acuoso, el mismo es sumamente reactivo. En general, los estados tripletes excitados de los derivados fenotiazínicos se generan con rendimientos cuánticos altos en MeOH, especialmente para aquellos derivados que tienen un sustituyente electrodonante como tiometil, el cual tiene un $\phi_T > 0.70$. Además, el triplete excitado de CPZ también se forma con un alto rendimiento ($\phi_T = 0.90$), mientras que proclorperazina (PCP) tiene un valor de solo $\phi_T = 0.35$. Esta gran diferencia debe ser atribuida al contra ión que tienen ambos fármacos para hacerlo más soluble en agua. Se conoce que el ácido maleico es un inhibidor del triplete excitado de los derivados fenotiazínicos ($k_q = 7 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Estudios fotoquímicos de los derivados clorados en la posición 2, determinaron que su fotodegradación o fotodehalogenación proviene del estado triplete y el rendimiento correspondiente está determinado por el disolvente. Además, la cadena lateral en la posición 10 no determina la eficiencia de fotodegradación, sino la distribución de los fotoproductos. Es por eso que el rendimiento cuántico de fotodegradación de las bases libres de CPZ ($\phi_{FD} = 0.68$ en MeCN) y PCP ($\phi_{FD} = 0.66$ en MeCN) son iguales.

El tiempo de vida del estado triplete excitado es muy sensible al microambiente. Curiosamente, la sustitución en la posición 10 de la fenotiazina tiene un efecto menor en los valores de τ_T de las fenotiazinas, promazinas, perazinas y fenazinas en el mismo disolvente. Para los derivados clorados, por ejemplo, los valores de τ_T (s) en MeCN son: 0.80, 0.91, 0.80 y 0.66 para CPH, CPZ, PCP, perfenazina (PP), respectivamente. Estos valores son casi constantes y no muestran dependencia de la cadena de alquilo-amino.

La sustitución en la posición 2 de la fenotiazina induce una mayor variación en los valores de τ_T , como se observa para los derivados de promazinas. Los valores para PZ, CPZ, TFMP y TMPZ en MeOH: 61, 2.2, 91, 59 s, respectivamente. Sin embargo, el efecto más marcado en el τ_T es inducido por el disolvente, especialmente

para los derivados clorados. Excepto para PZ, los valores de τ se reducen drásticamente cuando se cambia de MeCN a MeOH o H₂O. Por ejemplo, para TFMP el τ se reduce de 111 ns en MeOH a sólo 2.13 ns en PBS. El hecho de que el tiempo de vida cambie drásticamente debe ser atribuido a que ³TFMP* reacciona con agua fácilmente para producir el derivado de ácido carboxílico en la posición 2 de la fenotiazina. Este efecto es aún más drástico cuando se utilizan derivados clorados porque es imposible determinar el τ en medio acuoso, como se ha mencionado en varias ocasiones. Teniendo en cuenta todos estos hallazgos, se ha propuesto un mecanismo de transferencia de protones muy rápido como el responsable de la inhibición del T₁ de los derivados clorados.

4.2) Fotopropiedades del Cloroprotixeno (zCPTX [3b](#))

zCPTX comparte todos los efectos secundarios de los antidepresivos tricíclicos clorados como CPZ, incluyendo la fototoxicidad. De las propiedades fotofísicas de zCPTX se puede concluir que los mecanismos no-radiativos son favorecidos sobre los procesos radiativos. Este comportamiento es muy similar al de su homólogo CPZ. Curiosamente, la eficiencia de la fosforescencia de CPZ es mucho mayor que la de zCPTX, el cual tiende a fluorescer mejor en forma de vidrio. Este comportamiento también se ha observado para alquenos con isomerización E/Z, como el estilbena. Sin embargo, la diferencia estructural entre zCPTX ($E_s = [336 \pm 2]$ kJ/mol) y CPZ ($E_s = [321 \pm 2]$ kJ/mol) no afecta significativamente la energía del estado singlete. Por otro lado, las propiedades como la longitud de onda máxima de emisión y el desplazamiento de Stokes son mayores para CPZ. Esto implica que la polaridad del estado excitado singlete de CPZ es mayor que para zCPTX.

A diferencia de las propiedades del estado triplete excitado de CPZ, las del triplete de zCPTX no son conocidas. En este trabajo se determinó que la fotólisis de destello Láser (FDL) a alta potencia de zCPTX produce fluorescencia tardía tipo P y un intermedio de corta vida a 360 nm con un tiempo de vida de aproximadamente 56 ns bajo condiciones anaeróbicas. La fotoquímica de zCPTX y zCPTX-HCl depende del microambiente (disolvente, oxígeno, pH, longitud de onda de irradiación, etc.). En este proyecto se determinó, además, que los disolventes determinan la fotodegradación de zCPTX, al igual que la distribución de los fotoproductos.

La fotoisomerización de zCPTX a eCPTX es la reacción favorecida en los diferentes medios tanto en ambientes aeróbicos como anaeróbicos. El rendimiento cuántico de fotoisomerización es 0.21 en MeCN y proviene mayoritariamente del estado excitado singlete. Después de la formación del fotoequilibrio entre zCPTX y eCPTX, se comienza a observar la formación de 2-clorotioxantona (CTX). La formación de CTX no depende de la concentración de oxígeno disuelto, sino que es favorecida en medios anaeróbicos y en presencia de agua. Además de depender del disolvente, la formación de CTX depende de que el grupo alquil-amino en la posición 9 del tioxanteno tenga el nitrógeno con el par de electrones libres.

Para la fotólisis con zCPTX-HCl en disolventes como MeCN y agua, capaces de estabilizar el par iónico de esta sal, se observa inicialmente la fotoisomerización con la misma fotoeficiencia que para zCPTX. Luego de la formación del fotoequilibrio Z/E no se observa que el fotoproducto CTX se forme. Sin embargo, la disminución en la absorción a 230 nm es un indicador de la formación del alcohol terciario correspondiente. Es importante señalar que la formación de CTX autocataliza su formación via transferencia de energía triplete con el $^3\text{zCPTX}$. A pesar de que no se puede determinar la energía triplete de zCPTX, los cálculos cuánticos TD-DFT predicen un valor de 235 kJ/mol (ligeramente menor a la de CPZ; $E_T = 251$ kJ/mol),

como ocurre con la diferencia de energía entre el S_0 y S_1 de ambas moléculas. Además, experimentos de FDL en MeCN demuestran que la presencia de zCPTX y zCPTX-HCl inhiben el $^3\text{CTX}^*$ ($E_T = 258 \text{ kJ/mol}$) difusionalmente, por lo tanto se puede argumentar que la energía del $^3\text{zCPTX}$ es menor a la de $^3\text{CTX}^*$. Por otro lado la fotoquímica de zCPTX en alcoholes y solución tampón de fosfato (PBS/7.4) es similar a la observada en MeCN en cuanto al proceso de fotoisomerización. Por otro lado, en estos disolventes no se favorece la formación de CTX, pero sí el producto de fotoadición del disolvente en alqueno de la posición 9 del tioxanteno. Ciertamente este producto de fotoadición tipo Makornikov al alqueno también ocurre en la fotoquímica en MeCN/ H_2O , pero no es detectable porque este medio favorece la formación de CTX. La formación de CTX a partir del alcohol terciario, se postula esencialmente desde un estado vibracional de alta energía ("hot state"), porque bajo condiciones normales el alcohol terciario es estable.

Este mecanismo explica el comportamiento fotoquímico de CPTX en los diferentes disolventes. Es importante señalar que la fotorreacción de adición puede ocurrir desde el estado singlete o triplete excitado. Obviamente como el estado excitado singlete dura muy poco tiempo, se postula solo el estado excitado triplete como el precursor de las fotorreacciones de adición al alqueno. Es importante señalar que en las fotorreacciones con los alcoholes, también se observa la formación del alcohol terciario, porque los alcoholes no se usaron secos. Lo interesante y a la vez significativo es que en periodos cortos de fotólisis no se observa la formación de CTX y sí se ve presencia del alcohol terciario (a diferencia de MeCN, en el que no se ve el alcohol terciario y sí formación de CTX). Esto implica que el disolvente juega un papel importante en la formación de CTX. No es de extrañar que CTX no se forme en alcoholes porque, según el mecanismo propuesto, el par de electrones de la amina terminal juega un papel importante en la formación de CTX, porque puede abstraer el protón del alcohol terciario que se forma. Este ataque no se favorece en MeOH

porque este disolvente no estabiliza el par iónico de sales de estos compuestos.

