

Degradación Fotoquímica de Pesticidas. Efecto de ciclodextrinas

Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias Químicas

Licenciada Virginia Laura Lobatto

Directora: Dra. Elba I. Buján

Co-Director: Dr. Gustavo A. Argüello

Instituto de Investigaciones en Físicoquímica de Córdoba (INFIQC)

Departamento de Química Orgánica

Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Nacional de Córdoba, Argentina



Departamento de
QUÍMICA ORGÁNICA
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Córdoba

I N F I Q C

2018

Comisión de tesis:

Directora: Dra. Elba I. Buján

Co-Director: Dr. Gustavo A. Argüello

Dra. Natalia L. Pacioni

Dr. Mariano A. Teruel

**Evaluador Externo: Dr. Edgardo N. Durantini
(UNRC)**



I N F I Q C



**Departamento de
QUÍMICA ORGÁNICA**
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Córdoba

A mi hijo, Álvaro, mi amor absoluto hacia vos

A Fede, mi compañero de la vida

A mis papás, Silvana y Gabriel, por brindarme todo

A mi hermana, María Pía, por estar siempre a mi lado

A toda MI FAMILIA que siempre está en todo momento

El Ciclo de Mi Tesis



Después de un largo camino, creo que esta caricatura lo resume todo.

Este ciclo se repitió numerosas veces en estos 6 años, con un período único en cada ciclo.

Agradecimientos

Maravillosos sentimientos tengo en estos momentos por alcanzar esta meta personal. Todos aportaron un granito de arena día a día en esta tesis como así también en mi desarrollo personal.

Les quiero compartir la siguiente frase que siempre está presente en mi vida,

**Cada persona que llegues a conocer...
Sabe algo que TÚ NO sabes**

Bill Nye

Quisiera agradecer a la Universidad Nacional de Córdoba y la Facultad de Ciencias Químicas por haberme brindado de una excelente formación, tanto en la carrera de grado como en el doctorado. Al Departamento de Química Orgánica y al INFIQC por haberme brindado un lugar para aprender. A CONICET por haberme brindado el apoyo económico que me permitió seguir con mi formación académica.

Primero y lo más importante que tengo en mi vida, a TODA MI FAMILIA materna y paterna, que siempre me apoyan y me alientan, son mi apoyo, mis pilares y siempre atentos para lo que uno necesite. A mi familia política que siempre cuento con su apoyo a pesar de las distancias.

A mis amores y mis compañeros de mi vida, Alvarito y Fede, que los amo y hago todo por ellos y para ellos, que siempre nos acompañamos en cada deseo que nos proponemos.

A mi directora y co-director, Elba y Gustavo, por haberme permitido trabajar con ellos, por dejarme ser como soy cada día, por los consejos, sugerencias y discusiones a lo largo de estos años.

A mi comisión de tesis, Natalia y Mariano, por haberme ayudado con sus sugerencias, discusiones y el apoyo de todos estos años. A Edgardo, el evaluador externo, por haber aceptado leer esta tesis y corregirla.

A Mino, Fiona y su familia por abrirme la puerta de su casa en Sudáfrica y tener una experiencia maravillosa.

A Diego Andrada, que fue mi primer profe dentro del Departamento, quien me enseñó cómo desempeñarme dentro de un laboratorio.

A Rita y Raquel, por las ayudas brindadas y discusiones en el laboratorio.

Al grupo “Así trabajamos..je” que siempre estuvieron para apoyarme en mis travesuras y locuras, por su paciencia y prestar el oído cuando hacía falta, en compartir triunfos, derrotas, alegrías y tristezas de cada uno.

A todos los becarios del grupo 006-009 y 004 que siempre están dispuestos a ayudarme dentro y fuera del laboratorio, por los congresos, las juntadas, los almuerzos y meriendas compartidas.

A todo el grupo del laboratorio 006-009, los que siguen acá y los que se fueron del laboratorio por apoyarme día a día.

A nuestros secretarios de Orgánica, Kike, Gloria y Julio, por su apoyo en todo lo necesario ya sea administrativo y no administrativo. A las secretarias (Laura, Eugenia y Paula) y los CPA del INFIQC, por todo el apoyo brindado. Siempre todos tan atentos y dispuestos para las consultas y problemas que uno tiene día a día.

Al grupo de productos naturales, que siempre tienen la puerta abierta y fui bienvenida.

A Gloria y Carina, por la ayuda brindada con todos los espectros de RMN que hice a lo largo de esta tesis.

A mis amigos que tengo por las vueltas de la vida, donde los caminos se cruzaron y por alguna razón seguimos compartiendo momentos.

¡¡GRACIAS A TODOS!!

ÍNDICE DE CONTENIDO

Capítulo 1

PROBLEMÁTICA / OBJETIVOS / RESUMEN

1.1.-Problemática	3
1.2.-Objetivos.....	5
1.2.1.-Objetivo general.....	5
1.2.2.-Objetivos específicos.....	5
1.3.-Resumen del trabajo realizado	6
1.4.-Bibliografía.....	7

Capítulo 2

INTRODUCCIÓN TEMÁTICA

2.1.-Pesticidas.....	11
2.1.1.-Definición.....	11
2.1.2.-Clasificación	12
2.1.3.-Pesticidas estudiados	15
2.1.3.1.-Pesticidas de la familia de las Dinitroanilinas	15
2.1.3.2.-Pesticidas Organofosforados.....	17
2.2.-Degradación de pesticidas.....	20
2.3.-Química supramolecular	24
2.4.-Bibliografía.....	38

Capítulo 3

FOTODEGRADACIÓN DIRECTA DE CLORPIRIFOS-METIL Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN

3.1.-Introducción	47
3.2.-Objetivos.....	48
3.3.-Resultados y Discusión	49
3.3.1.-Caracterización fisicoquímica de los compuestos estudiados	49
3.3.1.1.-Clorpirifos-metil (1).....	49
3.3.1.2.-Clorpirifos-metil oxón (2).....	52
3.3.1.3.-3,5,6-Tricloro-2-piridinol (3)	54
3.3.2.- Análisis de productos de fotodegradación.....	56
3.3.2.1.- Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (HRMS). 56	
3.3.2.2.- Resonancia magnética nuclear (RMN).....	63

3.3.3.-Estudios Cinéticos. Determinación de las constantes observadas de desaparición para la fotodegradación.....	66
3.3.3.1.-Fotodegradación de Clorpirifos-metil (1).....	67
3.3.3.2.-Fotodegradación de Clorpirifos-metil oxón (2)	70
3.3.3.3.-Fotodegradación de 3,5,6-tricloro-2-piridinol (3)	71
3.3.4.-Camino de fotodegradación	74
3.4.-Sección experimental	76
3.4.1.-Materiales	76
3.4.2.-Equipos	77
3.4.3.-Métodos de irradiación.....	78
3.4.4.-Estudios por espectrofotometría UV-Visible.....	78
3.5.-Conclusión.....	79
3.6.-Bibliografía	79

Capítulo 4

FOTODEGRADACIÓN DIRECTA DE CLORPIRIFOS-METIL Y CLORPIRIFOS-METIL OXÓN EN PRESENCIA DE CICLODEXTRINAS

4.1.-Introducción.....	85
4.2.-Objetivos	87
4.3.-Resultados y Discusión	88
4.3.1.-Formación de un complejo de inclusión entre clorpirifos-metil y β -CD	88
4.3.2.-Efecto de β -CD sobre los productos de fotólisis de clorpirifos-metil ...	93
4.3.3.-Estudios cinéticos en presencia de CDs nativas y modificadas sobre la fotodegradación directa de clorpirifos-metil y clorpirifos-metil oxón.....	95
4.3.3.1.-Efecto de la presencia de β -CD.....	95
4.3.3.2.-Efecto de CDs nativas	105
4.3.3.3.-Efecto de RAMEB (CD modificada)	109
4.4.-Sección experimental	112
4.4.1.-Materiales	112
4.4.2.-Equipos	112
4.4.3.-Métodos de irradiación.....	113
4.4.4.-Estudios por espectrofotometría UV-Visible.....	113
4.5.-Conclusión.....	114
4.6.-Bibliografía	115

Capítulo 5 INTERACCIÓN DE β -CICLODEXTRINA CON TRIFLURALINA Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN EN SOLUCIÓN

5.1.-Introducción	119
5.2.-Objetivos.....	123
5.3.-Resultados de trifluralina (TFA).....	124
5.3.1.-Características fisicoquímicas	124
5.3.2.-Estudio de la interacción entre trifluralina y β -CD.....	125
5.4.-Resultados de <i>N</i> -n-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilánilina (NPTA)	133
5.4.1.-Características fisicoquímicas	133
5.4.2.-Estudio de la interacción entre NPTA y β -CD.....	135
5.5.-Resultados de 2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1- <i>H</i> -bencimidazol-3-óxido (NOx)	141
5.5.1.-Características fisicoquímicas	141
5.5.2.-Estudio de la interacción entre NOxB y β -CD	143
5.6.-Otros estudios realizados con TFA , NPTA y NOx en presencia de β -CD....	146
5.6.1.-Dicroísmo Circular	146
5.6.2.-Espectroscopía Infrarroja	150
5.7.-Sección experimental	150
5.7.1.-Materiales	150
5.7.2.-Equipos.....	152
5.7.3.-Estudios UV-Visible.....	153
5.7.4.-Parámetros y preparación de soluciones para su utilización en el estudio de Dicroísmo Circular	154
5.8.-RMN de los compuestos estudiados.....	155
5.9.-Conclusión.....	157
5.10.-Bibliografía.....	157

Capítulo 6 INTERACCIÓN DE CICLODEXTRINAS EN ESTADO SÓLIDO CON DOS PESTICIDAS

6.1.-Introducción	163
6.1.1.-La celda unidad	164
6.1.2.-Empaquetamiento de las ciclodextrinas y sus complejos.....	166
6.1.3.-Etapas en un estudio cristalográfico.....	168
6.1.3.-Análisis térmicos	170
6.2.-Objetivos.....	171
6.3.-Resultados y Discusión.....	172

6.3.1.-Rayos X de monocristales	172
6.3.2.-Presencia de tautomería en NO_x	178
6.3.3.-Resultados de los análisis térmicos	181
6.3.4.-Preparación de complejos de TFA, NPTA, NO_x y 1 con ciclodextrinas	185
6.3.5.-Caracterización del complejo de inclusión entre γ -CD y 1 (GCD1)	186
6.3.5.1.-Análisis de Rayos X de monocristales.....	186
6.3.5.2.-Análisis térmico.....	191
6.3.5.3.-Espectroscopía de ¹ H RMN.....	193
6.4.-Sección experimental	195
6.4.1.-Materiales	195
6.4.2.-Equipos	196
6.4.3.-Análisis Térmicos.....	196
6.4.4.-Preparación de monocristales y Análisis de difracción de rayos-X de TFA, NPTA y NO_xA	197
6.4.5.-Métodos generales para obtención de complejos sólidos.....	198
6.4.6.-Método de co-precipitación: preparación de monocristales del complejo GCD1	199
6.5.-Conclusión.....	200
6.6.-Bibliografía	200

Capítulo 7

CONCLUSIONES GENERALES

7.1.-Conclusión general.....	207
7.2.-Estudios del insecticida Clorpirifos-metil.....	207
7.3.-Estudios del herbicida Trifluralina.....	208
7.4.-Observaciones finales.....	209
7.5.- Bibliografía	209

Publicaciones de esta tesis doctoral	211
---	-----

ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

1	O,O-dimetil-O-(3,5,6-tricloro-2-piridinil)fosforotioato, Clorpirifos-metil
2	Clorpirifos-metil oxón
3	3,5,6-Tricloro-2-piridinol
4	O,O-dimetil fosforotioato
5	Dimetil fosfato
6	O,O-dimetil O-(dicloro-2-piridinol)-fosforotioato
7	O,O-dimetil O-(dicloro-2-piridinol)-fosfato
8	O,O-dimetil O-(cloro-2-piridinol)-fosforotioato
9	O,O-dimetil O-(cloro-2-piridinol)-fosfato
10	Dicloro-2-piridinol
A	Absorbancia
A ₀	Absorbancia inicial
Abs _{inf}	Absorbancia a tiempos infinitos (10 tiempos de vida media)
Abs _t	Absorbancia en un determinado tiempo de reacción
AcBCD	Heptakis-(2,3,6-tri-O-acetil)-β-ciclodextrina)
AcGCD	Octakis-(2,3,6-tri-O-acetil)-γ-ciclodextrina)
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterasa
ACN	Acetonitrilo
Amp	Cambio en absorbancia de los procesos cinéticos observados
A _{obs}	Absorbancia observada
b	Longitud de la trayectoria del haz a través de la solución

CCDC	Cambridge Crystallographic Data Centre
CD	Ciclodextrina
CDCl₃	Cloroformo deuterado
CDO⁻	Ciclodextrina ionizada
CDOH	Ciclodextrina neutra
CDs	Ciclodextrinas
CG-MS	Cromatografía de gases-espectrometría de masas
D₂O	Agua deuterada
DC	Dicroísmo circular
DCI	Dicroísmo circular inducido
DIMEB	heptakis-(2,6-di-O-metil-β-ciclodextrina)
DMSO	Dimetilsulfóxido, (CH ₃) ₂ SO
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i> (Calorimetría diferencial de barrido)
EM	Espectrometría de Masa
EPA	Agencia Federal para la Protección del Ambiente de Estados Unidos
EtOK	Etóxido de potasio
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FT-IR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
GCD1	Complejo de inclusión entre γ-CD y clorpirifos-metil
H	Huésped o sustrato
HPβCD	Hidroxipropil-β-ciclodextrina
HRMS	Espectrometría de Masas de Alta Resolución
HSM	<i>Hot stage microscopy</i> (Microscopía de platina caliente)
ITC	Titulación Calorimétrica Isotérmica
k	Constante de velocidad observada
K₁	Constante de equilibrio de la asociación del sustrato con la CD ionizada

ÍNDICE DE CONTENIDO

k'_{1}	Reacciones del sustrato acomplejado con la ciclodextrina ionizada
k_{0}	Constante de velocidad observada
K_{1}	Constante de equilibrio de la asociación del sustrato con la CD neutra
k_{1}	Reacciones del sustrato acomplejado con ciclodextrina neutra
$K^{\text{ACN}/\beta\text{-CDO}^{-}}$	Constante de asociación para β -CD aniónica con ACN
$K^{\text{ACN}/\beta\text{-CDOH}}$	Constante de asociación para β -CD neutra con ACN
K_{asoc}	Constante de asociación
k_{CD}	Constante de velocidad para la reacción en presencia de ciclodextrina
k_{obs}	Constante de velocidad observada
$k_{\text{OH}^{-}}$	Reacciones con anión hidróxido del sustrato libre
k_{un}	Constante de la reacción del sustrato libre
NO_x	2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1- <i>H</i> -bencimidazol-3-óxido
NO_xA	Tautómero <i>N</i> -hidroxi de NO_x
NO_xB	Especie desprotonada de NO_x
NO_xC	Especie protonada de NO_x
NPTA	<i>N</i> - <i>n</i> -propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilanilina
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPs	Compuestos organofosforados
ORD	Dispersión rotatoria óptica
P	Producto
PO	Paso óptico
PRIO	Polineuropatía retardada inducida por Organofosforados
PXRD	Difracción de rayos X de polvo
R	<i>Receptor</i>
RAMEB	<i>Randomly methylated-β-ciclodextrina</i>
RMN	Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear
S	Sustrato libre
s.o.f.	<i>site-occupancy factor</i> (factor de ocupación de sitio)

S₀	Solubilidad intrínseca del <i>huésped</i>
S-CD	Complejo de estequiometría 1:1 entre el sustrato y la ciclodextrina
STF	Sulfuro de trifenilfosfina
t	Tiempo de reacción
TFA	<i>N,N</i> -di- <i>n</i> -propil-2,6-dinitro-4-trifluorometil-anilina, Trifluralina
TG	Termogravimetría
TGA	<i>Thermogravimetric analysis</i> (análisis termogravimétrico)
TMS	Tetrametilsilano
TRIMEA	Hexakis-(2,3,6-tri-O-metil- α -ciclodextrina)
TRIMEB	Heptakis-(2,3,6-tri-O-metil- β -ciclodextrina)
TRIMEG	Octakis-(2,3,6-tri-O-metil)- γ -ciclodextrina)
UV-visible	Espectrofotometría ultravioleta-visible
$\chi_{\beta\text{-CD}}$	Fracción molar de β -CD
χ_{H}	Fracción molar del <i>huésped</i>
ε	Absortividad molar o coeficiente de extinción
ΔA	Cambio de absorbancia
$\lambda_{\text{máx}}$	Longitud de onda máxima
[1-CD]	Concentración del complejo 1 / β -CD
[ACN-CD]	Concentración del complejo ACN/ β -CD
[CD]_L	Concentración de ciclodextrina libre
[c]	Concentración del analito

Capítulo 1

**PROBLEMÁTICA /
OBJETIVOS /
RESUMEN**

1.1.- Problemática

De acuerdo a la definición de la EPA (Agencia Federal para la Protección del Ambiente de Estados Unidos), plaguicida es "cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir, repeler, o mitigar cualquier plaga, así como cualquier sustancia o mezcla de sustancias utilizadas como regulador vegetal, defoliante, desecante o como estabilizador del nitrógeno".¹

Los pesticidas o plaguicidas son un grupo de compuestos en continua evolución, caracterizados por su diversidad, diferentes propiedades físicas y químicas, así como ser encontrados frecuentemente en bajas concentraciones en muestras reales.²

Los cultivos y los centros de almacenamiento y distribución de alimentos están amenazados por diversas plagas, desde insectos, roedores, hasta malezas y hongos. En las distintas fases de su ciclo de vida, los cultivos presentan distinta susceptibilidad a las plagas. Un mismo cultivo, por ejemplo la manzana, puede requerir el uso de diferentes pesticidas a lo largo del proceso de siembra, crecimiento de la planta, cosecha, acopio, transporte e industrialización.³

El control de plaguicidas ha adquirido una mayor importancia para la sociedad debido al mayor conocimiento de los potenciales peligros asociados a su uso, junto con la disponibilidad de datos sobre su presencia en el ambiente. En este sentido, la legislación ambiental mundial establece límites máximos permitidos de residuos de plaguicidas en aguas y alimentos cada vez más estrictos con el fin de proteger la salud humana y animal.^{4,5}

En Argentina, el mercado de los agroquímicos se expandió en los últimos años, con un aumento en el consumo de 73 a 236 millones de kilogramos por año durante el período 2003-2013.^{2,6} Argentina tiene 31 millones de hectáreas dedicadas a la agricultura que comprende el 2,2 % de la superficie total del mundo cultivada. A pesar de la intensa actividad agrícola, los datos sobre la contaminación de plaguicidas en las aguas superficiales son bastante escasos.⁶ Los insecticidas más

utilizados en Argentina resultan entre 7 y 8 veces más tóxicos que herbicidas y funguicidas.⁷

En el actual modelo de agricultura industrial se pretende que la química controle a la biología, simplificando así la toma de decisiones. No obstante, no se ha tenido en cuenta que el uso excesivo de plaguicidas pone en serio riesgo al recurso suelo, debido a que se disminuye la capacidad del mismo para cumplir con una de sus funciones vitales que es actuar como reactor bio-físico-químico.⁴

La tendencia actual es fabricar pesticidas de degradación rápida, reduciendo el tiempo potencial de permanencia del tóxico en el ambiente. Desafortunadamente, mientras menor es la persistencia del pesticida es necesario que su mecanismo de acción sea más rápido, lo que ha llevado a un aumento en la toxicidad de las sustancias empleadas.⁸

Un grave problema del uso de pesticidas es la falta de metodologías seguras que permitan degradarlos y realizar descontaminaciones en los sitios afectados. Existen casos en que los productos de degradación de un pesticida poseen mayor toxicidad que el compuesto original,⁹ por ejemplo algunos productos de la degradación de herbicidas derivados de triazina.¹⁰ Esto pone en evidencia la importancia de la identificación de sus productos ya que dichas sustancias pueden formarse en condiciones naturales por acción de la luz solar.

Por otra parte, las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos constituidos por unidades de glucosa que, en los últimos años, han desempeñado un importante papel en muchas aplicaciones, como el uso en alimentos, cosméticos, producción de artículos de tocador, industrias agrícolas, polímeros, aplicaciones farmacéuticas, química analítica, y como catalizadores en reacciones químicas (hidrólisis y oxidación).^{11,12}

Las ciclodextrinas son *receptores* que poseen la capacidad de formar complejos de inclusión con una gran variedad de *huéspedes*, ya que tienen una cavidad interna hidrofóbica disponible. Esta propiedad ha atraído una considerable atención en el

campo de la encapsulación de moléculas porque algunas propiedades fisicoquímicas del *huésped* pueden ser notablemente modificadas por su inclusión.¹³ Las CDs son biodegradables, no contaminantes, solubles en agua y abundantemente disponibles, es por esto que en la agroquímica son utilizadas para modificar las propiedades de pesticidas que se encapsulan en su cavidad.^{14,15}

En virtud de lo mencionado se desarrolló esta tesis con el fin de describir los procesos que llevan a la fotodegradación directa de pesticidas de uso común con y sin presencia de ciclodextrinas en solución. Además, este trabajo de tesis estuvo enmarcado en el estudio de las propiedades de complejos de inclusión de pesticidas con ciclodextrinas en solución y en estado sólido.

1.2.- Objetivos

1.2.1.- Objetivo general

Proponer métodos efectivos y seguros de fotodegradación de pesticidas.

1.2.2.- Objetivos específicos

- ✓ Evaluar e identificar los productos de fotodegradación directa de pesticidas.
- ✓ Determinar las constantes observadas de desaparición para la fotodegradación directa de pesticidas.
- ✓ Determinar las propiedades fisicoquímicas de complejos de inclusión entre pesticidas y ciclodextrinas en solución y en estado sólido.
- ✓ Establecer la influencia de ciclodextrinas sobre la velocidad de fotodegradación de pesticidas.

1.3.- Resumen del trabajo realizado

FOTODEGRADACIÓN DE 1, 2 y 3

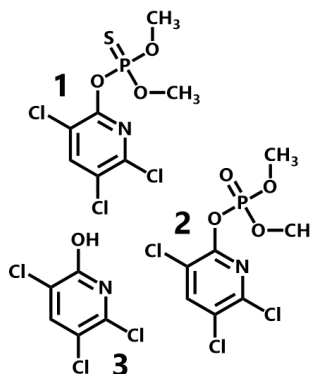
Estudio Cinético

Determinación de constantes observadas de desaparición para la fotodegradación para **1**, **2** y **3**

Análisis de productos de fotodegradación de 1, 2 y 3 en soluciones en aire y en ausencia de O₂

Se utilizaron distintas técnicas para identificar productos: CG-MS, HMRS, ¹H, ¹³C y ³¹P RMN, TLC

Caminos de Reacción Propuestos



FOTOLISIS DE 1 y 2 EN PRESENCIA DE β-CD

Análisis de productos para 1

Al final de la reacción se observa el mismo producto mayoritario que en ausencia de β-CD

Estudio Cinético para 1 y 2

Se distingue aumento en las constantes observadas de desaparición para la fotodegradación para **1** y **2** en presencia de β-CD

Para el compuesto **2** en presencia de β-CD, se propuso un mecanismo general para la degradación. Para **1**, el sistema en estudio es muy complejo y los resultados no fueron concluyentes para proponer un mecanismo.

FOTOLISIS DE 1 Y 2 EN PRESENCIA DE α-, β-, γ-CD Y RAMEB

Estudio Cinético

Se distingue un aumento en las constantes observadas de desaparición para la fotodegradación en todos los casos estudiados

INTERACCIÓN DE CICLODEXTRINAS CON 1 EN ESTADO SÓLIDO

Complejos de inclusión con CDs nativas y modificadas

Soló se obtuvo complejo de inclusión con γ-CD

INTERACCIÓN DE CICLODEXTRINAS CON TRIFLURALINA (TFA) Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN (NPTA y NOx) EN SOLUCIÓN Y EN ESTADO SÓLIDO

En solución

Estudio de solubilidad entre TFA y β-CD

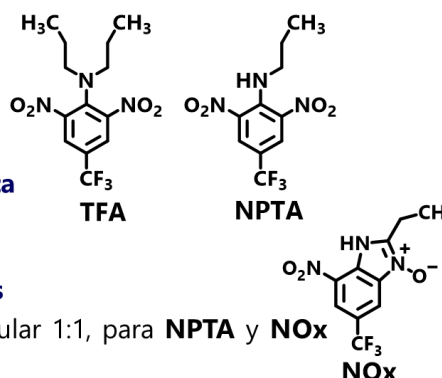
$\bar{K}_{asoc} = (25 \pm 7) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$

Método de Titulación espectrofotométrica entre NPTA y β-CD

$\bar{K}_{asoc} = (18 \pm 2) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$

Por Método de las Variaciones Continuas

Se determinó una asociación molecular 1:1, para **NPTA** y **NOx** con β-CD.



En estado sólido

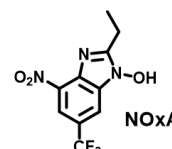
Se elucidaron las estructuras por rayos-X de monocristales de TFA, NPTA y NOx

Presencia de Tautomería de NOx

En solución se observa el tautómero N-óxido (**NOx**) y en estado sólido se observa el tautómero N-hidroxi (**NOxA**)

Complejos de inclusión con CDs nativas y modificadas

En ningún caso se obtuvo complejo de inclusión con **TFA**, **NPTA** y **NOx**



1.4.- Bibliografía

- (1) EPA (United States Environmental Protection Agency)
<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients> (acceso Oct 30, 2018).
- (2) Bonansea, R. I.; Amé, M. V.; Wunderlin, D. A. *Chemosphere* **2013**, 90 (6), 1860.
- (3) Wolansky, M. J. En *Ciencia Hoy*; 2017; Vol. temático 2, pp 169–175.
- (4) Aparicio, V.; De Gerónimo, E.; Hernández Guijarro, K.; Pérez, D.; Portocarrero, R.; Vidal, C. En *Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente*; INTA: Argentina, 2015; pp 12–16.
- (5) Union Europea. Reglamento (CE) n° 396/2005. Access to European Union law (EUR-Lex) <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=LEGISSUM%3A121289> (acceso Oct 30, 2018).
- (6) De Gerónimo, E.; Aparicio, V. C.; Bárbaro, S.; Portocarrero, R.; Jaime, S.; Costa, J. L. *Chemosphere* **2014**, 107, 423.
- (7) Leiva, P. D. Para poder usar insecticidas poco tóxicos hay que hacer inteligencia <http://inta.gob.ar/documentos/para-poder-usar-insecticidas-poco-toxicos-hay-que-hacer-inteligencia/> (acceso Oct 30, 2018).
- (8) Krause, S.; Clark, H. M.; Ferris, J. P.; Strong, R. L. En *Chemistry of the Environment*; Elsevier Science & Technology Books, 2002; pp 223–293.
- (9) Kolpin, D. W.; Thurman, E. M.; Linhart, S. M. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1998**, 35 (3), 385.
- (10) Sabik, H.; Jeannot, R. En *Pesticide Protocols*; Garrido Frenich, A., Martínez Vidal, J. L., Eds.; Humana Press: Totowa, New Jersey, 2006; pp 467–479.
- (11) Dardeer, H. M. *Int. J. Adv. Res.* **2014**, 2 (4), 414.
- (12) Martin Del Valle, E. M. *Process Biochem.* **2004**, 39 (9), 1033.
- (13) Yáñez, C.; Cañete-Rosales, P.; Castillo, J. P.; Catalán, N.; Undabeytia, T.; Morillo, E. *PLoS One* **2012**, 7 (8), e41072.
- (14) Hedges, A. R. *Chem. Rev.* **1998**, 98 (5), 2035.

- (15) Dodziuk, H. En *Cyclodextrins and Their Complexes: Chemistry, Analytical Methods, Applications*; Dodziuk, H., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Poland, 2006; pp 1–30.

Capítulo 2

**INTRODUCCIÓN
TEMÁTICA**

2.1.- Pesticidas

2.1.1.- Definición

La palabra “pesticida” está formada con raíces latinas y significa “que mata plagas”. Sus componentes léxicos son *pestis* (enfermedad epidémica o pandémica) y *-cida* (el que mata).¹ También, se emplea la palabra plaguicida.

Para la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, siglas en Inglés de *Food and Agriculture Organization*), un plaguicida es “cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte. El término no incluye normalmente los fertilizantes, nutrientes de origen vegetal o animal, aditivos alimentarios ni medicamentos para animales”.²

El destino de un pesticida en el ambiente está gobernado por los procesos de retención, transporte y degradación. Los pesticidas liberados pueden moverse hacia distintos medios de acuerdo a las condiciones climáticas, características químicas y físicas del plaguicida y de los receptores ambientales. Su persistencia quedará determinada tanto por sus propiedades intrínsecas como por factores ambientales y propiedades del compartimento ambiental en el cual está depositado.³ Una vez que es liberado al medio ambiente pueden ocurrir diferentes eventos como puede verse en la Figura 2.1.⁴

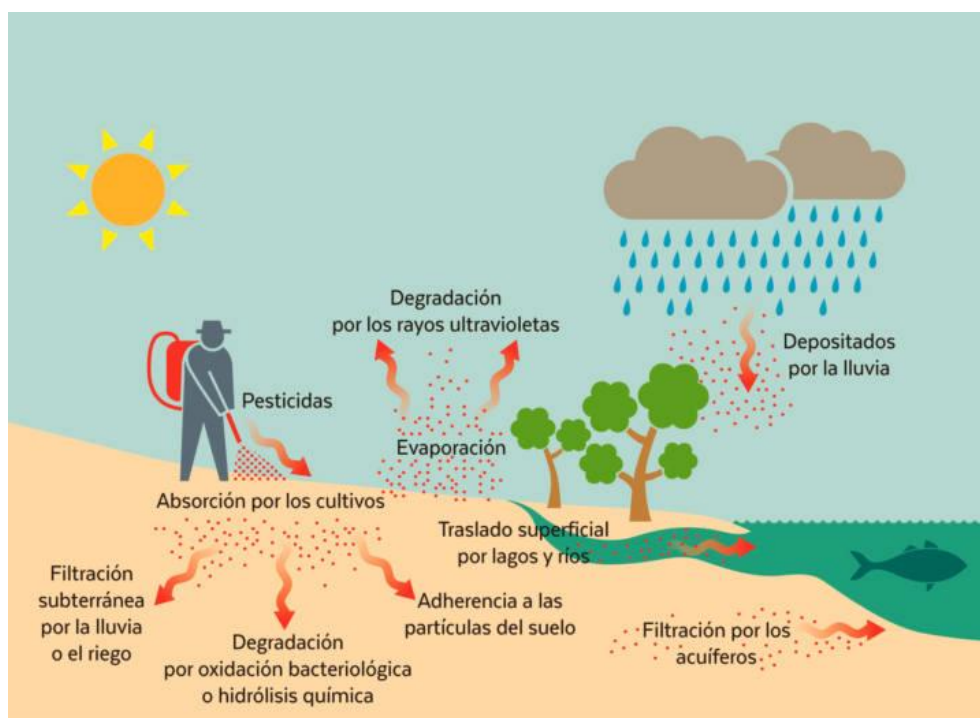


Figura 2.1: Posibles destinos de los pesticidas en el medio ambiente, figura obtenida de la referencia.⁴

2.1.2.- Clasificación

Es interesante saber que en relación a la clasificación de los pesticidas, existen numerosas formas de hacerlo, y en este sentido, dependiendo de la clasificación, dos compuestos diferentes podrían estar dentro de una misma categoría o en diferentes clasificaciones. Sin embargo, las cuatro maneras más populares de clasificar pesticidas son las que se mencionan a continuación.

Según su modo de acción

Bajo este tipo de clasificación, los pesticidas se clasifican basándose en la forma en que actúan para lograr el efecto deseado. De esta manera los pesticidas se clasifican como de contacto (no sistémico) y sistémicos.⁵

Los herbicidas no sistémicos son aquellos que no penetran los tejidos vegetales y consecuentemente no son transportados dentro del sistema vascular de la planta.

Sólo tendrán el efecto deseado cuando entran en contacto con la plaga a la que están dirigidos, de ahí el nombre de pesticidas de contacto.⁵ Como ejemplos podemos mencionar el paraquat,⁶ clorpirifos⁷ y clorpirifos-metil.⁸ La mayoría de los fungicidas, se aplican de manera uniforme sobre toda la superficie foliar de la planta a proteger para impedir que el hongo infecte la planta y cumplen su acción al causar efecto tóxico sobre las esporas de los hongos o sobre los tubos germinativos de éstos, evitando que penetren al tejido de la planta causando una infección. Al utilizar el insecticida, el insecto recibe la aplicación o entra en contacto con el insecticida al moverse en la superficie tratada, de esta manera el insecticida es absorbido por la superficie de los cuerpos de los insectos.⁹

Los pesticidas sistémicos son aquellos que penetran eficazmente en los tejidos de la planta y se mueven a través del sistema vascular a fin de lograr el efecto deseado. Ejemplos de pesticidas sistémicos incluyen a 2,4-D, Glifosato y trifluralina.¹⁰ Dentro de esta clasificación, también se encuentran los venenos estomacales que producen el efecto deseado después de ser ingeridos, por ejemplo los rodenticidas. Los fumigantes son aquellos pesticidas que producen vapor que mata a la peste.⁵ Los insecticidas son movilizados dentro de la planta, transportando el ingrediente activo a las partes (raíces, tallos, hojas, yemas) donde el insecto se alimenta.⁹

Según su estructura química

Los pesticidas pueden clasificarse según la naturaleza química de los ingredientes activos. La clasificación química de plaguicidas es la clasificación más útil para los investigadores en el campo de los pesticidas y en el medio ambiente. Entre los grupos más importantes se encuentran:¹¹

- Arsenicales
- Carbamatos
- Cloroacetanilidas

- Cumarínicos
- Dinitrocompuestos
- Organoclorados
- Organofosforados
- Piretroides
- Tiocarbamatos
- Triazinas y triazoles
- Ureas

Según el tipo de plaga que controlan

En este tipo de clasificación, los pesticidas son nombrados por el nombre de las plagas que controlan, Tabla 2.1.^{5,12}

Tabla 2.1: Clasificación de pesticidas de acuerdo el tipo de plaga que controla.^{5,12}

Tipos de pesticidas	Organismo / plaga objetivo
Insecticidas	Insectos
Herbicidas	Hierbas
Rodenticidas	Ratones y otros roedores
Funguicidas	Hongos
Acaricidas / Miticidas	Ácaros que se alimentan de plantas y animales
Molusquicidas	Caracoles y babosas
Bactericidas	Bacterias
Repelentes	Insectos (como los mosquitos) y las aves
Alguicidas	Algas
Ovicidas	Huevos de insectos y ácaros

Según su nivel de toxicidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha desarrollado un sistema de clasificación que agrupa a los plaguicidas de acuerdo con los riesgos potenciales para la salud causados por el contacto accidental con el ser humano y se agrupan en las siguientes clases:^{5,13}

- Clase Ia = Extremadamente peligroso
- Clase Ib = Altamente peligroso
- Clase II = Moderadamente peligroso
- Clase III = Poco peligroso
- Clase U = Productos que normalmente no ofrecen peligro

2.1.3.- Pesticidas estudiados

2.1.3.1.- Pesticidas de la familia de las Dinitroanilinas

Los pesticidas de la familia de las dinitroanilinas tienen incorporados dos sustituyentes NO₂ en un anillo aromático de anilina, y son comúnmente utilizados como herbicidas.¹⁴ Estos herbicidas de aplicación al suelo controlan plántulas gramíneas y algunas especies de hoja ancha en un amplio grupo de cultivos. Todos tienen baja solubilidad en agua (1 ppm a 25 °C) y se adsorben a los coloides del suelo, lo cual representa un problema en la formulación de preparaciones acuosas.^{14,15} Las dinitroanilinas son compuestos de baja toxicidad en animales ya que generalmente son muy poco liposolubles.

Ninguno de estos herbicidas tiene actividad foliar, pero se absorben fácilmente por las raíces de las plántulas en germinación e inhiben la división celular mediante su interacción con los microtúbulos. La formación de microtúbulos del huso mitótico es una condición para la separación de nuevos cromosomas. Las puntas de las raíces expuestas a dinitroanilinas se abultan, la mitosis se detiene y un reducido número de microtúbulos se observan usualmente, pero la falta de desarrollo radical conduce

a la muerte. La ubicación del herbicida en el suelo es poco profunda, por encima del cultivo sembrado profundamente, logrando una selectividad para matar las plantas indeseadas. Las dinitroanilinas brindan un período largo de control.¹⁵

Dentro de este grupo se encuentran compuestos como la trifluralina, pendimetalin, oryzalin y benefín.¹⁵ En esta tesis doctoral se estudió la trifluralina.

La trifluralina, (**TFA**, Figura 2.2) (nombre común de *N,N*-di-*n*-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilanilina) es un herbicida selectivo pre-emergente usado extensamente desde 1963.¹⁶ Es utilizado para el control de gramíneas y cotiledóneas anuales en cultivos de almidón, alfalfa, maní, girasol, soja, tabaco, gladiolo, frutales y hortalizas.^{11,17} Es un pesticida de clase U según su toxicidad (Es poco probable que presente peligro agudo en uso normal).¹³ La trifluralina está sujeta a la degradación por microorganismos del suelo, el exceso remanente en la superficie del suelo después de la aplicación puede ser descompuesto por la luz UV o se puede volatilizar.¹¹

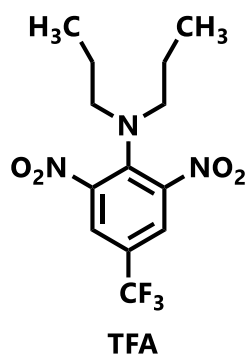


Figura 2.2: Estructura química de **TFA**.

La persistencia de trifluralina en suelos agrícolas después de la incorporación es altamente variable, dependiendo de varios factores tales como la profundidad de incorporación y la humedad, la temperatura, el aire, y el contenido de materia orgánica del suelo. Trifluralina se puede considerar un herbicida relativamente

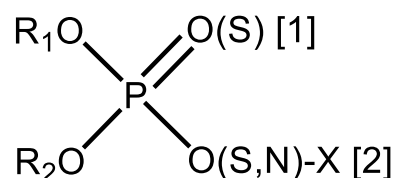
inmóvil en suelos de destino, que representa poco o ningún peligro para la contaminación del agua subterránea. Bajo usos agronómicos, donde es incorporado al suelo, la trifluralina se clasifica como un herbicida persistente moderado.¹⁷

Este herbicida asume una gran importancia en el contexto industrial por razones económicas. Una de sus principales desventajas durante su fabricación es que se genera una corriente efluente tóxica y recalcitrante, llamada "*amination water*", la cual es difícil de biodegradar^{16,18}

En Argentina los nombres comerciales para productos que contienen trifluralina son Treflan[®], Ipersan 48[®], Trifluralina Atanor 44.5[®], Adama Essentials Premerge[®] y Triverdax[®].

2.1.3.2.- Pesticidas Organofosforados

Los compuestos organofosforados (OPs) tienen una estructura general, que se caracteriza por la presencia de (en general) tres funciones éster, como se muestra a continuación:¹⁹



R₁ y R₂ son cadenas alquílicas; el grupo X es característico de cada especie química, siendo frecuentemente un anillo aromático, y suele contribuir de forma importante a las propiedades físicas, químicas y biológicas de estos compuestos. Los OPs se pueden dividir en 14 grupos de acuerdo a las posiciones que ocupen los átomos en la molécula; los más importantes son: fosfatos (u oxon), con un O en las posiciones [1] y [2]; O-fosfortioatos (o tiofostato), con un S en [1] y un O en [2], S-fosfortioatos (o tiolatos), con un S en [2] y un O en [1]; fosforoditioatos (o

tiolotionatos), con S en [1] y en [2]; fosfonatos, con R₁ (en lugar de R₁O), O ó S en [1] y O en [2], y fosforoamidatos, con un O en [1] y un N en [2].¹⁹

Los compuestos organofosforados son una gran y diversa clase de productos químicos que han sido sintetizados desde el siglo XIX para varios propósitos como armas químicas, retardantes de llama, ectoparasiticidas y nuevos fármacos de investigación, pero principalmente como agroquímicos en la agricultura y en interiores. Aunque la cantidad de plaguicidas organofosforados utilizada está disminuyendo, especialmente en los países desarrollados, sigue siendo uno de los más importantes tipos de insecticidas en la actualidad debido a sus efectos tóxicos sobre la enzima acetilcolinesterasa (AChE).²⁰ Son menos persistentes en el ambiente cuando se comparan con los pesticidas organoclorados y por lo tanto plantean menos riesgos a largo plazo para los organismos acuáticos y los seres humanos.²¹ En humanos los insecticidas organofosforados pueden ser absorbidos a través de la piel, inhalados o pueden entrar al cuerpo por ingestión. Los pesticidas OPs son ampliamente usados en algodón, maíz, trigo, y también se utilizan para la fumigación doméstica.¹¹

Los insecticidas organofosforados son neurotóxicos, cuyo mecanismo de acción inhiben la acción de la acetilcolinesterasa, una enzima presente en las terminales nerviosas postsinápticas, que cataliza la hidrólisis de la acetilcolina (ACh), un neurotransmisor en muchas sinapsis (colinérgicas) del sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático) y en las conexiones neuromusculares (placas motoras), Figura 2.3.²²

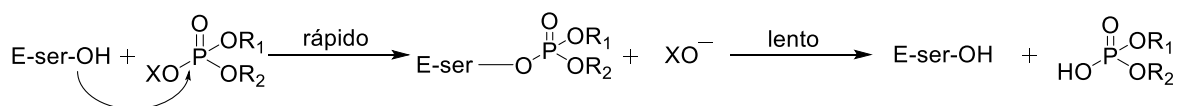


Figura 2.3: Reacción de la enzima AChE (E-ser-OH) con un derivado organofosforado.

Los OPs causan dos efectos tóxicos importantes. El primer efecto es la conocida toxicidad aguda iniciada por la inhibición de la AChE con la subsiguiente acumulación de acetilcolina en las terminaciones nerviosas. El segundo efecto es la polineuropatía retardada inducida por Organofosforados (PRIO, ataxia y parálisis que aparece de 2 a 3 semanas después de la exposición), asociado con la inhibición de, por lo menos, el 70 % de la actividad neuropática de la enzima esterasa, a veces seguida por la transformación irreversible de la enzima inhibida a su forma no reactiva. Ambos efectos se relacionan con la estructura química de los OPs que puede ser influenciada en gran medida por el metabolismo de estos compuestos que pueden producir potentes inhibidores de las enzimas.^{23, 24}

En humanos, el tratamiento clínico del envenenamiento por organofosforados se regula en base a los niveles plasmáticos de colinesterasa sérica. Se utiliza atropina para contrarrestar los efectos muscarínicos debido a la acumulación de acetilcolina. También, se debe realizar un tratamiento suplementario para contrarrestar los efectos nicotínicos; para ello los agentes químicos utilizados son oximas.²⁵

En el caso de los insecticidas derivados de tiofosfatos que tienen una capacidad reducida para la fosforilación de la enzima AChE, una vez que el tiofosfato ha sido absorbido por el organismo, es bioactivado a través de la oxidación con pérdida de azufre, convirtiéndose en la forma oxón correspondiente ($P=S \rightarrow P=O$), con una alta capacidad para fosforilación de la enzima (bioactivación tóxica).²⁰ Este proceso ocurre *in vivo* y tiene lugar en el tubo digestivo y cuerpo graso de los insectos y en el hígado de los mamíferos.

En esta tesis doctoral se estudió el Clorpirifos-metil (*O,O*-dimetil-*O*-(3,5,6-tricloro-2-piridinil)fosforotioato), **1**, Figura 2.4., un insecticida y acaricida no sistémico que actúa por contacto, ingestión y a través de sus vapores. Se utiliza principalmente contra barrenador del tallo del arroz, pulgones, gusanos, grillos, saltahojas o cicadélidos y plagas de los granos almacenados.²⁶

Clorpirifos-metil tiene una estructura molecular similar al clorpirifos (Figura 2.4) pero con una solubilidad en agua y una presión de vapor más altas que el segundo.²¹ Es un insecticida organofosforado de amplio espectro,²⁷ de clase III según su toxicidad (ligeramente peligroso).¹³ Puede acumularse en el suelo y convertirse en tóxico para los seres humanos.²⁸ En Argentina el nombre comercial para productos que contienen clorpirifos-metil es *Reldan 48 E*[®].

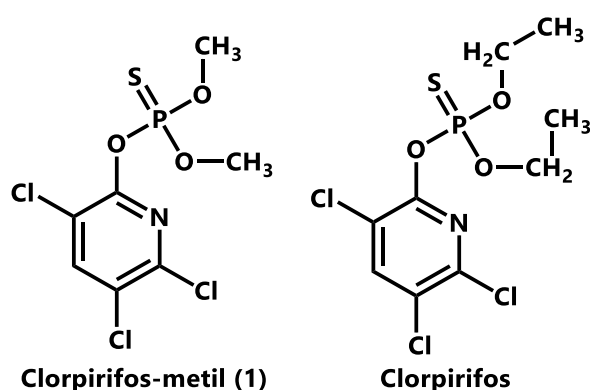


Figura 2.4: Estructuras químicas de clorpirifos-metil y clorpirifos.

2.2.- Degradación de pesticidas

El destino medioambiental de los plaguicidas está determinado por diversos procesos de transporte y transformación. La degradación puede ser parcial o total (mineralización), llegando en este último caso a la obtención de compuestos inorgánicos como H₂O, CO₂, haluros, amonio, fosfatos, entre otros.²⁹

En la degradación del pesticida se generan nuevos compuestos que no necesariamente han de ser menos tóxicos que la sustancia original. Cuando el producto de degradación resulta menos tóxico que la sustancia original se trata de una inactivación o detoxificación; si por el contrario, el producto de degradación resulta con mayor toxicidad que el original, se trata de una activación.²⁹

Hay diversas reacciones por las que un pesticida se puede degradar. Entre ellas se pueden mencionar la degradación térmica, biodegradación, degradación química (oxidación, hidrólisis, reducción, sustitución, eliminación de grupos funcionales) y fotodegradación. Esta última puede ser clasificada en cuatro categorías:³⁰ directa, fotosensibilizada,³¹ fotocatalizada³² y degradación tras la generación de radicales hidroxilo por fotólisis.³³

La fotólisis directa comprende la absorción de luz por el pesticida seguida de una reacción química en su estado excitado, sin participación de otras sustancias químicas.^{34,35} Este proceso se puede observar en pesticidas en fases acuosas, sólida o gaseosa.³⁵ La fotólisis en el suelo depende de su partición entre las fases de aire-agua-suelo dentro del sistema del suelo.³⁵ La fotólisis en agua es condicionada por variables ambientales como la radiación solar en la superficie del agua o su transmisión a través del agua, y por factores intrínsecos de la sustancia como son la velocidad de absorción de la luz y el rendimiento cuántico de la reacción fotoquímica.³⁴ En la naturaleza, la principal fuente de radiación es la luz solar.³⁶ La irradiación solar puede activar importantes vías de transformación en la atmósfera, en el suelo y en las superficies de agua a través de procesos directos o indirectos.³⁷ Hay distintas fuentes de irradiación entre las cuales podemos encontrar las longitudes de onda que componen la luz solar, lámpara de arco de xenón (el espectro es continuo en un intervalo comprendido entre aproximadamente 200 y 1000 nm, con el máximo de intensidad a aproximadamente 500 nm), lámpara de mercurio (de alta o baja presión).

El rendimiento cuántico de una reacción fotoquímica se define como la relación entre el número de moléculas producidas y el número de fotones absorbidos (Ecuación 2.1).³⁸ Este parámetro es el único que puede utilizarse para describir cuán eficiente es una conversión fotoquímica. Por lo tanto, la fotólisis directa depende

del espectro de absorción del sustrato, de las condiciones ambientales y de su rendimiento cuántico.³⁹

$$\Phi = \frac{\text{número de moléculas producidas}}{\text{número de fotones absorbidos}} \quad \text{Ecuación 2.1}$$

La irradiación directa conducirá a la promoción de los pesticidas a sus estados singletes excitados. A partir de aquí se pueden producir reacciones químicas que no tienen lugar en el estado fundamental. Estos procesos se ejemplifican en la Figura 2.5.³⁰

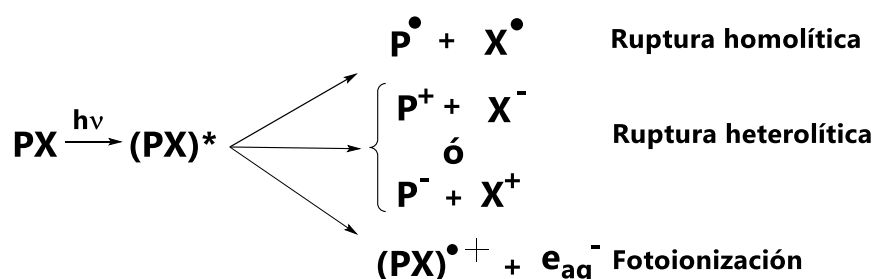


Figura 2.5: Eventos químicos posibles durante la fotólisis directa.

La fotodegradación de los pesticidas iniciada por absorción de la luz solar en sistemas acuosos es un área de interés de investigación actual. Varios estudios han comparado los procesos naturales de fotodegradación por la luz solar con los obtenidos bajo condiciones controladas. Estas investigaciones han permitido modelar el comportamiento de los pesticidas después de la aplicación, y han brindado un conocimiento detallado sobre la cinética de degradación que a su vez produce una imagen más completa de los productos de degradación, así como la mejor estimación de su tiempo de vida.³⁷

La luz solar que incide sobre la superficie de la Tierra contiene un pequeño porcentaje de radiación UV (aproximadamente un 7%) del espectro electromagnético. Otras regiones del espectro electromagnético incluyen las ondas

de radio, las microondas, la radiación infrarroja (calor), la luz visible, los rayos X y la radiación γ . La radiación UV abarca la región de longitud de onda de 400 a 100 nm. El espectro UV se subdivide en tres regiones:³⁶

- UVA: 400 – 315 nm
- UVB: 315 – 280 nm
- UVC: 280 – 100 nm

Desde el sol a la atmósfera terrestre aumenta la longitud de la ruta de los rayos UV y como consecuencia la intensidad de los rayos UV que llegan a la superficie de la tierra disminuye en todas las longitudes de onda, en particular en la región de la radiación UVC. En un día de verano, la radiación UVB constituye aproximadamente el 6 % de la radiación UV total y la radiación UVA el restante 94 %.³⁶

Teniendo en cuenta que la radiación UV es muy eficiente para degradar pesticidas, en esta tesis, se realizaron experimentos de fotodegradación directa en un reactor ensamblado en el grupo de trabajo donde se utilizan cuatro lámparas comerciales germicidas de mercurio de baja presión (Philips⁴⁰), que esencialmente emiten luz monocromática a 254 nm, Figura 2.6. La radiación máxima de esta lámpara es UVC y se utiliza generalmente para la desinfección del aire y del agua.

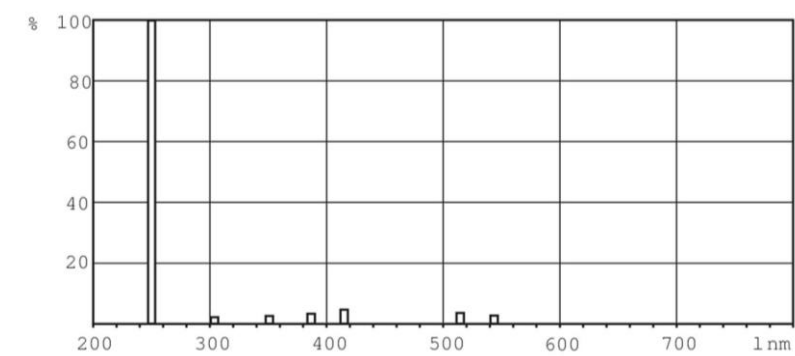


Figura 2.6: Espectro de la lámpara utilizada.⁴⁰

Cinética de degradación de pesticidas

La mayoría de los pesticidas presentan bandas de absorción UV-visible a longitudes de onda UV relativamente cortas. Como la luz solar que llega a la superficie terrestre contiene sólo una pequeña cantidad de radiación UV de longitud de onda corta, la fotodegradación directa de pesticidas por luz solar es un evento minoritario que lleva al problema de su persistencia en el ambiente.³⁰ Los pesticidas son degradados más eficientemente por luz UV aunque este es un proceso más costoso comparado con otros.