En conclusión, la formación de CTX puede agudizar el efecto fototóxico/fotoalérgico de zCPTX porque: (1) CTX forma parte de los productos metabólicos de zCPTX; (2) los derivados de tioxantonas pueden reaccionar fácilmente desde el estado excitado singlete y triplete; (3) puede autosensibilizar su propia formación, y por lo tanto la potencia tóxica de zCPTX; (4) CTX y los otros fotoproductos (como el alcohol terciario) pueden tener mayor fototoxicidad que el fármaco original; (5) podrían ocurrir reacciones de fotoadición entre CPTX y grupos nucleofílicos (-OH, -SH, -NH₂) en las proteínas o ADN. Esto alteraría las estructuras de las biomoléculas e inducir la respuesta fototóxica o fotomutagénica; y (6) Los máximos de absorción de zCPTX y CTX son 324 y 386 nm, respectivamente. Esta diferencia de 62 nm hacia el rojo aumenta la cantidad de luz absorbida y, por lo tanto, aumenta la probabilidad de inducir la fototoxicidad, porque se conoce que las longitudes de onda dentro del UVA (315-400 nm) y el rango visible son más propensas a causar reacciones de fotosensibilidad inducida por fármacos. Por otro lado, el hecho de que la reacción de fotoadición ocurra desde los estados excitados de zCPTX, también puede aumentar las propiedades fotosensibles porque podría enlazarse covalentemente con biomoléculas como proteínas e inducir la respuesta fototóxica o fotoalérgica. En este aspecto es similar a CPZ, la cual puede reaccionar desde el estado excitado triplete ya sea por la ruptura homolítica del enlace C-Cl o por un ataque de un nucleófilo para formar enlaces covalentes con biomoléculas.

4.3) Fotopropiedades de 2-clorotioxantona (CTX)

2-clorotioxantona (CTX) es un derivado de la familia de las tioxantonas y es el reactivo precursor en la síntesis del fármaco neuroléptico CPTX. Además de su gran

relevancia en la industria química farmacéutica, también posee un sinnúmero de aplicaciones tecnológicas. El tiempo de vida del $^3\text{CTX}^*$ no se afecta por la presencia de N-metildietilamina. Este hallazgo es sumamente relevante porque establece que aminas terciarias similares a la cadena alquilamino de CPTX, no inhiben el $^3\text{CTX}^*$. Esto demuestra que la inhibición del $^3\text{CTX}^*$ en presencia de CPTX está más relacionado a una transferencia de energía que a una transferencia electrónica.

Del estudio fotofísico y computacional hecho en este proyecto para CTX, se puede determinar que las transiciones electrónicas que ocurren a longitudes de onda mayores de 300 nm son combinaciones entre estados electrónicos n^* y p^* , los cuales determinan su fotofísica y por consiguiente su fotoquímica. Este compuesto lleva a cabo transiciones electrónicas en la región UVA y visible contrario a CPTX, lo que permitiría procesos de fotosensibilización a condiciones normales de irradiación solar. Al igual que el estado singlete excitado de tioxantona ($^1\text{TX}^*$), el rendimiento cuántico de fluorescencia (ϕ_f) y tiempo de vida (τ_f) del $^1\text{CTX}^*$ aumenta a medida que el microambiente es más hidrofílico. Este comportamiento se puede explicar utilizando la teoría del efecto de proximidad entre los estados S_1 (n) y S_2 (n) o los postulados de la fotoquímica cuántica moderna (El-Sayed). En los mismos se aduce a que el aumento en la hidroxilidad del medio induce una separación de ambos estados electrónicos que permite que la desactivación no radiativa disminuya y se favorezca el proceso radiativo de fluorescencia.

El hecho de que las propiedades del $^1\text{CTX}^*$ son afectadas por la hidroxilidad del medio, implica que las propiedades del estado triplete excitado de CTX ($^3\text{CTX}^*$) son alteradas también. A diferencia del estado $^1\text{CTX}^*$ que muestra un carácter n^* el $^3\text{CTX}^*$ aparenta ser una combinación de ambos caracteres (n^* y p^*). Los resultados obtenidos demuestran claramente que el rendimiento cuántico de cruce intersistémico (ϕ_{τ}) de CTX disminuye drásticamente con el aumento de la hidroxilidad del medio.

Estos resultados se obtienen asumiendo que el coeficiente de absorción molar para el $^3\text{CTX}^*$ no cambia, al aumentar el contenido de agua. Aunque el τ disminuye considerablemente, es importantísimo resaltar que su tiempo de vida aumenta drásticamente. Esta propiedad se tiene que considerar debido al carácter fotorreactivo que posee el grupo carbonilo del $^3\text{CTX}^*$. El mismo puede actuar como un radical electrofílico (n) capaz de abstraer hidrógenos ya sea del medio u otro compuesto, dando como resultado una respuesta fototóxica o fotoalérgica.

4.4) Fotopropiedades de MTP

En este trabajo se determinaron las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de MTP en diferentes disolventes (MeCN, MeOH, y PBS/pH = 7.4) en presencia de diferentes aditivos (oxígeno, nitrógeno, NaN_3 , Thd, y FIND). El uso de estos disolventes y aditivos permite la simulación de los diferentes microambientes en vivo, los cuales afectan las propiedades antes mencionadas. Esta información es sumamente importante porque MTP interactúa con diferentes componentes del cuerpo humano, bajo diferentes ambientes.

Los intermedios de corta vida (singlete y triplete excitado, catión radical, etc.) son los precursores de varios fotoproductos que forman. Las propiedades fotofísicas del estado excitado singlete de MTP ($^1\text{MTP}^*$) no son afectadas por los disolventes utilizados, ni por la presencia de oxígeno. También es evidente que la desactivación por fluorescencia ($\phi_f = 0.01$) no es el mecanismo favorecido para $^1\text{MTP}^*$. Esto demuestra que la desactivación del $^1\text{MTP}^*$, es por mecanismos no-radiativos como la conversión interna o cruce intersistémico. Además, el tiempo de vida de $^1\text{MTP}^*$ es ~ 2 ns y es independiente del disolvente y el oxígeno. Esto implica que las fotorreacciones entre $^1\text{MTP}^*$ y oxígeno son poco probables. Para saber si $^1\text{MTP}^*$ puede

inducir daño al ADN, se utilizó como modelo timidina (Thd). Se ha reportado que el daño inducido al ADN incluye reacciones de transferencia de electrones o energía que producen cambios químicos en este nucleótido. Se determinó que el $^1\text{MTP}^*$ tiene una energía singlete (E_s) de 314 kJ/mol, con lo se puede descartar a priori procesos de transferencia de energía singlete-singlete entre $^1\text{MTP}^*$ y $^1\text{Thd}^*$ ($E_s = 417$ kJ/mol). Por lo tanto, el $^1\text{MTP}^*$ no interacciona con la Thd, lo que implica que no ocurren procesos de transferencia de electrones entre ambos compuestos.

Al hacer los estudios de fotólisis de destello LÁSER (Tabla 3.4) se puede concluir que el coeficiente de la transición triplete-triplete es aproximadamente $1.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y el rendimiento del cruce intersistémico es 0.70. Interesantemente, el tiempo de vida del estado excitado triplete de MTP ($^3\text{MTP}^*$) depende del disolvente y de la presencia de aditivos como oxígeno y fenilindeno. En cuanto a los disolventes, al aumentar el carácter de transferencia de protones (hidroxilidad), menor es el tiempo de vida del $^3\text{MTP}^*$. Por otro lado, el oxígeno inhibe el $^3\text{MTP}^*$ con una constante aproximada de $6 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Con estos resultados se puede establecer claramente que la fotoquímica de MTP está determinada por la reactividad del $^3\text{MTP}^*$ y no por la del $^1\text{MTP}^*$.

La fotoquímica de MTP fue estudiada en los disolventes antes mencionados en presencia y ausencia de oxígeno. Bajo condiciones anaeróbicas e independientemente del disolvente MTP es fotoestable. Sin embargo, los resultados concluyen que MTP es fotorreactiva en condiciones aeróbicas y que la fotorreactividad depende del disolvente. Tanto la formación de fotoproductos, como la distribución de estos se ve afectada por el disolvente. En disolventes polares próticos como PBS (pH = 7.4) y MeOH, el producto principal es la levomepromazina sulfóxido (MTPSO). En acetonitrilo no se forma MTPSO y no se pudo determinar el fotoproducto. Los rendimientos cuánticos de fotodegradación de MTP en PBS,

MeOH, y MeCN son 0.13, 0.02 y $<10^{-3}$, respectivamente. Es concluyente que en un medio acuoso en presencia de oxígeno molecular es sumamente fotorreactiva. Un comportamiento similar fue observado para los rendimientos de fotodegradación de CPZ a pH 4.7 ($\phi = 0.056$) y etanol ($\phi = 0.0027$), pero utilizando luz de 253.7 nm.

La fotooxidación de las fenotiazinas para formar el sulfóxido puede ocurrir por diferentes procesos: (1) utilizando fotosensibilizadores de oxígeno singlete (1O_2) como rosa de bengala o azul de metileno; (2) produciendo oxígeno singlete mediante la transferencia de energía del estado triplete de la PH al oxígeno molecular y su subsiguiente reacción con el estado fundamental de PH; y (3) mediante la formación del catión radical de PH y su reacción con oxígeno molecular o agua. De estos mecanismos, solamente el (2) y (3) podrían considerarse para explicar la fotoquímica de MTP en los diferentes disolventes bajo condiciones aeróbicas. El rendimiento cuántico de 1O_2 generado por el triplete excitado de estas moléculas depende del disolvente y de los sustituyentes. Este dato es de mucha relevancia, porque ciertamente la formación del estado triplete excitado de estas moléculas es dependiente del disolvente. La principal aportación de este trabajo es demostrar que la formación MTPSO no proviene de la producción de oxígeno singlete por la excitación de MTP en PBS. Por el contrario, este producto se obtiene mediante la formación del catión radical de MTP, el cual se produce de una transferencia electrónica entre el $^3MTP^*$ y oxígeno molecular. Esto fue confirmado por la fotoquímica de MTP en presencia de azida de sodio con una constante de inhibición con 1O_2 entre $(1.08-1.90) \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ a bajas concentraciones de oxígeno molecular. El usar azida de sodio como inhibidor de oxígeno singlete no afecta el rendimiento de formación de MTPSO, lo que implica que el 1O_2 que se pueda formar no contribuye a la formación de MTPSO. Por otro lado usando bajas concentraciones de oxígeno se puede detectar claramente la formación del catión radical de MTP a

566 nm, utilizando fotólisis estacionaria. Además al estudiar la fotoquímica de MTP en MeCN se produce MTPSO. Esto es sumamente importante porque el tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ en este disolvente es 39 ns y el rendimiento de $^1\text{O}_2$ debería ser ligeramente más alto al de su compuesto padre (2-metoxifenotiazina, $\phi = 0.21$). Este trabajo también indica que los procesos de transferencia de energía y electrónica entre el $^3\text{MTP}^*$ y oxígeno molecular están determinados por el disolvente, lo que implica que la fotoquímica de MTP estará determinada por estos procesos. Todo esto nos lleva a proponer un mecanismo para la formación de MTPSO en PBS.



RESUMEN / SUMMARY / RESUM

En el 2005, la Organización Mundial de la Salud concluyó, entre otras cosas, que: (1) El impacto mundial de los trastornos mentales en la calidad de vida es superior al de las enfermedades crónicas como la artritis, la diabetes o las enfermedades cardíacas y respiratorias; y (2) Se espera que en 2020 la depresión sea la enfermedad número uno en el mundo desarrollado. El tratamiento farmacológico de estas condiciones con antidepresivos es eficaz en aproximadamente el 60% de los pacientes. Los antipsicóticos típicos, también llamados neurolépticos, constituyen un grupo de medicamentos de naturaleza química muy heterogénea pero con mecanismo de acción común. Estos actúan fundamentalmente por bloqueo de los receptores dopaminérgicos D_2 . En los neurolépticos derivados de la fenotiazina, por ejemplo, la cadena lateral posee siempre 3 átomos de carbono seguidos de un grupo $-NR_2$, lo que es indispensable para las propiedades antipsicóticas. La substitución por un cloro origina asimetría en el núcleo fenotiazínico, con lo que se incrementa la acción farmacológica. El grupo $-CF_3$ en la misma posición, incrementa aún más las acciones antipsicóticas y antieméticas de las fenotiazinas. Comparado con la CPZ, flufenazina es aproximadamente 20 veces más potente y tioproperazina 10 veces más. La tioridazina, sin embargo, posee solo la mitad de la actividad farmacológica de la

CPZ. Los tioxantenos, como el clorprotixeno, poseen isomería cis/trans. El isómero cis tiene una mayor potencia que el isómero trans e induce más fototoxicidad. Por otro lado, las drogas menos potentes contienen un grupo piperidina en la cadena lateral.

Todos los antidepresivos tienen la misma eficacia para el tratamiento a corto plazo de los síntomas depresivos agudos, pero difieren en cuanto a los efectos adversos. Por ejemplo, todos los que tienen substituyentes electroatrayentes en el sistema de anillos son buenos antipsicóticos, pero inducen más fototoxicidad. La fotosensibilidad es una reacción cutánea anormal que se produce por la combinación de una sustancia química y la exposición a luz ultravioleta (UVA). El mecanismo general para este fenómeno no se conoce, pero se postula que el agente fotosensibilizante absorbe energía y su estado triplete interacciona de forma directa con los componentes celulares. Informes recientes indican que los nuevos antidepresivos son sólo marginalmente más eficaces que un placebo. Los resultados de la investigación con la "vieja generación" de antidepresivos tricíclicos, por otra parte, indican que la interacción de ciertas biomoléculas con el estado excitado de estas drogas puede ser uno de los pasos en el mecanismo mencionado. Por lo tanto, entender las propiedades de estos estados excitados y sus posteriores reacciones permitirá el desarrollo de drogas más selectivas, más eficaces y con menos efectos secundarios. A tales efectos, el objetivo principal de este trabajo es utilizar el modelo de clorprotixeno y levomepromazina (LPZ ó MTP) para conocer la fotofísica y la fotoquímica de fármacos con isomería (estructural y enantiomérica) con el fin de determinar sus mecanismo de desactivación y fotodegradación que permitan explicar sus efectos fototóxicos.

En este trabajo se demuestra que la fotólisis de destello Láser (FDL) a alta potencia de clorprotixeno (zCPTX) produce fluorescencia tardía tipo P y un intermediario de corta vida a 360 nm con un tiempo de vida de aproximadamente 56 ns bajo condiciones anaeróbicas. La fotoquímica de zCPTX y zCPTX-HCl depende del microambiente (disolvente, concentración de oxígeno, pH, longitud de onda de irradiación, etc.). Se determinó, además, que los solventes determinan la fotodegradación de zCPTX, al igual que la distribución de los fotoproductos. La formación de su producto principal, clorotioxantona (CTX), no depende de la concentración de oxígeno disuelto, sino que es favorecida en medios anaeróbicos y en presencia de agua. Además de depender del disolvente, la formación de CTX depende de que el grupo alquil-amino en la posición 9 del tioxanteno tenga el nitrógeno con el par electrones libres.

Los resultados obtenidos para del estudio fotofísico de CTX demuestran, por su parte, que el rendimiento cuántico de cruce intersistémico disminuye drásticamente con el aumento de la hidroxilidad del medio. Aunque dicho rendimiento disminuye bastante, su tiempo de vida aumenta drásticamente. Esta propiedad tiene una gran relevancia debido al carácter fotorreactivo que posee el grupo carbonilo de CTX en el estado triplete. El mismo puede actuar como un radical electrofílico capaz de abstraer hidrógenos de bio-componentes, dando como resultado una respuesta fototóxica o fotoalérgica.

En el estudio de levopromazina (LPZ o MTP) se demostró que el rendimiento cuántico del cruce intersistémico es de un 70%. Además la formación del fotoproducto principal es sulfóxido de levopromazina (MTPSO) y no se obtiene de la producción de oxígeno singlete, según propusieron previamente otros autores. En realidad, MTPSO se obtiene mediante la formación del catión radical de MTP, el cual se produce de una transferencia electrónica entre el estado triplete excitado ($^3\text{MTP}^*$)

y oxígeno molecular ($^3\text{O}_2$). Este trabajo también demuestra que los procesos de transferencia de electrones entre $^3\text{MTP}^*$ y $^3\text{O}_2$ están determinados por el disolvente, lo que implica que su fotoquímica también depende de estos parámetros. Con estos datos se pudo formular un mecanismo general para la formación de MTPSO en PBS.