Para poder determinar los parámetros cinéticos asociados al proceso de fotodegradación, como por ejemplo la constante de velocidad, se evalúa la disminución de la concentración del pesticida en la solución con el tiempo mediante la medida de la absorbancia por la técnica de espectrofotometría de absorción UV-visible. Cuando se evidencia disminución, se debe a la formación de otra especie (producto) que absorbe en otra región que el pesticida en estudio.⁴¹ Cuando se evidencia un aumento en la absorbancia en la banda característica del pesticida en la longitud de onda seleccionada, se observa la formación de otra especie (un intermediario o un producto) que absorbe en la misma región que el pesticida en estudio.

2.3.- Química supramolecular

La química supramolecular fue definida en 1987 por Jean-Marie Lehn, quien fue galardonado con el Premio Nobel de Química, como la química de los agregados (*assemblies*) moleculares y del enlace intermolecular, más vulgarmente esto significa la "química más allá de la molécula".⁴² Otra definición que se ha dado a lo largo del tiempo es la química del enlace no covalente.^{42,43}

En la química supramolecular, habitualmente se utilizan los términos *receptores* (**R**) y *huésped* o *sustrato* (**H**). Un complejo *huésped-receptor* o *supramolécula* se

forma cuando un *huésped o sustrato* (**H**) en presencia de un *receptor* (**R**) puede asociarse. La interacción *huésped-receptor* requiere, además de la complementariedad química entre los sitios de unión, que el tamaño y forma del espacio de **R** sean compatibles con las dimensiones de la molécula **H**, tal como ocurre entre una enzima y su sustrato.^{43,44}

La química supramolecular implica interacciones no covalentes entre las especies que interactúan. Existen diversos *receptores* tales como calixarenos, éteres corona, criptandos, curcubiturilos, ciclodextrinas (CDs).

Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas, también conocidas como dextrinas de Schardiger, cicloamilosas, maltodextrinas o cicloglucanos,^{45,46} son importantes por las siguientes razones:⁴⁷

- ▶ Son productos seminaturales, producidos a partir de una fuente natural renovable, el almidón.
- ▶ Se producen miles de toneladas por año por tecnologías que no son nocivas para el medio ambiente.
- ▶ Sus precios, inicialmente altos, se han reducido a niveles en los que son aceptables para la mayoría de los fines industriales.
- ▶ Se utilizan ampliamente en muchos productos industriales, tecnologías y métodos analíticos por su capacidad de formar complejos de inclusión, y de modificar las características fisicoquímicas del *huésped* que se incluya.
- ▶ Las CDs son aptas para el consumo de los seres humanos como ingredientes de fármacos, alimentos o cosméticos.

Las ciclodextrinas fueron las primeras moléculas receptoras reconocidas y estudiadas por su capacidad de incluir diversas moléculas orgánicas e inorgánicas y

sus complejos de inclusión son considerados como modelos ideales para mimetizar interacciones enzima–sustrato.⁴⁸ Las CDs pueden alojar *huéspedes* que pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos.

Estructura química y propiedades

Las CDs se obtienen por degradación enzimática del almidón, un polisacárido lineal constituido por unidades de α -D-glucosa unidas covalentemente mediante un enlace glicosídico α -(1→4) (Figura 2.7).^{46, 49} La ciclodextrina glucosiltransferasa, una amilasa, es la enzima que participa en la biosíntesis. Se han descubierto muchos microorganismos que poseen esta enzima pero sólo han sido caracterizadas en detalle las de *Bacillus macerans*, *bacillus megaterium*, *bacillus stercorarius* y *krebsiella pneumoniae*.⁴⁵

La cristalografía de rayos X permitió conocer en detalle la estructura tridimensional de la ciclodextrina así como también la estructura de los complejos de inclusión que ella puede formar.⁵⁰

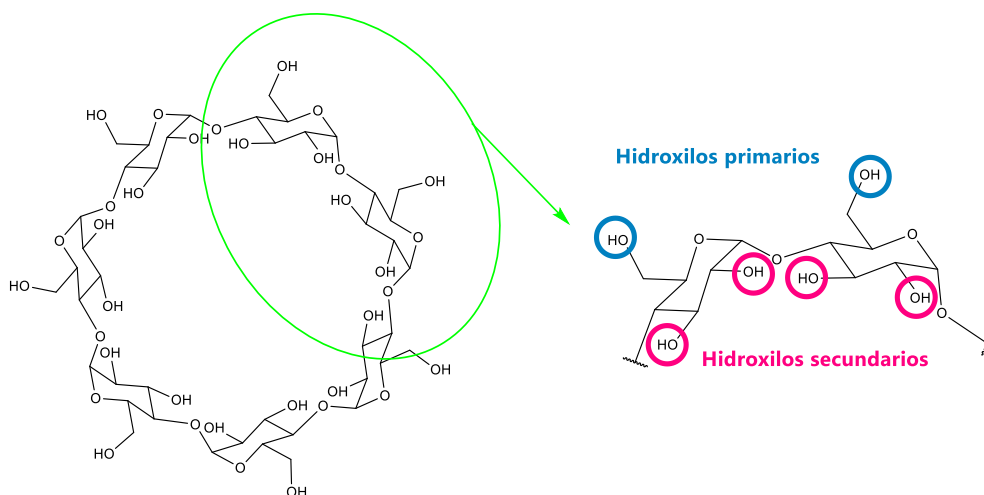


Figura 2.7: Representación esquemática de la β -CD y el enlace α -(1→4).

Las CDs naturales más comunes y abundantes son aquellas constituidas por 6, 7 y 8 unidades de α -D-glucosa y se nombran α , β y γ -ciclodextrina, respectivamente.^{46,49} Las CDs poseen forma toroidal o de cono truncado, con todas las glucosas dispuestas en conformación silla (Figura 2.8). Debido a esta disposición estructural, los grupos hidroxilo secundarios (sobre el C-2 y el C-3 de las unidades de glucosa) están localizados en la boca de mayor diámetro del toroide, en tanto que los hidroxilos primarios (del C-6) quedan dispuestos en la boca de menor diámetro.

Los hidroxilos primarios pueden rotar y bloquear parcialmente la cavidad en tanto que los hidroxilos secundarios son relativamente rígidos.^{46,51,52} Los hidroxilos secundarios tienen rigidez porque forman un cinturón de enlaces puente hidrógeno intramoleculares entre grupos hidroxilo en las posiciones C-2 y C-3 en unidades de glucosa adyacentes.⁵³ Cuando estos enlaces son interrumpidos, las unidades de glucosa ganan flexibilidad alrededor del enlace glicosídico, como se observa en las ciclodextrinas modificadas (metiladas).⁵⁴

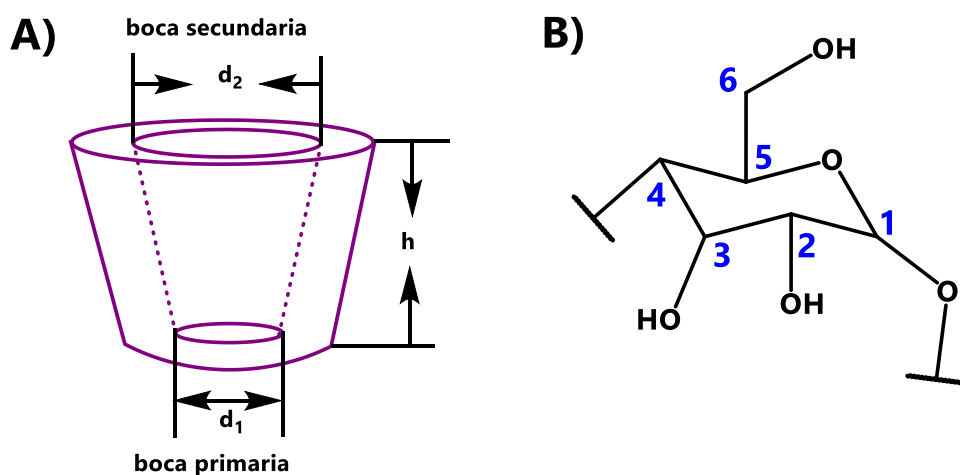


Figura 2.8: A) Esquema de la ciclodextrina en forma de cono truncado y B) vista esquemática del anillo de glucopiranososa con la numeración de los átomos de carbono.⁵²

La presencia de los grupos hidroxilo en los bordes del cono truncado confiere a las moléculas de CD la propiedad de ser solubles en agua.⁴⁶ Como consecuencia de estos puentes de hidrógeno, el pK_a de los hidroxilos secundarios es relativamente bajo respecto al de otros alcoholes, alrededor de 12,2.^{47,46}

Las moléculas de ciclodextrina son susceptibles a hidrólisis en medio fuertemente ácido, la hidrólisis parcial produce glucosa y una serie de maltosacáridos acíclicos, sin embargo, las ciclodextrinas son relativamente estables en medio alcalino.⁴⁶

Las propiedades estructurales y fisicoquímicas más importantes de α , β y γ -ciclodextrina se muestran en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2: Propiedades estructurales y fisicoquímicas de α , β y γ -ciclodextrina.⁴⁷

	α -CD	β -CD	γ -CD
Unidades de glucosa	6	7	8
Peso molecular	972	1135	1297
Volumen de la cavidad, Å³	174	262	427
Diámetro d₁, Å⁵⁵	4,2	5,6	6,8
Diámetro d₂, Å⁵⁵	8,8	10,8	12,0
Altura (h), Å	7,8	7,8	7,8
pK_a (por potenciometría), 25°C	12,332	12,202	12,081
Solubilidad en H₂O, g/100 mL, 25°C	14,5	1,85	23,2
[α]_D, 25°C	150,0 ± 0,5	162,5 ± 0,5	177,4 ± 0,5
Hidrólisis por <i>A. oryzae</i> α-amilasa	despreciable	lenta	rápida

La mayoría de los estudios de formación de complejos de inclusión con CDs se han realizados en soluciones acuosas, ya que el agua juega un importante papel en el proceso de complejamiento. La naturaleza de las interacciones principales o fuerzas promotoras de la inclusión de un sustrato en la cavidad de la CD es un tema controversial.⁴⁶ Además, la inclusión en las CDs puede ocurrir en estado sólido.⁵⁰

En solución, la inclusión del *huésped* en el *receptor* es un fenómeno dinámico que implica un equilibrio entre las especies libres y complejadas, el complejo *huésped-receptor* está mediado por interacciones o fuerzas débiles, Figura 2.9.⁵⁶

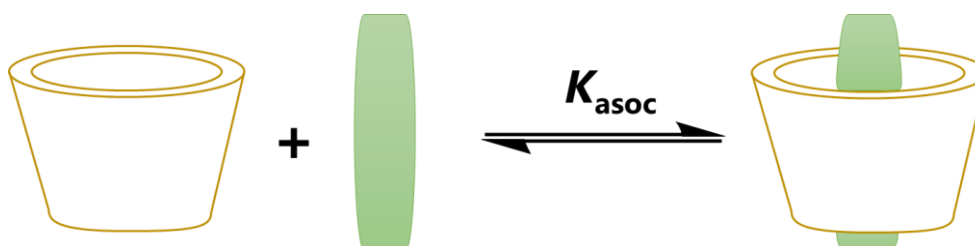


Figura 2.9: Esquema representando la reacción de formación del complejo *huésped-receptor*.

El fenómeno de reconocimiento molecular entre un *huésped* y su *receptor* involucra interacciones débiles, no covalentes, como interacciones electrostáticas (ión – ión, ión – dipolo, dipolo – dipolo, dipolo – dipolo inducido), de van der Waals, hidrofóbicas, enlaces puente de hidrógeno, transferencia de carga, interacciones $\pi - \pi$ y efectos estéricos.⁵⁷

Cada tipo de interacción débil, de manera individual, en general no es suficiente para conducir a la asociación específica de dos moléculas. Usualmente la asociación molecular es posible por la cooperación simultánea de múltiples interacciones débiles.

Las contribuciones más importantes a la termodinámica de la formación de complejos con CDs se originan a partir de la introducción de la parte más hidrofóbica del huésped dentro de la cavidad (a) y de la deshidratación del huésped (b). El efecto hidrofóbico, se considera como la suma de las contribuciones (a) y (b), aunque en algunas oportunidades la contribución dada por (a) es considerada como una interacción pura de van der Waals.⁵⁷

Otros factores que influyen en la termodinámica de la formación de los complejos de CDs son los enlaces puente hidrógeno que contribuyen a la

estabilidad del complejo (c), liberación de moléculas de agua incluidas en la cavidad (d), liberación de tensión de la molécula de ciclodextrina luego de la formación del complejo (e) y el efecto estérico, por ejemplo la presencia de sustituyentes en la posición orto en un anillo aromático generalmente dificulta la inclusión por impedimento estérico (f).⁵⁷

El fenómeno conocido como *size-fit* o complementariedad de tamaño, predice la mayor estabilidad para el complejo de inclusión del par *huésped-receptor*. El *receptor* debe ensamblar su cavidad con la molécula *huésped* del mejor modo para que la interacción sea lo más fuerte posible, esto ocurre generalmente porque el *receptor* tiene cierta libertad para acomodar su cavidad a la forma del *huésped*.⁵⁷

Ciclodextrinas modificadas. Ciclodextrinas metiladas y acetiladas

Las ciclodextrinas presentan la posibilidad de ser modificadas con diferentes grupos funcionales, lo cual les proporciona propiedades adicionales respecto a las ciclodextrinas nativas. Las ciclodextrinas son modificadas por varias razones, desde aumentar la solubilidad en un solvente determinado hasta investigar mecanismos de reacciones catalizadas por enzimas.⁵³

La CD (2-hidroxipropil) β -CD (HP β CD), modificada con el grupo hidroxipropilo, es muy utilizada como excipiente en formulaciones de fármacos en las Farmacopeas Europea y Estadounidense.⁵⁸

Las ciclodextrinas metiladas o acetiladas, Figura 2.10 y Tabla 2.3, son importantes derivados de las ciclodextrinas; sin embargo, las propiedades de las ciclodextrinas modificadas son significativamente diferentes a sus análogas nativas.

Tabla 2.3: Estructuras de CDs modificadas utilizadas en este trabajo.

	TRIMEA	TRIMEB	AcBCD	DIMEB	TRIMEG	AcGCD
N° de glucosas	6	7	7	7	8	8
X	CH ₃	CH ₃	Ac	CH ₃	CH ₃	Ac
Y	CH ₃	CH ₃	Ac	H	CH ₃	Ac

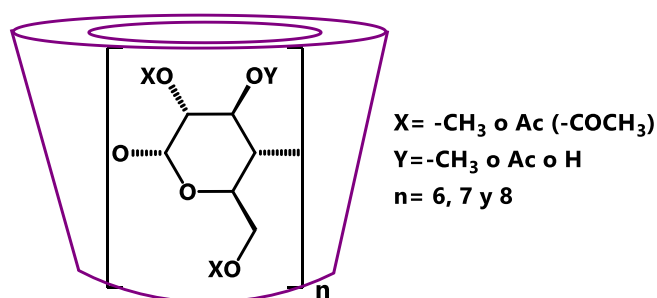


Figura 2.10: Estructura general de CDs modificadas.

Estos derivados metilados presentan una mayor solubilidad en agua, dependiendo del grado de metilación, cuando se las compara con la CD nativa análoga, mientras aún conserva la capacidad de proteger a las moléculas *huésped* de varios procesos no deseados, como la hidrólisis entre otros.⁵⁹ Además, pueden formar complejos más fuertes que las CDs naturales y por lo tanto, son candidatos atractivos de estudio.⁵⁹

Estas ciclodextrinas modificadas no pueden reproducir la forma toroidal que presentan las CDs nativas; esto se debe al impedimento estérico causado por la sustitución de los grupos hidroxilos secundarios por grupos más voluminosos, así como también, a la ruptura de los enlaces de hidrógeno intramolecular entre unidades de glucosa adyacentes.^{52,60} Como consecuencia, pueden alojar huéspedes más grandes así como también pueden alojarlos en los espacios intersticiales entre moléculas de ciclodextrinas formando clatratos en estado sólido.

Una vez que se sustituyen todos los hidroxilos, el perfil lipofílico de la CD se invierte totalmente y la cavidad se vuelve más hidrofílica que las superficies externas,

mientras que la sustitución también aumenta las dimensiones de la cavidad de la CD unos 1,5 Å.^{52,60}

Las CDs modificadas utilizadas en esta tesis son:

- Modificadas en las posiciones de los hidroxilos C2–OH, C3–OH y C6–OH:
 - TRIMEA (hexakis-(2,3,6-tri-O-metil- α -CD))
 - TRIMEB (heptakis-(2,3,6-tri-O-metil- β -CD))
 - TRIMEG (octakis-(2,3,6-tri-O-metil)- γ -CD))
 - AcBCD (heptakis-(2,3,6-tri-O-acetil)- β -CD))
 - AcGCD (octakis-(2,3,6-tri-O-acetil)- γ -CD))
- Modificadas en las posiciones de los hidroxilos C2–OH y C6–OH:
 - DIMEB (heptakis-(2,6-di-O-metil- β -CD))
- Modificadas en posiciones random de los hidroxilos C2–OH, C3–OH y C6–OH:
 - RAMEB (*randomly methylated- β -CD*)

Influencia de las ciclodextrinas en la reactividad

Las ciclodextrinas desde que se descubrieron, fueron utilizadas como modelos de enzimas artificiales para una variedad de reacciones.⁴⁸ La mayoría de las enzimas se pueden unir a sustratos, inhibidores, activadores u otras sustancias a través de un bolsillo o hendidura hidrofóbica que poseen. Esta hendidura resulta un sitio de reconocimiento molecular más fuerte y adecuado que un plano ya que el área de contacto es mayor y hay mayor posibilidad de desplazar agua estructurada que se encuentra en la cavidad y rodea al sustrato. Una situación similar se produce cuando se forma un complejo ciclodextrina-sustrato.⁵⁵

Por otro lado, las ciclodextrinas nativas no presentan solamente un sitio de reconocimiento hidrofóbico, sino que además poseen numerosos grupos hidroxilo dispuestos alrededor de sus bocas. Los grupos secundarios son ácidos débiles (pK_a

≈12,2) y pueden actuar como ácidos en un amplio intervalo de pH.⁵² En soluciones alcalinas las CDs se pueden disociar al anión correspondiente y actuar como base, Figura 2.11.⁴⁸ En este marco, las CDs pueden ser usadas como modelos de enzimas involucradas en catálisis ácida o básica.⁴⁸

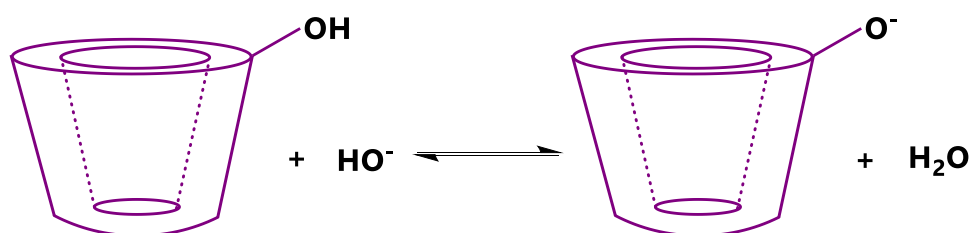
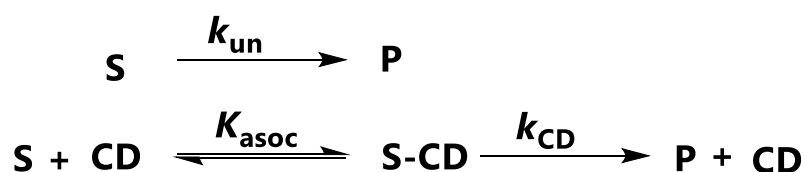


Figura 2.11: Equilibrio de deprotonación de una ciclodextrina.

La formación de complejos de ciclodextrinas puede influir el curso de una reacción química, ya sea en su velocidad y/o en la regioselectividad.^{48,61}

El mecanismo de una reacción en presencia de CD puede describirse como se muestra en el Esquema 2.1 donde el sustrato libre reacciona para dar el producto P y paralelamente se forma un complejo (S-CD) de estequiometría 1:1 que luego reacciona para dar el producto.



Esquema 2.1: Representación general de una reacción mediada por ciclodextrina.

La constante de velocidad observada (k_{obs}) para el esquema anterior está definida por la Ecuación 2.2, donde, k_{un} , representa la reacción del sustrato libre, K_{asoc} representa la constante de velocidad para la asociación entre el sustrato y la

CD, k_{CD} la constante de velocidad para la reacción en presencia de ciclodextrina y $[CD]$ es la concentración analítica de ciclodextrina libre.

$$k_{obs} = \frac{k_{un} + k_{CD}K_{asoc}[CD]}{1 + K_{asoc}[CD]} \quad \text{Ecuación 2.2}$$

La Ecuación 2.2 responde a una cinética de saturación y la constante de velocidad observada obtenida en un intervalo de concentraciones de ciclodextrina apropiado como para reflejar una curvatura hiperbólica, puede ser utilizada para obtener la constante de velocidad k_{CD} y la constante de asociación K_{asoc} .⁶² El valor de k_{un} generalmente se determina directamente en ausencia de ciclodextrina y se puede introducir en la ecuación para ajustar los demás parámetros.

Habitualmente, la discusión del efecto de las ciclodextrinas en la velocidad de una interacción se hace en términos de k_{CD}/k_{un} . Esta relación mide la velocidad máxima de aceleración o retardo de una reacción debido a la asociación con la ciclodextrina. La K_{asoc} nos permite conocer la afinidad que tiene un sustrato determinado por la cavidad de la ciclodextrina, pero no da información de la reacción mediada por ésta.

La inclusión de un sustrato en la cavidad de la ciclodextrina, en general, puede acelerar o inhibir una reacción química.⁶² La observación de estos efectos dependerá de la posición del sitio reactivo del sustrato respecto a los grupos catalíticos de la ciclodextrina. Según Bender y Komiyama, las CDs pueden mostrar dos formas básicas de catálisis: "no covalente" y "covalente".⁶²

En la catálisis no covalente, la inclusión del sustrato en la cavidad de la CD proporciona un medio diferente al del seno de la solución, normalmente acuosa. El efecto catalítico surge de la naturaleza menos polar de la cavidad (un efecto microeléctrico) y/o de las restricciones conformacionales impuestas sobre el

sustrato por la geometría de inclusión. Sin embargo, la catálisis también puede presentarse como resultado de efectos de solvatación en la interfase de la cavidad de la CD con el medio acuoso exterior.⁶²

El término "catálisis covalente" fue elegido por Bender y Komiyama (1978) para clasificar las reacciones en las que existe una interacción covalente entre un grupo funcional en la ciclodextrina (-OH) y el sustrato durante la etapa limitante de la velocidad de la reacción.⁶²

En literatura, se encuentran ejemplos de reacciones de hidrólisis de derivados fosforados (P=O) mediadas por ciclodextrinas en las cuales el mecanismo de catálisis covalente se muestra a través del incremento en la velocidad de la reacción.^{63,64} En contraste, las reacciones de tiofosfatos (P=S) son retardadas comparadas con sus fosfatos análogos (P=O).^{46,65} Por ejemplo, la velocidad observada para la hidrólisis alcalina de *O,O*-dimetil *O*-(4-nitrofenil) fosfato (Paraoxón, Figura 2.10) en presencia de α -CD es 6,51 veces más rápida que en ausencia del receptor (hasta concentraciones de CD donde existe el complejo 1:1, **R:H**). En presencia de β -CD la hidrólisis alcalina de *O,O*-dimetil *O*-(4-nitrofenil) fosforotioato (Paratión, Figura 2.12) es cinco veces menor que la del sustrato libre. Estos resultados pueden ser entendidos en términos de una inclusión más profunda de los tiofosfatos en la cavidad de las ciclodextrinas que los fosfatos.⁴⁶ Se puede inferir que las ciclodextrinas estabilizan a los pesticidas derivados de fosforotioato (P=S) y al mismo tiempo aceleran la hidrólisis de los derivados de fosfatos (P=O), los cuales son mucho más tóxicos y producidos por la oxidación de los tiofosfatos en ambientes naturales.

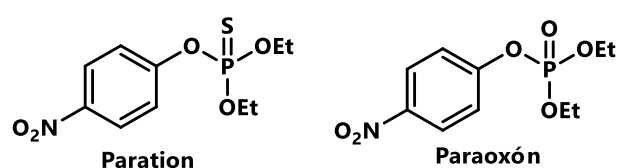


Figura 2.12: Estructura química de paratión y paraoxón.

Fotodegradación de pesticidas en presencia de ciclodextrinas

La presencia de CDs también tiene influencia sobre la fotodegradación de pesticidas. Por ejemplo, se encontró que la inclusión en β -CD inhibe la fotodegradación de paratión, un insecticida organofosforado, y promueve la fotodegradación del paraoxón, compuesto derivado del primero y de mayor toxicidad.⁶⁴ La irradiación de norflurazon en soluciones acuosas en presencia de CDs produce efectos fotocatalíticos cuya magnitud aumenta con el aumento de la constante de equilibrio de formación de los complejos CDs-herbicida en el orden RAMEB > HP β CD > β -CD > α -CD > γ -CD.⁶⁴ En presencia de α - y γ -CD se observaron efectos fotoprotectivos.⁶⁴

Métodos para caracterizar complejos de inclusión

La magnitud de la interacción entre el **H** y el **R** se puede conocer midiendo la constante de asociación (K_{asoc}). Esta puede determinarse mediante técnicas de absorción de luz, resonancia magnética nuclear, solubilidad, conductancia, calorimetría o reactividad química.^{57, 66} En general se mide alguna propiedad física o química del *huésped* que se modifica al formarse el complejo, esta propiedad es por lo tanto la variable dependiente. El *receptor* en general es considerado como variable independiente.⁶⁶

Si se tiene una solución que contiene a **H** y a **R**, y se mide una propiedad de la misma y ésta no es igual a la suma de los valores dados por soluciones de **H** y de **R** por separado (cada uno en la misma concentración que en la mezcla) se puede presumir que ocurre algún tipo de interacción entre ellos.⁶⁶

Hay distintos métodos que se pueden utilizar para entender cómo las moléculas **H** y **R** interaccionan en un arreglo supramolecular dependiendo del estado físico del

sistema y del objetivo específico del estudio.^{67, 68} Los métodos para caracterizar los complejos de inclusión son diversos y se mencionan en la Tabla 2.4.⁶⁹

Tabla 2.4: Métodos para caracterizar complejos de inclusión.⁶⁹

Métodos	Ejemplos
Electroquímicos	Potenciometría, polarografía y voltamperometría cíclica.
Espectroscópicos	UV-visible e infrarroja, fluorescencia, métodos quirópticos.
de Solubilidad	Cambios de solubilidad.
basados en Separación	Cromatografía, electroforesis.
Calorimétricos	Titulación Calorimétrica Isotérmica (ITC).
Térmicos	Termogravimetría (TG), calorimetría diferencial de barrido (DSC).
Cinéticos	En solución: inhibición, catálisis. En estado sólido: deshidratación.
Espectrometría de masas	De una solución en equilibrio.
Difracción	Difracción de Rayos X de monocristal, difracción de neutrones.
Supermicroscopía	STM, AFM, CFM.
Métodos de RMN	En solución y de sólidos.
Métodos quirópticos para elucidación de estructuras	Dicroísmo circular (DC), dicroísmo circular inducido (DCI).
Espectroscopía vibracional	Espectroscopia Raman de estado sólido.
Modelado Molecular a partir de cálculos computacionales	Química Cuántica, Docking molecular, dinámica molecular

Los métodos de espectroscopía UV-visible y fluorescencia son importantes cuando se mide la termodinámica de complejamiento con las ciclodextrinas; sin embargo, proporcionan información indirecta respecto al modo y geometría de inclusión. La espectroscopía de IR de complejos sólidos al igual que del RMN de complejos en solución, permiten conocer la interacción de ciertos grupos funcionales del *huésped* con la ciclodextrina.⁶⁶ El dicroísmo circular (DC) es una técnica muy útil para poner en evidencia la formación de complejos de inclusión entre una molécula orgánica (**H**) y un *receptor* quiral.⁷⁰ Ninguno de los métodos mencionados anteriormente nos permite conocer la geometría de inclusión. En estado sólido, es muy valioso utilizar el método de difracción de rayos X de monocristales al momento de conocer la estructura a nivel atómico de complejos de inclusión de ciclodextrinas con diversos huéspedes.⁵⁰ No obstante, no siempre la conformación en el estado sólido es la presente en solución (o bien ésta es menos estable)⁶⁸ y muchas veces los rendimientos de cristales de complejos de inclusión son muy bajos.

2.4.- Bibliografía

- (1) <http://www.dechile.net/>. Diccionario Etimológico español en línea <http://etimologias.dechile.net/?pesticida> (acceso Oct 30, 2018).
- (2) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), ed. (1986). «Definiciones para los fines del codex alimentarius» <http://www.fao.org/docrep/W5975S/w5975s08.htm> (acceso Oct 30, 2018).
- (3) Aparicio, V.; De Gerónimo, E.; Hernández Guijarro, K.; Pérez, D.; Portocarrero, R.; Vidal, C. En *Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente*; INTA: Argentina, 2015; pp 12–16.
- (4) Ecologistas en Acción. Ríos plagados de pesticidas <https://www.ecologistasenaccion.org/?p=100458> (acceso Oct 30, 2018).

- (5) Zacharia, J. T. En *Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis*; Stoytcheva, M., Ed.; InTech, 2011; pp 1–18.
- (6) Nufarm. Paraquat <http://productos.sistemanufarm.com.ar/html/paraquat-27-6.html> (acceso Oct 30, 2018).
- (7) Nufarm. Klorpan <http://productos.sistemanufarm.com.ar/html/clorpirifos-48.html> (acceso Oct 30, 2018).
- (8) The Dow Chemical Company. Reldan <http://www.dowagro.com/es-ar/argentina/proteccion-de-cultivos/insecticidas/reldan-48e> (acceso Oct 30, 2018).
- (9) Agroservicios del surco. Modo de acción de los agroquímicos <http://www.agrodelsurco.com/modo-de-accion-de-los-agroquimicos/> (acceso Oct 30, 2018).
- (10) Atanor <http://www.atanor.com.ar/trifluralina/> (acceso Aug 1, 2018).
- (11) Kamrin, M. A. En *Pesticides profiles: Toxicity, Environmental impact, and Fate*; CRC Lewis Publishers, Ed.; New York, USA, 2000; pp 145–248, 535–539.
- (12) EPA (Environmental Protection Agency). Types of Pesticide Ingredients <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/types-pesticide-ingredients> (acceso Oct 30, 2018).
- (13) World Health Organization. The WHO Recommended Classification of Pesticides By Hazard and Guidelines To Classification 2009 http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44271/1/9789241547963_eng.pdf (acceso Oct 30, 2018).
- (14) Nassetta, M.; Remedi, M. V.; de Rossi, R. H. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, 39 (6), 1175.
- (15) Labrada, R.; Caseley, J. C.; Parker, C. Manejo de Malezas para Países en Desarrollo <http://www.fao.org/docrep/T1147S/t1147s0e.htm> (acceso Oct 30, 2018).

- (16) Figueiredo Martins, A.; Marranquiel Henriques, D.; Wilde, M. L.; Gonçalves Vasconcelos, T. *J. Environ. Sci. Heal. Part B* **2006**, *41*, 245.
- (17) Grover, R.; Wolt, J. D.; Cessna, A. J.; Schiefer, H. B. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **1997**, *153*, 1.
- (18) Figueiredo Martins, A. *Pure Appl. Chem.* **1998**, *70* (12), 2271.
- (19) Obiols Quinto, J. NTP 512: Plaguicidas organofosforados (I): aspectos generales y toxicocinética http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_512.pdf (acceso Oct 30, 2018).
- (20) Mangas, I.; Vilanova, E.; Estévez, J.; França, T. C. C. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27* (5), 809.
- (21) Pehkonen, S. O.; Zhang, Q. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2002**, *32* (1), 17.
- (22) Stine, K. E.; Brown, T. M. En *Principles of Toxicology*; CRC, Taylor & Francis: New York, 2006; pp 181–218.
- (23) Jokanović, M. *Toxicology* **2001**, *166* (3), 139.
- (24) Orozco-De Los Ríos, I.; Sánchez-Viscaíno, P. M.; González-Ramírez, D.; García-Piñón, J. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* **2005**, *43* (6), 479.
- (25) Klaassen, C. D. En *Casarett & Doull's - Toxicology. The basic science of poisons*; Klaassen, C. D., Ed.; The McGraw-Hill Companies, 2008; pp 883–930.
- (26) Gül, A. *Chemosphere* **2005**, *59*, 163.
- (27) Xu, W.; Xie, L.; Zhu, J.; Wang, W.; Ye, Z.; Ma, Y.; Tsai, C.-Y.; Chen, S.; Ying, Y. *Food Chem.* **2017**, *218*, 330.
- (28) Scaglia, B.; Baglieri, A.; Tambone, F.; Gennari, M.; Adani, F. *Chemosphere* **2016**, *159*, 208.
- (29) García Calvo, E.; Rodríguez Fernández-Alba, A.; Rodríguez, R. En *Residuos de plaguicidas '96. IV Seminario Internacional sobre Residuos de Plaguicidas*; Valverde, A., Ed.; Instituto de Estudios Almerienses, Universidad de Almería,

- 1998; pp 141–159.
- (30) Burrows, H. D.; Canle L, M.; Santaballa, J. A.; Steenken, S. J. *Photochem. Photobiol. B Biol.* **2002**, *67* (2), 71.
- (31) Nayak, S.; Muniz, J.; Sales, C. M.; Tikekar, R. V. *Chemosphere* **2016**, *144*, 1690.
- (32) Lackhoff, M.; Niessner, R. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36* (24), 5342.
- (33) Muszkat, L.; Feigelson, L.; Bir, L.; Muszkat, K. A. *Pest Manag. Sci.* **2002**, *58* (11), 1143.
- (34) Stumm, W.; Morgan, J. J. En *Aquatic Chemistry. Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*; Schnoor, J. L., Zehnder, A., Eds.; Wiley-Interscience publication. John Wiley & Sons, INC: United States of America, 1996; pp 726–759.
- (35) Moore, W. M.; Dupont, R. R.; McLean, J. E. Soil Phase Photodegradation of Toxic Organics at Contaminated Disposal Sites for Soil Renovation and Groundwater Quality Protection
http://digitalcommons.usu.edu/water_rep/193 (acceso Oct 30, 2018).
- (36) Diffey, B. L. *Methods* **2002**, *28* (1), 4.
- (37) Sarmiento Tagle, M. G.; Salum, M. L.; Buján, E. I.; Argüello, G. A. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, *4* (11), 869.
- (38) IUPAC. Compendium of Chemical Terminology. Quantum yield
<http://goldbook.iupac.org/html/Q/Q04991.html> (acceso Oct 30, 2018).
- (39) Vione, D. En *Photochemistry*; Albini, A., Fasani, E., Eds.; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2017; Vol. 44, pp 348–363.
- (40) Philips Lighting Holding B.V. TUV 6W- G6 T5
http://www.assets.lighting.philips.com/is/content/PhilipsLighting/fp928000704013-pss-es_es (acceso Oct 30, 2018).
- (41) Menager, M.; Pilichowski, J. F.; Sarakha, M. *Photochem. Photobiol.* **2010**, *86* (2), 247.

- (42) Steed, J. W.; Atwood, J. L. En *Supramolecular Chemistry*; Steed, J. W., Atwood, J. L., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd, 2009; pp 1–48, 559–561.
- (43) Cram, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27 (8), 1009.
- (44) Cram, D. J.; Cram, J. M. En *Container molecules and their guests*; Stoddart, J. F., Ed.; The Royal Society of Chemistry: Los Angeles, USA, 1977; pp 1–19.
- (45) Saenger, W. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1980**, 19 (5), 344.
- (46) Bender, M.; Komiyama, M. En *Cyclodextrin chemistry*; Hafner, K., Rees, C. W., Trost, B. M., Lehn, J., Schleyer, P. V. R., Zahradník, R., Eds.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: New York, 1978; pp 1–27.
- (47) Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, 98 (5), 1743.
- (48) Tabushi, I. *Acc. Chem. Res.* **1982**, 15 (3), 66.
- (49) Kurkov, S. V; Loftsson, T. *Int. J. Pharm.* **2013**, 453, 167.
- (50) Harata, K. *Chem. Rev.* **1998**, 98 (5), 1803.
- (51) Martin Del Valle, E. M. *Process Biochem.* **2004**, 39 (9), 1033.
- (52) Dodziuk, H. En *Cyclodextrins and Their Complexes: Chemistry, Analytical Methods, Applications*; Dodziuk, H., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Poland, 2006; pp 1–30.
- (53) Khan, A. R.; Forgo, P.; Stine, K. J.; D'Souza, V. T. *Chem. Rev.* **1998**, 98 (5), 1977.
- (54) Harata, K. En *Cyclodextrins and Their Complexes: Chemistry, Analytical Methods, Applications*; Dodziuk, H., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Alemania, 2006; pp 147–198.
- (55) Tabushi, I.; Kuroda, Y. En *Advances in Catalysis*; Eley, D. D., Pines, H., Weisz, P. B., Eds.; Academic Press Inc: London, 1983; Vol. 32, pp 417–466.
- (56) Connors, K. A. *Chem. Rev.* **1997**, 97 (5), 1325.
- (57) Rekharsky, M. V; Inoue, Y. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1875.
- (58) Malanga, M.; Szemán, J.; Fenyvesi, É.; Puskás, I.; Csabai, K.; Gyémánt, G.; Fenyvesi, F.; Sente, L. *J. Pharm. Sci.* **2016**, 105 (9), 2921.

- (59) Angiolini, L.; Agnes, M.; Cohen, B.; Yannakopoulou, K.; Douhal, A. *Int. J. Pharm.* **2017**, *531* (2), 668.
- (60) Jicsinszky, L.; Martina, K.; Caporaso, M.; Cintas, P.; Zanichelli, A.; Cravotto, G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17* (26), 17380.
- (61) Viola, L.; de Rossi, R. H. *Can. J. Chem.* **1999**, *77*, 860.
- (62) Tee, O. S. En *Advances in Physical Organic Chemistry*; Bethell, D., Ed.; Academic Press Inc: Gran Bretaña, 1994; Vol. 29, pp 1–85.
- (63) Van Hoodonk, C.; Groos, C. C. *Recl. Des Trav. Chim. Des Pays-Bas* **1970**, *89* (8), 845.
- (64) Kamiya, M.; Nakamura, K. *Environ. Int.* **1995**, *21* (3), 299.
- (65) Nagata, T.; Yamamoto, K.; Yoshikiyo, K.; Matsui, Y.; Yamamoto, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2009**, *82* (1), 76.
- (66) Connors, K. A. En *Binding Constants: The measurement of molecular complex stability*; Connors, K. A., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Estados Unidos, 1987; pp 21–102.
- (67) Chadha, R.; Kashid, N.; Saini, A. *J. Sci. Ind. Res.* **2004**, *63*, 211.
- (68) Cragg, P. J. En *In A Practical Guide to Supramolecular Chemistry*; Cragg, P. J., Ed.; John Wiley & Sons, Ltd: Reino Unido, 2005; pp 115–159.
- (69) Schneider, H. J.; Yatsimirsky, A. En *Principles and methods in Supramolecular Chemistry*; Schneider, H. J., Yatsimirsky, A., Eds.; John Wiley & Sons: Inglaterra, 2000.
- (70) Allenmark, S. *Chirality* **2003**, *15*, 409.

Capítulo 3

**FOTODEGRADACIÓN
DIRECTA DE CLORPIRIFOS-
METIL Y DOS DE SUS
PRODUCTOS DE
FOTODEGRADACIÓN**

3.1.- Introducción

Los productos agroquímicos se utilizan intensamente como parte del actual manejo integrado de plagas con el fin de proteger los cultivos y hortalizas.¹ Dentro de los agroquímicos, los fertilizantes contribuyen a aumentar la producción y los plaguicidas a reducir las pérdidas que ocasionan tanto malezas e insectos como enfermedades.² Cuando se aplican plaguicidas en el campo, pueden contaminar el suelo, el agua y la atmósfera produciendo un impacto ambiental importante.³

En los últimos años, muchos estudios han demostrado que algunos plaguicidas organofosforados son mutagénicos, citotóxicos,⁴ genotóxicos,⁵ teratogénicos⁶ e inmunotóxicos⁷. Con el fin de reducir al mínimo los posibles peligros de los plaguicidas en los seres humanos y el medio ambiente se debe estudiar y monitorear los residuos de los plaguicidas organofosforados.

El uso del insecticida clorpirifos-metil (**1**) (nombre común de O,O-dimetil-O-(3,5,6-tricloro-2-piridinil)fosforotioato) ha aumentado mucho porque ha sustituido el uso de pesticidas organofosforados más tóxicos.⁸ A continuación, se presentan características de **1**:

<i>Formula molecular:</i>	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS ^{9,10}
<i>Peso molecular:</i>	322,53 ⁹
<i>N° CAS:</i>	5598-13-0 ⁹
<i>Estado físico, apariencia:</i>	Sólido incoloro cristalino ¹⁰
<i>Punto de ebullición (°C):</i>	347,3 a 760 mmHg ¹⁰
<i>Punto de fusión (°C):</i>	46 ^{9,10}
<i>Solubilidad en agua (mg/L):</i>	~2,7 ⁹
<i>Nombre Comercial:</i>	Reldan 48 E® (Dow Agrosciences Argentina S.A.) ⁹

En este capítulo se describen los resultados obtenidos en la cinética de fotodegradación directa de clorpirifos-metil (**1**), y dos de sus productos de la fotodegradación que ya se conocen^{3,11}, clorpirifos-metil oxón (**2**), y 3,5,6-tricloro-2-piridinol (**3**) en 10% ACN/H₂O, Figura 3.1. A fin de identificar los fotoproductos se fotolizaron **1**, **2** y **3** en ACN puro tanto en muestras en aire como en ausencia de oxígeno; o sea haciendo vacío con bomba mecánica (en adelante designado como en ausencia de oxígeno). Para ello se utilizaron diversas técnicas tales como espectrofotometría UV-visible, RMN de ¹H, ¹³C y ³¹P, HRMS y CG-MS. Para fotolizar las muestras, se utilizaron cuatro lámparas de mercurio de baja presión de vapor que esencialmente emiten luz monocromática a 254 nm (ver Capítulo 2, Sección 2.2).

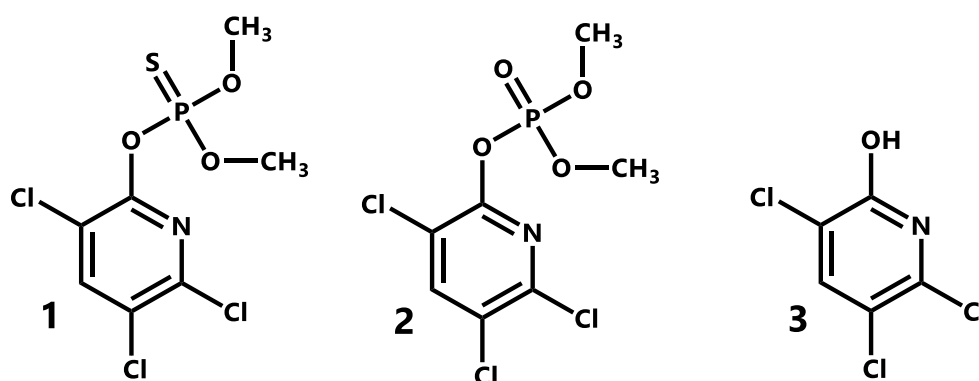


Figura 3.1: Estructuras químicas de **1**, **2** y **3**.

3.2.- Objetivos

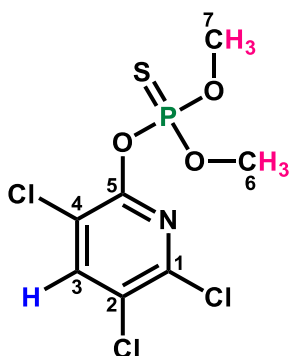
- Estudiar la cinética de la fotodegradación directa de **1**, **2** y **3**.
- Identificar y caracterizar los fotoproductos de **1**, **2** y **3** por diversas técnicas espectroscópicas.
- Proponer un mecanismo para la fotodegradación de **1**.

3.3.- Resultados y Discusión

3.3.1.- Caracterización fisicoquímica de los compuestos estudiados

3.3.1.1.- Clorpirifos-metil (1)

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)



^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 4,009 (d, 6H, H_6 y H_7); 7,871 (s, 1H, H_3).

^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 55,84 (d, $J = 5,0$ Hz, C_6 y C_7); 120,47 (d, $J = 7,2$ Hz, C_4); 127,01 (s, C_2); 141,23 (s, C_3); 144,05 (s, C_1); 150,58 (d, $J = 5,6$ Hz, C_5). C_6 y C_7 se acoplan al fósforo.

^{31}P RMN desacoplado de H (CDCl_3 , δ ppm): 64,95 (s).

Espectro UV-visible

El espectro UV-visible de **1**, Figura 3.2, en 10 % ACN/ H_2O presenta dos máximos de absorción, uno a 229 nm y otro a 289 nm. Se utilizaron cubetas de cuarzo con un paso óptico (PO) de 1 cm.

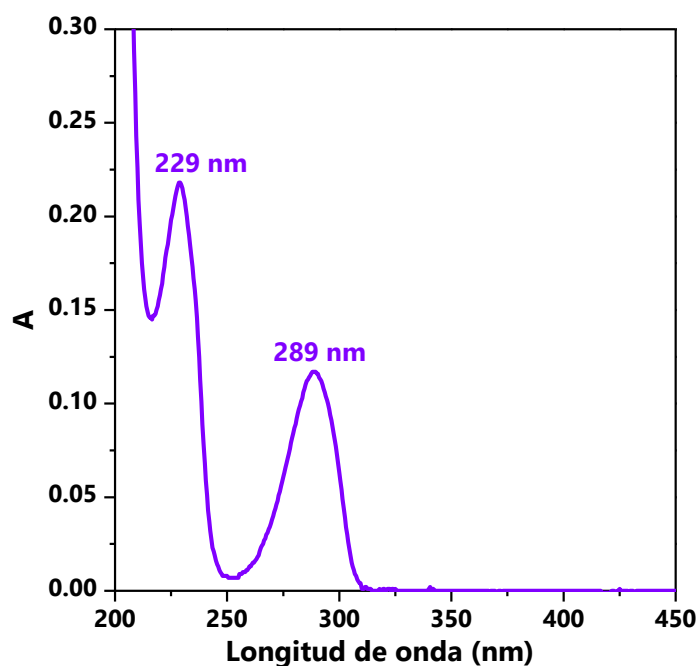


Figura 3.2: Espectro UV-visible de Clorpirifos-metil.
[1]: 2×10^{-5} M en 10 % ACN/H₂O, PO=1 cm

Coeficientes de absortividad molar

La cuantificación de la concentración de una dada especie a partir de la determinación experimental de sus espectros de absorción se basa en la ley de Lambert y Beer. La Ley de Lambert enuncia que la cantidad de luz absorbida es independiente de la potencia o intensidad inicial de luz. La Ley de Beer establece que la cantidad de luz absorbida es proporcional al número de moléculas absorbentes por las que pasa la luz.¹² En consecuencia, la concentración de un analito responde linealmente con su absorbancia medida según la Ecuación 3.1:

$$A = \epsilon b [c]$$

Ecuación 3. 1

A representa la absorbancia; ϵ es la constante de proporcionalidad denominada absortividad molar o coeficiente de extinción (en $M^{-1}cm^{-1}$); b es la longitud de la trayectoria del haz a través de la solución (en cm) y $[c]$ representa la concentración del analito (expresada en M). El coeficiente de extinción (ϵ) es característico de una sustancia en condiciones definidas de longitud de onda,

CAPÍTULO 3: FOTODEGRADACIÓN DIRECTA DE CLORPIRIFOS-METIL Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN

disolvente y temperatura;¹² e indica la probabilidad de que ocurra una determinada transición electrónica entre dos estados electrónicos.

La absorptividad molar se determinó a partir de las respuestas de absorbancia a la longitud de onda de absorción máxima en función de la concentración de **1**. La regresión de los datos graficados según la ley de Lambert-Beer (Ecuación 3.1) fue lineal en todos los casos con coeficientes de correlación >0,999. A partir de las pendientes obtenidas por regresión de mínimos cuadrados se determinaron los valores de ϵ para **1** en 10 % ACN/H₂O (Tabla 3.1).

Tabla 3.1: ϵ calculado de **1** en 10 % ACN/H₂O a 25 °C.

Longitud de onda /nm	$\epsilon / 10^2 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$
229	93 ± 2
289	53 ± 3

Espectrometría de Masas (EM) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (HRMS)

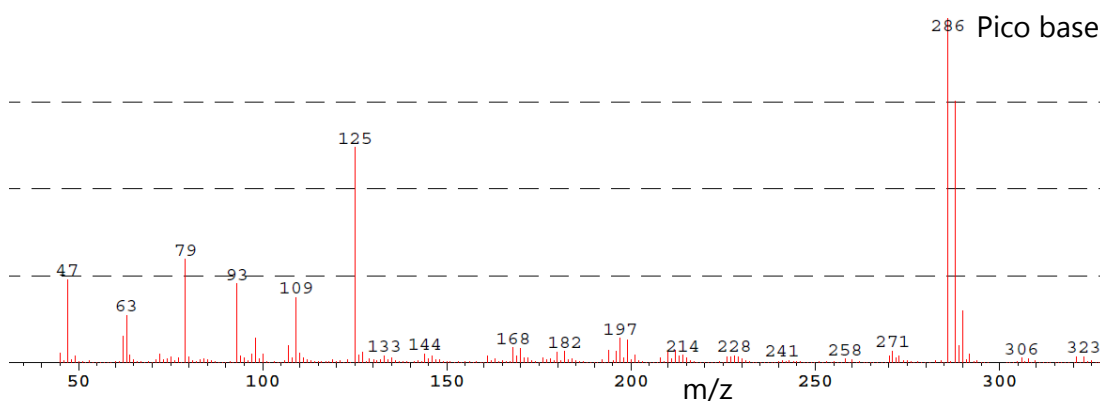


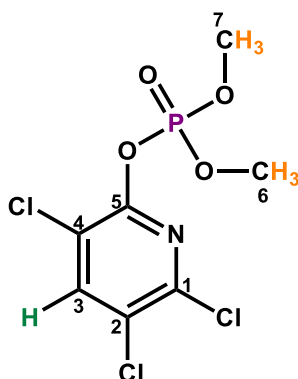
Figura 3.3: Espectro de masas de **1**.

EM (IE) m/z: 323 (M⁺², 2); 321 (M⁺, 2); 290 (15); 289 (5); 288 (75); 286 (100); 271 (3); 212 (4); 210 (3); 199 (6); 197 (7); 196 (3); 194 (4); 182 (3); 170 (4); 168 (4); 127 (3); 125 (62); 109 (19); 107 (5); 98 (7); 93 (23); 79 (30); 63 (14); 62 (8); 47 (24).

HRMS (ESI-TOF) m/z: $[M+Na]^+$ calculado para $C_7H_7Cl_3N_1NaO_3P_1S_1$: 343,8842; encontrado: 343,8828, error 3,9.

3.3.1.2.- Clorpirifos-metil oxón (2)

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)



1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz, δ ppm): 4,03 (d, $J = 11,8$ Hz, C_6 y C_7 , H_6 y H_7); 7,871 (s, 1H, H_3).

^{13}C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz, δ ppm): 55,92 (d, $J = 5,9$ Hz, C_6 y C_7); 119,50 (s, C_4); 127,01 (s, C_2); 141,43 (s, C_3); 144,18 (s, C_1); 150,60 (s, C_5).

^{31}P RMN desacoplado de H ($CDCl_3$, δ ppm): -5,41 (s).

Espectro UV-visible

El espectro UV-visible de **2**, Figura 3.4, en 10 % ACN/ H_2O presenta dos máximos de absorción, uno a 227 nm y otro a 288 nm. Se utilizaron cubetas de cuarzo con un paso óptico (PO) de 1 cm.