SUMMARY

In 2005, the World Health Organization concluded, among other things, that: (1) The world impact of mental disorders on the quality of life is superior than that of chronic diseases such as arthritis, diabetes or heart and respiratory diseases; and (2) It is expected that by 2020, depression will be the number one disease in the developed world. The pharmacological treatment of these conditions with antidepressant is effective in approximately 60% of the patients. Typical antipsychotics, also called neuroleptics, are a group of drugs with a very heterogeneous chemical nature but with a common mechanism of action. They act primarily by blocking dopamine D_2 receptors. In the group of neuroleptics derived from phenothiazine, for example, the side chain has always 3 carbon atoms followed by a $-\text{NR}_2$ group, which is essential for antipsychotic properties. The substitution for a chlorine in the phenothiazine core induces asymmetry, which increases the pharmacological action. A $-\text{CF}_3$ group in the same position further enhances the antipsychotic and antiemetic actions of phenothiazines. Compared to CPZ, fluphenazine is approximately 20 times more potent and tioproperazine 10 times. Thioridazine, however, has only half of the pharmacological activity of CPZ. Thioxanthenes, such as chlorprothixene, have cis / trans isomerism. The cis- isomer has a higher potency than the trans- isomer and induces more phototoxicity. Furthermore, less potent drugs contain a piperidine group in the side chain.

All antidepressants are equally effective for the short term treatment of acute depressive symptoms, but differ in their adverse effects. For example, all drugs with electron-attracting substituents on the ring system are good antipsychotics, but induce more phototoxicity. Photosensitivity is an abnormal skin reaction that occurs by the combination of a chemical and exposure to ultraviolet light (UVA). The general mechanism for this phenomenon is not known, but it is postulated that the photosensitizing agent absorbs energy and its triplet state interacts directly with cellular components. Recent reports indicate that the new antidepressants are only marginally more effective than a placebo. The results of the investigation with "old generation" tricyclic antidepressants, however, indicate that the interaction of biomolecules with the excited state of these drugs may be one of the steps in the aforementioned mechanism. Therefore, understanding the properties of these excited states and their subsequent reactions will enable the development of more selective and more effective drugs with fewer side effects. For this purpose, the main objective of this work is to use chlorprothixene and levomepromazine as model for the study of the photophysics and photochemistry of enantiomeric drugs, in order to determine their mechanism of phototoxicity.

In this work we demonstrate that the high power laser flash photolysis (LFP) of chlorprothixene (zCPTX) produces P-type delayed fluorescence and a short-lived intermediate absorbing at 360 nm with a lifetime of about 56 ns under anaerobic conditions. The photochemistry zCPTX and zCPTX-HCl depends on the microenvironment (solvent, oxygen concentration, pH, irradiation wavelength, etc.). It was also demonstrated that the solvents determine the extent of the zCPTX photodegradation and the distribution of photoproducts, as well. The formation of its main product, chlorothioxanthone (CTX), is not dependent on the concentration of dissolved oxygen, but - instead - it is favored in anaerobic environments and in the presence of water. Besides, depending on the solvent, the formation of CTX requires

that the alkylamino group at the position 9 of the thioxanthene to possess a nitrogen free electron pair.

The results obtained for the photophysical study of CTX clearly demonstrate that the intersystem crossing quantum yield decreases a lot with an increasing hydroxylity of the media. Although that quantum yield decreases a lot, its lifetime increases drastically. This property is very important, because the carbonyl group of CTX in the triplet state has a considerable photoreactive character. It can act as an electrophilic radical capable of abstracting hydrogen atoms from any biomolecules, resulting in a phototoxic or photoallergic response.

In the study levomepromazine (LPZ), it was demonstrated that the formation of the main product, levomepromazine sulfoxide (LPZSO), is not obtained from the production of singlet oxygen, as previously proposed by other authors. Actually, LPZSO is obtained by the formation of the radical cation of LPZ, which is produced by an electron transfer between the triplet state and molecular oxygen. This work also demonstrates that the processes of electronic energy transfer between the triplet state of LPZ and molecular oxygen are determined by the solvent, which implies that its photochemistry is also depends on these parameters. Based on these data, a general mechanism for the formation of LPZSO in PBS is formulated.

RESUM

En el 2005, l'Organització Mundial de la Salut va concloure, entre altres coses, que: (1) l'impacte mundial dels trastorns mentals en la qualitat de vida és superior al de les malalties cròniques com l'artritis, la diabetis o les malalties cardíaques i respiratòries i (2) s'espera que en 2020 la depressió siga la malaltia número u en el

món desenrotllat. El tractament farmacològic d'estes condicions amb antidepressius és eficaç en aproximadament el 60% dels pacients. Els antipsicòtics típics, també denominats neuroléptics, constituïxen un grup de medicaments de naturalesa química molt heterogènia però amb un mecanisme d'acció comú. Estos actuen fonamentalment per bloqueig dels receptors dopaminérgics D_2 . En els neuroléptics derivats de la fenotiazina, per exemple, la cadena lateral posseïx sempre 3 àtoms de carboni seguits d'un grup $-NR_2$, la qual cosa és indispensable per a les propietats antipsicòtiques. La substitució per un clor origina asimetria en el nucli fenotiazínic, amb la qual cosa s'incrementa l'acció farmacològica. El grup $-CF_3$ en la mateixa posició incrementa encara més les accions antipsicòtiques i antiemètiques de les fenotiazines. En comparació amb la clorpromazina, la flufenazina és aproximadament 20 vegades més potent i la tioproperazina 10. La tioridazina, no obstant això, posseïx només la mitat de l'activitat farmacològica de la clorpromazina. Els tioxantenos, com el clorprotixeno, posseïxen isomeria cis/trans; l'isòmer cis té una major potència que l'isòmer trans. D'altra banda, els fàrmacs menys potents contenen un grup piperidina en la cadena lateral.

Tots els antidepressius tenen la mateixa eficàcia per al tractament a curt termini dels símptomes depressius aguts, però difereixen quant als efectes adversos. Per exemple, els que tenen substituyentes electroatrayentes en el sistema aromàtic són bons antipsicòtics, però induïxen més fototoxicitat. La fotosensibilitat és una reacció cutània anormal que es produïx per la combinació d'una substància química i l'exposició a llum ultraviolada (UVA). El mecanisme general per a aquest fenomen no es coneix, però es postula que l'agent fotosensibilizante absorbiu energia i el seu estat triplet interacciona de forma directa amb els components cel·lulars. Informes recents indiquen que els nous antidepressius són només marginalment més eficaços que un placebo. Els resultats de la investigació amb la primera generació d'antidepressius tricíclics, d'altra banda, indiquen que la interacció de certes

biomolècules amb l'estat excitat d'estes fàrmacs pot ser un dels passos en el mecanisme mencionat. Per tant, entendre les propietats d'estos estats excitats i les seues posteriors reaccions permetria el desenvolupament de fàrmacs més selectius, més eficaços i amb menys efectes secundaris. A tals efectes, l'objectiu principal d'este treball és utilitzar el model de clorprotixeno i levomepromazina per a conèixer la fotofísica i la fotoquímica de aquest tipus de fàrmacs a fi de determinar els seus mecanismes de desactivació i fotodegradació que permeten explicar els seus efectes fototòxics.

En aquest treball es demostra que la fotòlisi de flaix làser (FDL) a alta potència del clorprotixeno (zCPTX) produïx fluorescència tardana tipus P i un intermedi a 360 nm amb un temps de vida curt d'aproximadament 56 ns baix condicions anaeròbiques. La fotoquímica de zCPTX i zCPTX-HCl depén del microambient (dissolvent, concentració d'oxigen, pH, longitud d'ona d'irradiació, etc.). Se ha determinat, a més, que els dissolvents influïxen en la fotodegradació de zCPTX, igual que la distribució dels fotoproductes. La formació del seu producte principal, clorotioxantona (CTX), no depén de la concentració d'oxigen dissolt, sinó que esta afavorida en mitjans anaeròbics i en presència d'aigua. A més de dependre del dissolvent, la formació de CTX té lloc solament quan el grup alquilamino en la posició 9 del tioxanteno té el nitrogen amb el parell electrons lliures.

Els resultats obtinguts per a l'estudi fotofísic de CTX demostren, per la seua banda, que el rendiment quàntic d'encreuament intersistèma disminueix dràsticament amb l'augment de l'hidroxilitat del mig però el temps de vida del triplet augmenta dràsticament. Esta propietat té una gran rellevància a causa del caràcter fotoreactiu que posseïx el grup carbonil de CTX en l'estat triplet. El mateix pot actuar com un radical electrofílic capaç d'abstraure hidrògens de bio-components, donant com resultat una resposta fototòxica o fotoal·lèrgica.