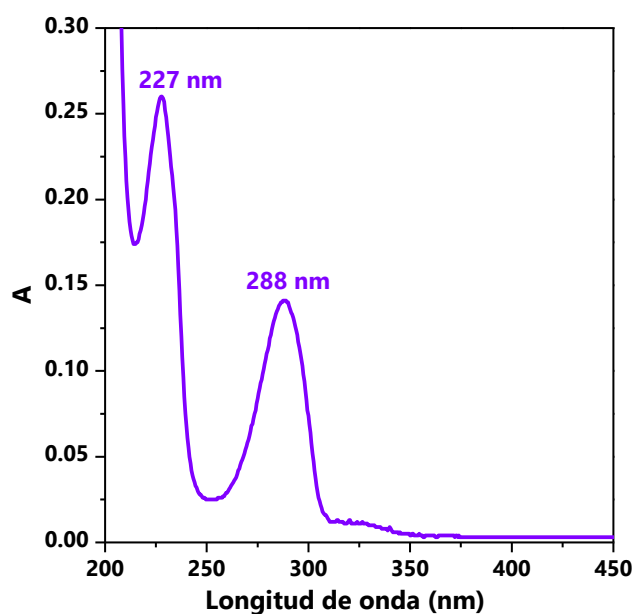


Figura 3.4: Espectro UV-visible de Clorpirifos-metil oxón.
[2]: $2,5 \times 10^{-5}$ M en 10 % ACN/H₂O, PO=1 cm

Coefficientes de absortividad molar

La absortividad molar se determinó a partir de las respuestas de absorbancia a la longitud de onda de absorción máxima en función de la concentración de **2**. La regresión de los datos graficados según la ley de Lambert-Beer (Ecuación 3.1) fue lineal en todos los casos con coeficientes de correlación $>0,999$. A partir de las pendientes obtenidas por regresión de mínimos cuadrados se determinaron los valores de ϵ para **2** en 10 % ACN/H₂O (Tabla 3.2).

Tabla 3.2: ϵ calculado de **2** en 10 % ACN/H₂O a 25°C.

Longitud de onda (nm)	$\epsilon / 10^2 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$
227	120 ± 5
288	62 ± 2

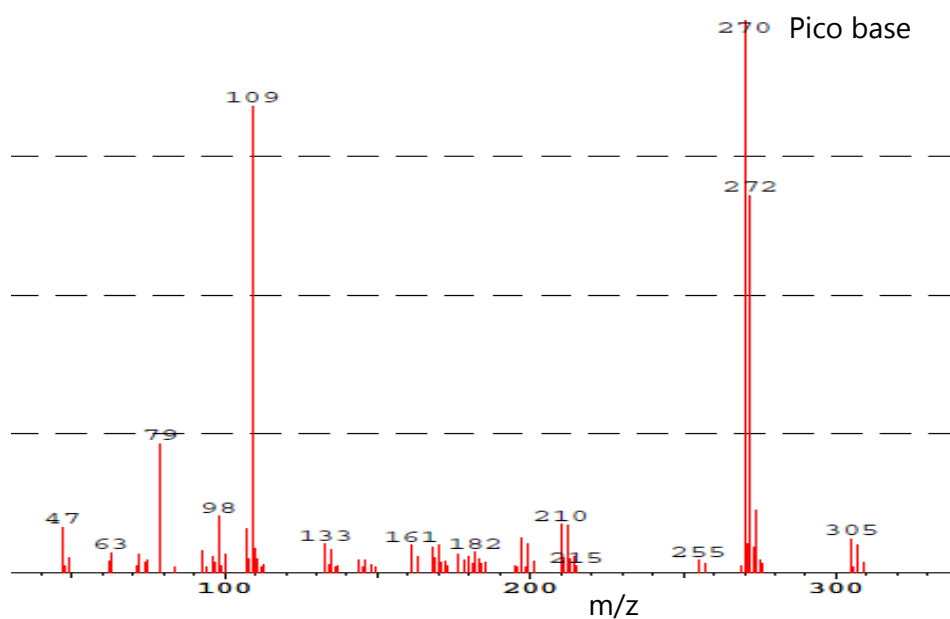
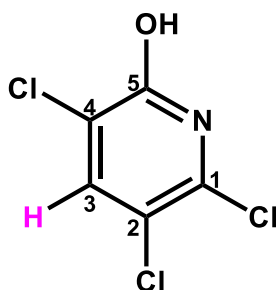
Espectrometría de Masas (EM)

Figura 3.5: Espectro de Masas de 2.

EM (IE) m/z: 307 (M^{+2} , 5); 305 (M^+ , 6); 274 (13); 273 (5); 272 (67); 271 (6); 270 (100); 212 (9); 211 (4); 210 (9); 199 (6); 197 (7); 170 (5); 168 (4); 161 (5); 110 (5); 109 (86); 107 (9); 98 (10); 93 (4); 79 (24); 63 (4); 47 (9).

3.3.1.3.- 3,5,6-Tricloro-2-piridinol (3)

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 7,80 (s, 1H, H₃).

^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 117,69 (s, C₄); 120,63 (s, C₂); 141,35 (s, C₃); 141,63 (s, C₁); 158,06 (s, C₅).

Espectro UV-visible

El espectro UV-visible de **3**, Figura 3.6, en 10 % ACN/H₂O presenta dos máximos de absorción, uno a 239 nm y otro a 320 nm. Se utilizaron cubetas de cuarzo con un paso óptico (PO) de 1 cm.

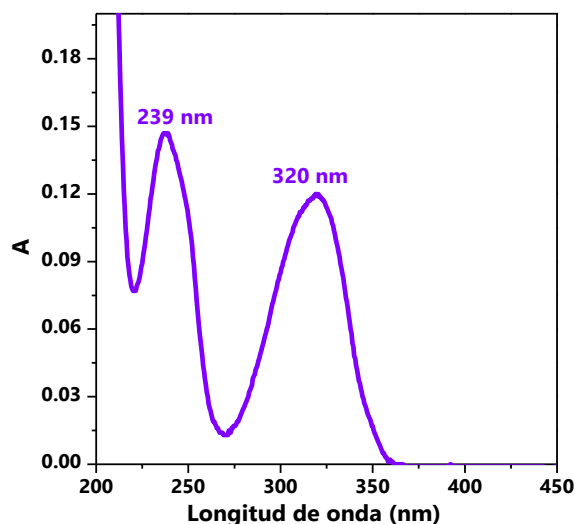


Figura 3.6: Espectro UV-visible de 3,5,6-tricloro-2-piridinol.

[**3**]: $2,6 \times 10^{-5}$ M en 10 % ACN/H₂O, PO=1 cm

Coefficientes de absorptividad molar

La absorptividad molar se determinó a partir de las respuestas de absorbancia a la longitud de onda de absorción máxima en función de la concentración de **3**. La regresión de los datos graficados según la ley de Lambert-Beer (Ecuación 3.1) fue lineal en todos los casos con coeficientes de correlación >0,999. A partir de las pendientes obtenidas por regresión de mínimos cuadrados se determinaron los valores de ϵ para **3** en 10 % ACN/H₂O (Tabla 3.3).

Tabla 3.3: ϵ calculado de **3** en 10 % ACN/H₂O a 25°C.

Longitud de onda /nm	$\epsilon / 10^2 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$
239	49 ± 3
320	40 ± 2

Espectrometría de Masa (EM) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (HRMS)

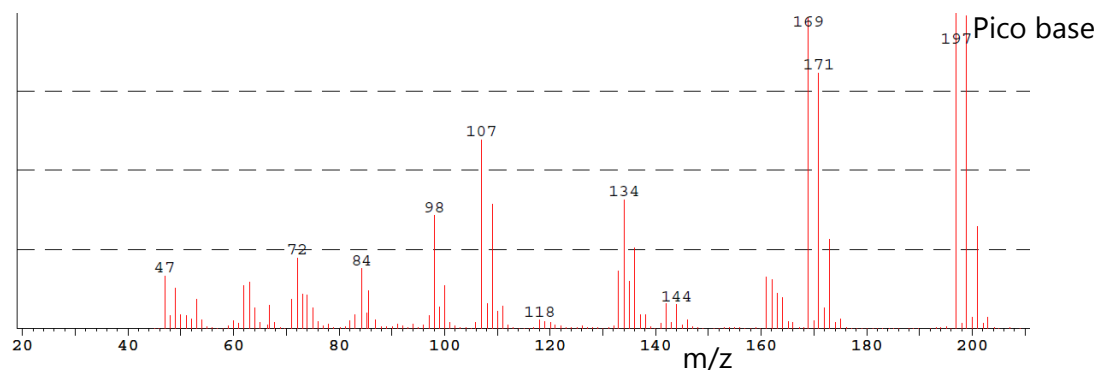


Figura 3.7: Espectro de Masas de **3**.

EM (IE) m/z: 201 (32); 199 (98); 197 (100); 173 (28); 172 (6); 170 (79); 169 (97); 164 (9); 163 (11); 162 (15); 161 (16); 144 (8); 142 (8); 138 (4); 137 (4); 136 (25); 135 (15); 134 (41); 133 (17); 111 (7); 110 (5); 109 (39); 108 (8); 107 (59); 100 (13); 99 (6); 98 (35); 86 (10); 85 (7); 84 (17); 75 (6); 74 (10); 73 (11); 72 (22); 71 (9); 67 (6); 64 (7); 63 (14); 62 (13); 53 (9); 49 (12); 47 (16).

HRMS (ESI-TOF) m/z: $[M-H]^+$ calculado para $C_5H_1Cl_3N_1O_1$: 195,9129; encontrado: 195,9089, error 3,9.

3.3.2.- Análisis de productos de fotodegradación

3.3.2.1.- Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (HRMS)

La degradación ambiental natural, así como la mayoría de los procesos de detoxificación, ocurren generalmente en medios acuosos. En este medio, la solubilidad de los compuestos estudiados es bastante baja. Por esta razón, en los experimentos que se detallan a continuación para analizar los productos de fotodegradación, se usó ACN puro (99,05%) a los fines de solubilizar las muestras y que permitieran su detección por las técnicas de caracterización estructurales

CAPÍTULO 3: FOTODEGRADACIÓN DIRECTA DE CLORPIRIFOS-METIL Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN

menos sensibles. Para identificar los fotoproductos, ambos **1** y **2** se fotolizaron en muestras en aire y en ausencia de oxígeno. En el caso de **3**, sólo se estudió la fotodegradación en aire. El crudo de las reacciones se analizó por CG-MS, HRMS y ^{31}P NMR. Con los resultados obtenidos (descritos a continuación), se planteará un camino para la fotodegradación de **1**.

Análisis de muestras en aire

Utilizando la técnica HRMS, se identificaron los compuestos **2-7** como productos en la fotólisis de **1** (Tabla 3.4); los compuestos **3, 5, 7** y **9** en la fotólisis de **2** (Tabla 3.5); pero no se observaron productos de degradación para el compuesto **3** (Tabla 3.6).

El análisis de los productos por CG-MS mostró características interesantes ya que se logró detectar la presencia de los tres posibles isómeros de **8** (Figura 3.8 y Tabla 3.7), los tres posibles isómeros de **9** (Figura 3.9 y Tabla 3.8), y dos de los tres posibles isómeros de **10** (Figura 3.10 y Tabla 3.9), en las soluciones fotolizadas de **1, 2** y **3**, respectivamente. Además, en la solución fotolizada de **1**, se observaron los compuestos **3, 6, 9** y un compuesto no identificado. En la solución fotolizada de **2**, se observaron los compuestos **3** y **7**.

Se observa por ambas técnicas, en la fotodegradación de **1, 2** y **3**, un remanente sin degradar de **1, 2** y **3**, respectivamente al tiempo de reacción para las concentraciones utilizadas.

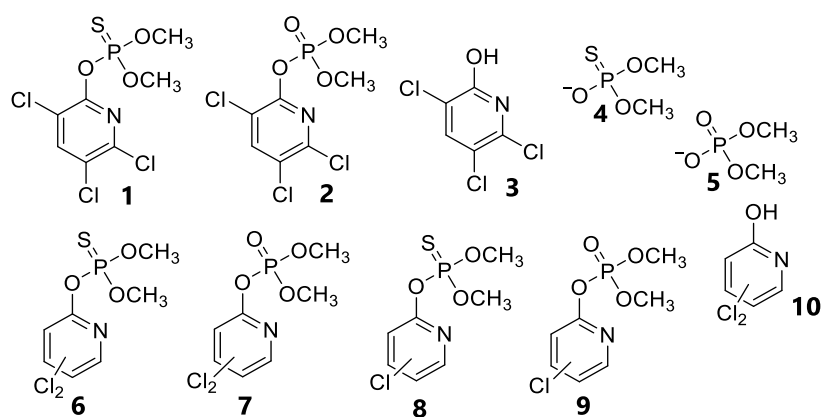


Tabla 3.4: HRMS de la solución en aire de **1** fotodegradada en ACN después de 235 min de irradiación, y asignación. $[1]_0 = 51,7 \times 10^{-3}$ M

N°	Nombre IUPAC	Fórmula estructural	Modo	$[m/z]^+$ exp.	$[m/z]^+$ calc.
1	O,O-dimetil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinol)-fosforotioato	C ₇ H ₇ Cl ₃ NNaO ₃ PS	[M+Na] ⁺	343,8851	343,8842
2	O,O-dimetil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinol)-fosfato	C ₇ H ₇ Cl ₃ NNaO ₄ P	[M+Na] ⁺	327,9085	327,9070
3	3,5,6-tricloro-2-piridinol	C ₅ HCl ₃ NO	[M-H] ⁺	195,9086	195,9129
4	O,O-dimetil fosforotioato	C ₂ H ₆ O ₃ PS	[M-H] ⁺	140,9752	140,9781
5	Dimetil fosfato	C ₂ H ₆ O ₄ P	[M-H] ⁺	124,9973	125,0009
6	O,O-dimetil O-(dicloro-2-piridinol)-fosforotioato	C ₇ H ₇ Cl ₂ NO ₃ PS	[M-H] ⁺	285,9282	285,9267
7	O,O-dimetil O-(dicloro-2-piridinol)-fosfato	C ₇ H ₈ Cl ₂ NNaO ₄ P	[M+Na] ⁺	293,9464	293,946

Tabla 3.5: HRMS de la solución en aire de **2** fotodegradada en ACN después de 235 min de irradiación, y asignación. $[2]_0 = 3,69 \times 10^{-3}$ M

N°	Nombre IUPAC	Fórmula estructural	Modo	$[m/z]^+$ exp.	$[m/z]^+$ calc.
2	O,O-dimetil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinol)-fosfato	C ₇ H ₇ Cl ₃ NNaO ₄ P	[M+Na] ⁺	327,9078	327,9070
3	3,5,6-tricloro-2-piridinol	C ₅ HCl ₃ NO	[M-H] ⁺	195,9051	195,9129
5	Dimetil fosfato	C ₂ H ₆ O ₄ P	[M-H] ⁺	124,9968	125,0009
7	O,O-dimetil O-(dicloro-2-piridinol)-fosfato	C ₇ H ₈ Cl ₂ NNaO ₄ P	[M+Na] ⁺	293,9469	293,9460
9	O,O-dimetil O-(cloro-2-piridinol)-fosfato	C ₇ H ₉ ClNNaO ₄ P	[M+Na] ⁺	259,9851	259,985

CAPÍTULO 3: FOTODEGRADACIÓN DIRECTA DE CLORPIRIFOS-METIL Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN

Tabla 3.6: HRMS de la solución en aire de **3** fotodegradada en ACN después de 30 min de irradiación, y asignación. $[3]_0 = 52,4 \times 10^{-3}$ M

N°	Nombre IUPAC	Fórmula estructural	Modo	$[m/z]^+$ exp.	$[m/z]^+$ calc.
3	3,5,6-tricloro-2-piridinol	C_5HCl_3NO	$[M-H]^+$	195,9122	195,9129

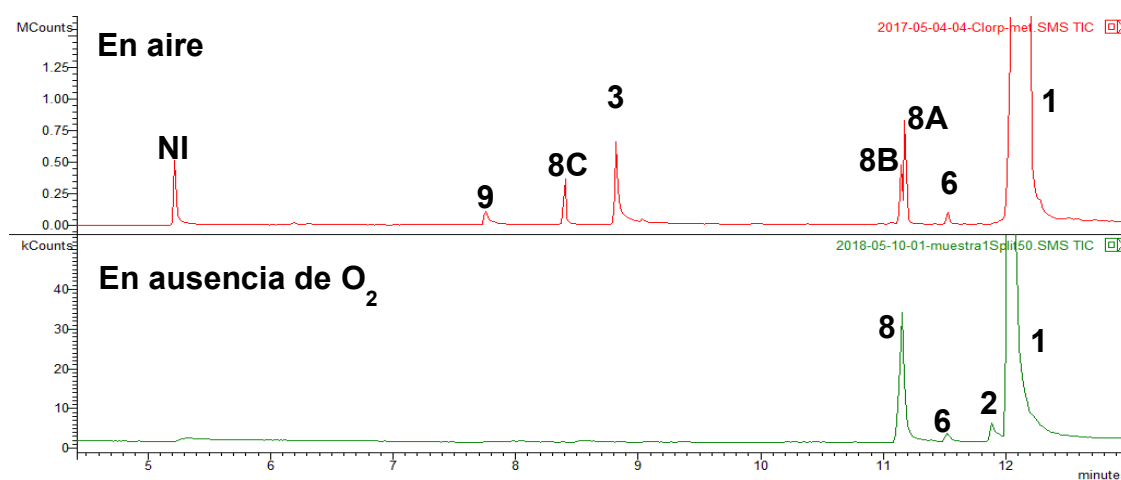


Figura 3.8: CG-MS de la solución de **1** en ACN después de irradiar, y asignación. $[1]_0 = 51,7 \times 10^{-3}$ M (en aire), $[1]_0 = 53,810^{-3}$ M (en ausencia de oxígeno).

Tabla 3.7: Tiempos de retención de la Figura 3.8.

N°	Tiempo de retención /min	
	En aire	En ausencia de O_2
1	12,167	12,045
2		11,885
6	11,531	11,518
8 isómero A	11,183	
8 isómero B	11,142	11,152
3	8,830	
8 isómero C	8,413	
9	7,759	
NI (no identificado)	5,249	

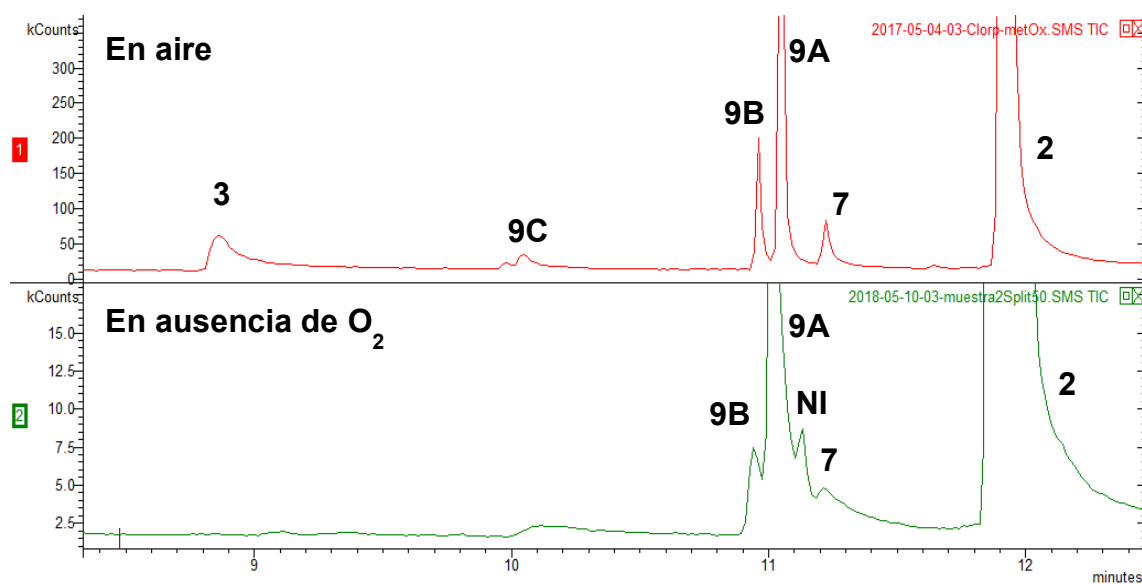


Figura 3.9: CG-MS de la solución de **2** en ACN después de irradiar, y asignación. $[2]_0 = 3,69 \times 10^{-3}$ M (en aire), $[2]_0 = 10,0 \times 10^{-3}$ M (en ausencia de oxígeno).

Tabla 3.8: Tiempos de retención de la Figura 3.9.

N°	Tiempo de retención /min	
	En aire	En ausencia de O ₂
2	11,979	12,032
7	11,236	11,217
NI (No identificado)		11,134
9 isómero A	11,066	11,022
9 isómero B	10,968	10,941
9 isómero C	10,072	
3	8,9640	

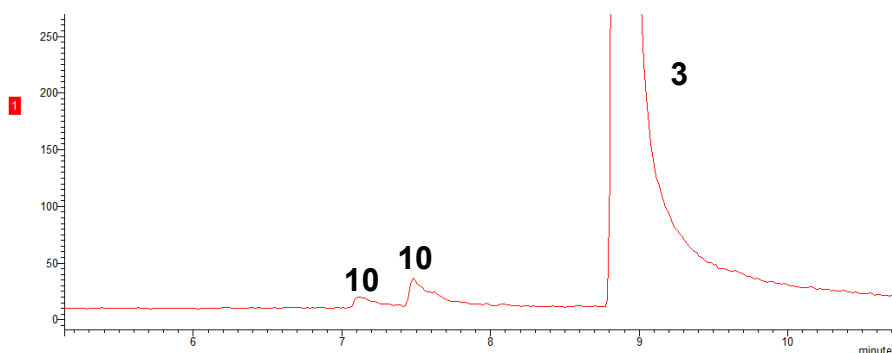


Figura 3.10: CG-MS de la solución en aire de **3** en ACN después de irradiar, y asignación. $[3]_0 = 52,4 \times 10^{-3} \text{ M}$

Tabla 3.9: Tiempos de retención de la Figura 3.10.

N°	Tiempo de retención /min
3	8,848
10 isómero A	7,573
10 isómero B	7,184

Análisis de muestras en ausencia de oxígeno

Estos experimentos se llevaron a cabo mucho tiempo después de los realizados en soluciones saturadas de aire. Los resultados obtenidos a partir de los crudos de reacción empleando la técnica de HRMS muestran los compuestos **2**, **3** y **6** en la fotólisis de **1** (Tabla 3.10), y los compuestos **3** y **7** en la fotólisis de **2** (Tabla 3.11). La ausencia de detección de los compuestos **4** y **5** (rupturas de los enlaces O–Ar), se debe a una pérdida de sensibilidad en el equipo que no permite su detección.

El cromatograma de CG-MS, mostró la presencia de **2**, **6** y uno de los tres isómeros posibles de **8** que provienen de la degradación de **1** (Figura 3.8 y Tabla 3.7); en el caso de **2**, observamos la presencia de **7** y dos de los tres isómeros posibles de **9** (Figura 3.9 y Tabla 3.8).

Se distingue por ambas técnicas, en la degradación de **1** y **2**, un remanente sin degradar de **1** y **2**, respectivamente.

Se observa que **1** se degrada a **2**, por una oxidación con pérdida de azufre, convirtiéndose en la forma oxón correspondiente ($P=S \rightarrow P=O$) tanto en las muestras en aire como en ausencia de oxígeno. En ausencia de oxígeno, se observa la formación de **2** lo que puede explicarse porque el solvente utilizado (ACN) tiene disuelto un 0,05 % de agua, suficiente para realizar la oxidación.

Además, se observa que **1** se degrada a **3** y **4**, y **2** se degrada a **3** y **5**; esto indicaría que dichos productos provienen de las rupturas de los enlaces P–OAr y O–Ar.

La presencia de los distintos isómeros de los compuestos **8**, **9** y **10**, corroboraría que la energía de la irradiación (254 nm = 470 kJ/mol) alcanza para romper el enlace C–Cl de cualquiera de los tres isómeros de cada uno de esos compuestos ya que la energía de enlace promedio de 330 kJ/mol.

En la composición del aire predomina la presencia de oxígeno y es importante saber si interfiere en el mecanismo de fotodegradación; pero, en este caso parece que no hay ninguna participación especial de oxígeno molecular en el mecanismo de fotodegradación de **1**.

Tabla 3.10: HRMS de la solución en ausencia de oxígeno de **1** fotodegradada en ACN después de 240 min de irradiación, y asignación. $[1]_0 = 53,8 \times 10^{-3}$ M

N°	Nombre IUPAC	Fórmula estructural	Modo	$[m/z]^+$ exp.	$[m/z]^+$ calc.
1	O,O-dimetil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinol)-fosforo tioato	$C_7H_7Cl_3NNaO_3PS$	$[M+Na]^+$	343,8855	343,8842
2	O,O-dimetil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinol)-fosfato	$C_7H_7Cl_3NNaO_4P$	$[M+Na]^+$	327,9068	327,9070
3	3,5,6-tricloro-2-piridinol	C_5HCl_3NO	$[M-H]^+$	195,9122	195,9129
6	O,O-dimetil O-(dicloro-2-piridinol)-fosforo tioato	$C_7H_8Cl_2NNaO_3PS$	$[M+Na]^+$	285,9230	285,9267

Tabla 3.11: HRMS de la solución en aire de **2** fotodegradada en ACN después de 240 min de irradiación, y asignación. $[2]_0 = 15,0 \times 10^{-3}$ M

N°	Nombre IUPAC	Fórmula estructural	Modo	$[m/z]^+$ exp.	$[m/z]^+$ calc.
2	O,O-dimetil O-(3,5,6-tricloro-2-piridinol)-fosfato	C ₇ H ₇ Cl ₃ NNaO ₄ P	[M+Na] ⁺	327,9077	327,9070
3	3,5,6-tricloro-2-piridinol	C ₅ HCl ₃ NO	[M-H] ⁺	195,9052	195,9129
7	O,O-dimetil O-(dicloro-2-piridinol)-fosfato	C ₇ H ₈ Cl ₂ NNaO ₄ P	[M+Na] ⁺	293,9457	293,9460

3.3.2.2.- Resonancia magnética nuclear (RMN)

Se irradiaron soluciones de **1** ($1,042 \times 10^{-3}$ M) y **2** ($7,47 \times 10^{-4}$ M) en ACN en un balón de cuarzo de 250 mL y se tomaron muestras a diferentes tiempos de irradiación que se analizaron por ¹H y ³¹P NMR. Para preparar la muestra para el análisis, se tomó una alícuota de 30 mL de la solución y se evaporó el disolvente en un rotavapor; el residuo se disolvió en CDCl₃ (0,6 mL) que contenía sulfuro de trifenilfosfina (STF) como estándar interno. A continuación, se muestran los resultados de la fotólisis de **1** y **2** a un tiempo de irradiación, Figura 3.11 y Figura 3.12, respectivamente.

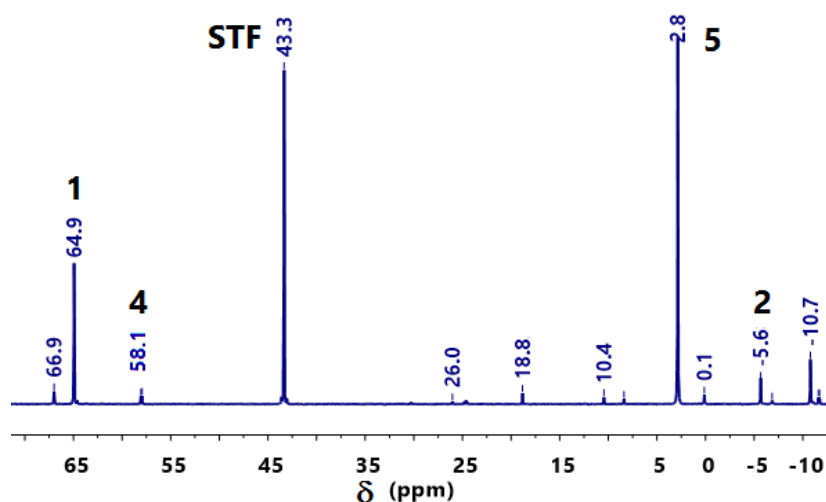


Figura 3.11: Espectro de ³¹P RMN de **1** en CDCl₃ después de 416 min de irradiación.

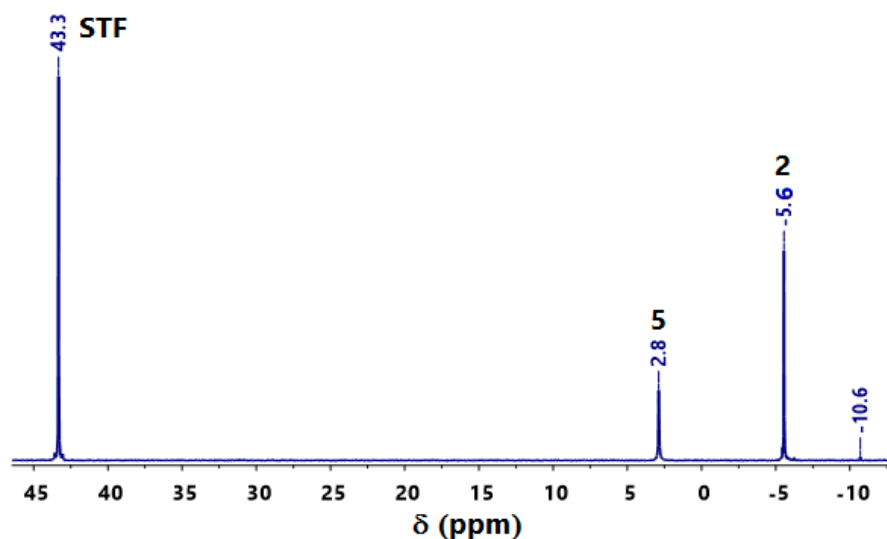


Figura 3.12: Espectro de ^{31}P RMN de **2** en CDCl_3 después de 400 min de irradiación.

A través de los espectros de ^{31}P NMR, se observa que la fotólisis de **1** generó **2** y **5** entre otros productos al final de la irradiación; este último también se detectó en la degradación de **2**. Aunque no se pudo realizar ninguna cuantificación total de los productos, siguiendo la fotodegradación de **1** por ^{31}P NMR se pudo observar que después de 877 min de irradiación, el producto más abundante que contiene P es el compuesto **5** (90 %) y el 10 % de la reacción forma directamente el compuesto **2** que se mantiene constante a lo largo de todos los tiempos de irradiación (Figura 3.11). El compuesto **5** puede proceder por la descomposición de **2** y a través de un intercambio directo de azufre-oxígeno desde **4** para alcanzar el 90 % observado.

Identificación de *O,O*-dimetil-*O*-(dicloro-2-piridinil)-fosfato (**4**) y Dimetil fosfato (**5**)

En bibliografía sobre RMN de ^{31}P , se encontró que cuando un átomo de fósforo se encuentra unido de la siguiente forma $\text{O}=\text{P}(\text{OR})_3$ el valor observado en la señal debe ser entre -30 y 20 ppm aproximadamente; pero cuando un átomo de fósforo se encuentra unido de la siguiente manera $\text{S}=\text{P}(\text{OR})_3$, el valor observado en la señal debe ser entre 50 y 80 ppm aproximadamente.¹³

CAPÍTULO 3: FOTODEGRADACIÓN DIRECTA DE CLORPIRIFOS-METIL Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN

Se identificó a **5** por RMN de ^{31}P con un corrimiento a 2,85 ppm (Figura 3.11) y por RMN de ^1H y ^{13}C , Figuras 3.13 y 3.14, respectivamente. Teniendo en cuenta los datos publicados de RMN de ^{31}P para el compuesto **4**^{14,15} y el valor de corrimiento calculado, se identificó a la señal a 58,1 ppm en el espectro de RMN de ^{31}P , como perteneciente a **4**, Figura 3.11 y Tabla 3.12.

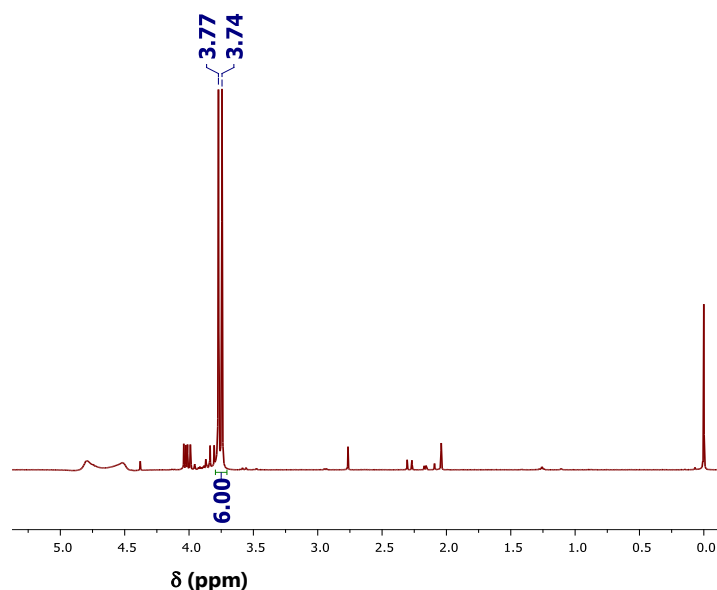


Figura 3.13: Espectro de RMN ^1H de un crudo de reacción de fotólisis (877 min). Señales correspondientes a **5**. $[\mathbf{1}]_0 = 1,6 \times 10^{-3}$ M. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 3,76 (d, $J = 11,2$ Hz, O- CH_3).

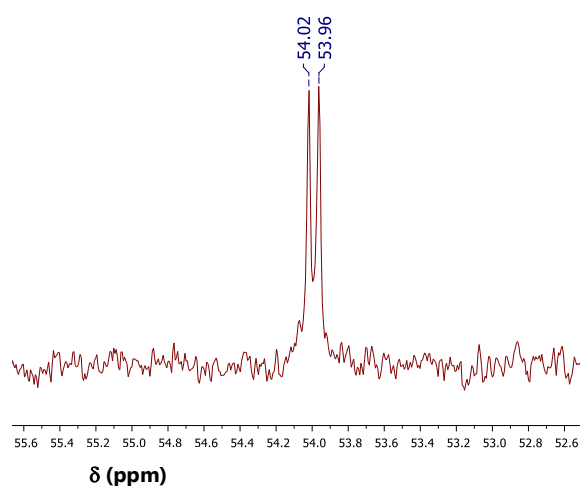
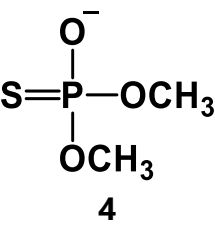


Figura 3.14: Espectro de RMN ^{13}C de un crudo de reacción de fotólisis (877 min). Señales correspondientes a **5**. $[\mathbf{1}]_0 = 1,6 \times 10^{-3}$ M. ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz, δ ppm): 53,99 (d, $J = 5,6$ Hz, O- CH_3).

Tabla 3.12: Identificación de **4** por un análisis de datos por RMN ³¹P.

Compuesto fosforado	Calculada ¹⁶ δ, ppm	Experimental δ, ppm	solvente	Publicada δ, ppm	solvente
 4	58,6 ± 0,01	58,1	CDCl ₃	58,6 ¹⁴	EtOK ^a , en metanol
				58,2 ¹⁵	H ₂ O:D ₂ O (5:5), 5%Dx

^a Etóxidos de potasio.

3.3.3.- Estudios Cinéticos. Determinación de las constantes observadas de desaparición para la fotodegradación

El sustrato **1** fue irradiado dentro una caja de metal equipada con 4 lámparas de mercurio de baja presión ($\lambda=254$ nm) para estudiar la velocidad de fotodegradación.

Una solución de **1** ($9,5 \times 10^{-5}$ M) en ACN (99,05 %), en una cubeta de cuarzo de 5 cm de paso óptico, se colocó dentro de la caja metálica y se irradió a 254 nm por 290 min. Se tomó un espectro UV-visible de la solución antes de irradiar y luego, a diversos tiempos de irradiación. Como se mencionó previamente el insecticida tiene dos bandas de absorción a 229 y 289 nm; se irradió durante 100 min y ambas bandas de absorción, desaparecieron (atribuidas al consumo de **1**) y se observó una nueva banda a 288 nm que creció con el tiempo de irradiación hasta 290 min (atribuido mayoritariamente a la formación de **2**) (Figura 3.15).

Con el fin de calcular la constante de desaparición observada para la fotodegradación de **1** en soluciones acuosas (10% ACN/H₂O), sólo se tomó en cuenta el intervalo de tiempo donde se observaba únicamente la disminución de la banda en la solución de ACN. Dado que clorpirifos-metil oxón (**2**) y 3,5,6-tricloro-2-piridinol (**3**) son dos de los fotoproductos encontrados y sus bandas de absorción UV se solapan con las de la molécula **1**, se realizó un estudio de

degradación independiente de estos compuestos bajo las mismas condiciones de la fotodegradación de **1**.

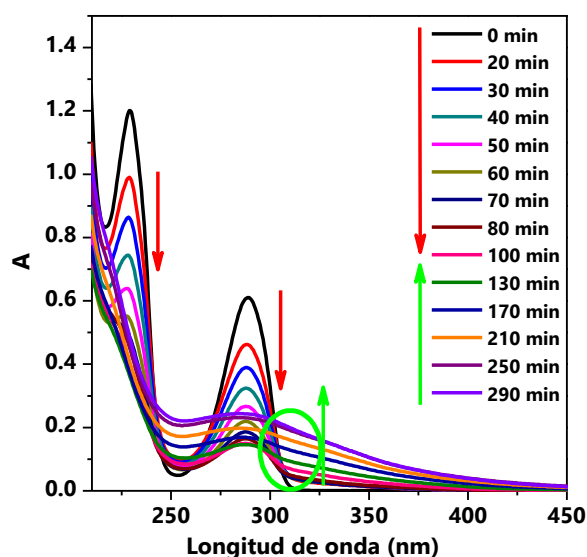


Figura 3.15: Espectro de **1** a diferentes tiempos de irradiación en ACN, $[1]_0=9,5 \times 10^{-5}$ M, $PO=5$ cm

Dilling *et al.*¹⁷ determinaron el rendimiento cuántico de la fotodegradación a 313 nm en soluciones acuosas para clorpirifos y **3** informando valores de 0,0048 y 0,16, respectivamente. Posteriormente, Wan *et al.*¹⁸ midieron el rendimiento cuántico en soluciones acuosas a 254 nm para **1** y clorpirifos reportando un valor de 0,013 y 0,016, respectivamente.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de fotodegradación de **1**, **2** y **3**, respectivamente en 10% ACN/H₂O.

3.3.3.1.-Fotodegradación de Clorpirifos-metil (**1**)

Una solución de **1** (2×10^{-5} M) en 10% ACN/H₂O, en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico, se colocó dentro de la caja metálica y se irradió a 254 nm por 90 min. Se tomó un espectro UV-visible de la solución antes de irradiar y luego, a diversos tiempos de irradiación. Tras la irradiación de la solución ambas bandas de absorción disminuyen sus intensidades indicando el consumo de **1**, Figura 3.16.

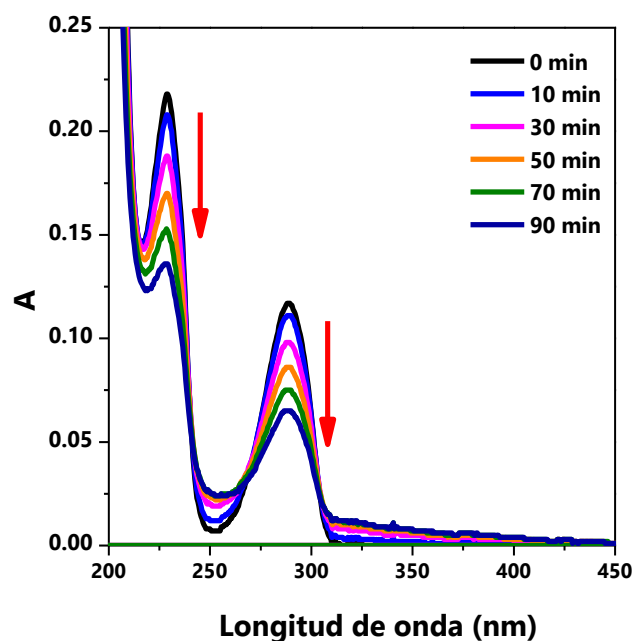


Figura 3.16: Espectro de **1** a diferentes tiempos de irradiación en 10% ACN/H₂O, [1]₀=2×10⁻⁵ M, PO= 1 cm.

Se registró la absorbancia en función del tiempo en los dos máximos, y se calcularon dos constantes observadas de desaparición (k_{obs}) para la fotodegradación de **1**, Figura 3.17. En este caso, se utilizó la función lineal (Ecuación 3.2) de la función simple exponencial (Ecuación 3.3) para modelar los datos y determinar k_{obs} porque al tomar el primer intervalo de tiempos, son pocos los puntos para responder al modelo de la función simple exponencial.

$$\ln(A - A_{inf}) = -k \cdot t + \ln(A_0 - A_{inf})$$

Ecuación 3. 2

A_0 , A y A_{inf} , representan la absorbancia inicial, la absorbancia a un determinado tiempo de reacción y la absorbancia a tiempos infinitos (10 tiempos de vida media), k , es la constante de velocidad observada y t , es el tiempo de irradiación.

$$A_t = \text{Amp.} \cdot e^{(-k.t)} + A_{\text{inf}} \quad \text{Ecuación 3.3}$$

donde A_t , es la absorbancia leída a una longitud de onda en un determinado tiempo de reacción, Amp. , es el cambio máximo en absorbancia de los procesos cinéticos observados, A_{inf} , absorbancia leída al final de la reacción cuando ya no se registran cambios de esta magnitud en función del tiempo, k , es la constante de velocidad observada y t , es el tiempo de reacción.

Los valores calculados son $(10,7 \pm 0,1) \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ y $(12,2 \pm 0,2) \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ para 229 y 289 nm, respectivamente.

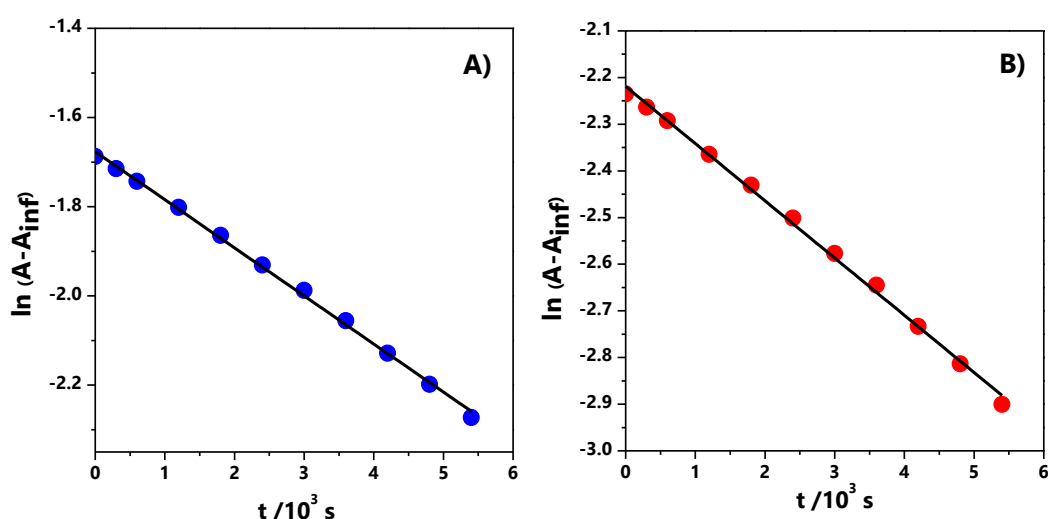


Figura 3.17: Gráfico de $\ln(A - A_{\text{inf}})$ vs t de solución de **1** en 10% ACN/ H_2O , $\text{PO} = 1 \text{ cm}$. La línea negra continua corresponde a la regresión lineal (Ecuación 3.2). A) 229 nm y B) 289 nm.

A fin de evaluar si la reacción de degradación de **1** sólo depende de la absorción de luz, se llevó a cabo un experimento en la oscuridad a 36°C , la temperatura dentro de la caja cuando las lámparas irradian. Por espectrofotometría UV-visible se observó que no hubo reacción hasta 900 min, indicando que no hay reacciones térmicas o que la contribución de estas es despreciable, Figura 3.18.

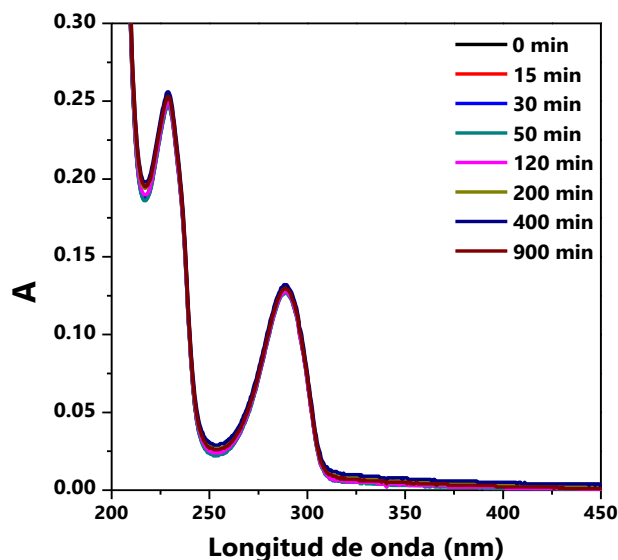


Figura 3.18: Espectro de **1** a diferentes tiempos en oscuridad a 36 °C. $[1]_0=2\times 10^{-5}$ M en 10% ACN/H₂O, PO= 1 cm.

3.3.3.2.-Fotodegradación de Clorpirifos-metil oxón (2)

El espectro UV-visible de **2** (2×10^{-5} M) en 10% ACN/H₂O muestra dos bandas de absorción a 227 y 288 nm. La irradiación de **2** a 254 nm provoca la disminución de la señal UV-visible; desapareciendo completamente en un tiempo de 1240 min, Figura 3.19.

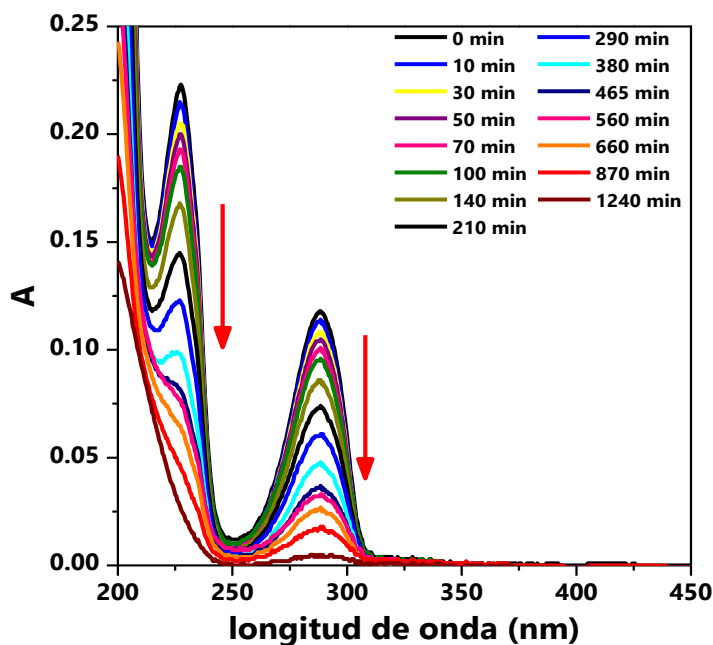


Figura 3.19: Espectro de **2** a diferentes tiempos de irradiación. $[2]_0=2\times 10^{-5}$ M en 10% ACN/H₂O, PO=1cm.

Se determinaron las constantes observadas de desaparición para la fotodegradación de **2** a las dos longitudes de onda máximas. Los datos siguieron el modelo dado por la Ecuación 3.3. Los valores calculados son $(3,9\pm 0,1)\times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ y $(3,8\pm 0,1)\times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ para 227 y 288 nm, respectivamente (Figura 3.20).

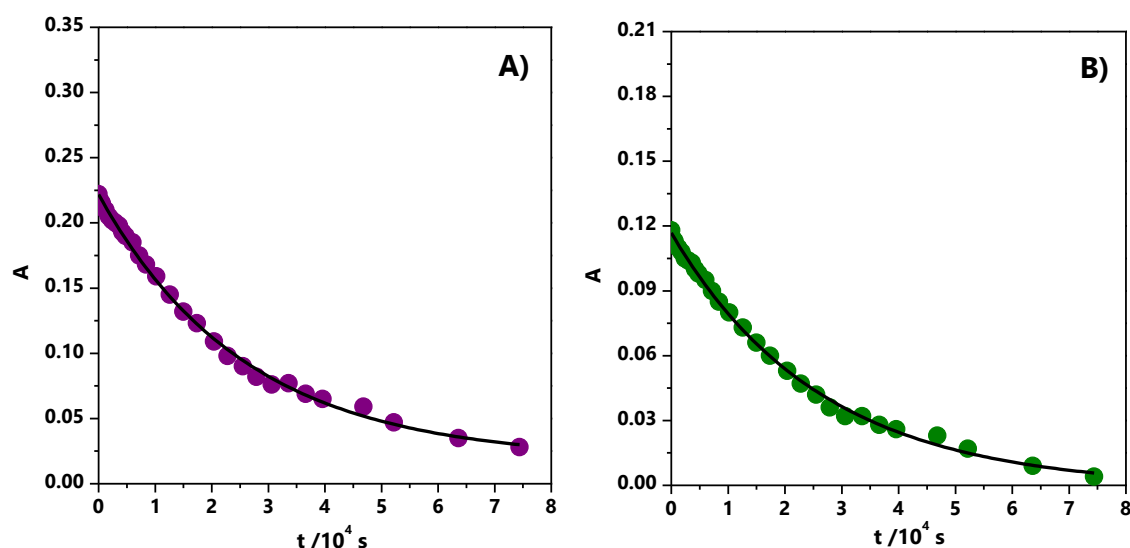


Figura 3.20: Gráfico de A vs t de la solución de **2** fotolizada en 10% ACN/H₂O, $[2]_0=2\times 10^{-5} \text{ M}$, PO= 1 cm. Línea negra continua es el ajuste realizado con la Ecuación 3.3. A) 229 nm y B) 289 nm.

3.3.3.3.-Fotodegradación de 3,5,6-tricloro-2-piridinol (**3**)

El espectro UV-visible de **3** ($2\times 10^{-5} \text{ M}$) en 10% ACN/H₂O muestra dos bandas de absorción a 239 y 320 nm. Después de un minuto de irradiación estas dos bandas desaparecen y dos nuevas bandas se observan a 262 y 348 nm, que luego disminuyen con irradiación durante 16 min, Figura 3.21.

La banda observada a 262 nm podría ser atribuida a los isómeros **10** porque al intercambiar un átomo de cloro por un hidrógeno en alguna de las tres posiciones del anillo aromático de **3** el máximo de longitud de onda debería cambiar.

Andre *et al.*¹⁹ estudiaron la fotólisis de la piridina en solución acuosa con una lámpara germicida ($\lambda_{\text{emisión}}=254 \text{ nm}$). Observaron la desaparición de la banda correspondiente a la piridina ($\lambda_{\text{max}} \approx 250 \text{ nm}$) y la formación del compuesto 5-

amino-2,4-pentadienal ($\lambda_{\text{max}} \approx 360 \text{ nm}$) con el tiempo. El espectro de este compuesto tiene el mismo perfil que la banda observada a 348 nm en la fotólisis de **3** (Figura 3.21), por lo que podría atribuirse al compuesto que se formaría por la apertura del anillo de **10**. La diferencia del máximo de longitud de onda podría deberse a que nuestros compuestos tienen sustituyentes en el anillo de la piridina. La desaparición de esta banda podría indicar la existencia de una ruta que conduce a la mineralización del compuesto **3** vía la formación de **10** que luego se degrada totalmente.