En l'estudi de levopromazina (LPZ) es ha demostrat que el rendiment quàntic d'encreuament intersistema és d'un 70%. A més, el fotoproducte principal és el sulfòxido de levopromazina (LPZSO) que prové d'una reacció amb l'oxigen singlet, segons van proposar prèviament altres autors. En realitat, LPZSO s'obté per mitjà de la formació del radical catió de LPZ, el qual es genera a partir d'una transferència electrònica entre l'estat triplet excitat ($^3\text{LPZ}^*$) i l'oxigen molecular ($^3\text{O}_2$). Finalment, aquest treball també demostra que els processos de transferència d'electrons entre $^3\text{LPZ}^*$ i $^3\text{O}_2$ estan determinats pel dissolvent, la qual cosa implica que la seua fotoquímica també depén d'estos paràmetres. Amb estes dades es ha formulat un mecanisme general per a la formació de LPZSO en tampó fosfat.



REFERENCIAS

1. Sivaraman P, Parthipan S R, Jayaram M B (2010) Levomepromazine for Schizophrenia; Cochrane Database of Systematic Reviews 10, 1-79.
2. Schmunck G, Zakka L, Caffaratti M, Briñón M C(2005), Antipsicóticos Atípicos: Incremento en el Riesgo de Efectos Adversos Cerebro-vasculares y Mortalidad en Pacientes Ancianos con Demencia; <http://www.fcq.unc.edu.ar/cime/antipsicoticos.htm>; (Accesado: Oct´2012)
3. Alvarado R, et. al. (2009) Guía Clínica para Tratamiento de Personas con Depresión (Ministerio de Salud de Chile), Santiago: MINSAL, pp.1-90 Chile.
4. Evans T, et. al. (2003) The World Health Report 2003 - Shaping the Future;World Health Organization, France.
5. Regier D A, Narrow W E, Rae D S, Manderscheid R W, Locke B Z, Goodwin F K (1993) The Facto US Mental and Addictive Disorders Service System: Epidemiologic Catchment Area Prospective 1-year Prevalence Rates of Disorders and Services; Arch. Gen. Psychiatry 50, 85-94.
6. Greenberg P E, Stiglin L E, Finkelstein S N, Berndt E R (1993) The Economic Burden of Depression in 1990; J. Clin. Psychiatry 54, 405-418.
7. Andrews G, Sanderson K, Slade T, Issakidis C (2000) Why Does the Burden of Disease Persist?: Relating the Burden of Anxiety and Depression to Effectiveness of Treatment; Bulletin of The World Health Organization 78, 446-454.
8. Regier D A, Hirchfeld R M, Goodwin F K, Burke J D, Lazar J B, Judd L L (1992) The Nimh Depression Awareness, Recognition, and Treatment Program: Structure, Aims, and Scientific Basis; Am. J. Psychiatry 145, 1351-1357.
9. Richelson E (2001) Pharmacology of Antidepressants; Mayo Clin. Proc. 76, 511-527.

10. Anderson I M (2000) Selective Serotonin Reuptake Inhibitors versus Tricyclic Antidepressants: a Meta-analysis of Efficacy and Tolerability; *J. Affect Disord.* 58, 19-36.
11. Peretti S, Judge R, Hindermarch I (2000) Safety and Tolerability Considerations: Tricyclic Antidepressants vs Selective Serotonin Reuptake Inhibitors; *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.* 403, 17-25.
12. Steffens D C, Krishnan K R, Helms M J (1997) Are SSRIs Better than TCAs? Comparison of SSRI and TCAs: a Meta-analysis; *Depress. Anxiety* 6, 10-18.
13. Barchas J D (1977) *Psychopharmacology: from Theory to Practice* (Eds. Berger P A, Ciarranello R D and Elliot G R), Oxford University Press New York, NY.
14. Buljan D, Buljan M, Situm M (2005) Psychodermatology: a Brief Review for Clinicians; *Psychiatria Danubina* 17, 76-83.
15. Coyle J T, Enna S J (1983) *Neuroleptics: Neurochemical, Behavioral and Clinical Perspectives* Raven Press, Ed. 15.
16. Eftink M (1991) Fluorescence Techniques for Studying Protein Structure; *Methods Biochem. Anal.* 35, 127-205.
17. Dubakienė R, Kuprienė M (2006) Scientific Problems of Photosensitivity; *Medicina (Kaunas)* 42, 619-624.
18. Quintero B, Miranda M A (2000) Mechanism of Photosensitization Induced by Drugs: a General Survey; *Ars Pharmaceutica* 41, 27-46.
19. Vassileva S G, Mateev G, Parish L C (1998) Antimicrobial Photosensitivity Reactions; *Arch. Int. Med.* 158, 1993-2000.
20. Lhiaubet-Vallet V, Trzcionka J, Encinas S, Miranda M A, Chouini-Lalanne N (2004) The Triplet State of N-phenylphtalimidine with High Intersystem Crossing Efficiency: Characterization by Transient Absorption Spectroscopy and DNA Sensitization Properties; *J. Phys. Chem. B* 108, 14148-14153.
21. Murphy G M (2004) Investigation of Photosensitive Disorders; *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 20, 305-311.
22. Epe B (1993) DNA Damage Induced by Photosensitization. In *DNA and Free Radicals* (Eds. Halliwell B and Aruoma O I), Ellis Harwood, pp.41-65 New York.
23. Beijersbergen G M (1981) The Interference of Light in Pharmacotherapy; *Pharmaceutisch Weeklab. Sci. Ed.* 3, 85-95.

24. Reid C D (1996) Chemical Photosensitivity: Another Reason to Be Careful in the Sun. FDA Consumer Magazine; http://www.fda.gov/fdac/features/496_sun.html; (Accessed: Oct 2012).
25. Buck M (1998) Drug-induced Photosensitivity; *Pediatr. Pharm.* 4, 1-4.
26. Hobbs D C (1969) Distribution and Metabolism of Doxepin; *Biochem. Pharmacol.* 18, 1941-1954.
27. Lane R, Baker G B (1999) Chirality and Drugs Used in Psychiatry: Nice to Know or Need to Know?; *Cell. Mol. Neurobiol.* 19, 355-372.
28. Wainer I (1988) *Drug Stereochemistry* (Eds. Wainer I and Drayer D), Marcel Dekker Inc., New York.
29. Li-Wan P A, Irwin W J (1979) A High Performance Liquid Chromatographic Assay of cis- and trans- Isomers of Tricyclic Neuroleptic Drugs; *J. Pharm. Pharmacol.* 31, 512-516.
30. Tammilehto S, Sysmäläinen M, Mäkinen P (1984) High-performance Thin-layer Chromatographic Determination of cis- and trans-chlorprothixene and two Oxidation Products; *J. Chromatogr. A* 285, 235-241.
31. Midha K K, Hubbard J W, Rawson M, Schwede R (1996) The Impact of Stereoisomerism in a Bioequivalence Study on two Formulations of Doxepin; *Eur. J. Pharmac. Sci.* 4, 133-138.
32. Ariens E (1984) Stereochemistry, a Basis for Sophisticated Nonsense in Pharmacokinetics and Clinical Pharmacology; *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 26, 663-668.
33. Hubbard J, Ganes D, Lim H, Midha K (1986) Chiral Pharmacology and its Consequences for Therapeutic Monitoring; *Clin. Biochem.* 19, 107-112.
34. Ghabrial H, Prakash C, Tacke U G, Blair I A, Wilkinson G R (1991) Geometric Isomerization of Doxepin During N-demethylation in Humans; *Drug Metab. Dispos.* 19, 596-599.
35. Li-Wan P A, Irwin W J (1980) The Photochemical Stability of cis- and trans- Isomers of Tricyclic Neuroleptic Drugs; *J. Pharm. Pharmacol.* 32, 25-29.
36. Lhiaubet-Vallet V, Sarabia Z, Boscá F, Miranda M A (2004) Human Serum Albumin - Mediated Stereodifferentiation in the Triplet State Behavior of (S)- and (R)- Carprofen; *J. Am. Chem. Soc.* 126, 9538-9539.

37. Caldwell J (1992) The Importance of Stereochemistry in Drug Action and Disposition; *J. Clin. Pharm.* 32, 925-929.
38. Caldwell J (1996) Importance of Stereospecific Bioanalytical Monitoring in Drug Development; *J. Chromatogr. A* 719, 3-13.
39. Rudorfer M V, Potter W (1999) Metabolism of Tricyclic Antidepressants; *Cell. Mol. Neurobiol.* 19, 373-409.
40. Bourdelande J L, Nonell S, Acuña U A, Sastre R (1996) Glosario de Términos Usados en Fotoquímica; *Pure & Appl. Chem.* 68, 2223-2286.
41. Mäuser H (1974) *Formale Kinetic: Experimentelle Methoden der Physik und der Chemie*; Bertelsmann Universitätsverlag 1, 297-363.
42. Mäuser H, Gauglitz G (1998) Photokinetics: Theoretical Fundamentals and Applications. In *Comprehensive Chemical Kinetics* (Eds. Compton R G and Hancock G), Elsevier Science Publishers, Ed. 36 New York.
43. Bensasson R V, Gramain J (1980) Benzophenone Triplet Properties in Acetonitrile and Water. Reduction by Lactams; *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* 76, 1801-1810.
44. Bancirova M (2011) Sodium Azide as a Specific Quencher of Singlet Oxygen during Chemiluminescent Detection by Luminol and Cypridina Luciferin Analogues; *Luminescence* 26, 685-688.
45. Li M Y, Cline C S, Koker E B, Carmichael H H, Chignell C F, Bilski P (2001) Quenching of Singlet Molecular Oxygen (1O_2) by Azide Anion in Solvent Mixtures; *Photochem. Photobiol.* 74, 760-764.
46. Schweitzer C, Schmidt R (2003) Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen; *Chem. Rev.* 103, 1685-1757.
47. Caregnato P, David-Gara P M, Bosio G N, Gonzalez M C, Russo N, Michelini M, Mártire D O (2008) Theoretical and Experimental Investigation on the Oxidation of Gallic Acid by Sulfate Radical Anions; *J. Phys. Chem. A* 112, 1188-1194.
48. McElroy W J, Waygood S J (1990) Kinetics of the Reactions of the SO_4^- Radical with SO_4^- , $S_2O_8^{2-}$, H_2O and Fe^{2+} ; *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 68, 2557-2564.
49. Martin J W, Whittle D M, Muir D C, Mabury S A (2004) Perfluoroalkyl Contaminants in a Food Web from Lake Ontario; *Environ. Sci. Technol.* 38, 5379-5385.
50. Kolthoff I M, Kohlt I M (1951) The Chemistry of Persulfate. I. The Kinetics and Mechanism of the Decomposition of the Persulfate Ion in Aqueous Medium; *J. Am.*

- Chem. Soc. 73, 3055-3059.
51. Wardman P (1989) Reduction Potentials of one-electron Couples Involving Free Radicals in Aqueous Solution; *J. Phys. Chem. Ref. Data* 18, 1637-1755.
 52. Kasem K K (2010) Hydrogen Production by Selective Photo-dissociation of Water in Aqueous Colloidal Nano-particles of Doped Iron (III) Oxides Semiconductors; *J. Mater. Sci. Technol.* 26, 619-624.
 53. Kasem K K, Finley A, Folberth J, Syed M, Kirkpatrick E (2012) Photoelectrochemical and Spectroscopic Studies of Colloidal Nano-particles of Mixed $\text{TiO}_2/\text{V}_2\text{O}_5$ Metal-oxide Semiconductors; *Materials Sci. & Appl.* 3, 265-271.
 54. Kasem K K, Zia N (2012) Photoelectrochemical Studies at CdS/PTTh Nanoparticles Interfaces; *Mater. Sci. & Appl.* 3, 719-727.
 55. Schwarz H A (1981) Free Radicals Generated by Radiolysis of Aqueous Solutions; *J. Chem. Ed.* 58, 101-105.
 56. García C, Oyola R, Piñero L E, Arce R, Silva J, Sánchez V (2005) Substitution and Solvent Effect on the Photophysical Properties of Several Series of 10-alkylated Phenothiazine Derivatives; *J. Phys. Chem. A* 109, 3360-3371.
 57. Gupta R R (1988) Phenothiazines and 1,4-Benzothiazines Chemical and Biomedical Aspects; Elsevier Science Publishers, pp.1-992 Netherlands..
 58. Elisei F, Latterini L, Aloisi G G, Mazzucato U, Viola G, Miolo G, Vedaldi D, Dall'Acqua F (2002) Excited State Properties and in vitro Phototoxicity Studies of three Phenothiazine Derivatives; *Photochem. Photobiol.* 75(1), 11-21.
 59. Garcia C, Smith G A, Grant M, Kochevar I E, Redmond R W (1995) Mechanism and Solvent Dependence for the Photoionization of Promazine and Chlorpromazine; *J. Am. Chem. Soc.* 117, 10871-10878.
 60. Kuhn H J, Braslavsky S E, Schmidt R (1989) Chemical Actinometry; *Pure & Appl. Chem.* 61, 187-210.
 61. Lakowicz J, Dattelbaum J D, Gryczynski I (1999) Intensity Measurements in Scattering Media; *Sensors And Actuators B* 60, 1-7.
 62. Dalton J C, Montgomery F C (1974) Solvent Effects on Thioxanthone Fluorescence; *J. Am. Chem. Soc.* 96, 6230-6232.
 63. Petrushenko K B, Vokin A I, Turchaninov V K, Frolov Y L (1983) Energy Degradation Processes of the Electron Excitation of the Phenothiazine Molecule; *Bull. Acad. Sci.*

- USSR Div. Chem. Sci.(Engl. Transl.) 32, 2151-2152.
64. Loennechen T, Andersen A, Hals P, Dahl S G (1990) High-performance Liquid Chromatography Determination of Levomepromazine (Methotrimeprazine) and its Main Metabolites in Serum and Urine; *Ther. Drug Monit.* 574-581.
 65. Bensasson R V, Land E J, Truscott T G (1993) *Excited States and Free Radicals in Biology and Medicine: Contributions from Flash Photolysis and Pulse Radiolysis* Oxford University Press, Chapter 5, pp.142-172 New York.
 66. Cosa G, Scaiano J C (2004) *Laser Techniques in the Study of Drug Photochemistry; Photochem. Photobiol.* 80, 159-174.
 67. Enamoto K, Formation a D (2006) Formation and Decay of the Triplet Excited State of Pyridine; *J. Phys. Chem. A* 110, 9874-9879.
 68. Grabner G, Rechthaler K, Mayer B, Köhler G, Rotkiewicz K (2000) Solvent Influences on the Photophysics of Naphthalene: Fluorescence and Triplet State Properties in Aqueous Solutions and in Cyclodextrin Complexes; *J. Phys. Chem. A* 104, 1365-1376.
 69. Ljunggren B, Möller H (1977) Phenothiazine Phototoxicity: an Experimental Study on Chlorpromazine and its Metabolites; *J. Invest. Dermatol.* 68, 313-317.
 70. Allonas X, Ley C, Bibaut C, Jacques P, Fouassier J (2000) Investigation of the Triplet Quantum Yield of Thioxanthone by Time-resolved Thermal Lens Spectroscopy: Solvent and Population Lens Effects; *Chem. Phys. Lett.* 322, 483-490.
 71. Merkel P, Dinnocenzo J P (2008) Thermodynamic Energies of Donor and Acceptor Triplet States; *J. Photochem. Photobiol. A:Chem.* 193, 110-121.
 72. Jouyban A, Yousefi B H (2003) A Quantitative Structure Property Relationship Study of Electrophoretic Mobility of Analytes in Capillary Zone Electrophoresis; *Comp. Biol. Chem.* 27, 297-303.
 73. Piñero L E, García C, Lhiaubet-Vallet V, Oyola R, Miranda M A (2009) Photophysics and Photochemistry of Z-chlorprothixene in Acetonitrile; *Photochem. Photobiol.* 85, 895-900.
 74. Kim S H, Kim K (1982) Mechanism on the Formation of Bis-9,9'-thioxanthylmethane from the Reaction of Thioxanthylum Ion with Dimethyl Mercury (I); *Bull. Korean Chem. Soc.* 3(4), 157-162.
 75. García C, Piñero L, Oyola R, Arce R (2009) Photodegradation of 2-chloro Substituted Phenothiazines in Alcohols; *Photochem. Photobiol.* 85, 160-170.