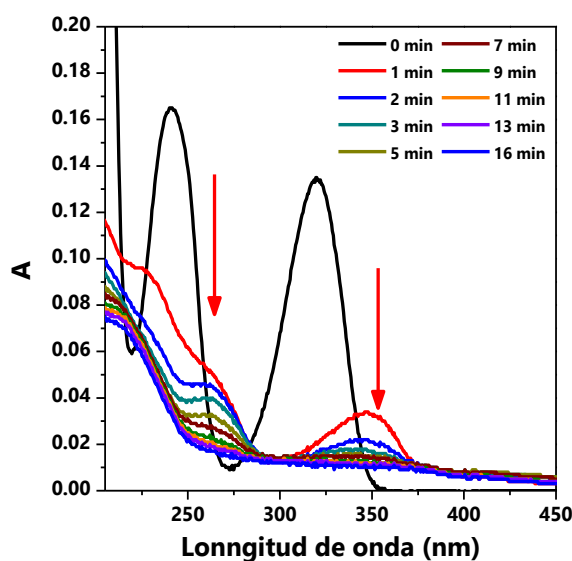
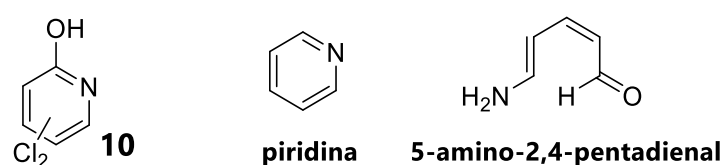
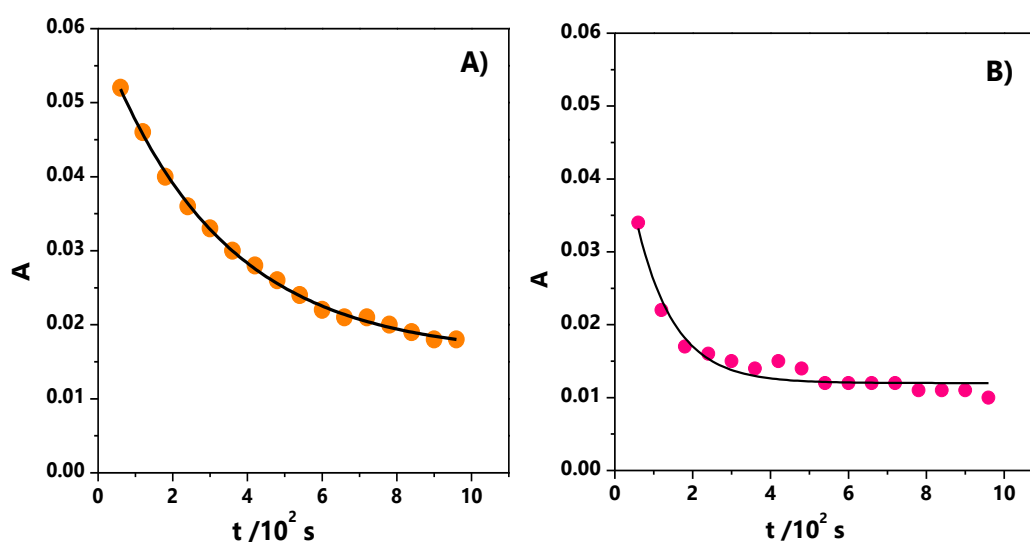


Figura 3.21: Espectro de **3** a diferentes tiempos de irradiación. $[\mathbf{3}]_0 = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ en 10% ACN/H₂O, PO=1cm.

A partir de la absorbancia en función del tiempo en los dos máximos se calcularon dos constantes observadas de desaparición de la fotodegradación de **3** a las dos longitudes de onda máximas, $(3,11 \pm 0,09) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ y $(10 \pm 1) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para 262 y 348 nm, respectivamente; Figura 3.22. Se utilizó la Ecuación 3.3 como modelo que explica los datos observados.

Las k_{obs} calculadas son distintas a las dos longitudes de onda, es decir, se observan dos procesos diferentes. Uno de ellos puede atribuirse a la degradación de **10** (262 nm) y el otro, a la degradación del compuesto que se formaría por la apertura del anillo de **10** (348 nm).



Un análisis de los resultados obtenidos permite dar cuenta que la cinética de la degradación en 10% ACN/H₂O de los tres compuestos siguieron decaimiento de primer orden con un tiempo de vida media de 1,8 horas y 5 horas para **1** y **2**, respectivamente.

Los fotoproductos de **3** tienen un tiempo de vida media de 0,006 y 0,02 horas para **10** y el compuesto que se formaría por la apertura del anillo de **10**, respectivamente. El compuesto **3** y sus dos fotoproductos no interferirían en la medición de la constante de desaparición observada de **1**, ya que es mucho más rápida y los productos no absorben en la región de **1**.

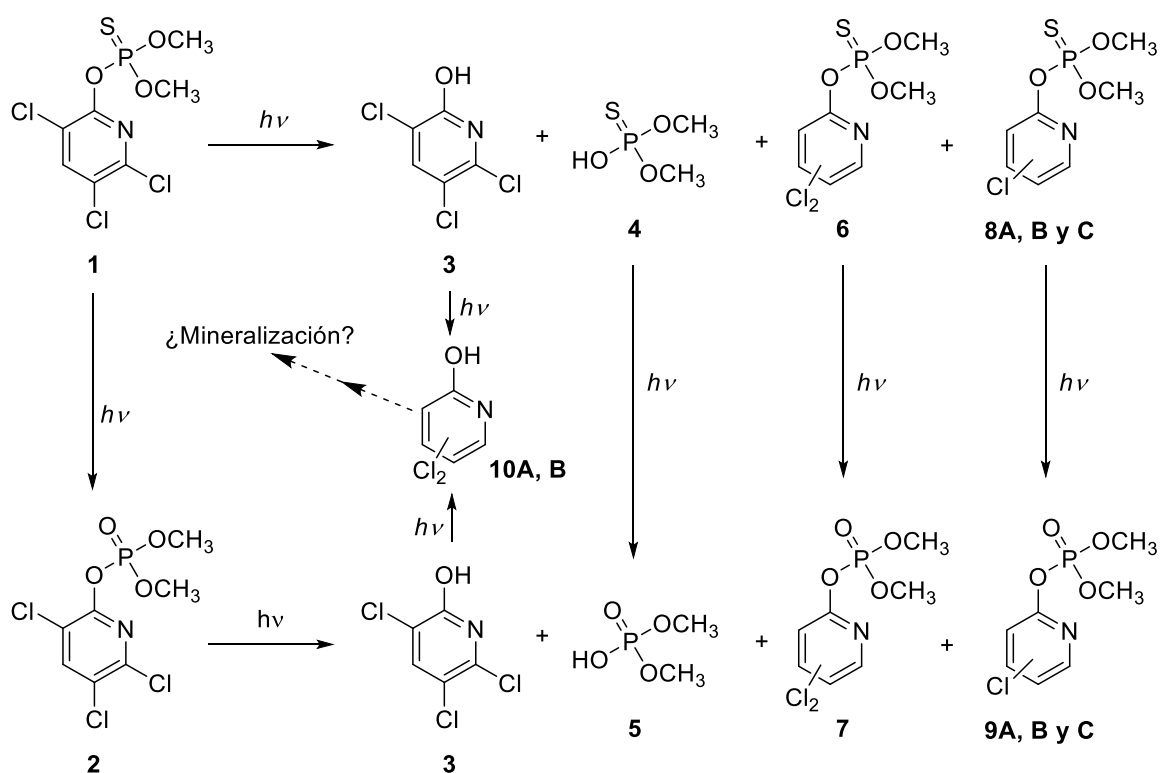
En el caso de **2**, la constante de desaparición observada es del mismo orden que la de **1** y **2** tiene un tiempo de vida media mayor que **1**, por lo tanto, esto acuerda con el cálculo realizado de la constante de desaparición observada de **1**,

donde, sólo se tomó en cuenta el intervalo de tiempo donde se observaba únicamente sólo la disminución de la banda de **1** en la solución de ACN.

3.3.4.- Caminos de fotodegradación

Las técnicas analíticas utilizadas nos permitieron obtener un análisis casi completo de los productos de fotodegradación de **1**, **2** y **3** identificados.

A partir de los resultados presentados se proponen las vías de fotodegradación de **1** que se muestran en el Esquema 3.1.



Esquema 3.1: Caminos de fotodegradación propuestos para **1**.

Los caminos de fotodegradación propuestos son consistentes con los resultados encontrados en la bibliografía. Bavcon Kralj *et al.*²⁰ encontraron clorpirifos oxon y **3** como productos de fotodegradación, cuando una solución de clorpirifos en una mezcla etanol agua se irradió con una lámpara parabólica de xenón de 125 W. Los compuestos **2**, **3**, **4** y **5** se encontraron en la degradación atmosférica de **1**.³ Entre

los productos de la fotodegradación de clorpirifos, Slotkin *et al.*²¹ encontraron **3**, los análogos dietilados de **2**, **4** y **5** y 3,6-dicloro-2-[piridinol-O, O-etil] tiofosfato, un análogo de **6**.

Shemer *et al.*²² midieron la velocidad de degradación y el rendimiento cuántico de **3** en solución acuosa sin analizar los productos. Feng *et al.*²³ investigaron **3** por degradación microbiana y fotolítica a 254 nm en buffer fosfato (pH 7). Ellos propusieron un mecanismo de degradación de **3** que termina en el ion amonio, dióxido de carbono y agua después haber formado diferentes productos aromáticos. Además, Devi *et al.*²⁴ propusieron la formación de clorpirifos oxon y **3** por degradación catalítica del clorpirifos; también proponen la formación de **10** a partir de **3** en el medio de reacción y que los productos finales de descomposición de **3** son hidróxido de amonio, dióxido de carbono y agua. En contraste, Žabar *et al.*²⁵ encontraron por irradiación a 315 nm en una solución acuosa de **3**, diferentes productos tales como la estructura pirrol sustituida por grupos carboxílicos o 5,6-dicloro-2,3-dihidroxipiridina, Figura 3.23. Aunque no se realizaron mediciones cuantitativas de todos los productos, se puede evaluar de acuerdo a lo observado por la técnica de espectrofotometría UV-visible que la mineralización sería el camino para la degradación de **3** vía la formación de **10** que luego se degrada totalmente como lo informó Devi *et al.*²⁴

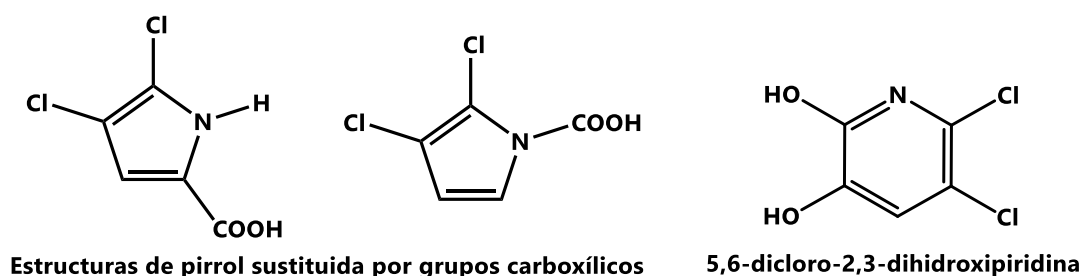


Figura 3.23: Estructuras de los productos observados de **3** por Žabar *et al.*²⁵

En relación al compuesto **5**, si bien no se pudo ver la formación de ácido fosfórico como se postula en el trabajo de Borrás *et al.*³ los autores, no proporcionaron un mecanismo detallado sobre la formación de ácido fosfórico, por lo que creemos que en nuestro sistema, probablemente habrá un canal disponible que proporcione el intercambio de hidrógeno ya que tenemos una solución de ACN.

Los compuestos **3**, **4** y **5** son productos del metabolismo y degradación ambiental de clorpirifos y se utilizan como biomarcadores de exposición al insecticida midiendo su concentración en orina.²⁶ En experimentos realizados por Timchalk *et al.*, le administraron a ratas dosis molares equivalentes de clorpirifos, **3**, **4** o **5**, donde, se observaron efectos colinérgicos sólo en aquellos animales tratados con clorpirifos. Esto indicaría que **4** ó **5** son menos tóxicos que clorpirifos.²⁶

3.4.- Sección experimental

3.4.1.- Materiales

Clorpirifos-metil PESTANAL® (**1**) (FLUKA) y Clorpirifos-metil oxón (**2**) (Supelco), se caracterizaron por ¹H, ¹³C y ³¹P RMN, espectrofotometría UV-visible, GC-MS y HRMS. Los compuestos químicos se utilizaron como se recibieron.

3,5,6-Tricloro-2-piridinol (**3**) (Sigma-Aldrich) se caracterizó por ¹H y ¹³C RMN, espectrofotometría UV-visible, GC-MS y HRMS; se lo utilizó como se lo recibió. Además, **3** se sintetizó de acuerdo a lo descrito en literatura,²⁷ se obtuvieron cristales blancos donde el rendimiento fue del 73,4 % y se la caracterizó por ¹H RMN.

El acetonitrilo utilizado fue (J.T. Baker) de grado HPLC. El agua calidad Milli Q se purificó en un equipo Millipore Milli-Q.

3.4.2.- Equipos

- Evaporador rotatorio marca, *Büchi R-200*.
- Equipo *Millipore Milli-Q*.
- Bomba de vacío mecánica, marca *Edwards*, modelo *E2M5* (2 tiempos).
- Resonancia magnética nuclear (RMN): Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C y ^{31}P se registraron con un espectrómetro de alta resolución *Bruker Advance II 400 BBI* (sonda de detección inversa multinuclear); frecuencia central 400,16 MHz en ^1H , equipado con resolución digital y unidad de temperatura variable usando CDCl_3 como solvente para **1**, **2** y **3**. Los desplazamientos químicos se expresan en (δ ppm), relativos al tetrametilsilano (TMS).
 - Espectros UV-visible se obtuvieron con el espectrofotómetro UV-visible *Multispec-1800 Shimadzu*.
 - Los análisis de las muestras se realizaron en un equipo GC-MS *Varian Saturn 2200 GC/MS*. La columna es de fase apolar HP5-MS de *Agilent* (95% dimetilpolisilano-5% fenil), longitud 30 m y con diámetro interno de 0,25 mm. El gas de elución es Helio con un flujo de 1 mL min^{-1} . La temperatura del inyector y trampa de iones es 250 y 200 °C respectivamente, la rampa de calentamiento del horno es $15^\circ\text{C min}^{-1}$ desde 80°C hasta 280°C y la temperatura de la interfase es 250°C. La presión en el instrumento del MS fue 10^{-5} Torr, excluyendo reacciones de ion-molécula, y los espectros de MS fueron obtenidos en el modo de ionización electrónica (EI) a 70 eV con una corriente de emisión de 10 μA y un tiempo de ionización máxima de 25000 microsegundos. El intervalo de barrido de masa varió de 40 a 650 m/z.
 - La espectroscopía HRMS se obtuvo con un equipo *Bruker Micro TOF Q II*, operado con una Fuente ESI en modo (positivo/negativo), con el uso de nitrógeno como nebulizador y gas de secado, y formiato del sodio (10 mM) para calibración interna.

3.4.3.- Métodos de irradiación

La irradiación se realizó utilizando cuatro lámparas de mercurio de baja presión (Philips G6T5, 6W) que emiten a 254 nm. Las lámparas fueron colocadas dentro de una caja metálica cuyas paredes estaban cubiertas con papel de aluminio para la reflexión. La temperatura en el interior de la caja cuando todas las lámparas estaban encendidas era de 36 °C. Para los diferentes experimentos se utilizaron una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico o un balón de cuarzo (250 mL) con tapones de teflón.

Para el análisis de productos, las soluciones en aire de **1** ($51,7 \times 10^{-3}$ M), **2** ($3,69 \times 10^{-3}$ M) y **3** ($52,4 \times 10^{-3}$ M) en ACN en una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico se irradiaron a 254 nm por 235 min en el caso de **1** y **2**, y 30 min en el caso de **3**. En ausencia de oxígeno, las soluciones de **1** ($53,8 \times 10^{-3}$ M) y **2** ($15,0 \times 10^{-3}$ M) en ACN con vacío en la cubeta de cuarzo de 1 cm se irradiaron a 254 nm por 240 min para **1** y **2**. Para generar vacío en la cubeta, se realizaron 4 ciclos de 10 min de N₂ y luego, 10 min con una bomba de vacío.

Las muestras en aire y en ausencia de oxígeno luego de irradiarlas se filtraron a través de un microfiltro de 0,22 μm en un frasco limpio, y se analizaron por GC-MS y HRMS. Se tomaron muestras a diferentes tiempos para ser analizados por ³¹P RMN.

3.4.4.- Estudios por espectrofotometría UV-visible

Los espectros UV-visible se midieron en un equipo *Multispec-1800 Shimadzu* usando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico para los compuestos **1**, **2** y **3**.

Las soluciones de **1**, **2** y **3** se realizaron en 10 % ACN/H₂O. A todas las soluciones se las mantuvo a oscuras en los intervalos que no se fotolizaba. Se realizaron los blancos de las soluciones con 10 % ACN/H₂O o ACN para descartar toda interferencia. Los experimentos cinéticos se realizaron en el mismo aparato.

3.5.- Conclusión

La fotodegradación de **1**, **2** y **3** a 254 nm en 10% ACN/H₂O siguió un decaimiento de primer orden con un tiempo de vida media de 1,8 y 5 horas para **1** y **2**, respectivamente. Los fotoproductos de **3** tienen un tiempo de vida media de 0,006 y 0,02 horas para **10** y el compuesto que se formaría por la apertura del anillo de **10**, respectivamente.

Los experimentos realizados en ACN puro permitieron identificar varios fotoproductos en aire y en ausencia de oxígeno por las técnicas CG-MS y HRMS. Estos incluyen oxón (**2**), **3**, el tiofosfato **4** y el fosfato **5** y compuestos donde uno o dos átomos de cloro de los compuestos **1**, **2** ó **3** se intercambiaron por hidrógeno. El producto más abundante que se encontró por RMN ³¹P en la fotólisis de **1** fue el compuesto **5**.

Se pudo identificar el compuesto **10** como el único producto después de la irradiación de **3**; por lo tanto, considerando los resultados de Devi *et al.*,²⁴ pensamos que la ruta que conduce a la mineralización de **3** vía la formación de **10** que luego se degrada a hidróxido de amonio, dióxido de carbono y agua podría ocurrir de acuerdo a lo observado por la técnica de espectrofotometría UV-visible.

Se propuso un mecanismo de fotodegradación de **1** con todos los estudios realizados.

Se puede concluir que la irradiación con luz UV puede ser un método útil para la detoxificación de soluciones de clorpirifos-metil.

3.6.- Bibliografía

- (1) Ke, S.; Zhang, Z.; Long, T.; Liang, Y.; Yang, Z. *Med. Chem. Res.* **2013**, 22 (8), 3621.
- (2) Leiva, P. D. Para poder usar insecticidas poco tóxicos hay que hacer inteligencia <http://inta.gob.ar/documentos/para-poder-usar-insecticidas->

- poco-toxicos-hay-que-hacer-inteligencia/ (acceso Oct 30, 2018).
- (3) Borrás, E.; Tortajada-Genaro, L. A.; Ródenas, M.; Vera, T.; Coscollá, C.; Yusá, V.; Muñoz, A. *Chemosphere* **2015**, *138*, 888.
 - (4) Giordano, G.; Afsharinejad, Z.; Guizzetti, M.; Vitalone, A.; Kavanagh, T. J.; Costa, L. G. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2007**, *219*, 181.
 - (5) Rahman, M. F.; Mahboob, M.; Danadevi, K.; Saleha Banu, B.; Grover, P. *Mutat. Res.* **2002**, *516*, 139.
 - (6) Kang, H. G.; Jeong, S. H.; Cho, J. H.; Kim, D. G.; Park, J. M.; Cho, M. H. *Toxicology* **2004**, *199*, 219.
 - (7) Yeh, S.-P.; Sung, T.-G.; Chang, C.-C.; Cheng, W.; Kuo, C.-M. *Aquaculture* **2005**, *243*, 383.
 - (8) Scaglia, B.; Baglieri, A.; Tambone, F.; Gennari, M.; Adani, F. *Chemosphere* **2016**, *159*, 208.
 - (9) Pesticide Properties DataBase (PPDB). Chlorpyrifos-methyl (Ref: OMS 1155) <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/155.htm> (acceso Oct 30, 2018).
 - (10) LookChem.com. CHLORPYRIFOS-METHYL <https://www.lookchem.com/CHLORPYRIFOS-METHYL/> (acceso Oct 31, 2018).
 - (11) Muñoz, A.; Vera, T.; Sidebottom, H.; Mellouki, A.; Borrás, E.; Ródenas, M.; Clemente, E.; Vázquez, M. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45* (5), 1880.
 - (12) Owen, T. En *Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna. Conceptos Básicos*; Agilent Technologies, Ed.; Agilent Technologies: Alemania, 2000; pp 1–30.
 - (13) Kühl, O. En *Phosphorus-31 NMR Spectroscopy: A Concise Introduction for the Synthetic Organic and Organometallic Chemist*; Kühl, O., Ed.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Germany, 2008; pp 31–35.
 - (14) Balakrishnan, V. K.; Dust, J. M.; VanLoon, G. W.; Buncel, E. *Can. J. Chem.*

- 2001**, 79 (2), 157.
- (15) Rougier, N. M.; Vico, R. V.; de Rossi, H. R.; Buján, E. I. *J. Phys. Org. Chem.* **2014**, 27 (12), 935.
- (16) ACD/ChemSketch. ACD /Labs 6.00 (build 6.09/30 Sep 2002). Toronto.
- (17) Dilling, W. L.; Lickly, L. C.; Lickly, T. D.; Murphy, P. G.; McKellar, R. L. *Environ. Sci. Technol.* **1984**, 18 (7), 540.
- (18) Wan, H. B.; Wong, M. K.; Mok, C. Y. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, 42, 2625.
- (19) Andre, J. C.; Niclause, M.; Jousset-Dubien, J.; Deglise, X. *J. Chem. Educ.* **1977**, 54 (6), 387.
- (20) Bavcon Kralj, M.; Franko, M.; Trebše, P. *Chemosphere* **2007**, 67 (1), 99.
- (21) Slotkin, T. A.; Seidler, F. J.; Wu, C.; MacKillop, E. A.; Linden, K. G. *Environ. Health Perspect.* **2009**, 117 (3), 338.
- (22) Shemer, H.; Sharpless, C. M.; Linden, K. G. *Water. Air. Soil Pollut.* **2005**, 168, 145.
- (23) Feng, Y.; Minard, R. D.; Bollag, J. M. *Environ. Toxicol. Chem.* **1998**, 17 (5), 814.
- (24) Devi, L. G.; Murthy, B. N.; Kumar, S. G. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2009**, 308, 174.
- (25) Žabar, R.; Sarakha, M.; Lebedev, A. T.; Polyakova, O. V.; Trebše, P. *Chemosphere* **2016**, 144, 615.
- (26) Timchalk, C.; Busby, A.; Campbell, J. A.; Needham, L. L.; Barr, D. B. *Toxicology* **2007**, 237, 145.
- (27) Vico, R. V. "Reactividad de compuestos fosforados con nucleófilos. Efecto de ciclodextrinas", Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, 2007.

Capítulo 4

**FOTODEGRADACIÓN
DIRECTA DE CLORPIRIFOS-
METIL Y CLORPIRIFOS-
METIL OXÓN EN
PRESENCIA DE
CICLODEXTRINAS**

4.1.- Introducción

En este capítulo, se analizará el efecto que produce el agregado de ciclodextrinas sobre la fotodegradación de clorpirifos-metil. Datos de bibliografía muestran que la inclusión en β -CD inhibe la fotodegradación de paratión, un insecticida organofosforado, y promueve la fotodegradación del paraoxon, compuesto derivado del primero y de mayor toxicidad.¹ Más recientemente, se observó que la interacción de norflurazon (herbicida fluorado derivado de piridazinona) con CDs en solución conduce a la formación de complejos de inclusión de estequiometría 1:1 incrementando la solubilidad del herbicida.² La irradiación de norflurazon en soluciones acuosas en presencia de CDs produce efectos fotocatalíticos que van desde aumento en la velocidad de descomposición a efectos fotoprotectores.² Del análisis de los resultados de este trabajo se observa que existe una correspondencia entre el efecto fotocatalítico y la constante de equilibrio de formación de los complejos CDs-herbicida. Para RAMEB, HP β CD (hidroxipropil- β -CD) y β -CD se observaron incrementos en la velocidad de fotodegradación, mientras que predominaron los efectos fotoprotectores para α -CD y γ -CD.²

En base a estos antecedentes, no es concluyente la función de la ciclodextrina en la fotodegradación de los pesticidas.

La Vico *et al.*³ encontraron que la presencia de α -CD, β -CD y γ -CD produce una inhibición en la reacción de hidrólisis de clorpirifos-metil (**1**). Con los datos cinéticos obtenidos a diferentes concentraciones de oxhidrilo, determinaron las constantes de asociación de **1** con β -CD y γ -CD ionizadas como, $K^{1/\beta\text{-CD}} = 105 \text{ M}^{-1}$ y $K^{1/\beta\text{-CD}} = 461 \text{ M}^{-1}$ respectivamente, en 10% ACN/H₂O. Dentro del error experimental, la constante de asociación con la CD ionizada calculada ($K^{1/\beta\text{-CD}}$) no

es significativamente diferente de la constante de asociación con la CD neutra calculada ($K^{1/\beta\text{-CDOH}}$),³ tal como se informó anteriormente por otros huéspedes.^{4,5}

En el capítulo anterior, se describió la fotodegradación directa del clorpirifos-metil en ausencia de ciclodextrina y se presentaron los estudios realizados en ACN puro de los productos de fotodegradación de **1**, **2** y **3** en aire y en ausencia de oxígeno y se propusieron las vías de degradación para **1** (Ver Esquema 3.1). Se pudieron identificar varios fotoproductos y el producto más abundante conteniendo P que se encontró por RMN ³¹P en la fotólisis de **1** fue el compuesto **5** (dimetil fosfato).

En este capítulo, se presentan los resultados de los estudios realizados sobre la fotodegradación directa de clorpirifos-metil (**1**) y clorpirifos-metil oxón (**2**) en presencia de CDs nativas y modificadas, Figura 4.1. Se utilizó la técnica UV-visible para seguir la cinética de las fotodegradaciones directas y la técnica de RMN ¹H y ³¹P para evaluar los fotoproductos y se comparan los resultados obtenidos con los observados en ausencia de CD. Para fotolizar las muestras, se siguió el mismo procedimiento que para la fotólisis de **1**, **2** y **3** en ausencia de CDs descrito en el Capítulo 3.

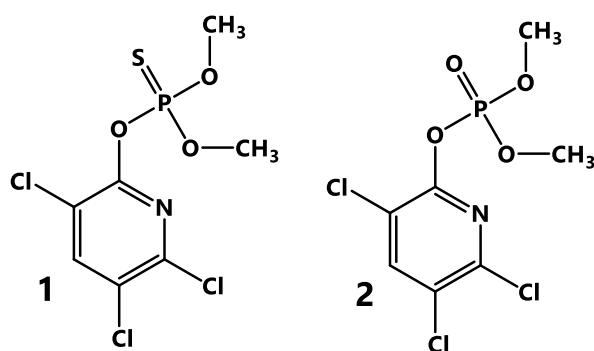


Figura 4.1: Estructuras químicas de **1** y **2**.

4.2.- Objetivos

- Identificar y caracterizar los fotoproductos de **1** y **2** en presencia de β -CD por diversas técnicas espectroscópicas.
- Estudiar el efecto de las ciclodextrinas nativas y modificadas sobre la fotodegradación directa de **1** y **2**.
- Proponer un mecanismo de fotodegradación directa para **1** y **2** en presencia de β -CD.

4.3.- Resultados y Discusión

4.3.1.- Formación de un complejo de inclusión entre clorpirifosmetil y β -CD

La formación de un complejo de inclusión, entre las CDs (*receptor*) y diferentes moléculas *huésped*, puede ser detectada por una variedad de métodos espectroscópicos. La espectrofotometría UV-visible es una de las técnicas espectroscópicas empleada para determinar las constantes de asociación entre un compuesto orgánico y la CD.⁶ La espectroscopía de RMN es un método útil para el estudio de complejos moleculares con CDs y de sus propiedades en solución.⁷ El corrimiento químico de los protones o átomos de fósforo puede variar cuando se establece una interacción o un complejo de inclusión entre un *huésped* y un *receptor*.^{8,9}

La formación de un complejo de inclusión entre **1** y β -CD se evaluó por las técnicas espectroscópicas mencionadas.

RMN de ^{31}P

Para estudiar la formación de un complejo entre **1** y β -CD por la técnica de RMN de ^{31}P , se prepararon dos soluciones de **1** en ausencia y en presencia de β -CD, a valores de pH entre 5-6.

En el capítulo anterior, se presentó la fotólisis de **1** en 10 %ACN/H₂O a concentración analítica de 2×10^{-5} M. Esta concentración es muy pequeña para observar una señal por RMN ya que esta técnica tiene una sensibilidad aproximada del orden de mM. Por este motivo fue necesario incrementar la concentración de **1** respecto a los estudios presentados en el capítulo anterior, lo que implica incrementar el porcentaje de ACN. Por lo tanto, se preparó una solución de **1**

($7,8 \times 10^{-3}$ M) en 50 % ACN/D₂O y se utilizó una concentración de β -CD de $7,8 \times 10^{-3}$ M.

En la Figura 4.2, se muestran los espectros de RMN de ³¹P de **1** en ausencia y en presencia de β -CD. Se observó solamente la señal correspondiente a **1** libre en las soluciones de **1** con y sin presencia de β -CD; no se observó un corrimiento químico de la señal de **1** en el espectro en presencia de β -CD.

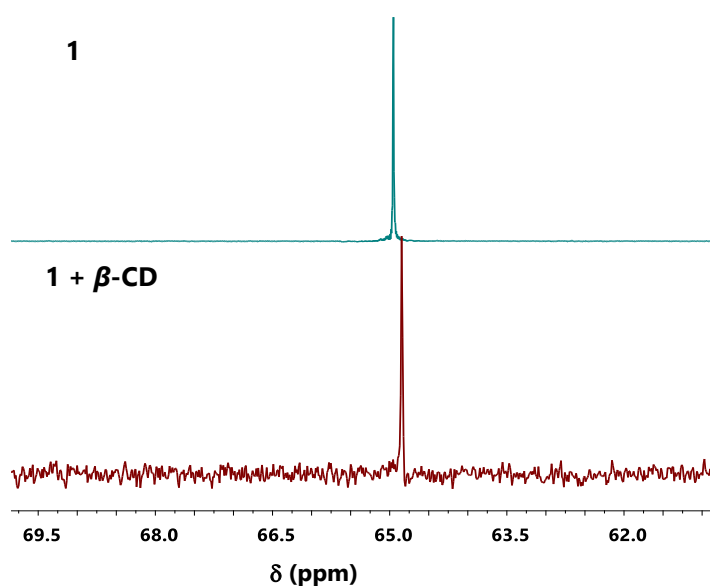


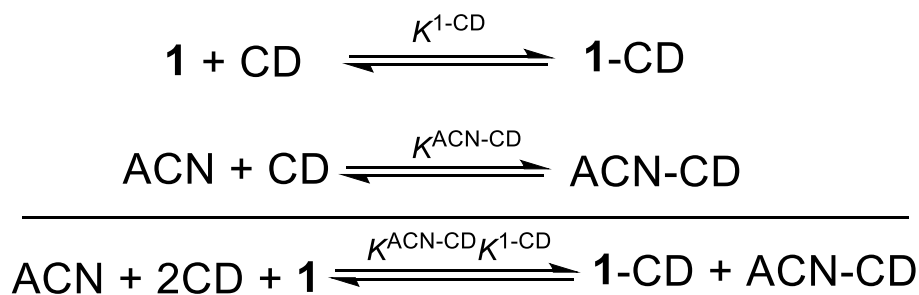
Figura 4.2: RMN de ³¹P de **1** en ausencia (arriba) y en presencia de β -CD (abajo). [**1**]₀=[β -CD]₀= $7,8 \times 10^{-3}$ M en 50 % ACN/D₂O.

Dado que el porcentaje de ACN es alto, se debe tener en cuenta, que los solventes orgánicos actúan como sustratos competitivos por la cavidad de la ciclodextrina frente al sustrato de interés, estableciéndose una competencia entre ambos. Mientras mayor sea la constante de asociación del solvente con la ciclodextrina, éste desplazará en mayor medida al sustrato en estudio y quedará una mayor proporción de sustrato libre en el seno de la solución.¹⁰ En literatura, García-Río *et al.*¹⁰ han informado las constantes de asociación para β -CD neutra y aniónica para un complejo de estequiometría 1:2 con ACN, donde, $K^{\text{ACN}/\beta\text{-CDOH}} =$

$(0,60 \pm 0,05) \text{ M}^{-2}$ y $K^{\text{ACN}/\beta\text{-CDO}^-} = (0,50 \pm 0,05) \text{ M}^{-2}$. Park *et al.*¹¹ han informado una $K^{\text{ACN}/\beta\text{-CDOH}} = (0,54 \pm 0,05) \text{ M}^{-1}$ para un complejo de estequiometría 1:1. La constante de asociación determinada por Vico *et al.* para $\mathbf{1}/\beta\text{-CD}$ en presencia de 10% ACN/H₂O fue 105 M^{-1} .³

Considerando los equilibrios establecidos entre ACN/ $\beta\text{-CD}$ y $\mathbf{1}/\beta\text{-CD}$ con una estequiometría 1:1 y sus constantes de asociación (Esquema 4.1), se puede expresar las concentraciones de los complejos $\mathbf{1}/\beta\text{-CD}$ ($[\mathbf{1}\text{-CD}]$) y ACN/ $\beta\text{-CD}$ ($[\text{ACN-CD}]$) mediante las Ecuaciones 4.1 y 4.2, respectivamente.

La concentración analítica de $\beta\text{-CD}$ expresada en función de la concentración de $\beta\text{-CD}$ libre ($[\text{CD}]_L$) se representa según la Ecuación 4.3, donde, se tuvo en cuenta los balances de masas, los equilibrios establecidos para un complejo de estequiometría 1:1 (Esquema 4.1) y despreciando la formación de un complejo de tipo ternario para un sistema donde el ACN y $\mathbf{1}$ son capaces de incluirse en la CD. Se debe tener en cuenta que al aumentar la $[\mathbf{1}]$, donde la $[\text{CD}] = [\mathbf{1}]$, no se puede aproximar que la $[\text{CD}]_L = [\text{CD}]_0$.



Esquema 4.1: Equilibrios establecidos entre ACN/ $\beta\text{-CD}$ y $\mathbf{1}/\beta\text{-CD}$ con estequiometría 1:1.

$$[\mathbf{1} - \text{CD}] = \frac{K^{1\text{-CD}}[\mathbf{1}]_0[\text{CD}]_L}{1 + K^{1\text{-CD}}[\text{CD}]_L} \quad \text{Ecuación 4.1}$$

$$[\text{ACN} - \text{CD}] = \frac{K^{\text{ACN-CD}}[\text{ACN}]_0[\text{CD}]_L}{1 + K^{\text{ACN-CD}}[\text{CD}]_L} \quad \text{Ecuación 4.2}$$

$$[CD]_0 = \frac{\alpha + ([S]_0 K^{1-CD} + [ACN]_0 K^{ACN-CD} + 1)[CD]_L}{K^{1-CD} K^{ACN-CD} [CD]_L^2 + (K^{1-CD} + K^{ACN-CD})[CD]_L + 1} \quad \text{Ecuación 4.3}$$

$$\alpha = K^{1-CD} K^{ACN-CD} [CD]_L^3 + \{K^{1-CD} + K^{ACN-CD} + ([1]_0 + [ACN]_0) K^{1-CD} K^{ACN-CD}\} [CD]_L^2$$

Utilizando las siguientes concentraciones iniciales del insecticida ($[1]_0 = 7,8 \times 10^{-3}$ M), de β -ciclodextrina ($[\beta-CD]_0 = 7,8 \times 10^{-3}$ M) y de acetonitrilo ($[ACN]_0 = 9,573$ M, 50 %) y las constantes de asociación $K^{ACN/\beta-CDOH} = 0,54 \text{ M}^{-1}$ (complejo 1:1) y $K^{1-CD} = 105 \text{ M}^{-1}$, se calcularon con las Ecuaciones 4.1-4.3 los valores de las concentraciones de $\beta-CD_L$, $1-CD$ y $ACN-CD$ que se muestran en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1: Concentración de $\beta-CD$ libre y los complejos $ACN/\beta-CD$ y $1/\beta-CD$ en 50 % ACN.

	/ 10^{-4} M	% de CD_0
[CD]_L	11,3	14,49
[1-CD]	8,3	10,66
[ACN-CD]	58,7	74,85

Se puede observar en la Tabla 4.1, que la concentración del complejo $1/\beta-CD$ en presencia de 50 % de ACN es 10,66 % del total de CD. La presencia del 50 % de ACN en la solución, origina que un 74,85 % de la CD total está involucrada en la formación del complejo con el solvente y un 14,49 % de la CD total está sin acomplejar. Si se considera que el ACN forma complejo de estequiometría 2:1 con la $\beta-CD$ con una constante de asociación ($K^{ACN/\beta-CDOH} = (0,60 \pm 0,05) \text{ M}^{-2}$) similar a la utilizada para el complejo de estequiometría 1:1, los resultados serían similares.

El análisis realizado anteriormente, explica que en las condiciones utilizadas para realizar el espectro de RMN se forma muy poco complejo formado entre 1 y $\beta-CD$ por lo que no se observaría señal correspondiente al complejo.

Espectrofotometría UV-visible

Para estudiar la formación del complejo entre **1** y β -CD por la técnica de espectrofotometría UV-visible, se prepararon dos soluciones de **1** (2×10^{-5} M) en ausencia y en presencia de β -CD (8×10^{-3} M) en 10 % ACN/H₂O. Se prepararon los blancos correspondientes para cada solución.

En la Figura 4.3, se observa que **1** en ausencia de β -CD presenta dos máximos de absorción, uno a 229 nm y otro a 289 nm; en presencia de β -CD presenta dos máximos de absorción, uno a 228 nm y otro a 288 nm.

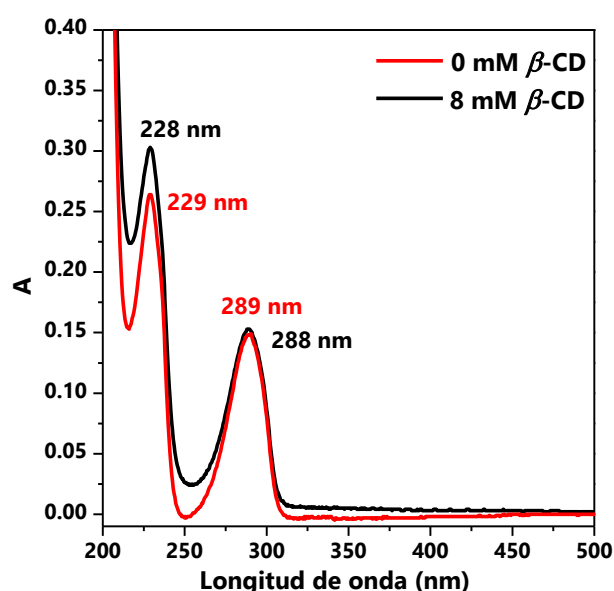


Figura 4.3: Espectros UV-visible de **1** en ausencia y en presencia de β -CD. $[1]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M, $[\beta\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M en 10 % ACN/H₂O, PO=1 cm.

La adición de β -CD a la solución de **1** parecería mostrar un pequeño efecto hipsocrómico en el espectro UV-visible (las mediciones eran cada 0,5 nm) y se observa un pequeño aumento de la absorbancia (229 nm), indicando la interacción con la CD. Vico *et al.*³ también señalaron un pequeño efecto hipsocrómico en presencia de β -CD y γ -CD, pero no pudieron determinar las constantes de asociación por espectrofotometría UV-visible debido a que los cambios en las

absorbancias observadas no fueron lo suficientemente grandes. De manera similar, en nuestro caso, los cambios fueron muy pequeños para determinar la constante de asociación por espectrofotometría UV-visible.

4.3.2.- Efecto de β -CD sobre los productos de fotólisis de clorpirifos-metil

Para realizar estos estudios, se prepararon tres soluciones de **1** (2×10^{-5} M) y β -CD (2×10^{-5} M) en 10% ACN/H₂O en un balón de cuarzo de 250 mL; a cada una de las soluciones se la irradió por diferentes tiempos (0, 190 y 500 min, respectivamente). Se realizó un espectro UV-visible de cada solución y luego, se analizó por RMN ³¹P. En la Figura 4.4, se muestran los espectros de RMN ³¹P de **1** en presencia de β -CD a distintos tiempos de fotólisis.

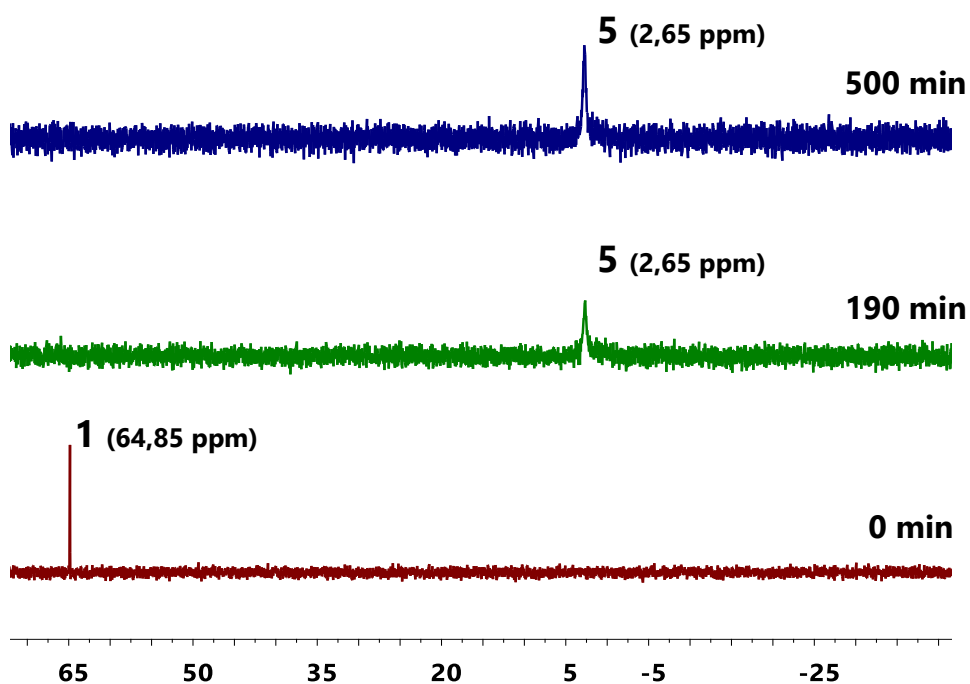


Figura 4.4: Espectros de RMN de ³¹P a distintos tiempos de fotólisis de **1** en presencia de β -CD.

$[1]_0 = [\beta\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M en 50 % ACN/ D₂O.

En la Figura 4.4, se puede observar que sin fotolizar la solución (0 min) se distingue una sola señal que corresponde al fosforo de clorpirifos-metil en presencia de β -CD ($\delta=64,85$ ppm). Al fotolizar la solución, 190 y 500 min, sólo se observa la señal que corresponde al compuesto **5** ($\delta=2,65$ ppm). El compuesto **5** en ausencia de β -CD en 10% ACN/H₂O tiene un corrimiento de $\delta= 2,73$ ppm.

En la Figura 4.5, se observan los espectros UV-visible de **1** en presencia de β -CD a distintos tiempos de fotólisis. Tras la irradiación de la solución ambas bandas disminuyen sus intensidades indicando el consumo de **1** sin observar la formación de nuevas bandas.

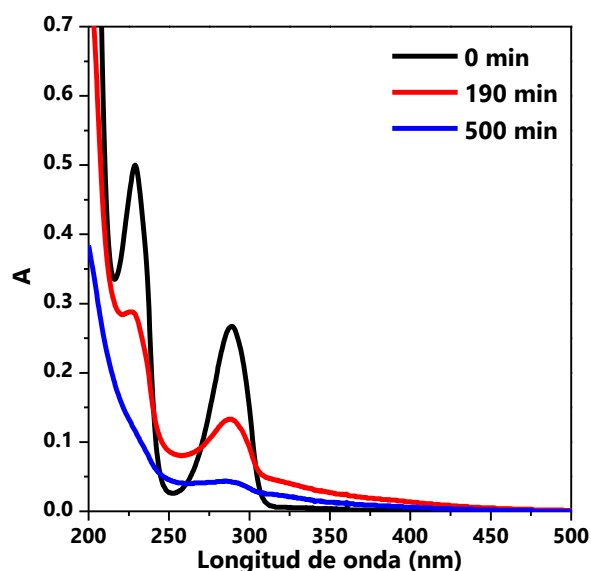


Figura 4.5: Espectros UV-visible de **1** en presencia de β -CD a distintos tiempos de fotólisis.

$[1]_0 = [\beta\text{-CD}]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M en 10 % ACN/H₂O, PO=1 cm.

La fotólisis de **1** en presencia de β -CD se observa a través de las técnicas utilizadas (RMN de ³¹P y UV-visible). Al fotolizar **1**, ambas bandas de λ_{max} 228 y 288 nm disminuyen con el tiempo y sólo se observa por RMN ³¹P el compuesto **5** como producto de la fotólisis, que es el producto mayoritario observado en la fotólisis directa de **1** (ver Capítulo 3).

4.3.3.- Estudios cinéticos en presencia de CDs nativas y modificadas sobre la fotodegradación directa de clorpirifos-metil y clorpirifos-metil oxón

4.3.3.1.- Efecto de la presencia de β -CD

Clorpirifos-metil oxón (2)

Se realizó un estudio cinético de la fotodegradación directa de **2** en presencia de β -CD en 10 % ACN/H₂O. Se prepararon soluciones con distintas concentraciones de β -CD (entre 0 – 10 $\times 10^{-3}$ M) e igual concentración de **2** (2×10^{-5} M). En todos los casos, tras la irradiación de la solución ambas bandas de absorción de **2** (227 y 288 nm) disminuyen sus intensidades indicando el consumo de **2** en presencia de β -CD. A modo de ejemplo, se muestran en la Figura 4.6 los espectros UV-visible para las concentraciones de β -CD 1×10^{-3} M y 10×10^{-3} M.

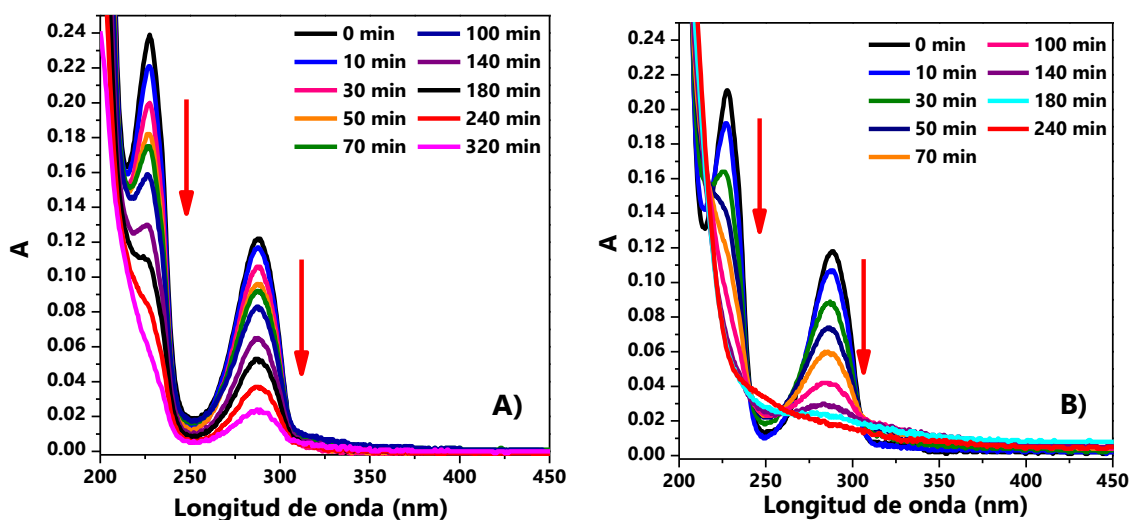


Figura 4.6: Espectro de **2** en presencia de β -CD a diferentes tiempos de irradiación. $[2]_0=2 \times 10^{-5}$ M en 10% ACN/H₂O, PO=1 cm. A) $[\beta\text{-CD}]_0=1 \times 10^{-3}$ M, B) $[\beta\text{-CD}]_0=10 \times 10^{-3}$ M.

Con los datos obtenidos para cada concentración de ciclodextrina, se graficó absorbancia versus tiempo y luego, se utilizó la ecuación simple exponencial

(Ecuación 3.3) como modelo que explica los datos observados; se calcularon las constantes observadas de desaparición de fotodegradación a las longitudes de onda máxima de **2**, Tabla 4.2. En la Figura 4.7 para 10×10^{-3} M de β -CD, se graficó absorbancia versus tiempo y se muestra la regresión no lineal de los datos para cada una de las dos longitudes de onda. Las demás concentraciones de β -CD (entre $0 - 9 \times 10^{-3}$ M) tienen el mismo perfil que la Figura 4.8.

Tabla 4.2: Constantes observadas de desaparición de fotodegradación de **2** en presencia de distintas concentraciones de β -CD.

$[\beta\text{-CD}]$ / 10^{-3} M	k_{obs} (227 nm) / 10^{-5} s $^{-1}$	k_{obs} (288 nm) / 10^{-5} s $^{-1}$	k^{CD}/k_0 (227 nm)	k^{CD}/k_0 (288 nm)
0	$3,9 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,1$	-	-
1	$6,1 \pm 0,7$	$4,8 \pm 0,6$	1,6	1,3
2	$9,0 \pm 0,5$	$8,0 \pm 0,5$	2,3	2,1
3	$11,5 \pm 0,4$	$10,9 \pm 0,4$	2,9	2,9
4	$10,5 \pm 0,7$	$8,3 \pm 0,4$	2,7	2,2
6	$22,2 \pm 0,5$	$17,7 \pm 0,5$	5,7	4,6
7	$21,8 \pm 0,5$	$14,5 \pm 0,8$	5,6	3,8
8	$12,9 \pm 0,8$	$14,8 \pm 0,9$	3,3	3,9
9	$29,0 \pm 0,1$	$17,0 \pm 0,1$	7,4	4,8
10	$20,0 \pm 0,1$	$19,3 \pm 0,8$	5,1	5,1

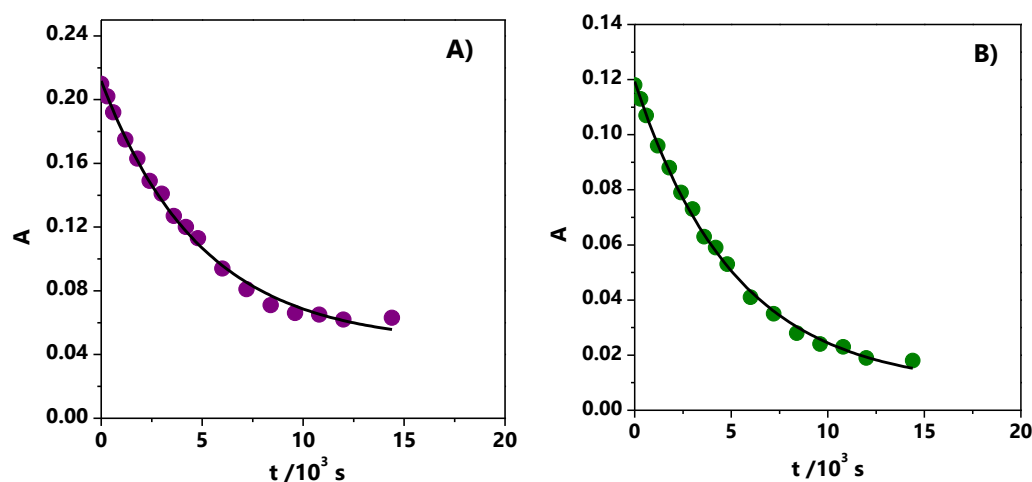


Figura 4.7: Gráfico de A vs t de **2** en 10% ACN/H₂O A) 227 nm, B) 288nm. $[\mathbf{2}]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M, $[\beta\text{-CD}]_0 = 10 \times 10^{-3}$ M, PO = 1 cm. Línea negra continua: regresión no lineal con la Ecuación 3.3.

Se puede observar en la Tabla 4.2 que a mayor concentración de β -CD, hay un aumento en las constantes observadas de desaparición de fotodegradación de **2**. Se observa la aceleración de la degradación de **2** en presencia de β -CD, es decir, que estamos en presencia de un proceso fotocatalítico.

Las columnas k^{CD}/k_0 son la relación entre la constante de desaparición observada de fotodegradación de **2** en presencia de β -CD y la constante de desaparición observada de fotodegradación de **2** en ausencia de β -CD. Se distingue que a mayor concentración de CD mayor es el efecto observado sobre la degradación de **2**.

El tiempo de vida media de la constante de desaparición observada de fotodegradación de **2** en presencia de β -CD ($[\beta\text{-CD}] = 10 \times 10^{-3}$ M, máxima concentración de CD utilizada) es 1 hora y el tiempo de vida media de la constante de desaparición observada de fotodegradación de **2** en ausencia de β -CD es 5 horas. Se puede percibir claramente que la presencia de la β -CD fotocataliza la degradación de **2**.

Se graficó k_{obs} versus concentración de β -CD para ambas longitudes de onda (227 y 288 nm), Figura 4.8.

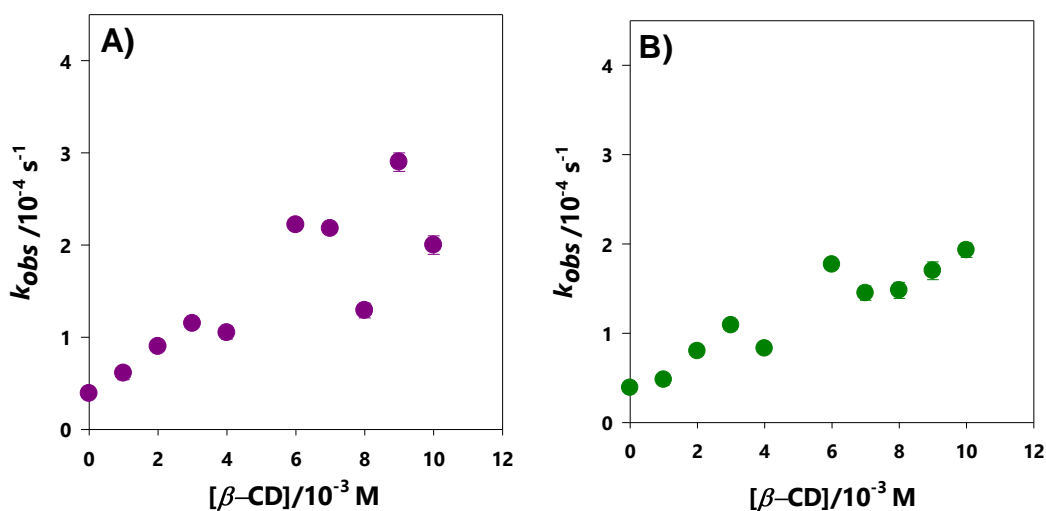
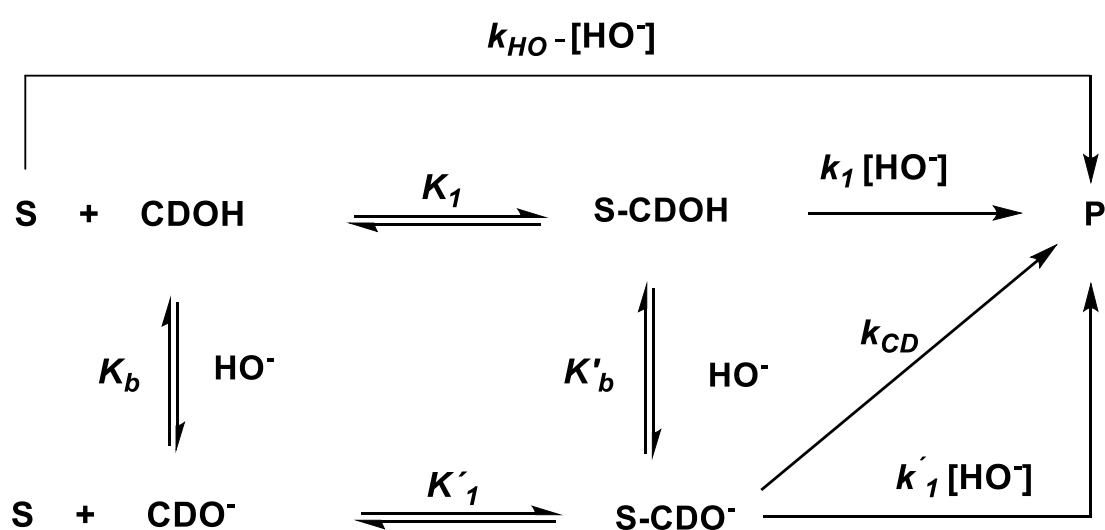


Figura 4.8: Gráfico de k_{obs} vs. $[\beta\text{-CD}]$ para la fotodegradación de **2**. A) 227 nm, B) 288 nm.

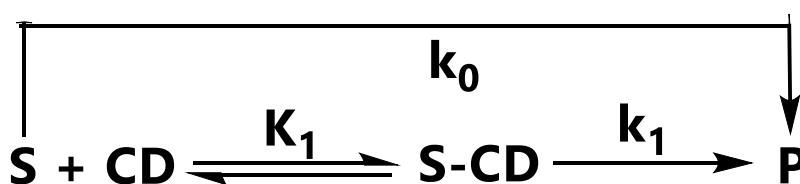
Para analizar los datos de la Figura 4.8, se consideró el trabajo realizado en el grupo, donde se estudió previamente la hidrólisis en medio alcalino de fenitrotion⁵ y Clorpirifos-metil³ en presencia de CDs. En ambos casos se propuso el mecanismo que se muestra en el Esquema 4.2 que considera la disociación de la CD, ya que el pKa de las ciclodextrinas es alrededor a 12 (ver Capítulo 2, Tabla 2.2). En la hidrólisis en medio alcalino de Clorpirifos-metil en presencia de CDs observaron inhibición con las CDs nativas.³



Esquema 4.2: Mecanismo General para la hidrólisis en medio alcalino para fenitrotion o clorpirifos-metil (**S**) en presencia de CDs.^{3,5}

En el mecanismo del Esquema 4.2, k_{OH^-} , k_1 y k'_1 representan las reacciones con anión hidróxido del sustrato libre (**S**), del sustrato complejoado con ciclodextrina neutra (**S-CDOH**) y del sustrato complejoado con la ciclodextrina ionizada (**S-CDO⁻**), respectivamente. La k_{CD} representa la reacción del sustrato con el anión de ciclodextrina cuando **S** se encuentra complejoado con **CDO⁻**. Las constantes K_1 y K'_1 corresponden a las constantes de equilibrio de la asociación del sustrato con la CD neutra e ionizada, respectivamente.

El pH de trabajo en las soluciones fotolizadas estuvo comprendido entre 5-6 por lo cual, para proponer un mecanismo general para la degradación de **2** en presencia de β -CD, sólo se consideró CDOH, ya que el pH de trabajo se encontraba muy por debajo del pK_a de la CD. A partir de los resultados obtenidos y del Esquema 4.3, se propone el siguiente mecanismo para la fotodegradación directa de **2** en presencia de β -CD, Esquema 4.3.



Esquema 4.3: Mecanismo propuesto para la fotodegradación de **2** en presencia de β -CD.

La constante observada para el mecanismo que se muestra en el Esquema 4.3, está dada por la Ecuación 4.4 donde, k_{obs} es la constante de desaparición observada de la fotodegradación de **2** en presencia de β -CD, k_0 es la constante de velocidad observada para la fotodegradación de **2** no complejoado, K_1 es la contante de asociación 1:1 entre **2** y β -CD, k_1 es la constante de velocidad para la fotodegradación del complejo entre **2** y β -CD y $[CD]$ es la concentración de ciclodextrina. La Ecuación 4.5 tiene la misma forma matemática que la Ecuación 4.4, donde, $\mathbf{a} = k_0$, $\mathbf{b} = K_1 k_1$ y $\mathbf{c} = K_1$.

$$k_{obs} = \frac{k_0 + K_1 k_1 [CD]}{1 + K_1 [CD]} \quad \text{Ecuación 4.4}$$

$$k_{obs} = \frac{a + b [CD]}{1 + c [CD]} \quad \text{Ecuación 4.5}$$

En la Figura 4.9, se puede observar en los gráficos que este modelo explica la dependencia de k_{obs} con la concentración de CD (línea continua de color negra) usando la Ecuación 4.5. En la Tabla 4.3 se observan los parámetros obtenidos del modelado realizado en los gráficos de la Figura 4.8 y el valor de k_1 calculado a partir de $\mathbf{b/c}$.

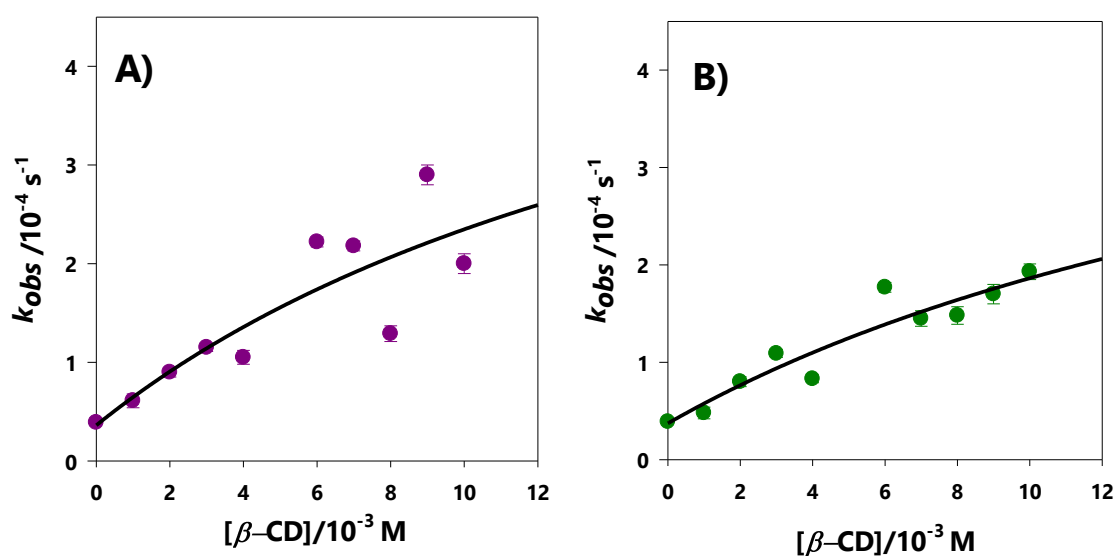


Figura 4.9: Gráfico de k_{obs} vs. $[\beta\text{-CD}]$ para la fotodegradación de **2** A) 227 nm, B) 288 nm. La línea negra es el ajuste realizado con la ecuación 4.5.

Tabla 4.3: Parámetros obtenidos del ajuste de la Ecuación 4.2.

$\lambda_{\text{máx}}$ /nm	$\mathbf{a} = k_0$ / 10^{-5} s^{-1}	$\mathbf{b} = K_1 k_1$ / $10^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$	$\mathbf{c} = K_1$ / 10^1 M^{-1}	$\mathbf{b/c} = k_1$, / 10^{-4} s^{-1}
227	4 ± 2 ($3,9 \pm 0,1$) ^a	3 ± 2	5 ± 2	6 ± 3
288	4 ± 1 ($3,8 \pm 0,1$) ^a	$2,3 \pm 0,8$	4 ± 1	6 ± 3

^a Los valores entre paréntesis corresponden al valor de k_{obs} determinada en ausencia de $\beta\text{-CD}$.

La k_0 , constante de velocidad de fotodegradación de **2** libre, es igual dentro del error experimental, a la k_0 determinada experimentalmente en ausencia de $\beta\text{-CD}$ (ver Capítulo 3, sección 3.4.1). A partir del parámetro \mathbf{c} , se calcula el valor de $K_1 = (5 \pm 2) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$ ó $(4 \pm 2) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$ a 227 nm y 288 nm, respectivamente, que

representa la constante de asociación de **2** con β -CD neutra. Este valor es ligeramente inferior al calculado para **1** con β -CD, $K_1=105 \text{ M}^{-1}$.³

Comparando k_0 y k_1 (constante de velocidad para la fotodegradación del complejo), se observa que tienen el mismo orden de magnitud, pero el complejo se degrada más rápido que el insecticida libre. Se lo puede percibir si se comparan los tiempos de vida medias calculados anteriormente, es decir, que **2** sin presencia de β -CD persiste más tiempo en la solución antes de degradarse.

Clorpirifos-metil (1)

Se realizó un estudio cinético de la fotodegradación directa de **1** en presencia de β -CD en 10% ACN/H₂O. Se realizaron soluciones con distintas concentraciones de β -CD (entre 0 – $10 \times 10^{-3} \text{ M}$) e igual concentración de **1** ($2 \times 10^{-5} \text{ M}$). En todos los casos, tras la irradiación de la solución, ambas bandas de absorción (229 y 289 nm) disminuyen sus intensidades indicando el consumo de **1** en presencia de β -CD. A modo de ejemplo, se muestran en la Figura 4.10 los espectros UV-visible para las concentraciones de β -CD $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ y $10 \times 10^{-3} \text{ M}$.

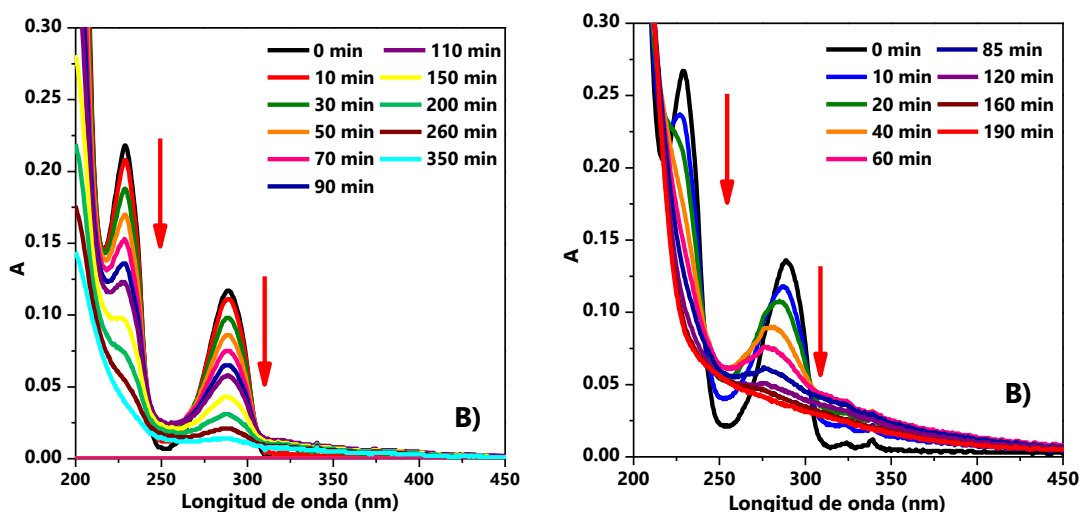


Figura 4.10: Espectro de **1** en presencia de β -CD a diferentes tiempos de irradiación. $[1]_0=2 \times 10^{-5} \text{ M}$ en 10% ACN/H₂O, PO=1 cm. A) $[\beta\text{-CD}]_0=1 \times 10^{-3} \text{ M}$, B) $[\beta\text{-CD}]_0=10 \times 10^{-3} \text{ M}$.

Se graficó absorbancia versus tiempo y luego, se modelaron los datos con la ecuación simple exponencial (Ecuación 3.3), donde se calcularon las constantes observadas de desaparición de fotodegradación a las longitudes de onda máxima de **1**, Tabla 4.4.

Tabla 4.4: Constantes observadas de desaparición de fotodegradación de **1** en presencia de distintas concentraciones de β -CD.

$[\beta\text{-CD}]$ / 10^{-3} M	k_{obs} (229 nm) / 10^{-5} s $^{-1}$	k_{obs} (289 nm) / 10^{-5} s $^{-1}$	k_{CD}/k_0 (229 nm)	k_{CD}/k_0 (289 nm)
0	10,7 ± 0,1	12,2 ± 0,2	-	-
1	10,4 ± 0,2	12,4 ± 0,2	1,1	1,1
2	15,4 ± 0,7	11,5 ± 0,4	1,6	1,0
3	25 ± 1	26 ± 1	2,6	2,3
4	26,0 ± 0,6	24,8 ± 0,4	2,6	2,2
5	33,9 ± 0,8	35,7 ± 0,6	3,4	3,2
6	34 ± 1	33 ± 1	3,5	2,9
7	36,1 ± 0,6	38,4 ± 0,5	3,7	3,4
8	37 ± 1	36 ± 2	3,8	3,2
9	35,8 ± 0,8	38 ± 1	3,6	3,4
9	28 ± 2	28 ± 2	2,9	2,5
10	29 ± 1	31 ± 8	3,0	2,7
10	29 ± 1	28 ± 2	3,0	2,5

En la Figura 4.11 se muestra el gráfico de absorbancia versus tiempo para la concentración de β -CD 10×10^{-3} M con el ajuste correspondiente para cada longitud de onda máxima. Las demás concentraciones estudiadas de β -CD entre $2 - 9 \times 10^{-3}$ M tienen el mismo perfil.

Se puede observar en la Tabla 4.4, que las k_{obs} aumentan con la concentración de β -CD hasta una $[\beta\text{-CD}] = 9 \times 10^{-3}$ M, y luego disminuyen. En las columnas k^{CD}/k_0 se distingue que el efecto sobre la fotodegradación de **1** aumenta con la $[\beta\text{-CD}]$.

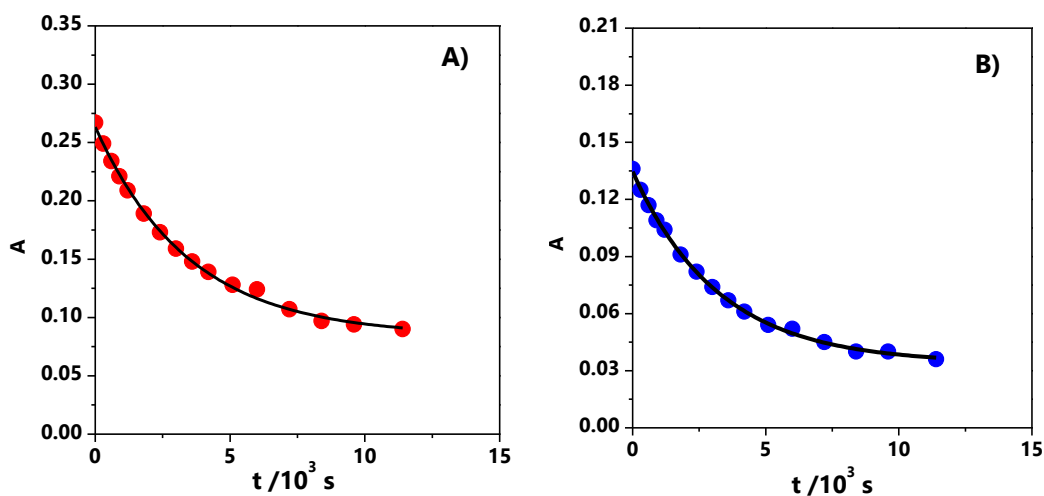


Figura 4.11: Gráfico de A vs t para la fotodegradación de **1** en 10% ACN/H₂O, [1]₀=2× 10⁻⁵ M, [β-CD]=10×10⁻³ M. Línea negra continua: ajuste realizado con la Ecuación 3.3. A) 229 nm, B) 289nm.

El gráfico de k_{obs} versus concentración de β-CD para ambas longitudes de onda máximas (229 y 289 nm) se muestra en la Figura 4.12.

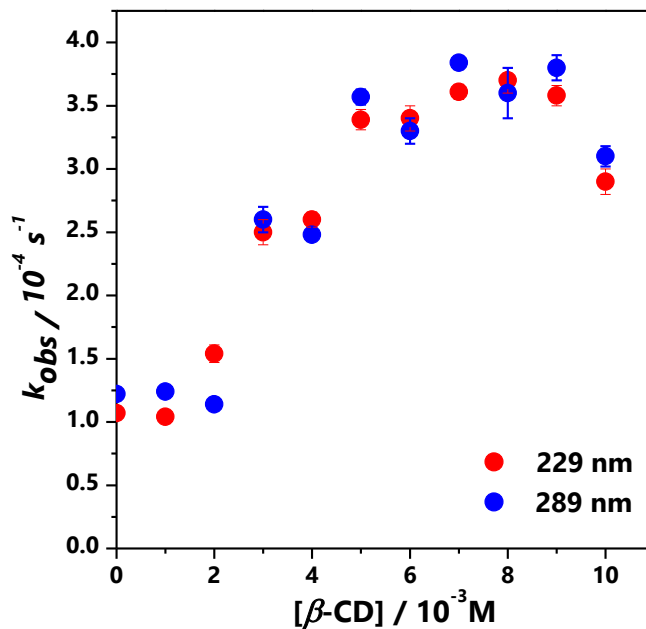


Figura 4.12: Gráfico de k_{obs} vs. [β-CD] para la fotodegradación de **1**. Cuadrado rojo: 229 nm, Círculo azul: 289 nm.

Analizando la curva obtenida del gráfico, se ve que ésta no es explicada con el modelo de una ecuación simple exponencial. Se debe tener en cuenta que experimentalmente se realizaron por duplicado los experimentos para las soluciones con concentración 9×10^{-3} M y 10×10^{-3} M porque se observó que la k_{obs} decae. Para explicar los datos obtenidos se derivaron distintas ecuaciones considerando la formación de complejos de inclusión de estequiometría 1:1 ó 1:2 entre **1** y CD. También, la posibilidad de que tanto **1** como **2** formen complejos con CD y se degraden. En ningún caso obtuvimos un modelo matemático adecuado para explicar los datos experimentales.

En la fotodegradación directa de **1**, en ausencia de β -CD, se observaron los fotoproductos **2-10** y se propusieron vías de fotodegradación para **1** (Capítulo 3, Esquema 3.1). Teniendo en cuenta las vías propuestas para la fotodegradación de **1** y que los compuestos **2, 3, 6, 7, 8** y **9** son estructuralmente parecidos, se podría plantear que la mayoría de estos compuestos interaccionarían con la β -CD y que el complejo formado en cada caso se fotodegrada. Por otra parte, también se debe tener en cuenta que los compuestos se degradan en ausencia de β -CD. En base a la complejidad del sistema y a partir de las técnicas disponibles no se encontró un modelo que sea concluyente para explicar los resultados.

Los valores de la k_0 para **1** y **2** se comparan en la Tabla 4.5. Se observa que **1** es más rápido en degradarse que **2**; pero, las constantes son del mismo orden de magnitud. Si se observan los tiempos de vida media calculados para **1** y **2** en ausencia de β -CD, **2** persiste más tiempo en la solución, es decir, se degrada más lento. Esto confirma que se debería considerar a **2** para proponer un mecanismo general de fotodegradación de **1** en presencia de β -CD. Por otra parte, comparando la relación k^{CD}/k_0 ($[\beta\text{-CD}] = 9 \times 10^{-3}$ M), se observa que β -CD influye más en la velocidad de fotodegradación de **2** que de **1**.

Tabla 4.5: Comparación de k_0 y relación con respecto a k_{obs} en presencia de β -CD entre **1** y **2**

Compuesto	1		2		
	$\lambda_{m\acute{a}x}$	229 nm	289 nm	227 nm	288 nm
$k_0/10^{-5} s^{-1}$		10,7 ± 0,1	12,2 ± 0,2	3,9 ± 0,1	3,8 ± 0,1
Tiempo de vida media de k_0 /h		1,8	1,6	4,9	5,0
k^{CD}/k_0 [β -CD]=9 × 10 ⁻³ M		3,6	3,4	7,4	4,8

4.3.3.2.- Efecto de CDs nativas

De manera similar, se evaluó la influencia de otras CDs en la fotodegradación directa de **1** y **2** en 10 % ACN/H₂O. Para ellos se prepararon soluciones de α -CD y γ -CD (8×10^{-3} M) y una concentración de **1** ó **2** (2×10^{-5} M) según correspondiera. En todos los casos estudiados, tras la irradiación de la solución ambas bandas de **1** (229 y 289 nm) y **2** (227 y 288 nm) disminuyen sus intensidades indicando el consumo de **1** y **2** en presencia de CDs, Figura 4.13.

Con los datos obtenidos de cada solución irradiada, se graficó absorbancia versus tiempo y se utilizó la ecuación simple exponencial (Ecuación 3.3) como modelo que explica los datos observados. Se calcularon las constantes observadas de desaparición de fotodegradación a las longitudes de onda máxima de **1** ó **2** según cada caso. En la Figura 4.14, se graficó absorbancia versus tiempo y se muestra el ajuste correspondiente para las longitudes de onda máxima 229 y 227 de **1** y **2**, respectivamente, en presencia de α -CD y γ -CD. Las longitudes de onda 289 y 288 de **1** y **2**, respectivamente, en presencia de α -CD y γ -CD tienen el mismo perfil.

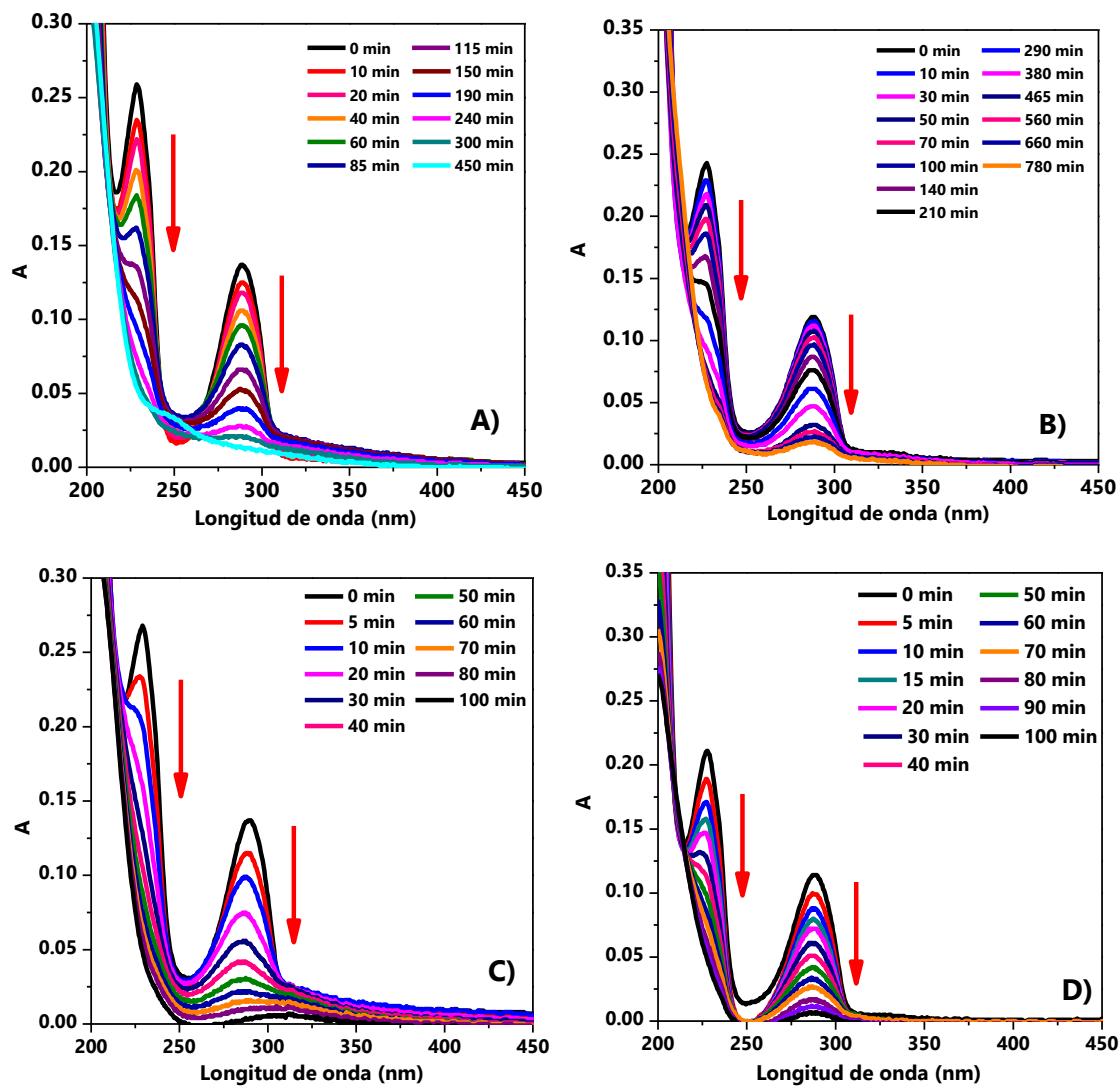


Figura 4.13: Espectros UV-vis en presencia de CDs a diferentes tiempos de irradiación. $[1]_0 = [2]_0 = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\alpha\text{-CD}]_0 = [\gamma\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3} \text{ M}$ en 10% ACN/H₂O, PO=1 cm. **A)** 1 con α -CD, **B)** 2 con α -CD, **C)** 1 con γ -CD y **D)** 2 con γ -CD.

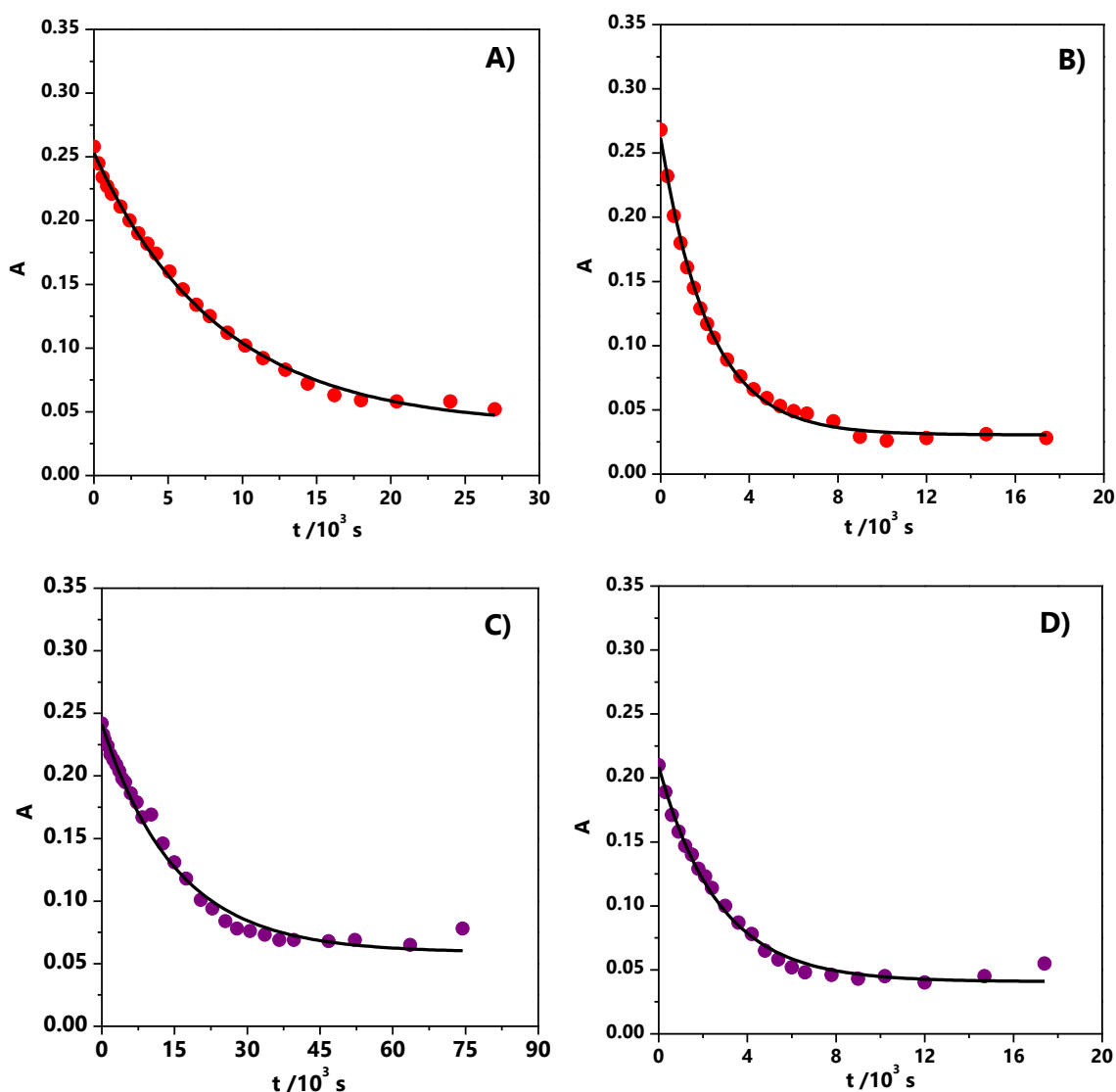


Figura 4.14: Gráfico de A vs t de **1** (229 nm) y **2** (227 nm) en 10% ACN/H₂O, PO= 1 cm. $[1]_0 = [2]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M, $[\alpha\text{-CD}]_0 = [\gamma\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M. Línea negra continua: regresión no lineal con la Ecuación 3.3. **A)** **1** con $\alpha\text{-CD}$, **B)** **1** con $\gamma\text{-CD}$, **C)** **2** con $\alpha\text{-CD}$ y **D)** **2** con $\gamma\text{-CD}$.

En la Tabla 4.6 se muestran las constantes observadas de desaparición de fotodegradación a las longitudes de onda máxima de **1** y **2** en presencia de $\alpha\text{-CD}$, $\beta\text{-CD}$ y $\gamma\text{-CD}$ (8×10^{-3} M). Además, se compara con la fotólisis de **1** y **2** en ausencia de CD. Se graficó k_{obs} versus [CD] con los errores correspondientes a ambas longitudes de onda máximas para **1** y **2**, Figura 4.15.

Tabla 4.6: Comparación de constantes observadas de desaparición de fotodegradación de **1** y **2** en presencia de CDs nativas.

CD	$k_{\text{obs}} / 10^{-5} \text{ s}^{-1}$			
	1		2	
	229 nm	289 nm	227 nm	288 nm
—	$9,8 \pm 0,3$	$11,3 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,1$
α -CD	$11,9 \pm 0,5$	$11,1 \pm 0,4$	$6,6 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,2$
β -CD	37 ± 1	36 ± 2	$12,9 \pm 0,8$	$14,8 \pm 0,9$
γ -CD	46 ± 1	47 ± 8	37 ± 2	32 ± 1

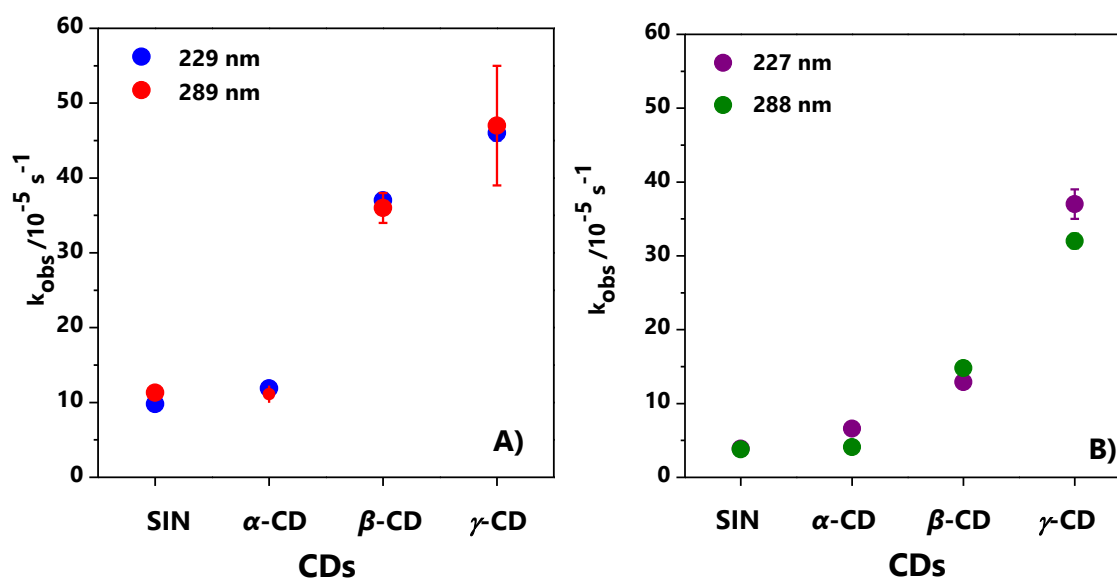


Figura 4.15: Gráficos de k_{obs} vs. CDs para **1** (A) y **2** (B).

Se puede observar que en presencia de CDs nativas hay una aceleración en las constantes observadas de desaparición de fotodegradación de **1** y **2**, es decir, que estamos en presencia de un proceso fotocatalítico. En contraste, Vico *et al.* observaron inhibición en las reacciones de hidrólisis básica de **1** en presencia de las ciclodextrinas nativas ionizadas.³

El efecto de aceleración observado en la fotólisis directa de **1** y **2** en presencia de CDs nativas es α -CD < β -CD < γ -CD, lo que va en coincidencia con el aumento del tamaño de las cavidades de las CDs nativas (α -CD < β -CD < γ -CD). Se puede suponer que los compuestos **1** y **2** se incluyen mejor dentro de la ciclodextrina que tiene la cavidad más grande. En la hidrólisis básica de **1**, también se observó una mayor inhibición a mayor tamaño de la cavidad de la CD (β -CD < γ -CD) en concordancia con una mayor constante de asociación ($K_{asoc}^{\beta-CD} = 105 M^{-1} < K_{asoc}^{\gamma-CD} = 461 M^{-1}$).³ Se podría suponer que la constante de complejamiento con γ -CD podría llegar a ser mayor.

4.3.3.3.- Efecto de RAMEB (CD modificada)

Se realizó un estudio cinético de la fotodegradación directa de **1** y **2** en presencia de RAMEB (*randomly methylated- β -CD*) en 10 % ACN/H₂O. Se realizaron soluciones de **1** y **2** (ambos $2 \times 10^{-5} M$) con presencia de RAMEB ($8 \times 10^{-3} M$). En ambos casos estudiados, tras la irradiación de la solución ambas bandas de **1** (229 y 289 nm) y **2** (227 y 288 nm) disminuyen sus intensidades indicando el consumo de **1** y de **2** en presencia de RAMEB, Figura 4.16.

Con los datos obtenidos de cada solución irradiada, se graficó absorbancia versus tiempo y se ajustaron los datos con la ecuación simple exponencial, Ecuación 3.3. Se calcularon las constantes observadas de desaparición de fotodegradación a las longitudes de onda máxima de **1** ó **2** según cada caso. En la Figura 4.17, se graficó absorbancia versus tiempo y se muestra el modelado correspondiente para las longitudes de onda máxima 229 y 227 de **1** y **2**, respectivamente, en presencia de RAMEB. Las longitudes de onda 289 y 288 de **1** y **2**, respectivamente, en presencia de RAMEB tienen el mismo perfil.

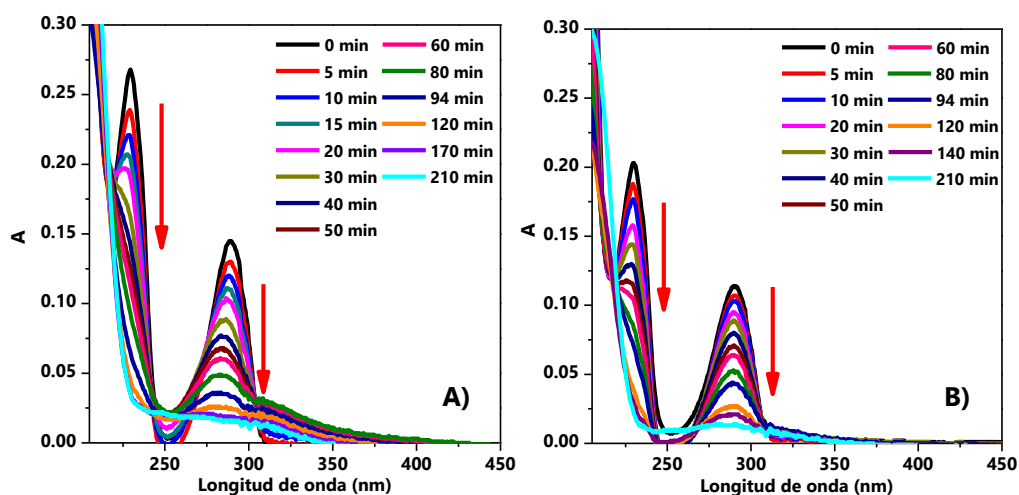


Figura 4.16: Espectros de **1** (A) y **2** (B) en presencia de RAMEB a diferentes tiempos de irradiación. $[1]_0 = [2]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M, $[RAMEB]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M en 10% ACN/H₂O.

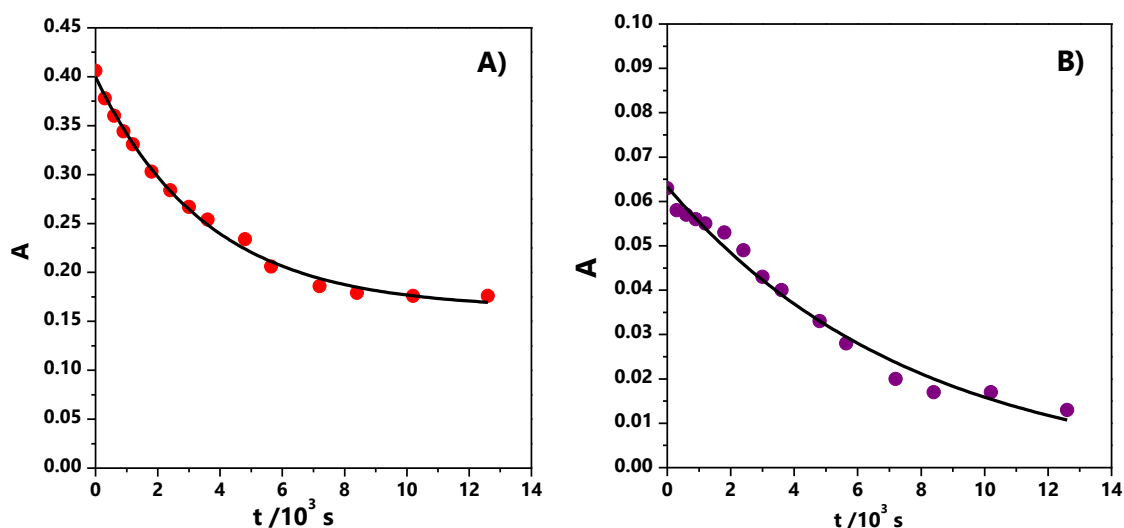


Figura 4.17: Gráfico de A vs t de **1** (A, 229 nm) y **2** (B, 227 nm) en presencia de RAMEB en 10% ACN/H₂O, $[1]_0 = [2]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M, $[RAMEB]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M. Línea negra continua: regresión no lineal con la Ecuación 3.3.

En la Tabla 4.7 se muestran las constantes observadas de desaparición de fotodegradación a las longitudes de onda máxima de **1** y **2** en presencia de RAMEB y se compara con la fotólisis de **1** y **2** en ausencia y en presencia de β -CD (8×10^{-3}

M). Se graficó k_{obs} versus CDs con los errores correspondientes a ambas longitudes de onda máximas para **1** y **2**, Figura 4.18.

Tabla 4.7: Comparación de constantes observadas de desaparición de fotodegradación de **1** y **2** sin y con presencia de β -CD y RAMEB.

CD	$k_{obs} / 10^{-5} s^{-1}$				k_{CD}/k_0			
	1		2		1		2	
	229 nm	289 nm	227 nm	288 nm	229 nm	289 nm	227 nm	288 nm
—	9,8 ± 0,3	11,3 ± 0,2	3,9 ± 0,1	3,8 ± 0,1	-	-	-	-
RAMEB	28 ± 2	31 ± 1	13 ± 2	15 ± 2	2,8	2,7	3,3	3,9
β -CD	37 ± 1	36 ± 2	12,9 ± 0,8	14,8 ± 0,9	3,8	3,2	3,3	3,9

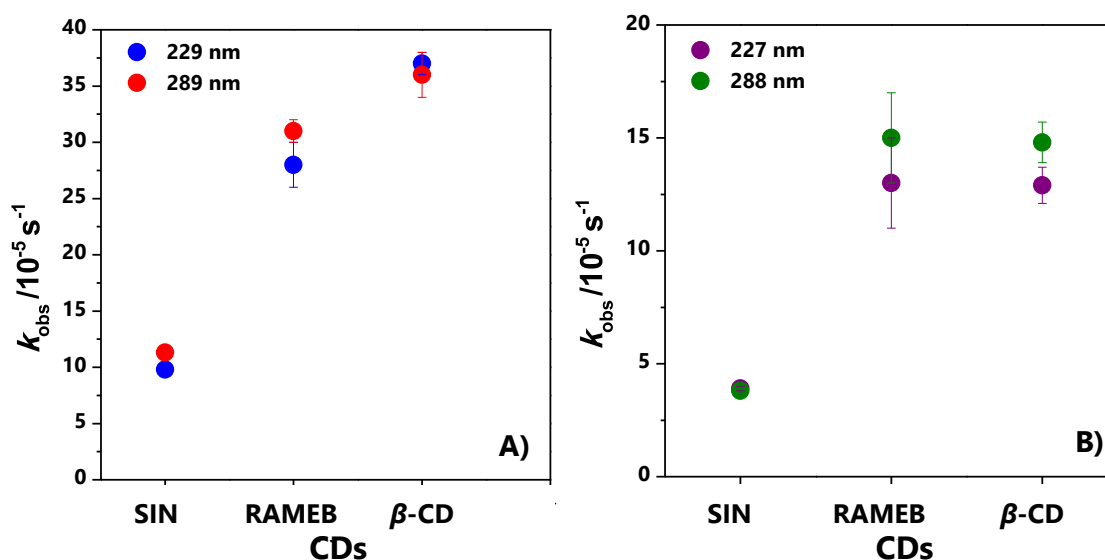


Figura 4.18: Gráficos de k_{obs} vs. CDs para **1** (A) y **2** (B).

Se puede observar que en presencia de RAMEB, hay una aceleración en las constantes observadas de desaparición de fotodegradación de **1** y **2**, es decir, que estamos en presencia de un proceso fotocatalítico, que es similar en constante a β -CD.

Las k_{obs} calculadas para **1** en presencia de β -CD y RAMEB son similares, ya que, las ciclodextrinas son análogas (tienen el mismo número de unidades de glucosa); lo mismo se observa para **2** en presencia de β -CD y RAMEB.

Si se tiene en cuenta las columnas k^{CD}/k_0 que son la relación de la constante de desaparición observada de fotodegradación de **1** ó **2** en presencia de β -CD ó RAMEB sobre la constante de desaparición observada en ausencia de CD, se distingue que, en el caso de **1**, β -CD produce un efecto mayor que RAMEB mientras que en el caso de **2**, ambas CDs producen la misma aceleración.

4.4.- Sección experimental

4.4.1.- Materiales

Clorpirifos-metil PESTANAL® (**1**) (FLUKA) y Clorpirifos-metil oxón (**2**) (Supelco), se utilizaron como se recibieron.

El acetonitrilo utilizado es (J.T. Baker) de grado HPLC. El agua fue purificada en un equipo *Millipore Milli-Q*.

Los receptores usados α -CD (*Cerestar*), β -CD (*Sigma-Aldrich*), γ -CD (*Sigma-Aldrich*) y RAMEB (sustituida un 60% con metilos, sintetizada en el laboratorio del Profesor Monflier de Francia) se utilizaron como se recibieron.

4.4.2.- Equipos

- Evaporador rotatorio marca, *Büchi R-200*.
- Equipo *Millipore Milli-Q*.
- Resonancia magnética nuclear (RMN): Los espectros de RMN ^1H y ^{31}P se registraron por un espectrómetro de alta resolución *Bruker Advance II 400 BBI* (sonda de detección inversa multinuclear); frecuencia central 400,16 MHz en H, equipado con resolución digital y unidad de temperatura variable usando

50% ACN/D₂O como solvente para la solución irradiada **1** con presencia de β -CD. Los desplazamientos químicos se expresan en (δ), relativos al tetrametilsilano (TMS).

- Espectros UV-visible se obtuvieron con el espectrofotómetro UV-visible *Multispec-1800 Shimadzu*.

4.4.3.- Métodos de irradiación

La irradiación se realizó utilizando cuatro lámparas de mercurio de baja presión (Philips G6T5, 6W) que emiten a 254 nm. Para los diferentes experimentos se utilizó una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso óptico o un balón de cuarzo (250 mL) con tapón de teflón.

Para el análisis de la formación de los fotoproductos, se prepararon tres soluciones de **1** (2×10^{-5} M) y β -CD (2×10^{-5} M) en 10% ACN/H₂O en un balón de cuarzo de 250 mL; a cada una de las soluciones se la irradió por diferentes tiempos (0, 190 y 500 min). Se realizó un espectro UV-visible a cada solución y luego, se analizó por RMN ³¹P. Para preparar la muestra para el análisis por RMN, se evaporó el disolvente en un rotavapor; el residuo se disolvió en 50% ACN/D₂O para la solubilización de los productos y la CD (la concentración aproximada era 8×10^{-3} M).

4.4.4.- Estudios por espectrofotometría UV-visible

Los espectros UV-visible se midieron usando cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico para los compuestos **1** y **2**. Los experimentos cinéticos se siguieron en el mismo equipo.

Las soluciones de **1** y **2** se prepararon en 10 % ACN/H₂O. Se realizaron los blancos correspondientes con 10 % ACN/H₂O o con la concentración de la CD correspondiente en 10 % ACN/H₂O.

A cada solución que se fotolizó, se le realizó un espectro UV-visible antes de irradiar y luego, a diversos tiempos de irradiación. A todas las soluciones, se las mantuvo a oscuras en los intervalos que no se irradiaba.

Para el estudio cinético en presencia de β -CD sobre la fotodegradación directa de **1** y **2**, se prepararon las soluciones con distintas concentraciones de β -CD, utilizando una técnica descrita anteriormente,¹² donde, sólo la concentración final de la CD varía. Se preparan dos soluciones (50 mL) con igual concentración de **1** ó **2** (Solución A y B), una de las cuales contenía además β -CD 10,0 mM (solución A). Diferentes volúmenes de la solución A se colocaron en matraces de 10,0 mL y se enrasaron con la solución B. Las concentraciones finales de β -CD se calcularon considerando los volúmenes agregados de la Solución A. Esta técnica disminuye los errores por variación de la concentración del sustrato en la preparación individual de las soluciones correspondientes. Las soluciones fueron medidas en orden creciente de concentración de β -CD, enjuagando previamente la cubeta con la correspondiente solución.

4.5.- Conclusión

En presencia de β -CD por la técnica de RMN de ³¹P, se observó sólo el producto **5** que coincide con el producto mayoritario observado en la fotólisis directa de **1** en ausencia de CD.

La fotodegradación a 254 nm de **1** y **2** en presencia de CDs nativas y modificadas siguieron decaimiento de primer orden en la cinética de la degradación en 10% ACN/H₂O de los dos compuestos. Para ambos compuestos, se observó que en presencia de CDs nativas y modificadas hay una aceleración en

las constantes observadas de desaparición de la fotodegradación de **1** y **2**, es decir, que estamos en presencia de un proceso fotocatalítico.

Cuando el compuesto **2** se fotolizó en presencia de β -CD, se propuso un mecanismo general para la degradación; por el contrario, para **1**, no fue posible proponer un mecanismo porque el sistema en estudio es muy complejo.

Respecto a la fotólisis directa de **1** y **2** en presencia de las CDs nativas, se observó que, el efecto de aceleración va de acuerdo con el aumento de tamaño de las cavidades de las CDs nativas porque se puede suponer que los compuestos se incluyen mejor dentro de la cavidad más grande. Si se compara a los compuestos en presencia de β -CD y RAMEB (CD modificada), las k_{obs}^{CD} son similares para **1** y **2** y entre 3 a 4 veces mayores que en ausencia de CD.

Podemos concluir, que la irradiación con luz UV podría ser un método útil para degradar clorpirifos-metil (**1**) y clorpirifos-metil oxón (**2**) en presencia de CDs por la aceleración observada.

4.6.- Bibliografía

- (1) Kamiya, M.; Nakamura, K. *Environ. Int.* **1995**, *21* (3), 299.
- (2) Villaverde, J.; Maqueda, C.; Undabeytia, T.; Morillo, E. *Chemosphere* **2007**, *69* (4), 575.
- (3) Vico, R. V.; de Rossi, R. H.; Bujan, E. I. *J. Phys. Org. Chem.* **2009**, *22* (7), 691.
- (4) Galian, R. E.; Veglia, A. V. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2007**, *187* (2–3), 356.
- (5) Vico, R. V.; Buján, E. I.; de Rossi, R. H. *J. Phys. Org. Chem.* **2002**, *15*, 858.
- (6) Rougier, N. M.; Cruickshank, D. L.; Vico, R. V.; Bourne, S. A.; Caira, M. R.; Buján, E. I.; de Rossi, R. H. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 322.

- (7) Schneider, H.-J.; Hacket, F.; Rüdiger, V.; Ikeda, H. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1755.
- (8) Bogdan, M.; Caira, M. R.; Farcas, S. I. *Supramol. Chem.* **2002**, *14* (5), 427.
- (9) Poh, B.-L.; Saenger, W. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* **1983**, *39* (4), 305.
- (10) García-Río, L.; Hervés, P.; Leis, J. R.; Mejuto, J. C.; Pérez-Juste, J.; Rodríguez-Dafonte, P. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4* (6), 1038.
- (11) Park, J. H.; Nah, T. H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, *0* (6), 1359.
- (12) Patonay, G.; Rollie, M. E.; Warner, I. M. *Anal. Chem.* **1985**, *57* (2), 569.