76. Girard Y, Hamel P, Therien M, Springer J P, Hirshfield J (1987) First Synthesis of Sulfoxides and Sulfones in the 3H-Phenothiazin-3-one and 5H-Benzo[a]phenothiazin-5-one Ring Systems. Addition Reactions with Nucleophiles; *J. Org. Chem.* 52, 4000-4006.
77. Tosa M, Paizs C, Majdik C, Poppe L, Kolonits P, Silberg J A, Novák L, Irimie F (2001) Selective Oxidation Methods for Preparation of N-alkylphenothiazine Sulfoxide and Sulfones; *Heterocycl. Commun.* 7, 277-282.
78. Gilman H, Ingham R K, Champaigne J F, Diehl J W, Ranck R O (1954) Some Derivatives of 10-Alkylphenothiazines; *J. Org. Chem.* 19, 560-569.
79. Karpinska J (2001) Simultaneous Quantification of Promazine Hydrochloride and its Sulfoxide in Pharmaceutical Preparations; *Anal. Sc.* 17, 249-253.
80. Schmidt M, Teitge M, Castillo M E, Brandt T, Dobner B, Langner A (2008) Synthesis and Biochemical Characterization of New Phenothiazines and Related Drugs as MDR Reversal Agents; *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 341, 624-638.
81. Jaworski T, Sardesai M S, Aravagiri M, Lin G, Shi Y Y, Hawes E M, Hubbard J W, McKay G, Midha K K (1993) Synthesis of the N-oxides of Phenothiazine Antipsychotic Agents; *J. Pharm. Sc.* 82, 330-333.
82. Essien E E, Cowan D A, Beckett A H (1975) Metabolism of Phenothiazine: Identification of N-oxygenated Products by Gas Chromatography and Mass Spectrometry; *J. Pharm. Pharmacol.* 27, 334-342.
83. Kemp D S, Vellaccio F (1981) Studies toward Practical Thioxanthene-derived Protective Groups. 9,10-propanothioxanthylum Salts; *J. Org. Chem.* 46, 1807-1810.
84. Bagli M, Suverkrup R, Quadflieg R, Hoflich G, Kasper S, Moller H, Langer M, Barlage U, Rao M L (1999) Pharmacokinetic-pharmacodynamic Modeling of Tolerance to the Prolactin-secreting Effect of Chlorprothixene after Different Modes of Drug Administration; *JPET* 291, 547-554.
85. Misiuk W (2006) Sensitive Spectrophotometric Methods for Quantitative Determination of Chlorprothixene in Pharmaceutical Dosage Form; *Pak. J. Pharm. Sci.* 19, 87-94.
86. Dufner K, Bus L A, Kizito J (2006) Drug-induced Photosensitivity; *Hosp. Pharm.* 41, 196-206.
87. Herrera D E, De G M (2007) Dermatitis Fotoalérgica Y Fototóxica (Eds. Herrera E and Ceballos A M); Área Científica Menarini, Chapter 21, pp.96-100 España..

88. Enna S J, Bennett J P, Burt D R, Creese I, U'Prichard D C, Greenberg D A, Snyder S H (1977) Stereospecificity and Clinical Potency of Neuroleptics; *Nature* 267, 183-184.
89. Breyer-Pfaff U, Wiest E, Prox A, Wachsmuth H, Protiva M, Sindelar K, Friebolin H, Krauss D, Kunzelmann P, (1985) Phenolic Metabolites of Chlorprothixene in Man and Dog; *Drug Metabol. Disp.* 13, 479-489.
90. Saltiel J, Metts L, Wrighton M (1970) The Direct Cis-trans Photoisomerization of 1,3-dienes in Solution; *J. Am. Chem. Soc.* 92, 3227-3229.
91. Ram R M, Venkat R V, Sriniva U, Ram R M, Jayathirtha R V (2002) Regioselective E(trans)-z(cis) Photoisomerization in Naphthyldiene Derivatives; *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)* 114, 603-609.
92. Piñero L E, García C, Lhiaubet-Vallet V, Miranda M A, Oyola R (2011) Solvent Dependence of the Photophysical Properties of 2-Chlorothioxanthone, the Principal Photoproduct of Chlorprothixene; *Photochem. Photobiol.* 87, 611-617.
93. Klán P, Wirz J (2009) *Photochemistry of Organic Compounds: from Concepts to Practice*; John Wiley & Sons, pp.1-509.
94. Kropp P J, Reardon E J, Gaibel Z L, Williard k F, Hattaway J H (1973) Photochemistry of Alkenes. Direct Irradiation in Hydroxylic Media; *J. Am. Chem. Soc.* 95(21), 7058-7067.
95. Wan P, Yates K (1983) Photohydration of Aromatic Alkenes. Catalytic Phenomena and Structure-reactivity Studies; *J. Org. Chem.* 48, 869-876.
96. Bonvicino G E, Arlt H G, Pearson K M, Hardy R A (1961) Tranquilizing Agents. Xanthen- and Thioxanthen-propylamines and Related Compounds; *J. Org. Chem.* 2383-2392.
97. DeBoer C D, Schlessinger R H (1972) Rate of the Self-quenching Reaction for Thioxanthone Triplets; *J. Am. Chem. Soc.* 94, 655-656.
98. Yip R W, Szabo A G, Tolg P K (1973) Triplet State of Ketones in Solutions. Quenching Rate Studies of Thioxanthenone Triplets by Flash Absorption; *J. Am. Chem. Soc.* 95, 4471-4472.
99. Zhu H, Wang W, Yao S (2006) Studies on Reaction of Amino Acids and Triplet Thioxanthone Derivatives by Laser Flash Photolysis; *Invest New Drugs* 24, 465-470.
100. Sha M, Allen N S, Salleh N G, Corrales T, Egde M, Catalina F, Bosch P, Green A (1997) Photochemistry and Photoinitiator Properties of Novel 1-Chloro-substituted

- Thioxanthenes. III. Preliminary Study of the Photoacid Generation; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 111, 229-232.
101. Neuman M G, Gehlen M H, Encinas M V, Allen N S, Corrales T, Peinado C, Catalina F (1977) Photophysics and Photoreactivity of Substituted Thioxanthenes; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 93, 1517-1521.
 102. Encinas M V, Rufs A M, Corrales T, Catalina F, Peinado C, Schmith K, Neumann M G, Allen N S (2002) The Influence of the Photophysics of 2-Substituted Thioxanthenes on their Activity as Photoinitiators; *Polymer* 43, 3909-3913.
 103. Krystkowiak E, Maciejewski A, Kubicki J (2006) Spectral and Photophysical Properties of Thioxanthone in Protic and Aprotic Solvents: the Role of Hydrogen Bonds in S₁-Thioxanthone Deactivation; *ChemPhysChem.* 7, 597-606.
 104. Burget D, Jacques P (1992) Dramatic Solvent Effects on Thioxanthone Fluorescence Lifetime; *J. Luminesc.* 54, 177-181.
 105. Allen N S, Catalina F, Green P N, Green W A (1985) Photochemistry of Thioxanthone: I - Spectroscopic and Flash Photolysis Study on Oil Soluble Structure; *Eur. Polym. J.* 21, 841-848.
 106. Giovanelli K H, Dehler J, Hohlneicher G (1971) Zur Theoretischen Interpretation Der Elektronenspektren Einiger Mit Akzeptor-und Donatorgruppen Substituierter Benzole Sowie Daraus Abgeleiteter Verbindungen; *Ber. Bunsenges.* 75, 864-877.
 107. Lai T, Lim E C (1981) Time-resolved Fluorescence Spectra and Energy-resolved Decays of Vibronically Coupled Electronic States: Effects of Solvent Relaxation on the Excited-state Dynamics of Thioxanthone; *Chem. Phys. Lett.* 84, 303-307.
 108. Angulo G, Grilj J, Vauthey E, Serrano-Andrés L, Rubio-Pons O, Jacques P (2010) Ultrafast Decay of the Excited Singlet States of Thioxanthone by Internal Conversion and Intersystem Crossing; *ChemPhysChem* 11, 480-488.
 109. Gilbert A, Baggott J (1991) *Essentials of Molecular Photochemistry* CRC Press, pp.1-538 Florida.
 110. Ley C, Morlet-Savary F, Jacques P, Fouassier J P (2000) Solvent Dependence of the Intersystem Crossing Kinetics of Thioxanthone; *Chem. Physics* 255, 335-346.
 111. Borisevich N A, Kazberuk D V, Lysak N A, Tolstorozhev G B (1994) Mechanisms of Relaxation Processes in Benzophenone Vapor Molecules Excited to Various Electronic States; *J. Appl. Spectr.* 60, 193-195.
 112. Turro N (1991) *Modern Molecular Photochemistry* University Science Books CA.