Capítulo 5

INTERACCIÓN DE
 β -CICLODEXTRINA CON
TRIFLURALINA Y DOS DE
SUS PRODUCTOS DE
FOTODEGRADACIÓN EN
SOLUCIÓN

5.1.- Introducción

Es de gran importancia en la química supramolecular la caracterización de los complejos *huésped-receptor*. La formación de complejos de inclusión de ciclodextrinas puede conferir uno o más efectos favorables a la molécula *huésped*.

Añadir un *huésped* poco soluble a una solución acuosa de ciclodextrina, posee importantes consecuencias primarias entre las cuales se pueden mencionar:^{1, 2}

- Aumento de la concentración del *huésped* en la solución.
- Cambios en las propiedades espectroscópicas del *huésped*. Los desplazamientos químicos en RMN del *huésped* se modifican por el complejamiento; moléculas no quirales presentan espectros de dicroísmo circular inducido; en algunos casos los máximos de absorción en espectros UV-visible se desplazan varios nanómetros; la fluorescencia se mejora fuertemente, porque la molécula fluorescente se transfiere del ambiente acuoso a un medio apolar que la rodea.
- Modificación de la reactividad de la molécula incluida. En algunos casos la reactividad disminuye por estabilización del *huésped*, pero en otros casos las ciclodextrinas se comportan como enzimas artificiales acelerando diversas reacciones y modificando el camino de reacción.
- La difusión y volatilidad (en el caso de sustancias volátiles) de la molécula incluida es fuertemente inhibida.

Cuando se asocia un *huésped* o *sustrato* (**H**) con un *receptor* (**R**) se forma un complejo de inclusión, donde se mide la constante de asociación (K_{asoc}) para saber sobre la magnitud de la interacción entre el **H** y el **R**. Se utilizan los distintos métodos de la Tabla 2.4 para caracterizar los complejos de inclusión.

Una interacción específica entre *huésped* (**H**) y *receptor* (**R**) en sus estados electrónicos basales puede conducir a la formación de una nueva especie **H-R** con

propiedades espectroscópicas distintas a las de sus componentes. Por ejemplo, la formación de complejos de tipo *huésped-receptor* puede conducir a alteraciones en la absorbancia a $\lambda_{\text{máx}}$ de **H** y/o de **R**.³ En otras ocasiones, pueden ocurrir corrimientos batocrómicos o hipsocrómicos de $\lambda_{\text{máx}}$ como consecuencia de la interacción.

Suponiendo que se establece el equilibrio planteado entre el *receptor* (β -CD) y *huésped* (**H**) en el Esquema 5.1, el procedimiento más común para la determinación de la constante de asociación (K_{asoc} , Ecuación 5.1) involucra la medición de alguna propiedad que dependa de la concentración.



Esquema 5.1: Equilibrio químico de formación del complejo entre **H** y β -CD.

$$K_{\text{asoc}} = \frac{[\mathbf{H} - \beta\text{CD}]}{[\mathbf{H}][\beta\text{CD}]} \quad \text{Ecuación 5.1}$$

En esta tesis se utilizó para determinar la constante de asociación la técnica de espectrofotometría UV-visible que tiene la ventaja de ser económica, simple, y relativamente insensible a las impurezas menores, siempre y cuando no absorban en la región UV-visible.⁴ Las principales limitaciones para esta técnica es la necesidad de un cromóforo y que la titulación espectrofotométrica debe realizarse dentro de un rango de concentraciones donde la absorbancia cumpla con la ley de Lambert-Beer.⁴

En la técnica de titulación espectrofotométrica se prepararon soluciones, donde, se varió la concentración de uno de los componentes (β -CD), mientras la concentración del otro se mantuvo fija (**H**).⁵

El equilibrio con estequiometría 1:1 en un complejo de inclusión es quizás el equilibrio más comúnmente observado y estudiado en química supramolecular. El espectro de absorción observado en una solución de varios componentes es la suma de los espectros de las especies en solución. Si tenemos un equilibrio y la formación de un complejo de estequiometría 1:1, entonces, la absorbancia observada (A_{obs}) es la suma de las absorbancias del *huésped*, el *receptor* y el complejo.⁴

Si se titula una solución del *huésped* con una solución del *receptor* para determinar la constante de asociación, se observa el cambio de absorbancia ($\Delta A = A_{obs} - A_0$), definido como la diferencia entre la absorbancia observada (A_{obs}) a cada concentración de receptor y la inicial (A_0) del huésped. El cambio de absorbancia depende de dos factores: la concentración del huésped y la absorbancia molar de las especies en solución.⁴ La ecuación que se utiliza es la Ecuación 5.2 y se debe elegir una longitud de onda donde ΔA sea máximo.

$$\frac{\Delta A}{b} = \frac{[H]_0 K_{asoc} \Delta \epsilon [R]}{1 + K_{asoc} [R]} \quad \text{Ecuación 5.2}$$

En la Ecuación 5.2, b es el paso óptico, $\Delta \epsilon$ es la diferencia en los coeficientes de absorción del *huésped* y el complejo y K_{asoc} es la constante de asociación.

La Ecuación 5.2 puede representarse en tres formas lineales, la elección de una u otra dependerá del diseño experimental. La forma lineal de la Ecuación 5.2 más empleada es aquella de la doble recíproca conocida también como ecuación de Benesi-Hildebrand, Ecuación 5.3,⁶ donde se grafica $b/\Delta A$ vs $1/[R]$.

$$\frac{b}{\Delta A} = \frac{1}{[H]_0 K_{asoc} \Delta \epsilon [R]} + \frac{1}{[H]_0 \Delta \epsilon} \quad \text{Ecuación 5.3}$$

En este capítulo se describen los estudios de la interacción de β -ciclodextrina (β -CD) con el herbicida selectivo pre-emergente, trifluralina (**TFA**) y dos de sus productos de fotodegradación *N*-*n*-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilanilina (**NPTA**) y 2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**NOx**) en solución, Figura 5.1.⁷ Las interacciones que ocurren entre H y R en solución se evaluaron con las técnicas de UV-visible, RMN de ¹H, ¹³C y ¹⁹F, las que fueron sumamente útiles.

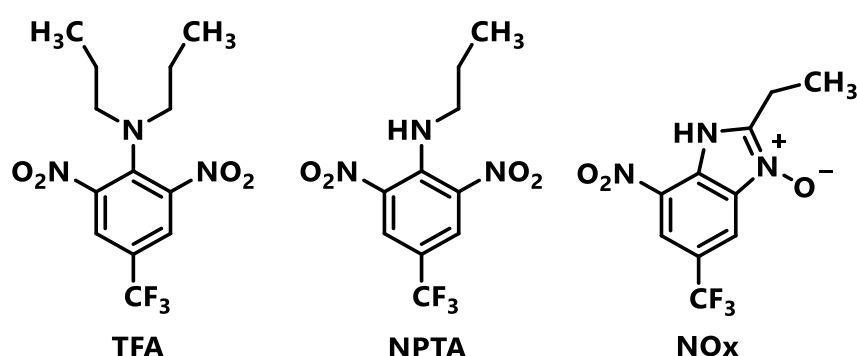


Figura 5.1: Estructuras químicas de **TFA**, **NPTA** y **NOx**.

A continuación, se presentan características⁸ de **TFA**:

<i>Formula molecular:</i>	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄
<i>Peso molecular:</i>	335,28
<i>N° CAS:</i>	1582-09-08
<i>Estado físico, apariencia:</i>	Sólido naranja brillante
<i>Punto de ebullición (°C):</i>	96 - 97 a 2×10 ⁻⁴ atm
<i>Punto de fusión (°C):</i>	46-47
<i>Solubilidad en agua (M, 25 °C):</i>	Entre 0,9×10 ⁻⁶ y 1,8×10 ⁻⁶
<i>Nombre Comercial:</i>	Triverdax (Atanor), Treflan (Dow AgroSciences)

5.2.- Objetivos

- Estudiar la interacción de β -CD con **TFA**, **NPTA** y **NO_x** en solución.
- Evaluar si hay formación de complejos de β -CD con **TFA**, **NPTA** y **NO_x** en solución.
- Caracterizar los complejos de inclusión.

5.3.- Resultados de trifluralina (TFA)

5.3.1.- Características fisicoquímicas

La estructura química de la trifluralina, el herbicida en estudio, se presenta en la Figura 5.1.

Solubilidad

En una primera instancia, se realizó un estudio de solubilidad de **TFA** en ausencia de CDs a 25 °C para conocer la concentración máxima disuelta en un 1 % ACN/buffer fosfato, pH 7. Este estudio dio como resultado una concentración de $5,06 \times 10^{-6}$ M; mientras que, en bibliografía se informa una solubilidad en agua entre $1,8$ y 4×10^{-6} M en un estudio ⁹ y en otro 9×10^{-7} M, ambos a 25 °C.⁸

Espectro UV-visible

El espectro UV-visible de **TFA**, Figura 5.2, en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7 presenta dos máximos de absorción, uno a 274 nm y otro a 431 nm. Las cubetas de cuarzo elegidas tienen un paso óptico (PO) de 5 cm porque la absorbancia en las condiciones de trabajo es muy pequeña. Las mediciones se realizaron por triplicado para tener valores confiables y reproducibilidad.

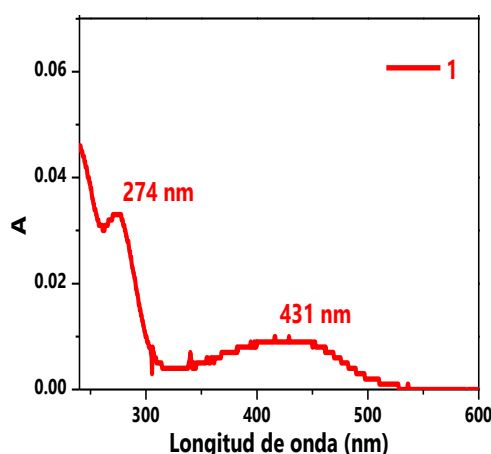


Figura 5.2: Espectro UV-visible de trifluralina. $[\text{TFA}]_0$: $1,306 \times 10^{-6}$ M en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, PO=5 cm

Coeficientes de absortividad molar

La absortividad molar se determinó a partir de la absorbancia a la longitud de onda de absorción máxima en función de la concentración de **TFA**. La regresión de los datos graficados según la ley de Lambert-Beer (Ecuación 3.1) fue lineal en todos los casos con coeficientes de correlación $>0,999$ y a partir de las pendientes obtenidas por regresión de mínimos cuadrados se determinaron los valores de ϵ para **TFA** en 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7, Tabla 5.1.

Tabla 5.1: ϵ calculado de **TFA** a 25°C en 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7.

Longitud de onda /nm	$\epsilon /10^2 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$
274	45,8 \pm 0,4
431	12,8 \pm 0,7

5.3.2.- Estudio de la interacción entre trifluralina y β -CD

Se preparó una solución madre de **TFA** en ACN debido a la mayor solubilidad del pesticida en este solvente. Los estudios en medios acuosos se realizaron en 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7. Además, se preparó una solución madre de β -CD en Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7. Se preparó una solución sólo con β -CD y 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7 la cual se utilizó como blanco para descartar cualquier aporte desde la β -CD.

Para estudiar la interacción entre **TFA** y β -CD se realizaron los espectros de **TFA** con y sin presencia de β -CD con igual concentración de **TFA**, Figura 5.3. Se puede observar que en presencia de β -CD hay un cambio en la absorbancia a 274 nm y muestra un efecto hipsocrómico en la banda 431 nm (45 nm) en el espectro UV-visible. Al observar estos efectos, se observa que hay una interacción entre **TFA** y β -CD.

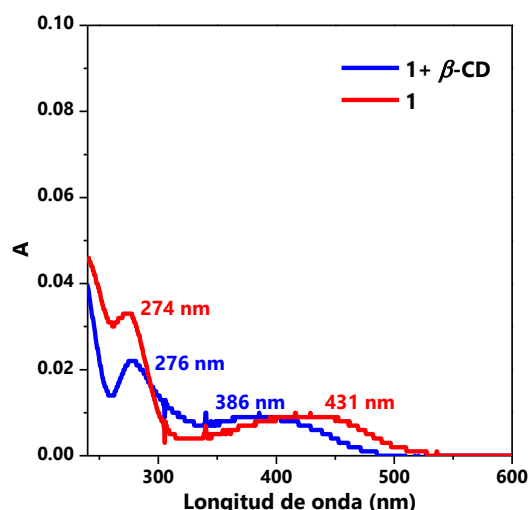


Figura 5.3: Espectro UV-visible de **TFA** con y sin β -CD. $[\text{TFA}]_0 = 1,306 \times 10^{-6}$ M en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, $[\beta\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M, PO: 5 cm.

Se determinó el coeficiente de absortividad molar de **TFA** en presencia de β -CD del mismo modo que el coeficiente de absortividad molar de **TFA** sin la presencia de β -CD. Los valores obtenidos de ϵ para **TFA** con presencia de β -CD (8×10^{-3} M) en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7 se muestran en la Tabla 5.2.

Los coeficientes de extinción molar de **TFA** en presencia de β -CD ($\epsilon = \epsilon_{\text{TFA}} + \epsilon_{\text{TFA-}\beta\text{CD}}$) ya sea a las longitudes de onda máximas de **TFA** ó **TFA** $_{\beta\text{-CD}}$ en 1% de ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7 son iguales dentro del error experimental (Tabla 5.2). Además, los coeficientes de extinción molar de **TFA** a 274 nm y 431 nm en 1% de ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7 en ausencia y en presencia de β -CD son iguales dentro del error experimental (Tabla 5.1 y Tabla 5.2).

Tabla 5.2: ϵ calculado de **TFA** con presencia de β -CD

Longitud de onda /nm	$\epsilon / 10^2 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$
274	51 ± 8
431	15 ± 2
276	55 ± 9
386	18 ± 4

$$^a[\beta\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3} \text{ M}$$

Determinación de la constante de asociación

A fin de determinar la constante de asociación, K_{asoc} , entre **TFA** y β -CD, se prepararon dos soluciones (50 mL) con igual concentración de **TFA** ($1,306 \times 10^{-5}$ M, Solución A y B), una de las cuales contenía además β -CD 10,0 mM (solución A). Diferentes volúmenes de la solución A se colocaron en matraces de 10,0 mL y se enrasaron con la solución B. Sólo la concentración final de la CD se varía utilizando esta técnica¹⁰ y las concentraciones finales de β -CD se calcularon considerando los volúmenes agregados de la Solución A, Tabla 5.3. Los datos presentados fueron corregidos descontando el blanco correspondiente conteniendo el receptor.

Tabla 5.3: Absorbancias a 274 y 431 nm para distintas concentraciones de β -CD.

[β-CD] / 10^{-3}M	A_{274nm}	A_{431nm}
0,00	0,0370	0,013
3,97	0,0350	0,009
5,10	0,0330	0,008
5,97	0,0320	0,008
8,08	0,0230	0,008
9,93	0,0270	0,006

Para procesar los datos de la Tabla 5.3, se empleó la ecuación de Benesi-Hildebrand⁶ (Ecuación 5.3), graficando $b/\Delta A$ vs $1/[R]$. Los datos no se correlacionaron linealmente, probablemente porque el cambio en absorbancia producido por las diferentes concentraciones de β -CD en el intervalo estudiado no fue suficiente. Por tal motivo, no fue posible determinar una K_{asoc} .

Estudio de solubilidad de TFA en presencia de β -CD

El análisis de solubilidad de fase es ampliamente utilizado para estudiar el efecto de un agente solubilizante en la solubilidad de fármacos poco solubles. Este método da información de la constante de asociación y la estequiometría de la

interacción.¹¹ Utilizamos este camino alternativo para estudiar el efecto de β -CD sobre la solubilidad de **TFA**.

Higuchi–Connor postulan una clasificación de complejos basados en sus diagramas de solubilidad de fase; es decir, cómo la solubilidad aparente de una molécula soluto (*huésped*) cambia con incrementos de concentración del *receptor* (por ejemplo, CD) disuelto debido a la mayor solubilidad acuosa de los complejos formados.¹² Para construir los diagramas de solubilidad de fases se debe graficar la solubilidad del *huésped* versus la concentración del *receptor*. En la Figura 5.4 (adaptada de la referencia¹²), se muestran los distintos perfiles de solubilidades de fases y clasificación de complejos según Higuchi y Connors.

En soluciones acuosas los perfiles de la solubilidad de fase del tipo *A* se obtiene cuando la solubilidad del *huésped* aumenta con el incremento de la concentración del *receptor* a través de formación de complejos solubles en agua. Cuando el complejo es de primer orden con respecto al *huésped* o de primer orden o superior con respecto al *receptor* entonces se obtiene un perfil de solubilidad tipo A_L (crece linealmente). Cuando el complejo es de primer orden con respecto al *huésped*, pero de segundo orden o superior con respecto al *receptor* entonces se obtiene un perfil de solubilidad tipo A_P (desviación positiva de la linealidad). El perfil de solubilidad tipo A_N (desviación negativa de la linealidad) puede ser difíciles de interpretar, pero puede estar asociado con el *receptor*, en la naturaleza efectiva del solvente en presencia de grandes concentraciones del *receptor*, cambios en los complejos de solubilidad ó agregación del *receptor* y *huésped*.^{12,13}

Los perfiles de la solubilidad de fase del tipo *B* se observan cuando se forman complejos insolubles en agua.^{12,13}

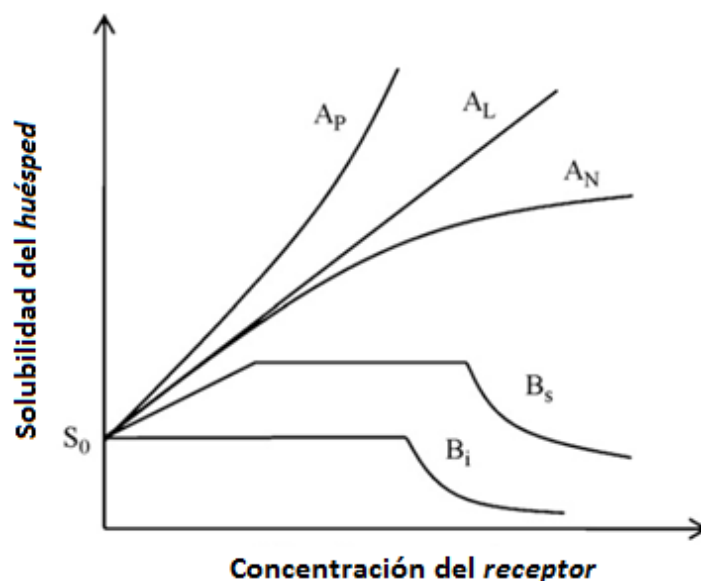


Figura 5.4: Perfiles de solubilidad de fases y clasificación de complejos según Higuchi y Connors. S_0 es la solubilidad intrínseca del *huésped* en el medio acuoso de formación del complejo, es decir, la solubilidad del *huésped* cuando no está presente es *receptor*.

El tipo más común de complejos es el de estequiometría 1:1, donde una molécula *huésped* (**H**) forma un complejo con una molécula *receptor* (**R**, por ejemplo CD):^{11,12}



Bajo estas condiciones se observaría un diagrama de solubilidad de fase de tipo A_L , con pendiente menor que la unidad. Se puede observar y calcular la constante del complejo K_{asoc} desde la pendiente (gráfico de solubilidad vs $[\beta\text{-CD}]$) y la solubilidad intrínseca (S_0) del *huésped* en el medio acuoso de formación del complejo (es decir, solubilidad del *huésped* cuando no está la CD), a través de la Ecuación 5.4.¹² La pendiente se representa a través de la Ecuación 5.5.

$$K_{asoc} = \frac{\text{pendiente}}{S_0(1+\text{pendiente})}$$

Ecuación 5.4

$$\text{pendiente} = \frac{mK_{\text{asoc}}S_0^m}{1 + K_{\text{asoc}}S_0^m} \quad \text{Ecuación 5. 5}$$

Para este trabajo se estudió la solubilidad de **TFA** con β -CD y los experimentos se hicieron por duplicado. Se mantuvo constante la masa de **TFA** (0,01 g) y se varió la concentración de β -CD, el solvente fue 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7. Se preparó una solución de **TFA** sin CD, utilizada como referencia. Se agitaron constantemente las soluciones por 24 horas. A continuación, se muestran los resultados relevantes de las dos series de experimentos.

Se realizaron mediciones de absorbancia en el espectrofotómetro UV-visible a las 24 horas para las distintas concentraciones de β -CD. El paso óptico de la cubeta de cuarzo fue de 5 cm. La concentración de **TFA** disuelta fue determinada empleando UV-visible.

Como las absorbancias a 431 nm eran muy pequeñas y estaban dentro del error del equipo, se decidió no considerarlas para calcular la K_{asoc} . Sólo se realizó el cálculo de la concentración de **TFA** en solución con los datos obtenidos a la $\lambda_{\text{máx}}$ 274 nm, Tabla 5.4.

Tabla 5.4: Absorbancias de **TFA** obtenidas para las distintas concentraciones de β -CD y cálculo de concentración de **TFA** a 274 nm en 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7.

[β -CD] /10 ⁻³ M	N° de serie			
	A	1 [1] /10 ⁻⁶ M	A	2 [1] /10 ⁻⁶ M
0	0,116	5,06 ^a	0,116	5,06 ^a
1	0,217	8,51 ^b	0,109	4,27 ^b
2	0,194	7,61 ^b	0,126	4,94 ^b
4	0,199	7,80 ^b	0,162	6,35 ^b
6	0,306	12,00 ^b	0,277	10,90 ^b
8	0,464	18,20 ^b	0,460	18,00 ^b
10	0,405	15,88 ^b	0,469	18,40 ^b

^a Calculado con el ϵ sin β -CD (4580 cm⁻¹M⁻¹), ^b: Calculada con el ϵ con β -CD (5100 cm⁻¹M⁻¹)

En la Figura 5.5 se muestran los diagramas de solubilidad de fases para las series 1 y 2 a 274 nm donde se graficó S_1 vs $[\beta\text{-CD}]$. S_1 es la concentración de **TFA** calculada a partir del valor de absorbancia obtenido.

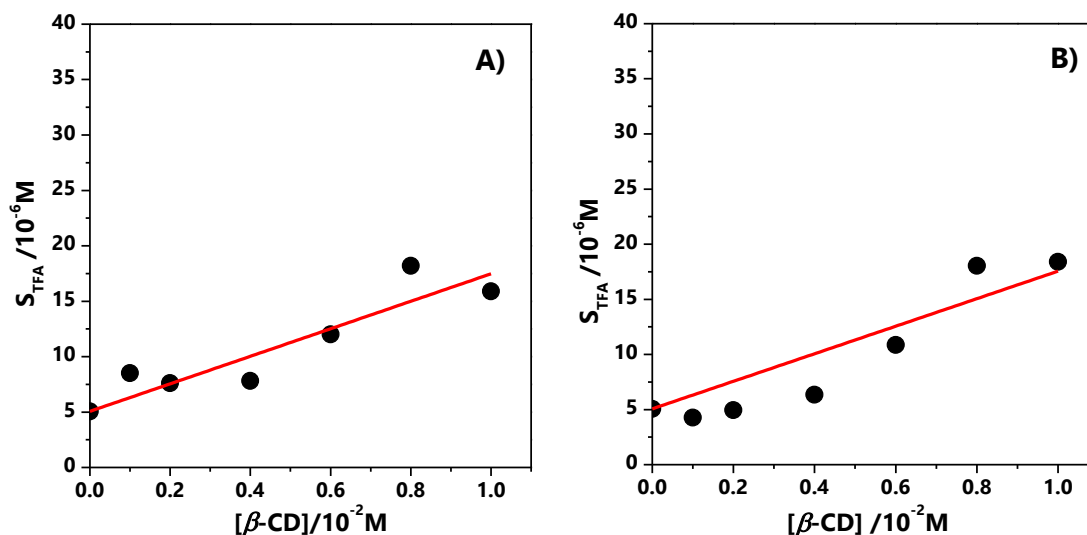


Figura 5.5: Diagramas de fase para la serie 1 (A) y 2 (B) para 274 nm. Gráficos de concentración de **TFA** vs $[\beta\text{-CD}]$.

A partir de los diagramas de solubilidad de fases, Figura 5.5, se calculó la pendiente para cada caso (línea continua roja). Luego, se utilizó la Ecuación 5.4 para realizar el cálculo de la constante de asociación.

En la Tabla 5.5, se encuentran los valores obtenidos para las constantes de asociación en las distintas series realizadas. La constante de asociación promedio es $\bar{K}_{\text{asoc}} = (25 \pm 7) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$.

Tabla 5.5: Constantes de asociación y error obtenidos para las distintas series a 274 nm en 1 %

ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7.

N° de serie	$\lambda_{274\text{nm}} / \text{M}^{-1}$	
	K_{asoc}	Error K_{asoc}
1	245	64
2	247	78

El factor de incremento de solubilidad se utiliza como una medida de la capacidad de las CDs para solubilizar el huésped con baja solubilidad acuosa.¹⁴ El factor de incremento de solubilidad se define como S_{CD}/S_0 , donde S_{CD} es la solubilidad del huésped de interés en una solución de CD y S_0 es la solubilidad en agua. El factor de incremento de solubilidad calculado para **TFA** en $[\beta\text{-CD}] = 10 \times 10^{-3} \text{ M}$ es 3,6.

Determinación de la estequiometría del complejo por el método de las Variaciones Continuas

Existen diferentes métodos para determinar la estequiometría de un complejo, el más popular es el Método de las Variaciones Continuas,¹⁵ también, conocido como *Job's plot*.¹⁶ Se utiliza ampliamente en química y bioquímica para el estudio de asociaciones moleculares.¹⁶

El método se basa en que la concentración de un complejo $\mathbf{H}_m\mathbf{R}_n$ ($[\mathbf{H}_m\mathbf{R}_n]$) es máxima cuando la relación $[\mathbf{H}]/[\mathbf{R}]$ es igual a m/n . Para ello, la fracción molar del huésped ($\chi_{\mathbf{H}}$) se varía manteniendo la concentración total de huésped y receptor constante ($[\mathbf{H}]_0 + [\mathbf{R}]_0 = \text{constante}$).^{16,17} Se grafican las absorbancias medidas para el complejo, versus la fracción molar del receptor. Si se forma un complejo único, estable, que no se aprecie disociación, en el gráfico se observará una característica forma triangular.¹⁷ La fracción molar donde la señal es máxima, es decir en el vértice del triángulo, indica la composición del complejo.¹⁷

A fin de determinar la estequiometría del complejo formado entre **TFA** y $\beta\text{-CD}$ por este método, se realizaron dos series de experimentos. Se prepararon soluciones donde se varía la fracción molar de **TFA** (X_{TFA}) y de $\beta\text{-CD}$ ($X_{\beta\text{-CD}}$) de tal manera que, la concentración del huésped más la concentración del receptor fuera constante ($[\text{TFA}] + [\beta\text{-CD}] = 3,056 \times 10^{-6} \text{ M}$). Se midió la absorbancia de las soluciones, luego de ser preparadas, con una cubeta de cuarzo de paso óptico de 5 cm. En la Tabla 5.6 se muestran los valores obtenidos para la serie 1 y 2.

Quando se graficaron los datos, no fue posible correlacionar los datos ya que los cambios de absorbancia fueron muy pequeños.

Tabla 5.6: Absorbancias a 274 y 431 nm obtenidas para las fracciones molares de **TFA** y β -CD en 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7. Valores de los gráficos Job's.

X_{TFA}	$X_{\beta-CD}$	1° serie				2° serie			
		274 nm		431 nm		274 nm		431 nm	
		A	$X_{\beta-CD} * A$	A	$X_{\beta-CD} * A$	A	$X_{\beta-CD} * A$	A	$X_{\beta-CD} * A$
0,0	1,0	0,006	0,006	0,000	0,000	0,062	0,062	1E-3	1E-3
0,1	0,9	0,039	0,0351	0,011	0,0099	0,086	0,0774	0,006	0,0054
0,2	0,8	0,087	0,0696	0,024	0,0192	0,089	0,0712	0,010	0,0080
0,3	0,7	0,105	0,0735	0,040	0,0280	0,093	0,0651	0,010	0,0070
0,4	0,6	0,107	0,0642	0,045	0,0270	0,096	0,0576	0,013	0,0078
0,5	0,5	0,183	0,0915	0,043	0,0215	0,101	0,0505	0,012	0,0060
0,6	0,4	0,146	0,0584	0,062	0,0248	0,102	0,0408	0,014	0,0056
0,7	0,3	0,153	0,0459	0,065	0,0195	0,095	0,0285	0,011	0,0033
0,8	0,2	0,166	0,0332	0,067	0,0134	0,099	0,0198	0,013	0,0026
0,9	0,1	0,252	0,0252	0,122	0,0122	0,097	0,0097	0,013	0,0013
1,0	0,0	0,018	0,018	0,000	0,0000	0,101	0,0000	0,013	0,0000

5.4.- Resultados de *N-n-propil-2,6-dinitro-4-trifluoro metilanilina (NPTA)*

5.4.1.- Características fisicoquímicas

El compuesto *N-n-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilanilina (NPTA)* fue sintetizado en el laboratorio de acuerdo a la metodología descrita en un trabajo anterior del grupo.¹⁸ La estructura química de **NPTA**, se presenta en la Figura 5.1.

Espectro UV-visible

El espectro UV-visible de **NPTA**, Figura 5.6, en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7 presenta dos máximos de absorción, uno a 238 nm y otro a 430 nm.

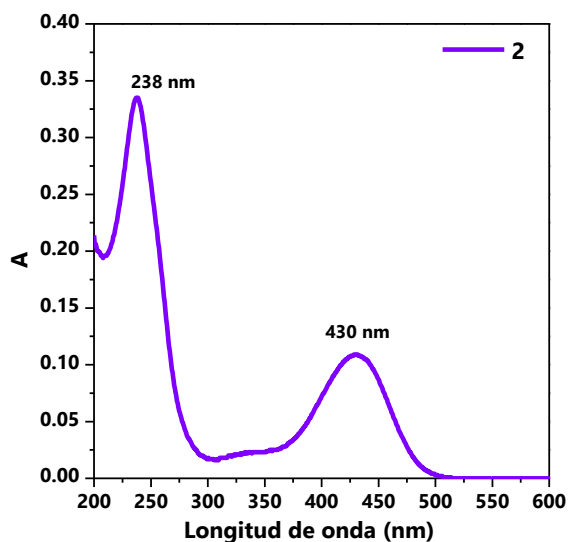


Figura 5.6: Espectro UV-visible de **NPTA**. $[\text{NPTA}]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, $l = 1$ cm

Coefficientes de absortividad molar

La absortividad molar se determinó a partir de la absorbancia a la longitud de onda de absorción máxima en función de la concentración de **NPTA**. La regresión de los datos graficados según la ley de Lambert-Beer (Ecuación 3.1) fue lineal en todos los casos con coeficientes de correlación $> 0,999$ y a partir de las pendientes obtenidas por regresión de mínimos cuadrados se determinaron los valores de ϵ para **NPTA**, Tabla 5.7.

Tabla 5.7: ϵ calculado de **NPTA** en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7 a 25 °C.

Longitud de onda /nm	$\epsilon / 10^2 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$
238	161 ± 3
430	52 ± 1

5.4.2.- Estudio de la interacción entre NPTA y β -CD

Determinación de la constante de asociación

A fin de determinar la constante de asociación, K_{asoc} , entre **NPTA** y β -CD, y suponiendo que se establece el equilibrio 1:1 (Esquema 5.2), se realizaron dos series de experimentos con la técnica de titulación espectrofotométrica. En la Figura 5.7 y en la Tabla 5.8, se muestran los resultados de las distintas $[\beta\text{-CD}]_0$ y absorbancias a las dos $\lambda_{m\acute{a}x}$ de **NPTA**.



Esquema 5.2: Equilibrio químico de formación del complejo entre **NPTA** y β -CD.

Tabla 5.8: Valores de absorbancias de **NPTA** incrementando las concentraciones de β -CD.

$[\text{NPTA}]_0 = 2 \times 10^{-5}$ M, solvente: 1% ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, PO=1 cm

$[\beta\text{-CD}]_0$ / 10^{-3} M	1° Serie		2° Serie	
	$A_{238\text{nm}}$	$A_{430\text{nm}}$	$A_{238\text{nm}}$	$A_{430\text{nm}}$
0	0,336	0,107	0,384	0,123
1	0,347	0,111	0,418	0,126
2	0,364	0,115	0,397	0,126
3	0,388	0,123	0,446	0,141
4	0,408	0,130	0,431	0,137
5	0,437	0,137	0,441	0,139
6	0,440	0,139	0,470	0,146
7	0,433	0,137	0,466	0,145
8	0,438	0,137	0,461	0,143
9	0,426	0,133	0,466	0,144
10	0,410	0,127	0,472	0,144

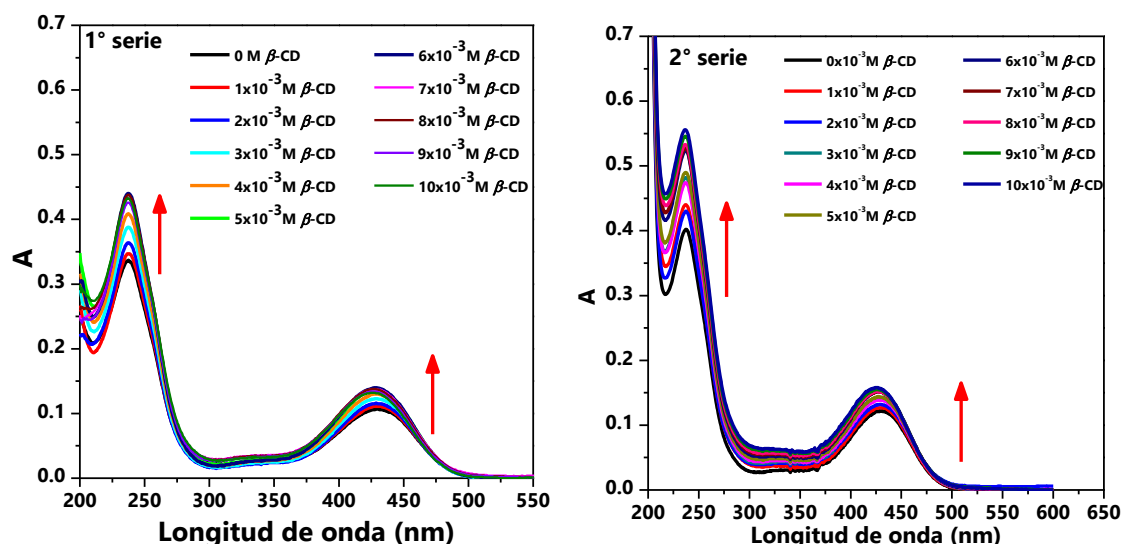


Figura 5.7: Espectros UV-visible de **NPTA** en presencia de cantidades crecientes de β -CD. $[\text{NPTA}]_0 = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$, solvente: 1% ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, $\text{PO}=1 \text{ cm}$.

Para ambas series, la presencia de β -CD produce un incremento significativo en la absorbancia en ambas longitudes de onda lo que permitió calcular la K_{asoc} . A continuación, se detalla el procedimiento para la determinación.

Considerando que el sistema corresponde a un complejo **NPTA**: β -CD de estequiometría 1:1; que los espectros de absorción del analito libre y del complejo muestran diferencias significativas y que todas las especies cumplen con la Ley de Lambert-Beer, se selecciona una λ a la cual ϵ_{NPTA} y $\epsilon_{\text{NPTA}-\beta\text{-CD}}$ son diferentes. En ausencia del *receptor*, la absorbancia de la solución está dada por la Ecuación 5.6, donde $[\text{NPTA}]_0$ es la concentración analítica.

$$A_0 = \epsilon_{\text{NPTA}} b [\text{NPTA}]_0$$

Ecuación 5.6

Cuando la solución contiene $[\text{NPTA}]_0$ y una dada concentración de β -CD, la absorbancia se calcula de acuerdo a la Ecuación 5.7. Si se combina la Ecuación 5.7 con los balances de masas para **NPTA** ($[\text{NPTA}]_0 = [\text{NPTA}] + [\text{NPTA} - \beta\text{CD}]$) y para βCD ($[\beta\text{CD}]_0 = [\beta\text{CD}] + [\text{NPTA} - \beta\text{CD}]$) se obtiene la Ecuación 5.8, donde $\Delta\epsilon_{\text{NPTA}-\beta\text{CD}} = \epsilon_{\text{NPTA}-\beta\text{CD}} - \epsilon_{\text{NPTA}} - \epsilon_{\beta\text{CD}}$.

$$A = b(\varepsilon_{\text{NPTA}-\beta\text{CD}}[\text{NPTA} - \beta\text{CD}] + \varepsilon_{\text{NPTA}}[\text{NPTA}] + \varepsilon_{\beta\text{CD}}[\beta\text{CD}]) \quad \text{Ecuación 5.7}$$

$$A = b(\Delta\varepsilon_{\text{NPTA}-\beta\text{CD}}[\text{NPTA} - \beta\text{CD}]_0 + \varepsilon_{\text{NPTA}}[\text{NPTA}]_0 + \varepsilon_{\beta\text{CD}}[\beta\text{CD}]_0) \quad \text{Ecuación 5.8}$$

La Ecuación 5.8 puede ser simplificada (Ecuación 5.9) descontando la absorbancia de una solución blanco que contenga sólo β -CD.

$$A_{\beta\text{-CD}} = A - \varepsilon_{\beta\text{CD}}[\beta\text{CD}]_0 = b(\Delta\varepsilon_{\text{NPTA}-\beta\text{CD}}[\text{NPTA} - \beta\text{CD}] + \varepsilon_{\text{NPTA}}[\text{NPTA}]) \quad \text{Ecuación 5.9}$$

Combinando la ecuación 5.9 con la definición de K_{asoc} (Ecuación 5.1) y el balance de masas, se obtiene la expresión dada por la Ecuación 5.10 para $b=1$ cm. De esta manera, se puede determinar el valor de K_{asoc} como la relación entre el cambio de absorbancia a la λ elegida y los parámetros y variables del sistema. Trabajando en condiciones donde $[\beta\text{CD}]_0 \gg [\text{NPTA}]_0$, se puede aproximar que $[\beta\text{CD}] \approx [\beta\text{CD}]_0$.¹⁹

$$A_{\beta\text{CD}} = A_0 + \frac{[\text{NPTA}]_0 \Delta\varepsilon_{\text{NPTA}-\beta\text{CD}} K_{\text{asoc}} [\beta\text{CD}]}{1 + K_{\text{asoc}} [\beta\text{CD}]} \quad \text{Ecuación 5.10}$$

Para **NPTA**, se encontró que la máxima diferencia de absorbancia ($\Delta A_{\text{máx}}$) entre una solución que contenía 1×10^{-2} M de β -CD (máxima concentración empleada) y la otra sin receptor se producía a 238 nm y 430 nm. Para evaluar, a partir de estos cambios espectrales,²⁰ si se formaba un complejo entre **NPTA** y β -CD, se midió el incremento de absorbancia con el incremento en la concentración de β -CD a 238 nm ($\Delta A_{\text{máx}} = 0,167$) y a 430 nm ($\Delta A_{\text{máx}} = 0,053$). La K_{asoc} se determinó a partir del empleo de la Ecuación 5.9, reemplazando $[\beta\text{CD}]$ por $[\beta\text{CD}]_0$. Se pudo calcular el valor de K_{asoc} obtenido para las longitudes de ondas 238 y 430 nm en ambas series, Tabla 5.9 y Figura 5.8. El error corresponde a propagación de errores.

La constante de asociación obtenida del promedio de las constantes calculadas a 238 y 430 nm en las series es $\bar{K}_{asoc} = (18 \pm 2) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$. El hecho de que K_{asoc} sea independiente de la longitud de onda puede indicar que solamente están presentes complejos de inclusión 1:1.¹⁹

Tabla 5.9: Constantes de asociación y error obtenidos para las distintas series en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7.

N° de serie	$\lambda_{238\text{nm}}/\text{M}^{-1}$		$\lambda_{430\text{nm}}/\text{M}^{-1}$	
	K_{asoc}	Error K_{asoc}	K_{asoc}	Error K_{asoc}
1	170	20	230	20
2	160	20	170	20

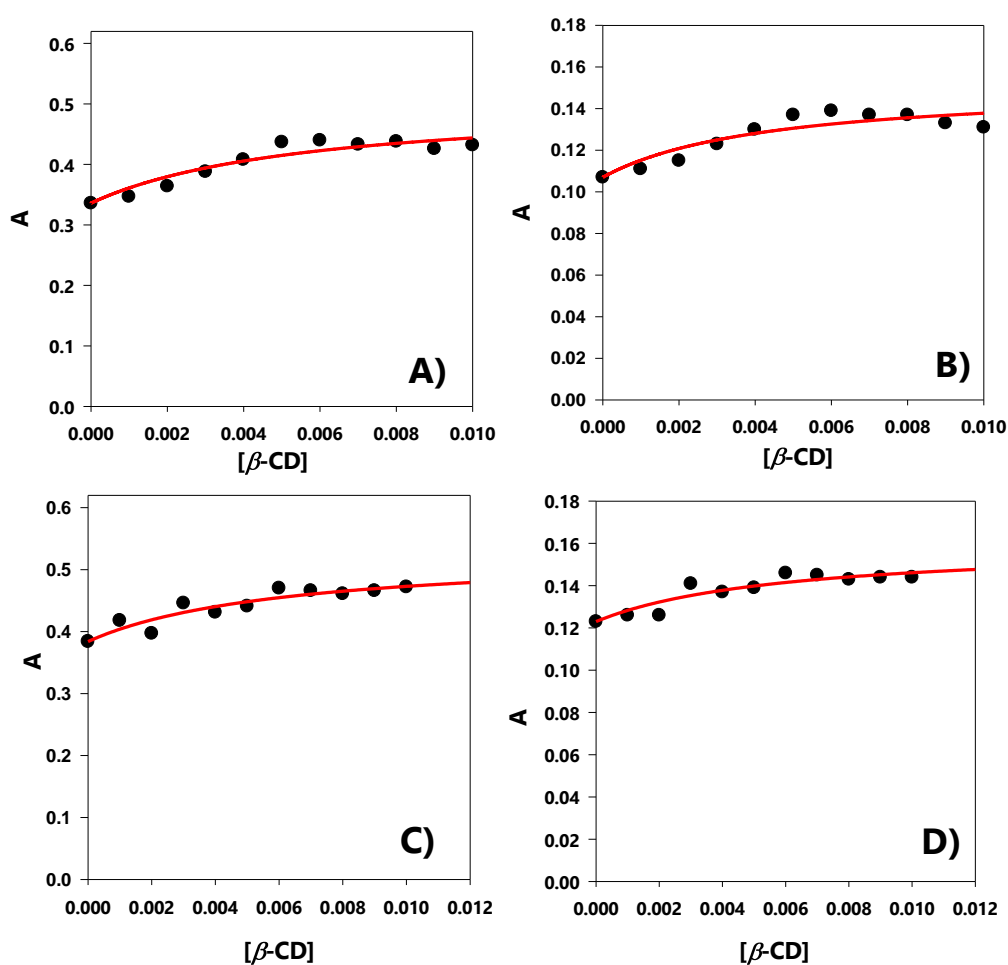


Figura 5.8: Absorbancia de NPTA ($[\text{NPTA}]_0 = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$) vs $[\beta\text{-CD}]$ en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH=7. La línea continua roja es el ajuste realizado con la Ecuación 5.9. A) λ 238 nm, primera serie; B) λ 430 nm, primera serie; C) λ 238 nm, segunda serie; D) λ 430 nm, segunda serie.

Determinación de la estequiometría por el Método de las Variaciones

Continuas

Para determinar la estequiometría del complejo formado entre **NPTA** y β -CD por el Método de las Variaciones Continuas, se realizaron dos series de experimentos. Se prepararon soluciones donde se varió la fracción molar de **NPTA** (X_{NPTA}) y de β -CD ($X_{\beta\text{-CD}}$) de tal manera, que la concentración del *huésped* más la concentración del *receptor* fuera constante ($[\text{NPTA}] + [\beta\text{-CD}] = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$). Se midió la absorbancia de las soluciones, luego de ser preparadas, con una cubeta de cuarzo de paso óptico de 1 cm. Los estudios se realizaron en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7. En la Tabla 5.10 se muestran los valores obtenidos para la serie 1 y 2 y en la Figura 5.9 se presentan los espectros obtenidos.

Tabla 5.10: Absorbancias a 238 y 430 nm obtenidas para las fracciones molares de **NPTA** y β -CD en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7. Valores de los gráficos de Job.

$X_{\beta\text{-CD}}$	X_{NPTA}	1° serie				2° serie			
		238 nm		430 nm		238 nm		430 nm	
		A	$X_{\beta\text{-CD}} \cdot A$	A	$X_{\beta\text{-CD}} \cdot A$	A	$X_{\beta\text{-CD}} \cdot A$	A	$X_{\beta\text{-CD}} \cdot A$
0,0	1,0	0,335	0,0000	0,109	0,0000	0,254	0,0000	0,079	0,0000
0,1	0,9	0,310	0,0310	0,092	0,0092	0,255	0,0255	0,083	0,0083
0,2	0,8	0,279	0,0558	0,089	0,0178	0,217	0,0434	0,069	0,0138
0,3	0,7	0,239	0,0717	0,076	0,0228	0,198	0,0594	0,065	0,0195
0,4	0,6	0,206	0,0824	0,066	0,0264	0,165	0,0660	0,052	0,0208
0,5	0,5	0,168	0,0840	0,056	0,0280	0,138	0,0690	0,043	0,0215
0,6	0,4	0,136	0,0816	0,044	0,0264	0,110	0,0660	0,034	0,0204
0,7	0,3	0,099	0,0693	0,033	0,0231	0,080	0,0560	0,026	0,0182
0,8	0,2	0,071	0,0568	0,022	0,0176	0,050	0,0400	0,017	0,0136
0,9	0,1	0,036	0,0324	0,011	0,0099	0,025	0,0225	0,009	0,0081
1,0	0,0	0,018	0,0180	0,000	0,0000	0,003	0,0030	0,000	0,0000

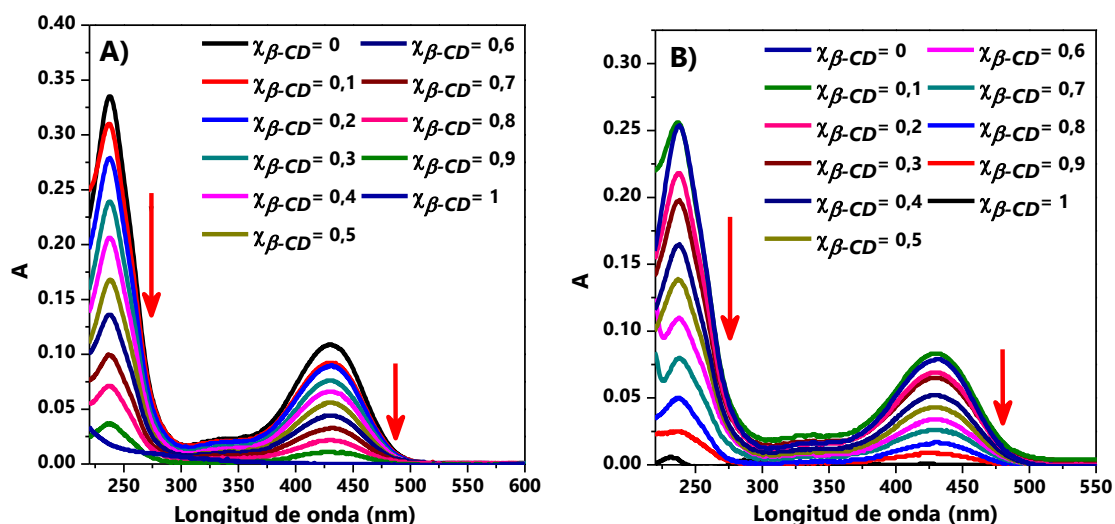


Figura 5.9: Espectros UV-visible. [NPTA] + [β-CD] = 2×10^{-5} M, en 1 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7, PO=1 cm. A) Serie 1, B) Serie 2.

En la Figura 5.10 se observan los gráficos de Job de las dos series. Se grafica la absorbancia multiplicada por la fracción molar versus la fracción molar.^{21,22} Los máximos de las parábolas se encuentran definidas dando un valor máximo cuando la fracción molar de β-CD es igual a 0,5.

Según la literatura, cuando el máximo se encuentra en el valor de fracción molar de 0,5, implica una asociación molecular 1:1.^{16,23} Es decir, que en este caso la asociación sería **NPTA:β-CD**.

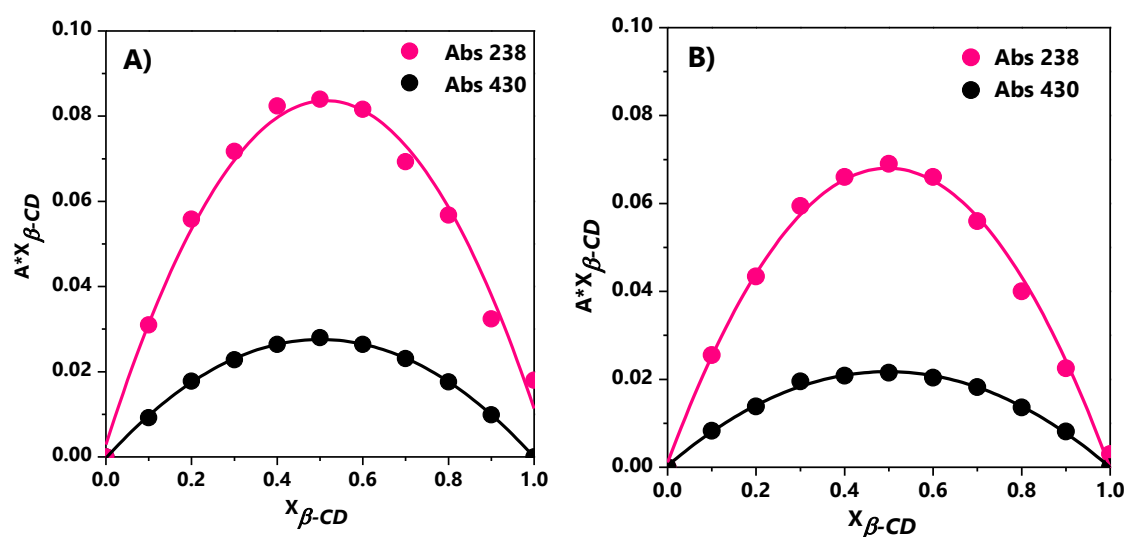


Figura 5.10: Gráficos de Job, A) serie 1, B) serie 2. [NPTA] + [β-CD] = 2×10^{-5} M en 1 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7, PO=1 cm.

5.5.- Resultados de 2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (NOx)

El compuesto 2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**3**) fue sintetizado en el laboratorio de acuerdo a lo descrito anteriormente,²⁴ la estructura química de **NOx**, se presenta en la Figura 5.1.

Este compuesto tiene un comportamiento ácido-base,²⁵ por lo tanto es necesario controlar el pH de trabajo. En un medio ácido, con altas concentraciones de iones H^+ , el equilibrio se desplaza hacia la forma molecular protonada (**NOxC**), pero en medio básico el equilibrio se desplaza hacia la forma desprotonada (**NOxB**), Figura 5.11.²⁵

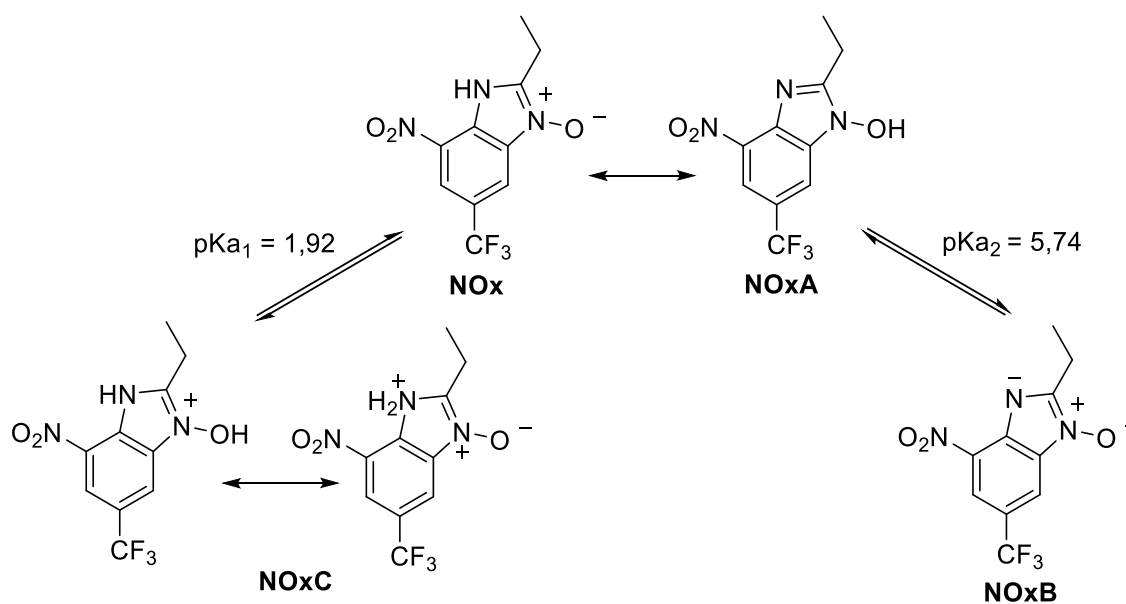


Figura 5.11: Equilibrio ácido-base de **NOx**.

5.5.1.- Características fisicoquímicas

Espectro UV-visible

En la Figura 5.12 se muestran los espectros UV-visible de **NOx** tomados a pH 3,571 (HCl/NaCl) y a pH 7,000 (Na_2HPO_4/KH_2PO_4) con 1% ACN. Se puede ver que

los máximos de absorción se desplazan a longitudes de onda mayores (efecto batocrómico) a pH 7,000. Teniendo en cuenta el $pK_{a2}=5,74$, la especie que predomina a pH 7,000 es **NOxB** (línea continua lila).

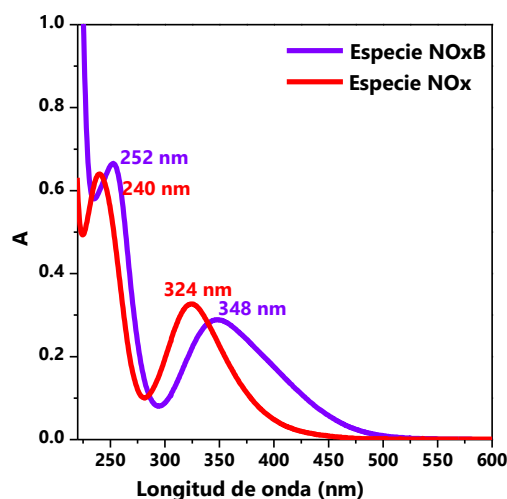


Figura 5.12: Espectros UV-visible de **NOx** a distintos pH. $[NOx]= 1,22 \times 10^{-5}$ M en 1 % ACN/ Na_2HPO_4/KH_2PO_4 , pH 7,000 (línea continua lila), en 1 % ACN/HCl/NaCl pH 3,571 (línea continua roja), $PO=5$ cm.

Coefficientes de absortividad molar

Se calculó la absortividad molar a ambos pHs, a partir de la absorbancia a la longitud de onda de absorción de **NOx** máxima en función de la concentración de **NOx**. La regresión de los datos graficados según la ley de Lambert-Beer (Ecuación 3.1) fue lineal en todos los casos con coeficientes de correlación $>0,999$ y a partir de las pendientes obtenidas por regresión de mínimos cuadrados se determinaron los valores de ϵ a ambos pH de trabajo, Tabla 5.11.

Tabla 5.11: ϵ calculados de **NOx** a distintos pH a 25°C.

pH	$\lambda_{m\acute{a}x}(nm)$	$\epsilon / 10^2 \text{ cm}^{-1}M^{-1}$
3,571	240	113 ± 4
	324	57 ± 2
7,000	252	107 ± 4
	348	46 ± 2

Se decidió continuar el estudio empleando 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7,000, ya que de esta manera se tiene una sola especie en la solución (especie desprotonada, **NOxB**).

5.5.2.- Estudio de la interacción entre **NOxB** y β -CD

Determinación de la constante de asociación

A fin de determinar la constante de asociación, K_{asoc} , entre **NOxB** y β -CD, y suponiendo que se establece el equilibrio 1:1 (Esquema 5.1), se realizaron experimentos con la técnica de titulación espectrofotométrica. En la Figura 5.13 y en la Tabla 5.12, se muestran los resultados de las distintas $[\beta\text{-CD}]_0$ y absorbancias a las dos $\lambda_{\text{máx}}$ de **NOxB**.

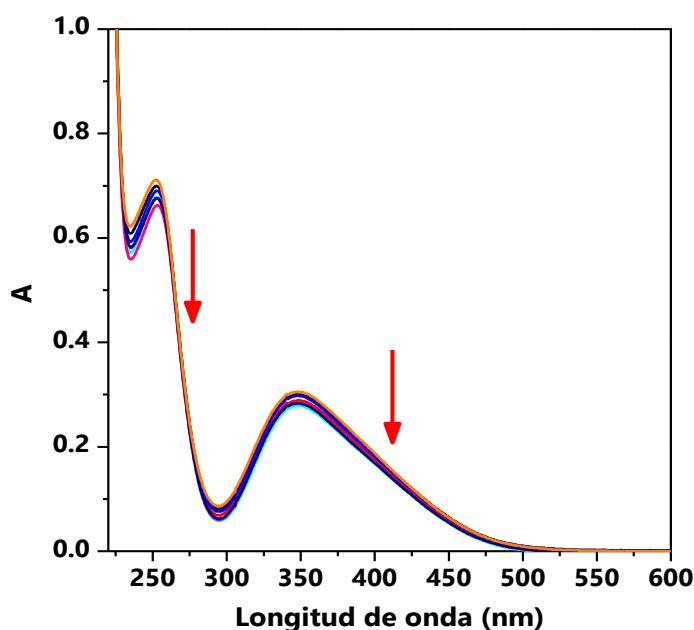


Figura 5.13: Espectros UV-visible de **NOxB** en presencia de cantidades crecientes de β -CD. $[\text{NOxB}]_0 = 1,22 \times 10^{-5}$ M, $[\beta\text{-CD}]_0 = 0$ M, $1,99 \times 10^{-3}$ M, $3,97 \times 10^{-3}$ M, $5,10 \times 10^{-3}$ M, $7,02 \times 10^{-3}$ M, $8,08 \times 10^{-3}$ M, $9,93 \times 10^{-3}$ M. Solvente: 1% ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, $l = 5$ cm.

Tabla 5.12: Valores de absorbancias de **NOxB** para las distintas concentraciones de β -CD en 1 % ACN/ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7.

[β-CD] / 10⁻³ M	A_{252nm}	A_{348nm}
0,00	0,711	0,306
1,99	0,699	0,300
3,97	0,676	0,289
5,10	0,690	0,298
7,02	0,678	0,279
8,08	0,661	0,284
9,93	0,676	0,284

Aunque se puede observar una pequeña disminución de la absorbancia a medida que aumenta la concentración de β -CD, los cambios no son significativamente grandes para determinar la constante de asociación por esta técnica. Sin embargo, se podría afirmar que existe una interacción entre la **NOxB** y la β -CD por la disminución de la absorbancia observada.

Determinación de la estequiometría por el Método de las Variaciones Continuas

Para determinar la estequiometría entre **NOxB** y β -CD por el Método de las Variaciones Continuas, se realizaron dos series de experimentos. Se prepararon soluciones donde se varió la fracción molar de **NOxB** (X_{NOxB}) y de β -CD ($X_{\beta\text{-CD}}$) de tal manera, que la concentración del *huésped* más la concentración del *receptor* fuera constante ($[\text{NOxB}] + [\beta\text{-CD}] = 2,4 \times 10^{-5}$ M). Se midió la absorbancia de las soluciones, luego de ser preparadas, con una cubeta de cuarzo de paso óptico de 1 cm. Los estudios se realizaron en 1 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7. En la Tabla 5.13 se muestran los valores obtenidos para la serie 1 y 2 y en la Figura 5.14, se presentan los espectros obtenidos.

CAPÍTULO 5: INTERACCIÓN DE β -CICLODEXTRINA CON TRIFLURALINA Y DOS DE SUS PRODUCTOS DE FOTODEGRADACIÓN EN SOLUCIÓN

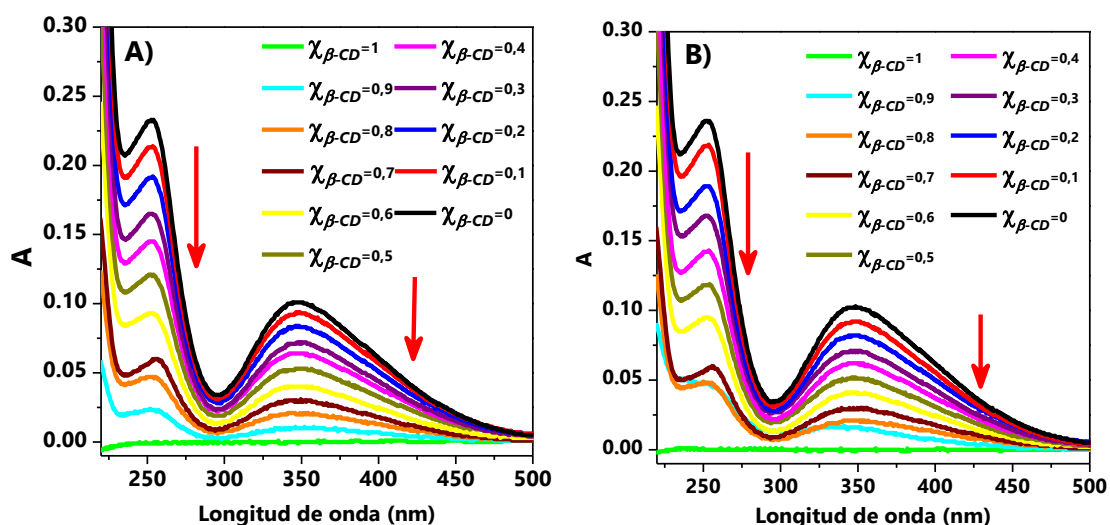


Figura 5.14: Espectros UV-visible. $[\text{NOxB}] + [\beta\text{-CD}] = 2,4 \times 10^{-5} \text{ M}$, en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, PO=1 cm. A) Serie 1, B) Serie 2.

Tabla 5.13: Absorbancias a 252 y 348 nm obtenidas para las fracciones molares de **NOxB** y $\beta\text{-CD}$ en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7. Valores de los gráficos de Job.

$\chi_{\beta\text{-CD}}$	χ_{NOxB}	1° serie				2° serie			
		252 nm		348 nm		252 nm		348 nm	
		A	$\chi_{\beta\text{-CD}} \cdot A$	A	$\chi_{\beta\text{-CD}} \cdot A$	A	$\chi_{\beta\text{-CD}} \cdot A$	A	$\chi_{\beta\text{-CD}} \cdot A$
0,0	1,0	0,232	0,0000	0,101	0,0000	0,236	0,0000	0,102	0,0000
0,1	0,9	0,213	0,0213	0,093	0,0093	0,218	0,0218	0,092	0,0092
0,2	0,8	0,191	0,0382	0,084	0,0168	0,189	0,0378	0,082	0,0164
0,3	0,7	0,165	0,0495	0,072	0,0216	0,168	0,0504	0,071	0,0213
0,4	0,6	0,145	0,0580	0,064	0,0256	0,142	0,0568	0,062	0,0248
0,5	0,5	0,121	0,0605	0,053	0,0265	0,118	0,0590	0,052	0,0260
0,6	0,4	0,093	0,0558	0,040	0,0240	0,095	0,0570	0,041	0,0246
0,7	0,3	0,058	0,0406	0,029	0,0203	0,058	0,0406	0,029	0,0203
0,8	0,2	0,047	0,0376	0,020	0,0160	0,048	0,0384	0,021	0,0168
0,9	0,1	0,024	0,0216	0,010	0,0090	0,048	0,0432	0,016	0,0144
1,0	0,0	0,001	0,0010	0,001	0,0010	0,000	0,0000	0,001	0,0010

En la Figura 5.15 se observan los Gráficos de Job de las series. Los máximos de las parábolas se encuentran definidas dando un valor máximo cuando la fracción molar de $\beta\text{-CD}$ es igual a 0,5.

Según la literatura, cuando el máximo se encuentra en el valor de fracción molar de 0,5, implica una asociación molecular 1:1.^{16,23} Es decir, que en este caso la asociación sería **NOxB**: β -CD.

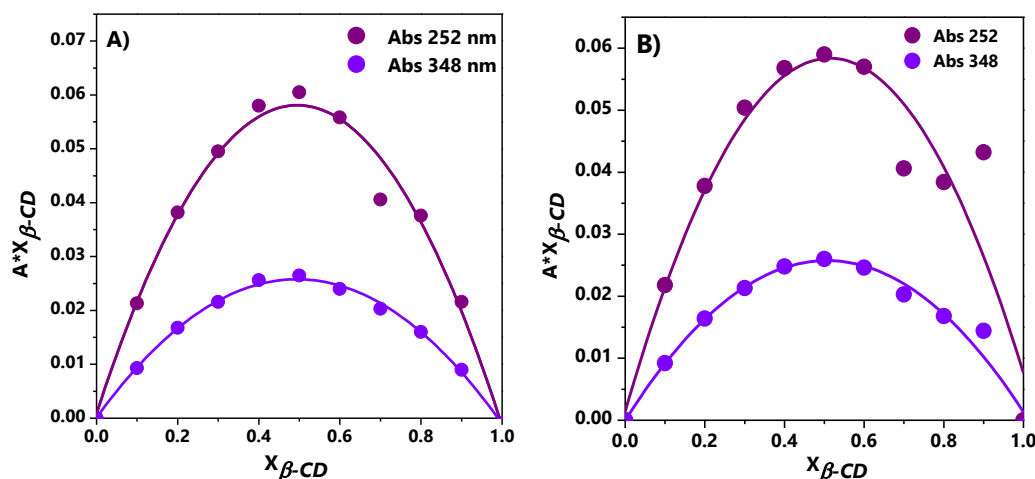


Figura 5.15: Gráficos de Job, A) serie 1, B) serie 2. [**NOxB**] + [β -CD] = $2,4 \times 10^{-5}$ M en 1% ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, PO=1 cm.

5.6.- Otros estudios realizados con TFA, NPTA y NOx en presencia de β -CD

5.6.1.- Dicroísmo Circular

Hay sustancias que debido a su estructura química poseen la propiedad de interactuar con la luz polarizada cambiando su plano de rotación. Estas sustancias son conocidas como "ópticamente activas" y pueden interactuar con la luz de diferentes maneras. Si la dirección de la luz simplemente cambia con un determinado ángulo de rotación hablamos de dispersión rotatoria óptica (ORD), mientras que si lo que se observa es que los dos componentes son absorbidos en diferente grado, el fenómeno se conoce como dicroísmo circular (CD).

La técnica espectroscópica de dicroísmo circular (DC) detecta la absorción diferencial de luz, circularmente polarizada izquierda y derecha, cuando interactúa con una sustancia quiral.²⁶ Para obtener espectros de DC un

compuesto debe presentar la característica de ser quiral y poseer un cromóforo que presente transiciones electrónicas cuyas energías se encuentren en el intervalo de 190 a 800 nm, que es la zona accesible en los espectropolarímetros convencionales. Un espectro de dicroísmo circular contiene esencialmente una señal de absorción con un signo positivo y/o negativo.

Las ciclodextrinas son compuestos quirales por estar constituidas por unidades de α -D-glucosa,²⁷ pero no absorben luz en la región del UV-visible (200-1000 nm) por lo tanto no presentan señales de dicroísmo circular. Sin embargo, cuando una molécula *huésped* aquiral que absorbe luz en la región del UV-visible se compleja con una ciclodextrina es posible inducir señales de dicroísmo circular en las bandas donde absorbe el *huésped* y este fenómeno es conocido como Dicroísmo Circular Inducido (DCI).²⁷ Las mediciones de DC se informan en grados de elipticidad, ó, de la luz elípticamente polarizada que es generada cuando la luz circularmente polarizada interacciona con la materia. El signo y la forma de las señales de DCI resultantes del complejamiento es única y depende de la orientación de la molécula *huésped* en el *receptor*. Como la intensidad de las señales de DCI es una medida absoluta de la cantidad de complejo formado, también es posible obtener la estequiometría y la K_{asoc} del complejo formado.²⁸

Se midieron los espectros de DC de los *huéspedes* (**TFA**, **NPTA** y **NOx**) con y sin presencia de β -CD en solución. Los huéspedes a estudiar son moléculas aquirales por lo que no presentan el fenómeno de DC. En las Figuras 5.16, 5.17 y 5.18, se muestran los espectros de DC de **TFA**, **NPTA** y **NOx**, respectivamente.

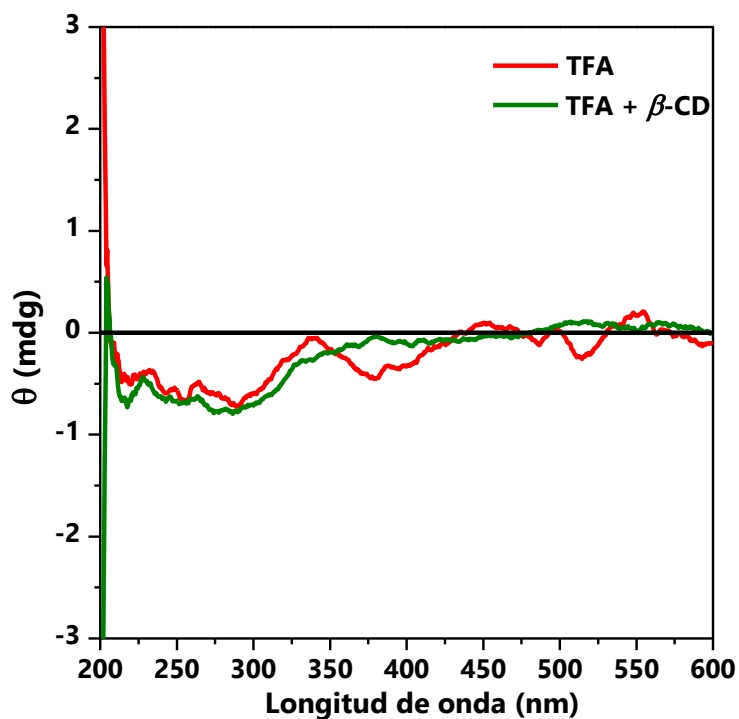


Figura 5.16: Espectros de dicroísmo circular de **TFA** con y sin presencia de β -CD. $[\text{TFA}]_0 = 1.4 \times 10^{-4}$ M, $[\beta\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M en 5 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, PO=2 cm.

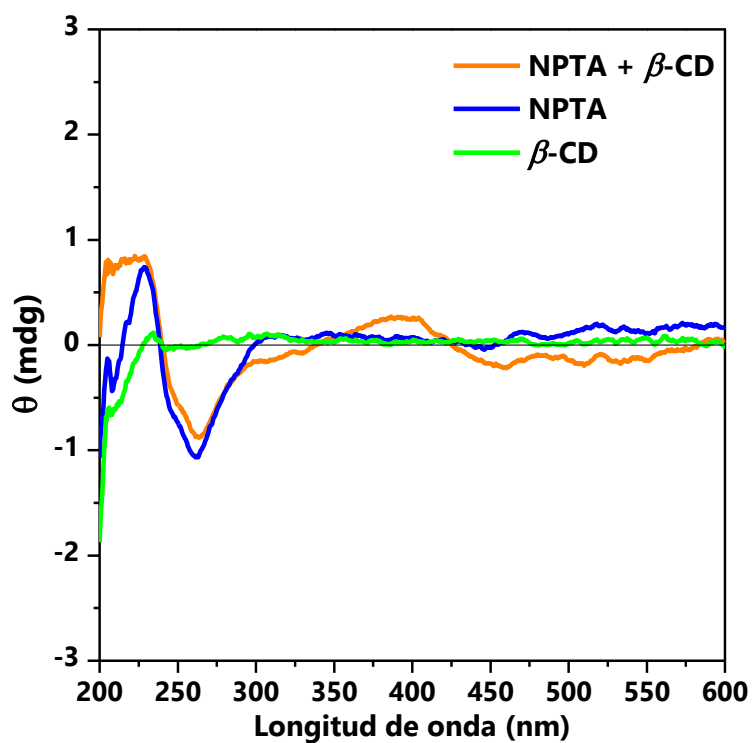


Figura 5.17: Espectros de dicroísmo circular de **NPTA** con y sin presencia de β -CD y el espectro de β -CD. $[\text{NPTA}]_0 = 3 \times 10^{-5}$ M, $[\beta\text{-CD}]_0 = 8 \times 10^{-3}$ M en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, PO=2 cm.

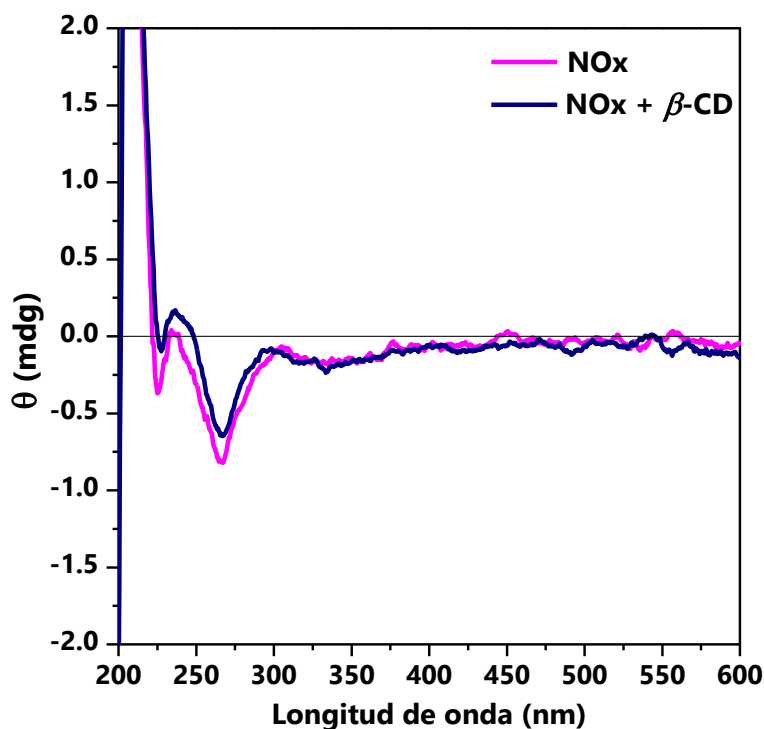


Figura 5.18: Espectros de dicroísmo circular de **NOx** con y sin presencia de β -CD. $[\text{NOx}]_0=3 \times 10^{-5}$ M, $[\beta\text{-CD}]_0=8 \times 10^{-3}$ M en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7, PO=2 cm.

Se analizaron los cambios en las zonas de absorción de cada compuesto de acuerdo a los espectros de absorción. En ningún caso, se observaron señales de DCI para **TFA**, **NPTA** y **NOx** con la presencia de β -CD. Los máximos ó mínimos observados en los espectros de DC, sólo son dispersión rotatoria óptica, no es una señal de DC, ya que, cuando se realiza el espectro de ORD no existe un punto de inflexión (punto de rotación óptica cero) que coincida con el máximo o mínimo de la señal del espectro de DC.²⁹

Las constantes de asociación calculadas para **TFA** y **NPTA** son pequeñas, es decir, que el complejamiento entre los *huéspedes* y la β -CD es débil, como consecuencia puede ser que no se logra observar la asociación por la técnica de DC.

5.6.2.- Espectroscopía Infrarroja

La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) es una técnica de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. En las sustancias, los enlaces químicos tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía vibracional de la molécula. El espectro vibracional de una molécula se considera una propiedad característica de cada molécula.³⁰

Una de las grandes ventajas de la espectroscopia FT-IR es su versatilidad, ya que permite estudiar prácticamente cualquier muestra con independencia del estado en que se encuentre: líquidos, disoluciones, pastas, polvos, fibras, films, gases, superficies, entre otros.

La espectroscopia FT-IR se usó para evaluar la interacción entre β -CD y **TFA**, **NPTA** ó **NOx** en solución. Las bandas de absorción del FTIR del *huésped* o *receptor* pueden proporcionar información sobre la inclusión por los cambios en la forma, el desplazamiento e intensidad de los picos.

Se prepararon soluciones de **TFA** (2×10^{-5} M), **NPTA** (2×10^{-5} M) y **NOx** (2×10^{-5} M) en 1 % ACN/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7 con y sin presencia de β -CD (8×10^{-3} M). Se prepararon los correspondientes blancos para cada solución.

En los espectros obtenidos de todas las soluciones se observaba una gran banda que correspondía a la vibración del enlace O-H, lo que hacía imposible observar un espectro apto para poder identificar las señales correspondientes de cada compuesto.

5.7.- Sección experimental

5.7.1.- Materiales

La **TFA** es una muestra comercial donada gentilmente por ATANOR (Córdoba Argentina); se recrystalizó 2 veces de metanol donde se obtuvo un sólido cristalino

de color naranja intenso. El punto de fusión fue 47,9-48,5 °C, el que se encuentra en concordancia con valores informados en bibliografía^{8,31} (48,8°C). Se confirmó además por ¹H, ¹³C y ¹⁹F RMN que **TFA** se encontraba puro.

N-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometil-anilina (**NPTA**) se sintetizó de acuerdo a lo descrito anteriormente.¹⁸ El rendimiento obtenido fue del 93,4 %. Se recristalizó 2 veces de metanol donde se obtuvo un sólido cristalino de color amarillo intenso. Se confirmó por ¹H, ¹³C y ¹⁹F RMN que **NPTA** se encontraba pura.

2-Etil-7-nitro-5-trifluorometil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**NOx**) se sintetizó siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía.²⁴ Se disolvieron 0,5 mmol de **NPTA** (sintetizado, sin purificar) con 1 mmol de Carbonato de Potasio (Marca *Cicarelli*) en 10 mL de Etanol Absoluto (Marca *Cicarelli*). Esta solución se protegió de la luz y se colocó en reflujo aproximadamente 2 h. Se agregaron 25 mL de H₂O calidad Milli Q para diluir. Luego, se realizó una extracción con Éter de Petróleo (fracción 35-60 °C, Marca *Cicarelli*) para remover los compuestos no ácidos. A la fase acuosa, se la acidificó con HCl concentrado (Marca *Merck*); se extrae nuevamente con éter de petróleo y se conservó la fase orgánica. Por último, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se filtró al vacío (se lavó con H₂O). Se secó al vacío. El rendimiento obtenido fue del 74,3 %. Se recristalizó 2 veces de metanol donde se obtuvo un sólido cristalino de color amarillo claro. La estructura se confirmó por ¹H RMN.

La β -CD utilizada en estudios en solución fue *Sigma-Aldrich* y se utilizó como se recibió.

El acetonitrilo utilizado es (J.T. Baker) de grado HPLC. Las soluciones acuosas fueron preparadas usando agua purificada con un equipo de *Millipore Milli-Q*. Las soluciones de buffer fosfato (Na₂HPO₄/KH₂PO₄) a pH 7 se prepararon para los estudios en solución. Todos los reactivos inorgánicos fueron de grado Analítico utilizados sin purificación adicional.

5.7.2.- Equipos

- Evaporador rotatorio marca, *Büchi R-200*.
- Equipo Millipore Milli-Q.
- Baño termostático con agitador orbital/lineal usado en las pruebas de solubilidad fue de marca *Grant OLS200*.
- Fusiómetro marca *Thermo Scientific 9100*.
- El pHmetro utilizado fue de marca *Termo Orion Start modelo A211* equipado con un electrodo combinado *Orion sistema Ross*; antes de ser utilizado fue calibrado con buffers estándares de pH= 4,008; 6,994 y 9,155.
- Resonancia magnética nuclear (RMN): Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C y ^{19}F fueron registrados por un espectrómetro de alta resolución Bruker Advance II 400 BBI (zonda de detección inversa multinuclear); frecuencia central 400,16 MHz en H, equipado con resolución digital y unidad de temperatura variable usando CDCl_3 como solvente para **TFA** y **NPTA**, y $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ para **NOx**. Los desplazamientos químicos se expresan en (δ), relativos al tetrametilsilano (TMS).
- Los espectros UV-visible se obtuvieron con un espectrofotómetro UV-visible Multispec-1501 Shimadzu.
- Para los espectros de Dicroísmo Circular se utilizó un espectropolarímetro JASCO J-810 acoplado a una PC.
- Se utilizó la Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) para los estudios en solución de **TFA**, **NPTA** y **NOx** con y sin presencia de β -CD. El equipo es de marca *FT-IR Nicolet 5-SXC*, se utilizaron ventanas de AgBr con un espesor de 0,2 cm. Volumen de la celda $0,08 \text{ cm}^3$.

5.7.3.- Estudios UV-visible

Los espectros UV-visible de **TFA** se midieron usando cubetas de cuarzo con caras oscuras y volumen reducido de 5 cm de paso óptico. Para los compuestos **NPTA** y **NOxB** se utilizó una cubeta de cuarzo con caras oscuras y volumen reducido de 1 cm de paso óptico.

Todas las soluciones de **TFA**, **NPTA** y **NOxB** se realizaron en 1 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7. A todas las soluciones se las mantuvo a oscuras, tapadas y se las homogeneizó por 1 hora con un intervalo de media hora.

Para toda solución medida en el UV-visible se realizaba una solución blanco de 1 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7, para descartar toda interferencia y sólo observar la señal correspondiente a **TFA**, **NPTA** o **NOxB**. Para descartar la interferencia proveniente de la β -CD, a los blancos correspondientes se les adicionaba la misma concentración de β -CD.

Para el estudio de la solubilidad, se mantuvo constante la masa de **TFA** (aproximadamente 0,01 g) y se varió la concentración de β -CD. Se hizo una solución de **TFA** con agua pura, que se la utilizó como referencia. Todas las soluciones fueron tapadas de la luz con papel de aluminio porque son sensibles a la luz. Se utilizaron viales con tapa para colocar la solución y a estos se los colocó en un agitador mecánico a temperatura controlada (*Shaker*) para agitar las soluciones y mantener la temperatura a 25 °C, el volumen final de las soluciones fue de 10 mL. Se preparó una solución madre de β -CD y luego se tomaron las alícuotas necesarias para preparar las soluciones de la concentración deseada. Para medir las soluciones en el UV-visible *Multispec-1501 Shimadzu*, se las filtraba con filtro de nylon con poro de 0,45 μ m. A la alícuota que se retiraba se la volvía al vial luego de medirla. Se midieron las soluciones a las 4, 24 y 72 hs de preparadas.

Para las titulaciones espectrofotométricas, se prepararon las soluciones con distintas concentraciones de β -CD, donde, sólo la concentración final de la CD

varía.¹⁰ Se preparan dos soluciones (50 mL) con igual concentración de **H** (Solución A y B), una de las cuales contenía además β -CD 10,0 mM (solución A). Diferentes volúmenes de la solución A se colocaron en matraces de 10,0 mL y se enrasaron con la solución B. Las concentraciones finales de β -CD se calcularon considerando los volúmenes agregados de la Solución A. Esta técnica disminuye los errores por variación de la concentración del sustrato en la preparación individual de las soluciones correspondientes. Las soluciones fueron medidas en orden creciente de concentración de β -CD, enjuagando previamente la cubeta con la correspondiente solución.

5.7.4.- Parámetros y preparación de soluciones para su utilización en el estudio de Dicroísmo Circular

Para realizar las mediciones en el espectropolarímetro se purgó el sistema con N₂ (caudal de 5 mL/min) durante media hora previo al encendido de la lámpara (Xe, 250 W), a fin de dejar el sistema libre de gases y evitar la fotogeneración de ozono. Los "shutters" se mantuvieron cerrados hasta el momento de la medición. Durante las mediciones, el caudal de N₂ se mantuvo a 12 mL/min.

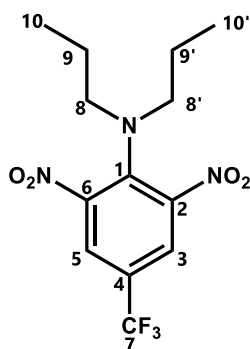
Los parámetros bajo los cuales se realizaron las experiencias fueron los siguientes:

- Intervalo espectral: 200-600 nm
- Data pitch: 0,5 nm
- Velocidad de barrido: 50 nm/min
- Respuesta: 0,5 segundos
- Sensibilidad: estándar (100 mdeg)
- Ancho de banda: 5 nm
- Número de acumulaciones 5 que muestran el espectro promedio de dichas mediciones.

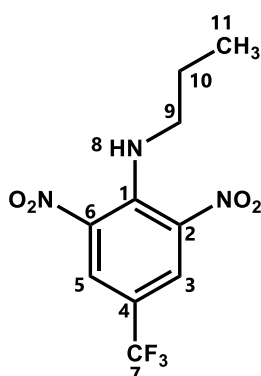
Se prepararon soluciones acuosas de **TFA**, **NPTA** y **NOx**, de concentración tal que dieran una absorbancia de 0,3 empleando una cubeta de 2 cm de paso óptico en 1 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7 para **2** ($[2]_0=3 \times 10^{-5}$ M) y **3** ($[3]_0=3 \times 10^{-5}$ M) y en 5 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7, para **1** ($[1]_0=1,4 \times 10^{-4}$ M), a partir de soluciones concentradas de los analitos. Para las soluciones con presencia de β -CD, se pesó la cantidad necesaria para una concentración final de 8×10^{-3} M en un volumen de 10 mL en 1 ó 5 % ACN/Na₂HPO₄/KH₂PO₄, pH 7. Además, se prepararon los correspondientes blancos para cada solución.

5.8.- RMN de los compuestos estudiados

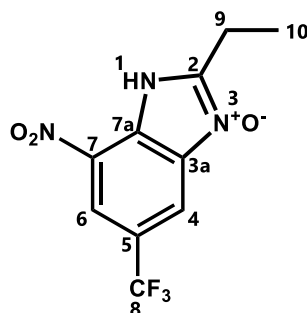
Trifluralina (**TFA**), *N,N*-di-*n*-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilanilina



¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz, ppm): 0,88 (t, 6H, H₁₀ y H_{10'}); 1,61 (m, 4H, H₉ y H_{9'}); 2,98 (m, 4H, H₈ y H_{8'}); 8,06 (s, 2H, H₃ y H₅). ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz, ppm): 11,30 (s, 2C, C₁₀ y C_{10'}); 20,94 (s, 2C, C₉ y C_{9'}); 54,25 (s, 2C, C₈ y C_{8'}); 121,41 (q, $J_{CF}=35,4$ Hz, C₄); 122,28 (q, $J_{CF}=272,0$ Hz, C₇); 126,78 (q, $J_{CF}= 3,4$ Hz, 2C, C₃ y C₅); 141,42 (s, 2C, C₂ y C₆); 145,52 (s, 1C, C₁). ¹⁹F RMN (CDCl₃, 376.49 MHz, ppm): -62,24 (s, 3F, F₇) (Simulado -63,49³² y -63,60³³).

N-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilnilina (**NPTA**)

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz, ppm): 1,02 (t, 3H, H_{11}); 1,75 (m, 2H, H_{10}); 3,01 (m, 2H, H_9); 8,41 (s, 2H, H_3 y H_5); 8,68 (s, 1H, H_8). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz, ppm): 11,19 (s, 1C, C_{11}); 23,34 (s, 1C, C_{10}); 48,40 (s, 1C, C_9); 116,057 (q, $J_{\text{CF}} = 36,2$ Hz, 1C, C_4); 122,449 (q, $J_{\text{CF}} = 271,7$ Hz, 1C, C_7); 129,072 (q, $J_{\text{CF}} = 3,5$ Hz, 2C, C_3 y C_5); 137,15 (s, 2C, C_2 y C_6); 141,50 (s, 1C, C_1). ^{19}F RMN (CDCl_3 , 376,49 MHz, ppm): -62,04 (s, 3F, F_7) (Simulado - 63,49³² y -63,60³³).

2-etil-7-nitro-5-trifluoro etil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**NOx**)

^1H RMN ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 400 MHz, ppm): 1,37 (t, 3H, $J_{\text{CH}} = 7,6$ Hz, H_{13}); 3,01 (q, 2H, $J_{\text{CH}} = 7,6$ Hz, H_9); 8,26-8,27 (m, 2H, H_4 y H_6); 12,61 (s, 1H, NH). ^{13}C RMN ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 100 MHz, ppm): 10,93 (s, 1C, C_{10}); 19,29 (s, 1C, C_9); 112,13 (q, 1C, $J_{\text{CF}} = 3,4$ Hz, C_4); 114,78 (q, 1C, $J_{\text{CF}} = 3,4$ Hz, C_6); 121,67 (q, 1C, $J_{\text{CF}} = 33,6$ Hz, C_5); 123,66 (q, 1C, $J_{\text{CF}} = 272,0$ Hz, C_8); 133,30 (s, 1C, C_{3a}); 135,10 (s, 1C, C_{7a}); 137,64 (s, 1C, C_7); 159,39 (s, 1C, C_2).

5.9.- Conclusión

Mediante las técnicas experimentales y estructurales presentadas en este capítulo fue posible poner en evidencia la formación de complejos de inclusión entre **TFA**, **NPTA** y **NOxB** y la β -CD en solución.

Trifluralina (**TFA**) y *N*-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilanilina (**NPTA**) forman complejos de inclusión 1:1 con β -CD en soluciones acuosas en 1% ACN. Las constantes de asociación calculadas por diagramas de solubilidad de fases y estudios de UV-visible (titulación espectrofotométrica) para **TFA** y **NPTA**, respectivamente, indican un complejamiento relativamente débil. Las constantes de asociación calculadas para los complejos de inclusión 1:1 para **TFA** y **NPTA** con β -ciclodextrina determinadas, fueron $\overline{K}_{asoc} = (25 \pm 7) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$ y $\overline{K}_{asoc} = (18 \pm 2) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$, respectivamente.

Se pudo determinar por el método de las Variaciones continuas que la estequiometría del complejo de inclusión es 1:1, para **NPTA** y **NOxB** con β -CD.

En el caso de 2-etil-7-nitro-5-trifluoro etil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**NOx**), no se pudo calcular la constante de asociación debido a los pequeños cambios de absorbancia observados en los espectros UV-visibles en presencia de β -CD.

Las técnicas de dicroísmo circular e infrarrojo, no fueron útiles para evidenciar la formación de complejo entre **TFA**, **NPTA** ó **NOxB** y β -CD en solución.

5.10.- Bibliografía

- (1) Szejtli, J. *Pure Appl. Chem.* **2004**, 76 (10), 1825.
- (2) Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, 98 (5), 1743.
- (3) Hirose, K. En *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*; Schalley, C., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007; pp 17–54.
- (4) Thordarson, P. *Supramol. Chem.* **2012**, 239.

- (5) Schneider, H. J.; Yatsimirsky, A. En *Principles and methods in Supramolecular Chemistry*; Schneider, H. J., Yatsimirsky, A., Eds.; John Wiley & Sons: Inglaterra, 2000.
- (6) Benesi, H. A.; Hildebrand, J. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71* (8), 2703.
- (7) Sarmiento Tagle, M. G.; Salum, M. L.; Buján, E. I.; Argüello, G. A. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, *4* (11), 869.
- (8) Grover, R.; Wolt, J. D.; Cessna, A. J.; Schiefer, H. B. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **1997**, *153*, 1.
- (9) Briggs, G. G. *J. Agric. Food Chem.* **1981**, *29* (5), 1050.
- (10) Patonay, G.; Rollie, M. E.; Warner, I. M. *Anal. Chem.* **1985**, *57* (2), 569.
- (11) Brewster, M. E.; Loftsson, T. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, *59*, 645.
- (12) Messner, M.; Kurkov, S. V.; Jansook, P.; Loftsson, T. *Int. J. Pharm.* **2010**, *387*, 199.
- (13) Higuchi, T.; Connors, K. A. *Adv. Anal. Chem. Instrum.* **1965**, *4*, 117.
- (14) Caira, M. R.; Bourne, S. A.; Samsodien, H.; Smith, V. J. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 2616.
- (15) Hirose, K. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *39*, 193.
- (16) Renny, J. S.; Tomasevich, L. L.; Tallmadge, E. H.; Collum, D. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52* (46), 2.
- (17) Likussar, W.; Boltz, D. F. *Anal. Chem.* **1971**, *43* (10), 1265.
- (18) Buján, E. I.; Salum, M. L. *Can. J. Chem.* **2004**, *82* (8), 1322.
- (19) Connors, K. A. En *Binding Constants: The measurement of molecular complex stability*; Connors, K. A., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Estados Unidos, 1987; pp 21–102.
- (20) Bender, M.; Komiyama, M. En *Cyclodextrin chemistry*; Hafner, K., Rees, C. W., Trost, B. M., Lehn, J., Schleyer, P. V. R., Zahradník, R.,

- Eds.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: New York, 1978; pp 1–27.
- (21) Megger, N.; Welte, L.; Zamora, F.; Müller, J. *Dalton Trans.* **2011**, 40 (8), 1802.
- (22) Martínez, R.; Zapata, F.; Caballero, A.; Espinosa, A.; Tárraga, A.; Molina, P. *Arch. Org. Chem.* **2009**, 2010 (3), 124.
- (23) Yáñez, C.; Cañete-Rosales, P.; Castillo, J. P.; Catalán, N.; Undabeytia, T.; Morillo, E. *PLoS One* **2012**, 7 (8), e41072.
- (24) Szczeciński, P.; Bartusik, D. *J. Chem. Res. (S)* **2002**, No. 5, 84.
- (25) Salum, M. L. N-oxidos de bencimidazol a partir de derivados de 2-nitroanilinas. Síntesis y mecanismos. Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Cordoba, 2005.
- (26) Urbanová, M.; Maloň, P. En *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*; Schalley, C. A., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007; pp 265–304.
- (27) Shimizu, H.; Kaito, A.; Hatano, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52 (9), 2678.
- (28) Mendicuti, F.; González-Álvarez, M. J. *J. Chem. Educ.* **2010**, 87 (9), 965.
- (29) Foss, J. G. *J. Chem. Educ.* **1963**, 40, 592.
- (30) Ladd, M. En *Symmetry of Crystals and Molecules*; Oxford University Press, Ed.; Oxford University Press: United Kingdom, 2014; pp 1–329.
- (31) Chemical Book. Trifluralin
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB2344612_EN.htm (acceso Nov 1, 2018).
- (32) ACD/ChemSketch. ACD /Labs 6.00 (build 6.09/30 Sep 2002). Toronto.
- (33) MestReNova v6.0.2-5475 © 2009 Mestrelab Research S.L. España.

Capítulo 6

INTERACCIÓN DE CICLODEXTRINAS EN ESTADO SÓLIDO CON DOS PESTICIDAS

6.1.- Introducción

La cristalografía, que puede ser llamada la ciencia de la estructura en el sentido más amplio, tiene sus orígenes en el campo de la mineralogía; al principio, implicó el reconocimiento, descripción y clasificación de sustancias cristalinas que ocurren naturalmente. Hoy, la cristalografía es una disciplina por derecho propio, de inmensa magnitud, y abarcando los estudios de las estructuras de los materiales que van desde aquellos de elementos simples a las proteínas, enzimas y agregados policristalinos de todos los tipos.¹ Se utilizan las propiedades y estructuras internas de los cristales para determinar la disposición de los átomos y generar conocimientos que son utilizados por químicos, físicos, biólogos y otros.²

Los cristalógrafos utilizan técnicas de rayos X, neutrones y difracción de electrones para identificar y caracterizar los materiales sólidos. Comúnmente aportan información de otras técnicas analíticas, incluyendo fluorescencia de rayos X, técnicas espectroscópicas, imágenes microscópicas y modelado y visualización por computadoras para construir modelos detallados de los arreglos atómicos en sólidos.²

La instrumentación de la cristalografía en polvo y el software de análisis de datos han surgido durante los últimos 30 años como métodos potentes para investigar las estructuras de materiales. La técnica de difracción de Rayos X en polvo (PXRD) es simple de utilizar porque las muestras deben ser un polvo, en cambio, la técnica de difracción de Rayos X de monocristales no siempre resulta factible porque se debe obtener monocristales del compuesto a analizar.² La técnica de difracción de Rayos X de monocristales es un método estructural que se utiliza para caracterizar sustancias tales como los complejos de inclusión en estado sólido.

Hay cuatro pasos importantes involucrados en un estudio de rayos X: cristalización, recolección de datos, solución de la estructura y refinamiento/validación. En las últimas tres décadas la tecnología ha producido

grandes avances en tres de las cuatro fases de un análisis de Cristalografía, mientras que en la última década hemos empezado a ver grandes avances en la cristalización.³

En este capítulo se presentan las estructuras de monocristales de trifluralina (**TFA**), *N*-*n*-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilanilina (**NPTA**) y 2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**NOx**) (Figura 6.1). En la base de datos de *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC) ya se encuentra descrita la estructura obtenida por Rayos X de clorpirifos-metil (**1**). Además, se muestra la preparación y caracterización de los complejos de inclusión de **TFA**, **NPTA**, **NOx** y clorpirifos-metil (**1**) con CDs nativas y derivatizadas así como también sus correspondientes análisis térmicos.

Los estudios en estado sólido se realizaron durante una estancia de tres meses (agosto-octubre de 2013) en *University of Cape Town* (Sudáfrica) en el marco del proyecto bilateral entre el NRF (Sudáfrica) y MINCYT (Argentina): *Aplicaciones de la Tecnología de Ciclodextrinas a Productos Farmacéuticos y Agroquímicos*.

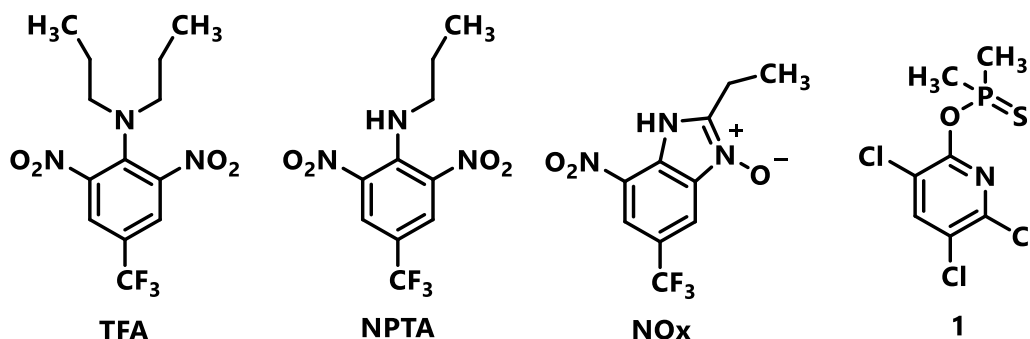


Figura 6.1: Estructuras químicas de **TFA**, **NPTA**, **NOx** y **1**.

6.1.1.- La celda unidad

Un cristal es un objeto sólido en el que un patrón básico de átomos se repite una y otra vez en las tres dimensiones. Para describir la estructura de un cristal, por lo tanto, sólo es necesario conocer el "motivo" de repetición más simple y las longitudes y direcciones de los tres vectores que en conjunto describen su repetición en el espacio.⁴ El motivo puede ser una molécula o un grupo de moléculas. Un

conjunto de cristales constituye una red cristalina, que se define como una matriz de cristales, donde cada uno de los cristales tiene un entorno idéntico,⁵ Figura 6.2.

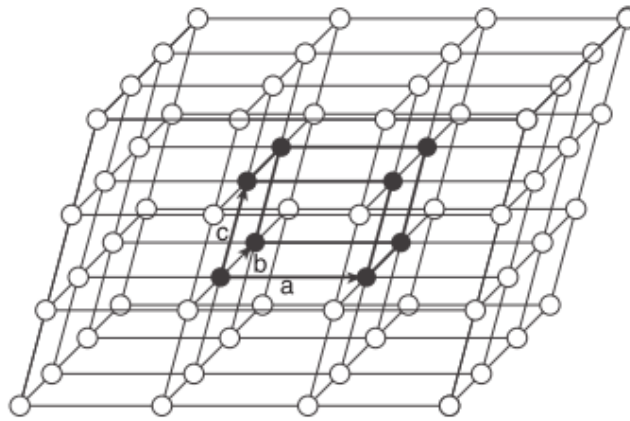


Figura 6.2: Vista en perspectiva de una red cristalina.

La celda unidad es el volumen cristalino más pequeño que contiene una colección de unidades asimétricas (moléculas) que están relacionadas por operaciones de simetría cristalográfica. El cristal está formado por una repetición traslacional de la celda unidad en tres dimensiones (Figura 6.2). Se encuentran siete sistemas cristalinos con complejidad cada vez mayor de la simetría interna^{1,4} (Figura 6.3).

Entender las reglas de simetría y asignarlas correctamente al cristal que se investiga es esencial para la determinación de la estructura.⁶ En la práctica se encuentra que sólo son necesarios 14 tipos diferentes de redes para clasificar todas las estructuras cristalinas; este conjunto de redes se denominan redes de Bravais.⁷

La unidad asimétrica, Z , es la parte de la celda unidad que cuando se trata con todas las operaciones de simetría en el grupo espacial dado, producirá el contenido entero de la celda unidad.^{1,8}

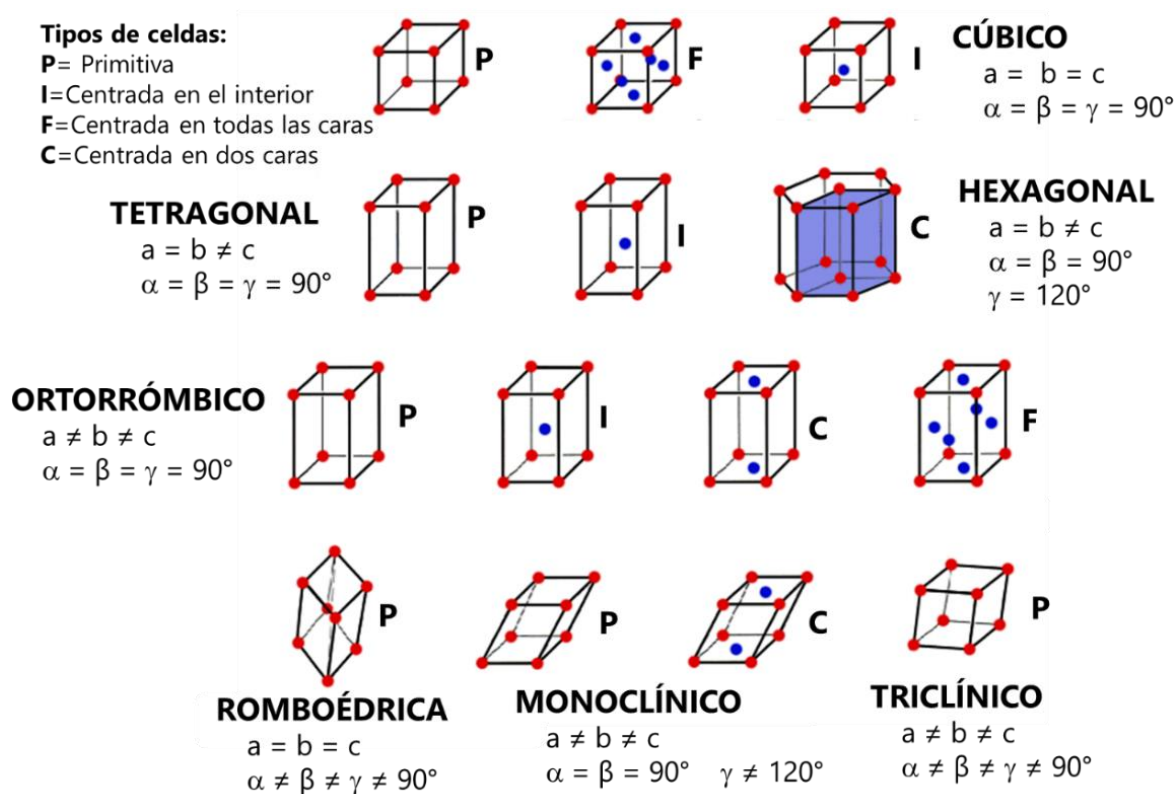


Figura 6.3: Los sistemas cristalinos.

6.1.2.- Empaquetamiento de las ciclodextrinas y sus complejos.