113. Rusakowicz R, Byers G W, Leermakers P A (1971) Electronically Excited Aromatic Carbonyl Compounds in Hydrogen Bonding and Acid Media; *J. Am. Chem. Soc.* 93, 3263-3266.
114. Ferreira G C, Schmitt C C, Neumann M G (2006) Dependence of the Thioxanthone Triplet-triplet Absorption Spectrum with Solvent Polarity and Aromatic Ring Substitution; *J. Braz. Chem. Soc.* 17, 905-909.
115. Corrales T, Catalina F, Allen N S, Peinado C (2006) Photochemistry and Photoinduced Polymerisation Activity of Thioxanthone Initiators: an Overview on Recent Advances (Eds. Fouassier J P), In *Photochemistry and UV Curing: New Trends*, Vol. 1, Chapter 4, pp.31-44, India.
116. Rodrigues J F, Da Silva F (2010) Laser Flash Photolysis Study of the Photochemistry of Thioxanthone in Organic Solvents; *J. Braz. Chem. Soc.* 21, 960-965.
117. Scaiano J C (1989) *CRC Handbook of Organic Photochemistry* CRC Press, Ed. 2 Boca Raton, Fl.
118. Loughnot D J, Turck C, Fouassier J P (1989) Water-soluble Polymerization Initiators Based on the Thioxanthone Structure: a Spectroscopic and Laser Photolysis Study; *Macromolecules* 22, 108-116.
119. Karpinska J, Sokol A, Skoczylas M (2008) An Application of Uv-derivative Spectrophotometry and Bivariate Calibration Algorithm for Study of Photostability of Levomepromazine Hydrochloride; *Spectrochim. Acta Part A* 71, 1562-1564.
120. Moroi Y, Braun A M, Graetzel M (1979) Light-initiated Electron Transfer in Functional Surfactant Assemblies. 1. Micelles with Transition Metal Counterions; *J. Am. Chem. Soc.* 101, 567-572.
121. Alkaitis S, Beck G, Graetzel M (1975) Laser Photoionization of Phenothiazine in Alcoholic and Aqueous Micellar Solution. Electron Transfer from Triplet States to Metal Ion Acceptors; *J. Am. Chem. Soc.* 97, 5723-5729.
122. Barra M, Calabrese G S, Allen M T, Redmond R W, Sinta R, Lamola A A, Small R D, Scaiano J (1991) Photophysical and Photochemical Studies of Phenothiazine and some Derivatives: Explanatory Studies of Novel Photosensitizers for Photoresist Technology; *Chem. of Mater.* 3, 610-616.
123. Hovey M C (1982) Micellar Photochemistry. Photooxidations with Intramicellar-generated Singlet Oxygen; *J. Am. Chem. Soc.* 104, 4196-4202.
124. Vázquez A, Tudela J, Varón R, García C F (1992) Determination of the Molar Absorptivities of Phenothiazine Cation Radicals Generated by Oxidation with

- Hydrogen Peroxide/peroxidase; *Anal. Biochem.* 202, 245-248.
125. Piette L H, Bulow G, Yamazaki I (1964) Electron-paramagnetic-resonance Studies of the Chlorpromazine Free Radical Formed During Enzymatic Oxidation by Peroxidase-hydrogen Peroxide; *Biochim. Biophys. Acta* 29, 120-129.
 126. Xiang B, Kevan L (1994) Photooxidation of Phenothiazine Derivatives in Silicas of Different Pore Sizes; *Langmuir* 10, 2688-2693.
 127. Motten A, Buettner G R, Chignell C F (1985) Spectroscopic Studies of Cutaneous Photosensitizing Agents - VIII. A Spin-trapping Study of Light Induced Free Radical from Chlorpromazine and Promazine; *Photochem. Photobiol.* 42, 9-15.
 128. Morliere P, Bosca F, Miranda M A, Castell J V, Santus R (2004) Primary Photochemical Processes of the Phototoxic Neuroleptic Cyamemazine: a Study by Laser Flash Photolysis and Steady-state Irradiation; *Photochem. Photobiol.* 80, 535-541.
 129. Cheng H, Sackett P H, McCreery R L (1978) Reactions of Chlorpromazine Cation Radical with Physiologically Occurring Nucleophiles; *J. Med. Chem.* 21, 948-952.
 130. Vargas F, Carbonell K, Camacho M (2003) Photochemistry and in vitro Phototoxicity Studies of Levomepromazine (Methotrimeprazine), a Phototoxic Neuroleptic Drug; *Pharmazie* 5, 315-319.
 131. Loennechen T, Dahl S G (1990) High-performance Liquid Chromatography of Levomepromazine (Methotrimeprazine) and its Main Metabolites; *J. Chromatogr. A* 503, 205-215.
 132. Carmichael I, Helman W P, Hug G L (1987) Extinction Coefficients of Triplet-triplet Absorption Spectra of Organic Molecules in Condensed Phases: a Least-squares Analysis; *J. Phys. Chem. Ref. Data* 16, 240-260.
 133. Smith G A, McGimpsey W G (1994) Two-laser Photochemistry of Phenothiazine in Solution: Ionization and Bond Cleavage from Upper States; *J. Phys. Chem.* 98, 2923-2929.
 134. Dahl S G, Hjorth M (1982) Chlorpromazine, Methotrimeprazine, and Metabolites Structural Changes Accompanying the Loss of Neuroleptic Potency by Ring Sulfoxidation; *Molecular Pharmacology* 21, 409-414.
 135. De M N, Koenen J (1985) Degradation Products of the Promethazine Radical Cation; *Pharmacutish Weekblad Scientific Edition* 7, 121-124.

136. Kochevar I E, Hom J (1983) Photoproducts of Chlorpromazine That Cause Red Blood Cell Lysis; *Photochem. Photobiol.* 37, 163-168.
137. Bosca F, Molière P, Miranda M A, Castell J, Santus R (2006) Primary Steps of the Photochemical Reactions of 2-cyano-10-(3-[Dimethylamino,n-oxide]-2-methylpropyl)-5-oxide-phenothiazine, the Photoproduct of Cyamemazine, a Phototoxic Neuroleptic: Comparison with the Sulfoxide; *Photochem. Photobiol. Sci.* 5, 336-342.
138. Tucker M J, Oyola R, Gai F (2006) A Novel Fluorescent Probe for Protein Binding and Folding Studies: P-cyano-phenylalanine; *Biopolymers* 83, 571-576.
139. Buettner G, Motten A G, Hall R D, Chignell C F (1986) Free Radical Production by Chlorpromazine Sulfoxide. An ESR Spin-trapping and Flash Photolysis Study; *Photochem. Photobiol.* 44, 5-10.
140. Bosca F, Lhiaubet-Vallet V, Cuquerella M C, Castell J V, Miranda M A (2006) The Triplet Energy of Thymine in Dna; *J. Am. Chem. Soc.* 128, 6318-6319.
141. Clare N K, Wh (1947) A Photosensitized Keratitis in Young Cattle Following the Use of Phenothiazine as an Anthelmintic : li. The Metabolism of Phenothiazine in Ruminants; *Astr. Vet. J.* 23, 340-344.
142. Buettner G, Hall R, Chignell C, Motten A (1989) The Stepwise Biphotonic Photoionization of Chlorpromazine as Seen by Laser Flash Photolysis; *Photochem. Photobiol.* 49, 249-256.
143. Schoonderwoerd S, Beijerbergen G, Henegouwen V, Leijendijk J (1988) Photobinding of Chlorpromazine and its Sulfoxide in Vitro and in Vivo; *Photochem. Photobiol.* 48, 621-626.
144. Cadet J, Delatour T , Douki T , Gasparutto D, Pouget J, Ravanat J , Sauvaigo S (1999) Hydroxyl Radicals and Dna Base Damage; *Mutation Research* 424, 9-21.
145. Becker R S, Ralph S B (1980) Photophysical Properties of Nucleic Acid Components:1. The Pyrimidines: Thymine, Uracil, N, N-dimethyl Derivatives and Thymidine; *Photochem. Photobiol.* 31, 5-13.
146. Wood P D, Redmond R W (1996) Triplet State Interactions Between Nucleic Acid Bases in Solution at Room Temperature: Intermolecular Energy and Electron Transfer; *J. Am. Chem. Soc.* 118, 4256-4263.



LISTA DE PUBLICACIONES

1. Piñero L E, García C, Lhiaubet-Vallet V, Oyola R, Miranda M A (2009) Photophysical and Photochemical Properties of z-Chlorprothixene in Acetonitrile, *Photochem. Photobiol.* 85, 895-900.
2. Piñero L E, García C, Lhiaubet-Vallet V, Miranda M A, Oyola R (2011) Solvent Dependence of the Photophysical Properties of 2-Chlorothioxanthone, the Principal Photoproduct of Chlorprothixene; *Photochem. Photobiol.* 87, 611-617.
3. Piñero-Santiago L, García C, Lhiaubet-Vallet V, Trzcionka J, Oyola R, Torres K, Leguillú J, Miranda MA (2013) Photooxidation Mechanism of Levomepromazine in Different Solvents; *Photochem. Photobiol.* 89, 1479–1489