El empaquetamiento del cristal de complejos de CDs está generalmente regido por el arreglo de las moléculas de ciclodextrina porque ellas dominan el contacto intermolecular para formar la red del cristal. Los diseños de empaquetamiento se pueden clasificar en tres grandes grupos: caja, canal y capa, dependiendo de las orientaciones de las CDs y las conectividades de una cavidad con respecto a la otra.⁹

Los modos de empaquetamiento posibles se ilustran en la Figura 6.4. Para huéspedes con cadenas largas se observan las estructuras tipo canal las cuales están formadas por la alineación de las cavidades de CDs ya sea, cabeza-cabeza o cola-cola (o una combinación de ambos) formando columnas infinitas, Figura 6.4. (a) y (b). Odagaki *et al.*¹⁰ observaron el modo de empaquetamiento (a) para el complejo entre α -CD y ferroceno, y Kamitori *et al.*¹¹ observaron el modo de empaquetamiento cola-cola para el complejo entre γ -CD y $[\text{Na}([\text{12}] \text{corona-4})_2]^+$. Las estructuras tipo

caja se forman cuando la cavidad de la ciclodextrina está bloqueada en ambos bordes por moléculas de glucosa adyacentes, Figura 6.4. (c). Este tipo de empaquetamiento es posible si el huésped es más pequeño. Harata *et al.*¹² observaron este tipo de empaquetamiento entre la β -CD y alcohol bencílico. La estructura tipo capa se suele observar en huéspedes grandes los cuales no se pueden encapsular por completo en la molécula de CD, Figura 6.4. (d) y (e). Cabe mencionar que en complejos de diseños tipo caja o canal las ciclodextrinas pueden existir no sólo en forma monomérica sino también dimérica.¹³ Kamitori *et al.*¹⁴ observaron el modo de empaquetamiento (d) para el complejo entre α -CD y *p*-bromofenol y Aree *et al.*¹⁵ observaron el modo de empaquetamiento (e) para el complejo entre β -CD y etanol.

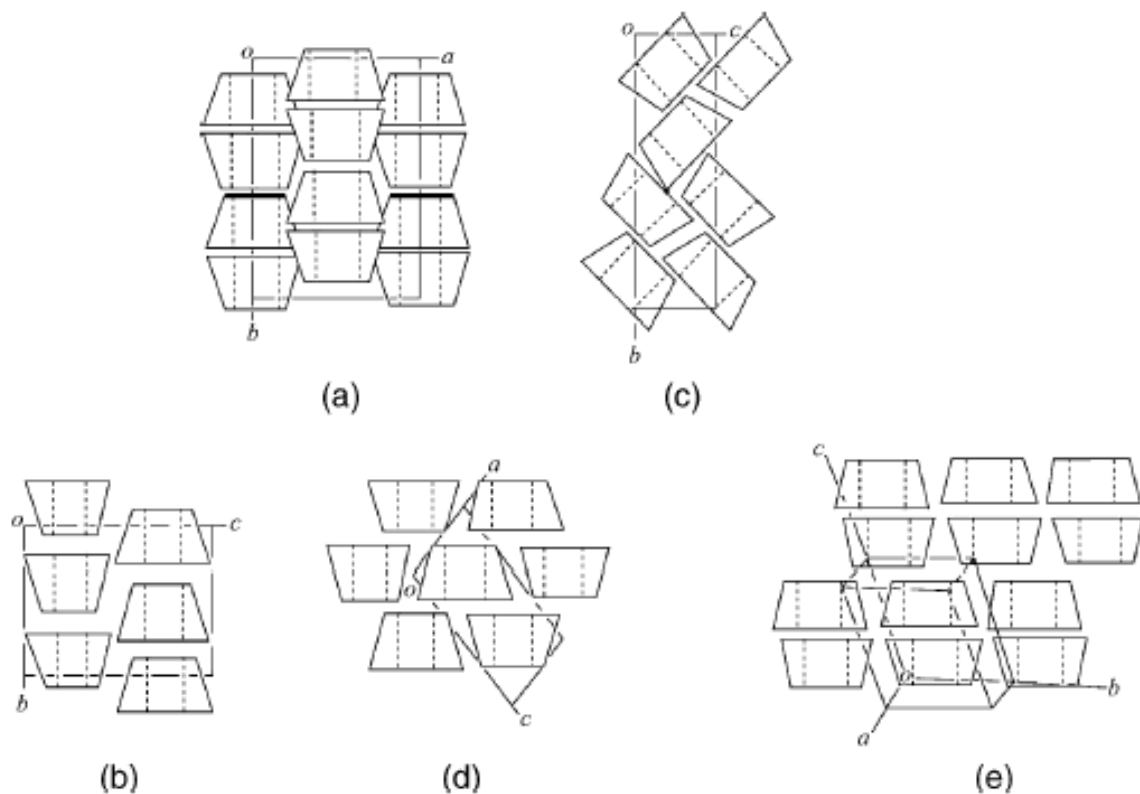


Figura 6.4: Representación esquemática de estructuras de empaquetamiento de las CDs. (a) tipo canal cabeza-cabeza; (b) tipo canal cabeza-cola; (c) tipo caja; (d) tipo capa; y (e) tipo capa compuesta por dímeros de β -CD.¹³

La molécula *huésped* incluida en la CD no está unida covalentemente a ella y tiene cierto grado de movimiento traslacional y rotacional. Para un mismo complejo de inclusión, el *huésped* puede estar desordenado, es decir, la molécula *huésped* puede tener distintas conformaciones dentro de la cavidad. El factor de ocupación de sitio, s.o.f. (*site-occupancy factor*)⁴ asigna un valor entre 0 y 1 para cada posición del *huésped* según la frecuencia de ocupación de cada conformación.

Los enlaces de hidrógeno, las interacciones de van der Waals y las interacciones electrostáticas, se han mencionado como principales interacciones atractivas que estabilizan la estructura de los complejos de ciclodextrinas en estado sólido.⁹

6.1.3.- Etapas en un estudio cristalográfico

A partir de alguna técnica de cristalización de complejos de inclusión de CD con un huésped determinado, pueden obtenerse cristales o polvo, ya sea del complejo o bien de cada componente por separado. En el caso de obtener cristales, se utiliza la difracción de rayos X de monocristal para analizar la celda unidad y así conocer si los cristales corresponden a un complejo de inclusión o no, Figura 6.5 (Reproducido de la tesis doctoral de la Dra. Natalia Rougier).¹⁶

El análisis de la celda unidad provee información de los lados a, b y c, y los ángulos α , β y γ . Estos parámetros de red son cotejados con los de una base de datos de los parámetros de red de cristales de la CD pura; si los obtenidos para el cristal no coinciden con ninguno de ellos implica que se ha obtenido un complejo. En ese caso se comienza con la adquisición de las intensidades de difracción de Rayos X del monocristal del complejo, Figura 6.5.

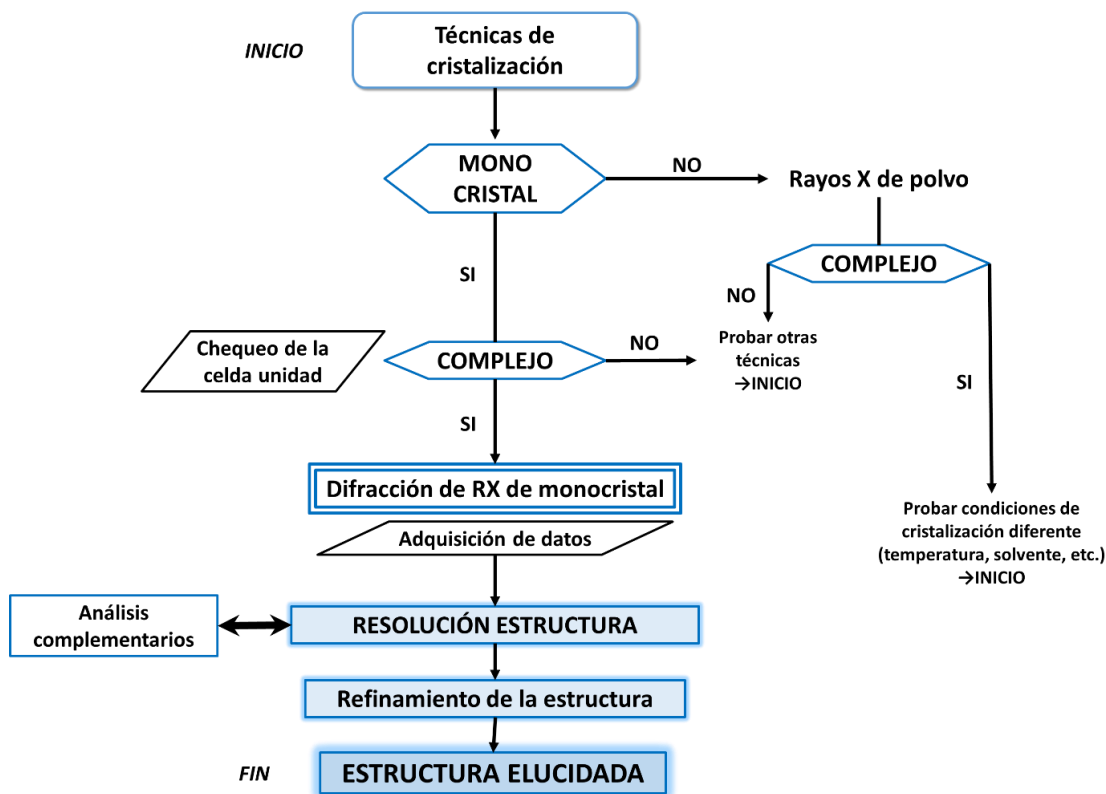


Figura 6.5: Flujograma de trabajo para obtener y elucidar la estructura del complejo de inclusión de un receptor y un huésped.¹⁶

Si no se forma un cristal y se obtiene un polvo, se debe adquirir el patrón de difracción de rayos X del polvo (PXR) para determinar por comparación con perfiles conocidos de PXR si el polvo pertenece a un complejo de inclusión o no. Si fuera un complejo, se deben probar otras técnicas de cristalización a los fines de obtener un sólido cristalino.¹⁶

Para resolver la estructura del cristal de manera exitosa es necesario conocer otros datos del complejo como la estequiometría, la presencia de moléculas de agua y toda aquella información adicional sobre sus características. Para ello se cuenta con análisis complementarios, entre los cuales podemos mencionar los análisis térmicos, la RMN, el análisis elemental y la espectroscopia UV-Vis.¹⁶

En base a la información obtenida del análisis de la celda unidad y los análisis complementarios (Figura 6.5) se propone una estructura del cristal. Para establecer

si es correcta la estructura propuesta en función de las intensidades colectadas (adquiridas/medidas), se introduce la estructura propuesta y los datos adquiridos de difracción a un programa de computación. Si fuera la estructura correcta, lo siguiente sería refinar la estructura del cristal. Para refinar la estructura, se varían sistemáticamente los parámetros atómicos para dar la mejor correlación entre las amplitudes observadas de los factores estructurales con aquellos calculados para la estructura propuesta. Generalmente, se realizan ciclos sucesivos de refinamiento hasta llegar a converger a un estado en el cual los cambios en los parámetros interatómicos de un ciclo a otro son despreciables.¹⁶

6.1.4.- Análisis térmicos

Un compuesto puede estar como material puro, en solución o como complejo de inclusión y la estabilidad térmica de éste puede cambiar según su estado. En general, cuando las moléculas están incluidas en la cavidad de la ciclodextrina, su punto de fusión es desplazado a una temperatura diferente o no se observa.¹⁷

Las técnicas que a continuación se describen, miden un cambio en las propiedades físicas de una muestra en función del tiempo o la temperatura.

El análisis termogravimétrico (TGA, *Thermogravimetric analysis*) registra los cambios de masa de una muestra de material en función de la temperatura. La pérdida de masa que ocurre como resultado de la deshidratación, la pérdida de disolvente y la pérdida del huésped o descomposición puede ser medida y está determinada por una balanza térmica. A partir de esta pérdida es posible calcular la cantidad de disolvente o moléculas huésped por molécula de receptor.¹⁸

Los experimentos de calorimetría diferencial de barrido (DSC, *Differential scanning calorimetry*) se utilizan para medir la diferencia de entalpía entre la muestra y una muestra de referencia en función de la temperatura. Las temperaturas de inicio, el intervalo de temperatura y el cambio de entalpía para diversos eventos térmicos se pueden determinar a partir de los picos endotérmicos y exotérmicos.^{18,19}

La Microscopía de platina caliente (HSM, *Hot stage microscopy*) se utiliza para observar los cambios físicos en la muestra, que frecuentemente están relacionados con los eventos térmicos medidos por TGA y DSC. HSM permite la observación visual de la morfología, cambios de color, transiciones de fase, fenómenos de recristalización, fusión, burbujas debido a la pérdida de disolvente o agua y descomposición, junto con las temperaturas registradas de estos eventos, durante el calentamiento programado de los cristales.²⁰ Las principales ventajas de HSM son la pequeña cantidad de muestra requerida y la rapidez de la medida.²⁰

6.2.- Objetivos

- Obtener, elucidar y caracterizar los monocristales de **TFA**, **NPTA** y **NOx** los cuales no se encuentran descritos en el *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC).
- Obtener complejos sólidos de **TFA**, **NPTA**, **NOx** y **1** con ciclodextrinas nativas y modificadas.
- Caracterizar la estructura de los complejos de inclusión en estado sólido.

6.3.- Resultados y Discusión

6.3.1.- Rayos X de monocristales

Puesto que las estructuras cristalinas de los compuestos **TFA**, **NPTA** y **NOx** no fueron reportadas previamente, era de interés determinarlas usando difracción de rayos X de monocristal. Los detalles experimentales de la recristalización para los monocristales se encuentran en la sección experimental (Sección 6.4). Sin embargo, cabe destacar que en todos los intentos por recristalizar **NOx** con distintos solventes (etanol 99 %, metanol y éter etílico), siempre se obtuvo el tautómero *N*-hidroxi de **NOx**, designado **NOxA** (Figura 6.6). Se determinó por completo la estructura del monocristal por rayos X de **NOxA**. El tautómero **NOx** en solución fue investigado en detalle, como se describe en el Capítulo 5, Sección 5.5.

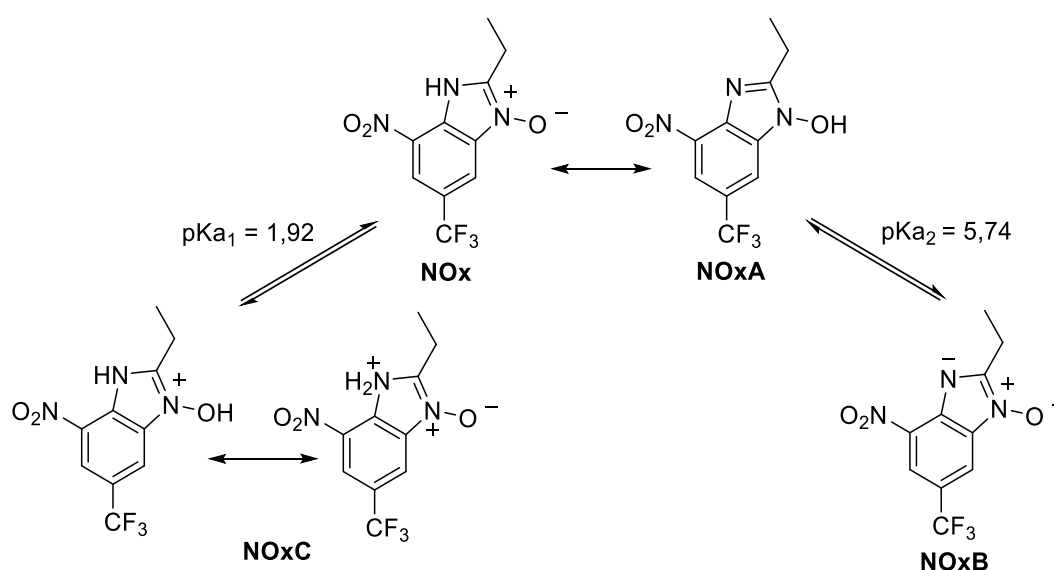


Figura 6.6: Equilibrio ácido-base de **NOx**.

Los datos relevantes obtenidos por el análisis de rayos X de los cristales de **TFA**, **NPTA** y **NOxA** se muestran en la Tabla 6.1. Estos datos fueron depositados en CCDC bajo los nombres que se informan en la Tabla 6.1. Cabe mencionar que, a pesar de la sencillez de estas moléculas, el refinamiento de sus estructuras cristalinas por cuadrados mínimos presentó inmensos desafíos.

CAPÍTULO 6: INTERACCIÓN DE CICLODEXTRINAS EN ESTADO SÓLIDO CON DOS PESTICIDAS

Tabla 6.1: Datos cristalinos, parámetros de recopilación de datos y detalles de refinamiento obtenidos para cada compuesto.

N° de compuesto	TFA	NPTA	NOxA
Fórmula	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	C ₁₀ H ₁₀ F ₃ N ₃ O ₄	C ₁₀ H ₈ F ₃ N ₃ O ₃
Peso Fórmula / g mol⁻¹	335,29	293,21	275,19
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	<i>P2/c</i>	<i>P2₁/c</i>	<i>P2₁/n</i>
a / Å	11,5227(13)	12,1945(11)	4,8943(17)
b / Å	11,7789(14)	5,7612(5)	21,905(8)
c / Å	34,293(4)	21,6320(15)	10,567(4)
α / °	90,0	90,0	90,0
β / °	93,560(2)	123,316(4)	99,944(8)
γ / °	90,0	90,0	90,0
V / Å³	4645,4(9)	1270,0(2)	1115,8(7)
Z	12	4	4
D_c / Mg m⁻³	1,438	1,534	1,638
μ (MoKα) / mm⁻¹	0,130	0,146	0,154
F (000)	2088	600	560
Temperatura de colección de datos/ K	100(2)	173(2)	173(2)
Tamaño del cristal / mm	0,10 × 0,20 × 0,38	0,13 × 0,23 × 0,44	0,03 × 0,19 × 0,40
Rango escaneado θ / °	2,38 – 28,40	2,25 – 28,32	2,17 – 27,16
Rango de índice ±h, ±k, ±l	-15:10; -12:15; -31:45	-16:16; -7:7; -28:25	-6:6; -28:28; -13:13
Reflexiones (total)	26084	11365	7827
Reflexiones Independientes	11616	3138	2414
Reflexiones con I > 2σ(I)	7666	2175	1531
Completeness (%)	99,6	99,1	97,4
N° de parámetros	678	231	188
Goodness-of-fit, S	1,042	1,074	1,036
R₁ [I > 2σ(I)]	0,0561	0,0792	0,0634
wR on F²	0,1265	0,2114	0,1458
Weighting scheme a, b in w = 1/[σ²(F_o²) + (aP)² + (bP)]	0,0577; 1,8981	0,1075; 1,3095	0,0755; 0,8332
(Δ/σ)_{mean}	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Δρ excursions / e Å⁻³	-0,68 and 0,59	-0,65 and 0,71	-0,48 and 0,32
N° de deposición CCDC	CCDC 1581139	CCDC 1581140	CCDC 1581150

Los átomos de F de los grupos trifluorometilo presentaron varios grados de desorden, es decir, múltiples posiciones de los átomos de F en la estructura final. Las moléculas de los cristales de **TFA**, **NPTA** y **NOx** con los átomos dibujados como elipsoides térmicos aparecen en la Figura 6.7 y se puede observar las múltiples posiciones del grupo $-CF_3$, producto del desorden.

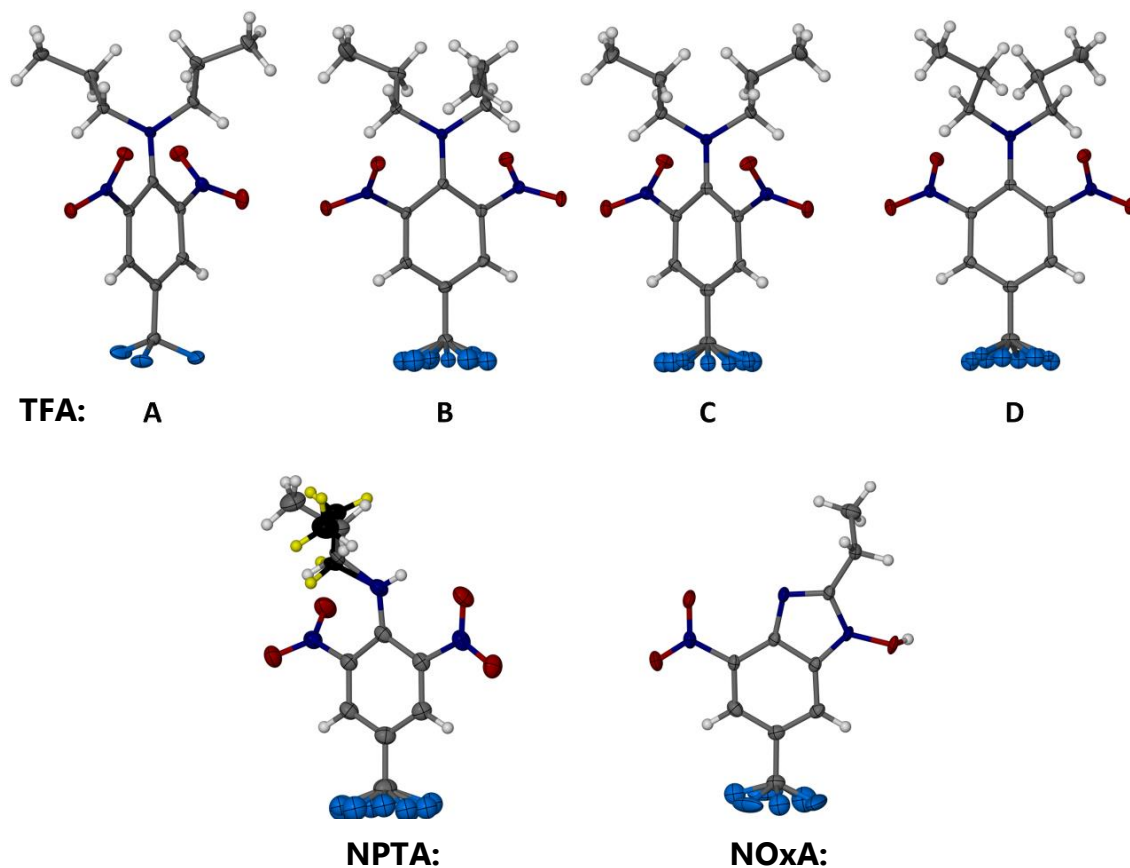


Figura 6.7: Gráficos de elipsoides térmicos dibujados al nivel de probabilidad del 40% para las moléculas independientes en los cristales de **TFA**, **NPTA** y **NOxA**. Los componentes del desorden del flúor fueron refinados isotrópicamente en **TFA** y **NPTA**, mientras que en **NOxA** los componentes principales (s.o.f. = 0,87) fueron refinados anisotrópicamente y los componentes minoritarios isotrópicamente. El componente menor del desorden de la cadena de etilo en **NPTA** (ocupación 0.37 (1)) es de color negro (C), H (amarillo).

A continuación, se muestran las moléculas extraídas por separado de **TFA**, **NPTA** y **NOxA** obtenidas mediante el Programa POV-Ray y no en las posiciones relativas como se encuentran en la celda unidad. No se muestra una figura de la celda unidad

porque las moléculas en sus posiciones relativas en la celda unidad tienen una excesiva superposición molecular y no hace posible ver claramente cada molécula.

TFA cristaliza en el grupo espacial $P2/c$ (N° 13). La solución de la estructura de **TFA** reveló que la celda unidad contiene un total de 12 moléculas. La unidad asimétrica, que es el mínimo contenido entero de la celda unidad, está compuesta por un total de 3 moléculas; de las cuales, una molécula A y otra B (Figura 6.8) están ocupando posiciones generales y se observan las contribuciones de la mitad de una molécula de cada una de las dos moléculas C y D localizadas en distintas posiciones cristalográficas de *Wyckoff* $2f$ y $2e$ respectivamente.

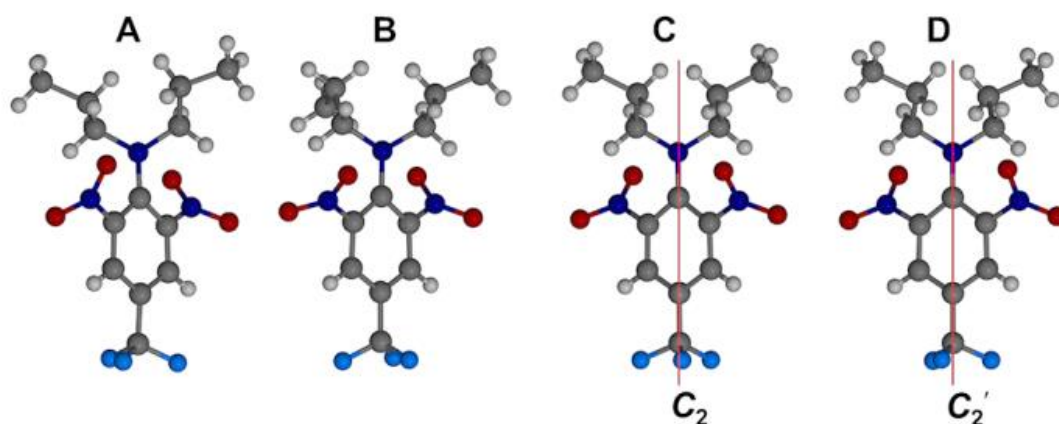


Figura 6.8: Las cuatro moléculas distintas A-D de **TFA** dibujadas en orientaciones similares para la comparación de sus conformaciones. Los átomos de flúor en las moléculas B, C y D se desordenan, pero para mayor claridad se representa un solo rotámero de cada uno de los grupos $-CF_3$.

Mientras que las moléculas C y D tienen en cristalografía simetría *two-fold* (una rotación de 180 grados), la molécula A sólo tiene una simetría aproximada *two-fold* y la molécula B carece de tal simetría debido a la relación espacial arbitraria entre las dos cadenas de propilo. Se observó desorden en los grupos $-CF_3$ en cada una de las moléculas B, C y D (Figura 6.7); para modelar esos grupos se utilizaron varios componentes del desorden del átomo de flúor que tenían factores asignados de la ocupación del sitio (s.o.f.s) de 0,25 cada uno. La presencia de sólo cinco enlaces intermoleculares C-H...O puente hidrógeno (C...O rango 3,303(3)-3,381(3) Å) y la

ausencia de π -stacking debido a los efectos estéricos de los grupos voluminosos de propilo en el cristal de **TFA** explica su punto de fusión bajo de 48,0-49,5 °C.

La estructura molecular del compuesto **NPTA** se muestra en la Figura 6.9. La cadena de propilo está desordenada sobre dos orientaciones, mostrándose en la figura sólo el componente principal [refinado s.o.f.=0,63 (1)] para una mayor claridad. Los átomos desordenados de F fueron modelados con varios componentes, cada uno con s.o.f. 0,30. Un puente hidrógeno intermolecular N-H...O (N...O 2,639(3) Å), estabiliza parcialmente la conformación. Como en el caso del compuesto **TFA**, la falta de fuertes interacciones moleculares (por ejemplo, puentes hidrógenos clásicos, π -stacking) en el cristal de **NPTA** resulta en un punto de fusión relativamente bajo (p.f. 62,5 - 63,0 °C).

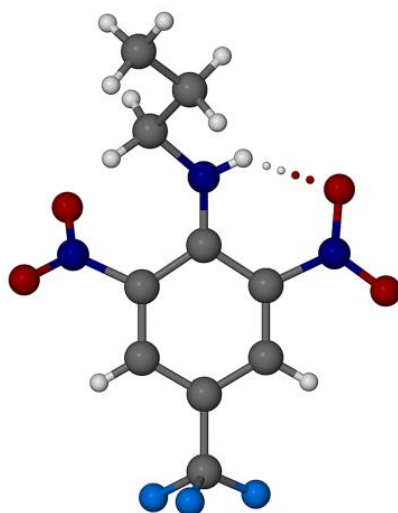


Figura 6.9: Estructura y conformación de **NPTA** en estado sólido. Para mayor claridad, sólo se muestran el principal componente del desorden de la cadena propílica y un rotámero representativo del grupo desordenado trifluorometilo.

A pesar de los esfuerzos exhaustivos para cristalizar el *N*-óxido **NOx** (Figura 6.6), el único producto obtenido fue el tautómero *N*-hidroxi **NOxA**, cuya estructura de rayos X fue determinada por completo (Figura 6.10). Se encontró que el grupo -CF₃ está desordenado sobre más de dos posiciones, el componente principal tiene un s.o.f. refinado de 0,88 (1).

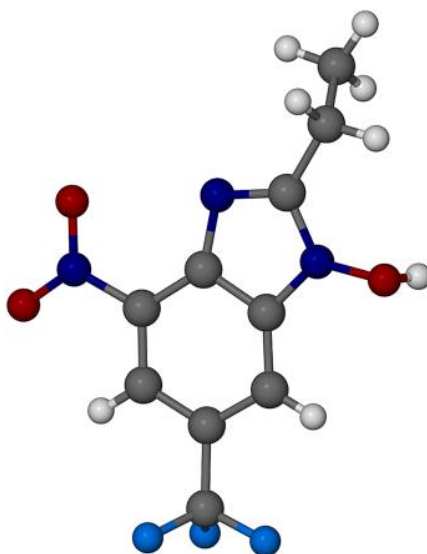


Figura 6.10: Estructura y conformación de **NOxA**. Para mayor claridad, se muestra el principal componente del desorden del grupo $-CF_3$.

Las moléculas de **NOxA** se asocian a través de un enlace puente de hidrógeno clásico cabeza-cola para formar un patrón infinito; un segmento del mismo se muestra en la Figura 6.11. El grupo hidroxilo es un donante en el puente de hidrógeno intermolecular bifurcado que comprende un muy fuerte enlace $O-H\cdots N$ (bencimidazol) ($O\cdots N$ 2,625(3) Å) y un enlace $O-H\cdots O$ (nitro) ($O\cdots O$ 3,115(3) Å). La presencia de estas fuertes interacciones intermoleculares contribuye a una mayor estabilidad térmica de **NOxA** comparado con los cristales de **TFA** y **NPTA**; este comportamiento se refleja en el TGA, donde se observa el comienzo de la descomposición de **TFA**, **NPTA** y **NOxA** a 105 °C, 110 °C y 140 °C, respectivamente.

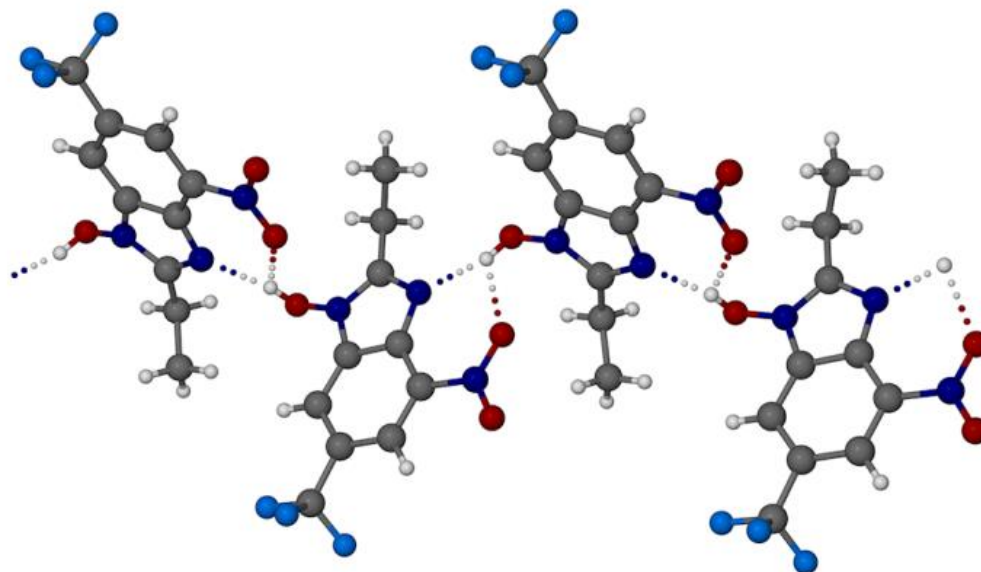


Figura 6.11: Segmento del patrón de puente de hidrógeno en el cristal de **NOxA**.

6.3.2.- Presencia de tautomería en NOx

El monocristal elucidado corresponde a la estructura de **NOxA**, la cual no había sido identificada anteriormente. En la Figura 6.6 se pueden observar ambos tautómeros (**NOx** y **NOxA**). Para corroborar ambas estructuras se utilizaron las siguientes técnicas: FT-IR del monocristal y RMN en solución.

FT-IR del monocristal

Para confirmar la presencia del tautómero **NOxA** en estado sólido, se analizó el espectro infrarrojo registrado en un microscopio FT-IR (Figura 6.12). Las bandas a 3101 y 2993 cm^{-1} pertenecen a las vibraciones $\nu(\text{C-H})$. La banda ancha entre 2742 y 2492 cm^{-1} se atribuye a la interacción de enlace de hidrógeno $\nu(\text{O-H}\cdots\text{N})$ como argumentó Boiani *et al.*²¹ Esta banda, podría estar solapada con la banda de la interacción de puente hidrógeno $\nu(\text{O-H}\cdots\text{O})$ porque se ha desplazado hacia frecuencias más bajas, precisamente por la interacción $\text{H}\cdots\text{N}$, ya que el átomo de H está interactuando simultáneamente con los dos átomos de O y N; esto se confirma con lo observado por difracción de rayos X (Figura 6.11). Las dos bandas fuertes a 2360 y 1732 cm^{-1} son atribuidas a la vibración $\nu(\text{C=O})$ del dióxido de carbono del

ambiente. Las dos bandas a 1535 y 1319 cm^{-1} son asignadas al estiramiento $\nu(\text{N-O})$ del grupo nitro y las dos bandas a 1065 y 768 cm^{-1} son asignadas a los estiramientos $\nu(\text{C-F})$ de los grupos CF_3 .²² La ausencia de una banda a $3500\text{-}3400$ cm^{-1} , correspondiente al estiramiento $\nu(\text{N-H})$ ^{22,23} confirmó la presencia de tautómero **NOxA** en el estado sólido. El tautómero *N*-hidroxi de otros derivados de *N*-óxido de bencimidazol,²¹ y derivados de 1-hidroxi imidazol,²⁴ también fueron observados por análisis de difracción de rayos X y espectroscopía FT-IR.

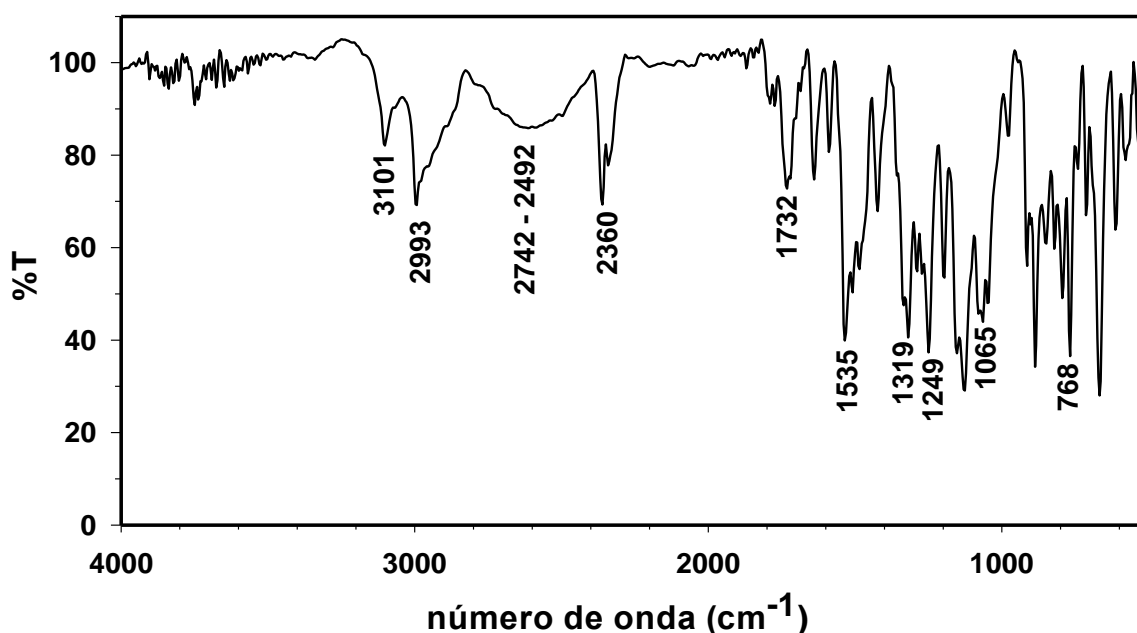


Figura 6.12: Espectro de FT-IR de **NOxA**.

RMN en solución

El tautomerismo de los *N*-óxidos de bencimidazol y compuestos relacionados en solución se puede estudiar por técnicas espectroscópicas.^{21,24} La posición del equilibrio tautomérico depende del solvente. Por ejemplo, para bencimidazol-3-óxido se observó que, en agua el tautómero *N*-óxido predomina, mientras que en solventes no polares (ACN, dioxano, y cloroformo) el tautómero *N*-hidroxi predomina. La proporción del tautómero *N*-hidroxi aumenta a medida que la polaridad o la fuerza del enlace de hidrógeno del solvente disminuye.²⁵ Para el caso

de etil-5-nitrobencimidazol-2-carboxilato 3-oxido, el tautómero *N*-hidroxi fue observado en soluciones de dimetilsulfóxido deuterado ((CD₃)₂SO, DMSO) y de acetona mientras que el tautómero del *N*-oxido fue encontrado en solución de cloroformo.²¹ Se propuso que los solventes aceptores de puentes hidrógeno (HBA) estabilizan el tautómero *N*-hidroxi, mientras que los solventes donores de puente hidrógeno (HBD), estabilizan el tautómero *N*-oxido; en solventes que podrían actuar de ambas formas, la estabilización depende de las propiedades ácido-base del solvente. En solventes tales como cloroformo el tautómero predominante depende de interacciones intramoleculares.²¹

En esta tesis, solamente pudo obtenerse el espectro de RMN en DMSO porque **NOx** es insoluble en cloroformo y otros solventes. El espectro de ¹H RMN de **NOx** en (CD₃)₂SO, que se muestra en la Figura 6.13, indica que sólo hay un tautómero presente. Considerando la presencia de un singlete a δ 12,61 ppm que corresponde a un protón, asignado como la señal de un protón de NH, suponemos que el tautómero *N*-oxido **NOx** está presente en la solución. Los espectros de ¹H y ¹³C RMN (Capítulo 5, Sección 5.7) son similares a los obtenidos en el mismo solvente para otros *N*-óxidos de bencimidazol relacionados, previamente estudiados.^{26,27}

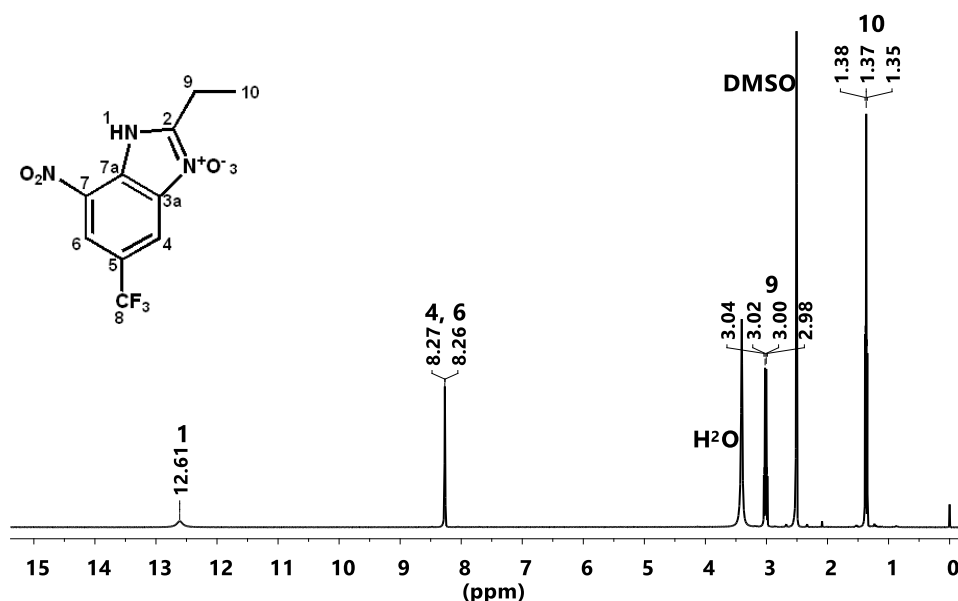


Figura 6.13: Espectro de ¹H RMN de **NOx** en (CD₃)₂SO.

6.3.3.- Resultados de los análisis térmicos

Se realizaron análisis por TGA, DSC y HSM de los monocristales de los compuestos **TFA**, **NPTA**, **NOx** y **1**.

Análisis térmico de TFA

En la Figura 6.14, se muestra el TGA y DSC de **TFA** con las fotografías HSM registradas a las temperaturas de 32 (a), 50 (b), 100 (c) y 145 °C (d). El DSC muestra un proceso endotérmico a 49,3 °C, que se atribuye al punto de fusión de **TFA**; mientras que el comienzo de la descomposición se puede ver a 105 °C en el TGA por la gran pérdida de masa (70%) hasta 180 °C. La técnica de HSM se utilizó para observar los cambios físicos de los cristales de manera cualitativa, dónde, en la fotografía **a** se observan los cristales de **TFA**, en **b** se observa la fusión de los cristales que concuerda con lo observado por DSC, en **c** **TFA** está fundida y en **d** no se observa ya **TFA** que se corresponde con la pérdida de masa observada por TGA.

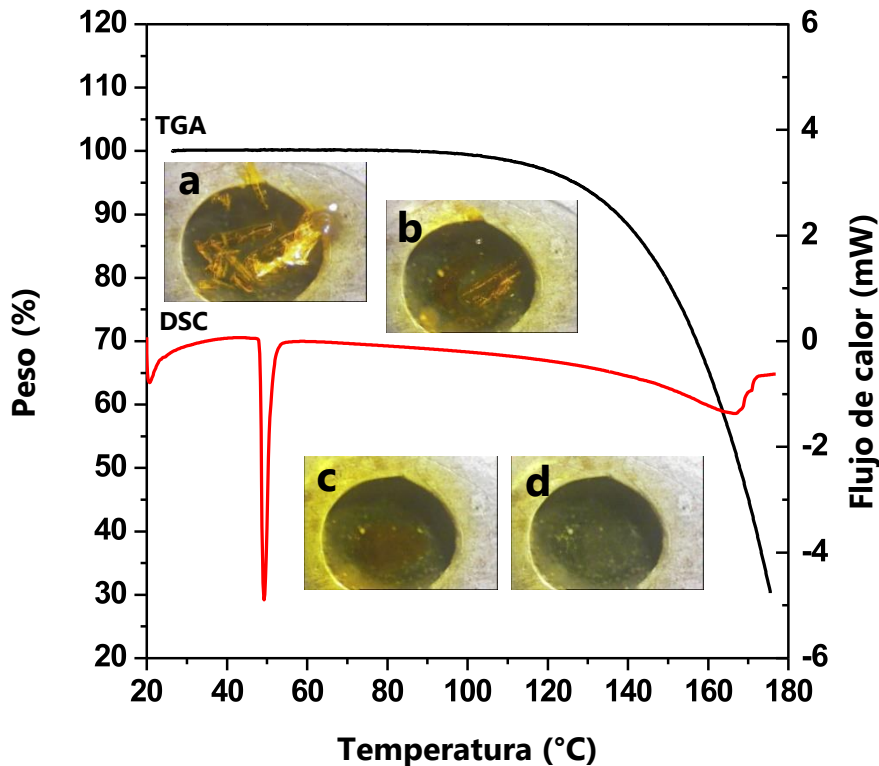


Figura 6.14: TGA (negro) y DSC (rojo) de trifluralina. Microscopía de platina caliente registradas a a) 32 °C, b) 50 °C, c) 100 °C y d) 145 °C.

Análisis Térmico de NPTA

En la Figura 6.15, se muestra el TGA y DSC de **NPTA** con las fotografías HSM registradas a las temperaturas de 27 (a), 62 (b), 127 (c) y 170 °C (d). El DSC muestra un proceso endotérmico a 62,9 °C, que coincide con el punto de fusión.²³ El TGA muestra el inicio del proceso de descomposición a 110 °C y se observa que finaliza a 190 °C aproximadamente, con una pérdida total de masa. La técnica de HSM se utilizó para observar los cambios físicos de los cristales de manera cualitativa, dónde, en la fotografía **a** se observan los cristales de **NPTA**, en **b** se observa la fusión de los cristales que concuerda con lo observado por DSC, en **c** **NPTA** está fundida y en **d** no se observa ya **NPTA**. Las fotografías a las dos últimas temperaturas, se tomaron durante el proceso de descomposición observado por TGA.

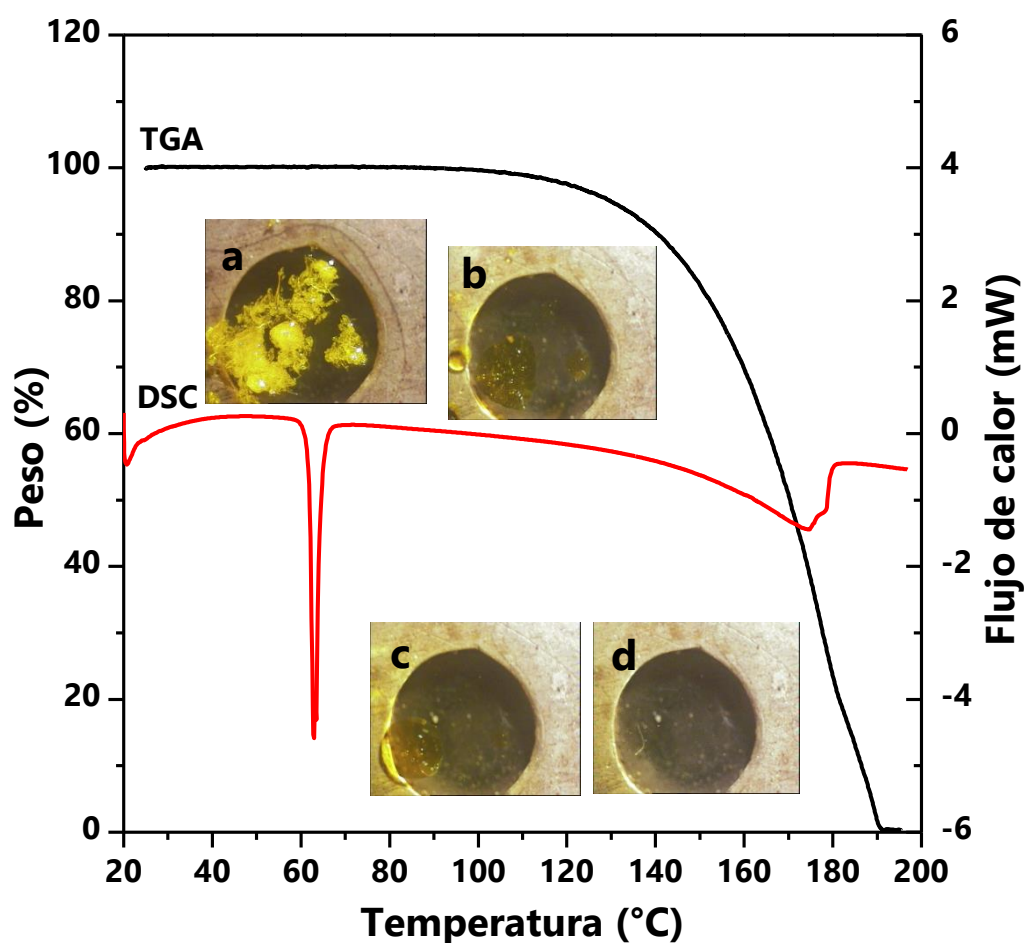


Figura 6.15: Trazas de TGA (negro) y DSC (rojo) de **NPTA**. Microscopía de platina caliente registradas en: a) 27 °C, b) 62 °C, c) 127 °C y d) 170 °C.

Análisis Térmico de NO_x

En la Figura 6.16, se muestra el TGA y DSC de **NO_x** con las fotografías HSM registradas a las temperaturas de 28 (a), 240 (b), 244 (c) y 248 °C (d). El DSC muestra un proceso exotérmico a 223,7 °C, que se atribuye a la descomposición.²³ El TGA muestra dos pérdidas de masa de 6,41% (e) y 80,3% (f) a 105 °C y a 140 °C, respectivamente; la primera indica una descomposición parcial y la segunda corresponde a la descomposición final. La técnica de HSM se utilizó para observar los cambios físicos de los cristales de manera cualitativa, dónde, en la fotografía a se observan los cristales de **NO_x**, en b, c y d se observan burbujas y cambio de color, posiblemente correspondiente a la descomposición de **NO_x** observado por TGA.

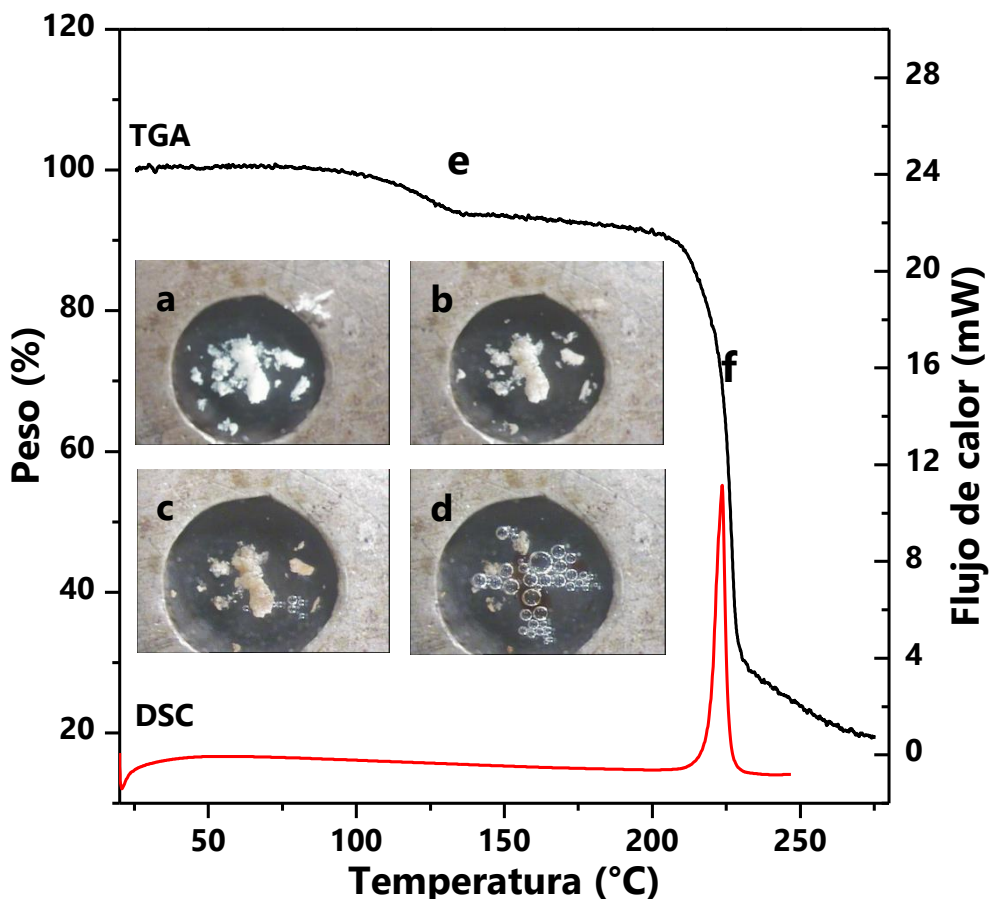


Figura 6.16: TGA (negra) and DSC (roja) para **NO_x**. Microscopía de platina caliente registrada en: a) 28°C, b) 240°C, c) 244°C y d) 248°C.

Análisis Térmico de clorpirifos-metil (1)

En la Figura 6.17, se muestra el TGA y DSC de **1** con las fotografías HSM registradas a las temperaturas de 20 (a), 46 (b), 56 (c) y 100 °C (d). El DSC muestra un proceso endotérmico a 46,2 °C, que coincide con el punto de fusión de **1**. El TGA muestra el proceso de descomposición que comienza a 105 °C y finaliza a 250 °C con la pérdida total de la masa. La técnica de HSM se utilizó para observar los cambios físicos de los cristales de manera cualitativa, dónde, en la fotografía **a** se observan los cristales de **1**, en **b** se observa la fusión de los cristales que concuerda con lo observado por DSC, en **c** y **d** **1** está fundido de acuerdo a lo observado por DSC.

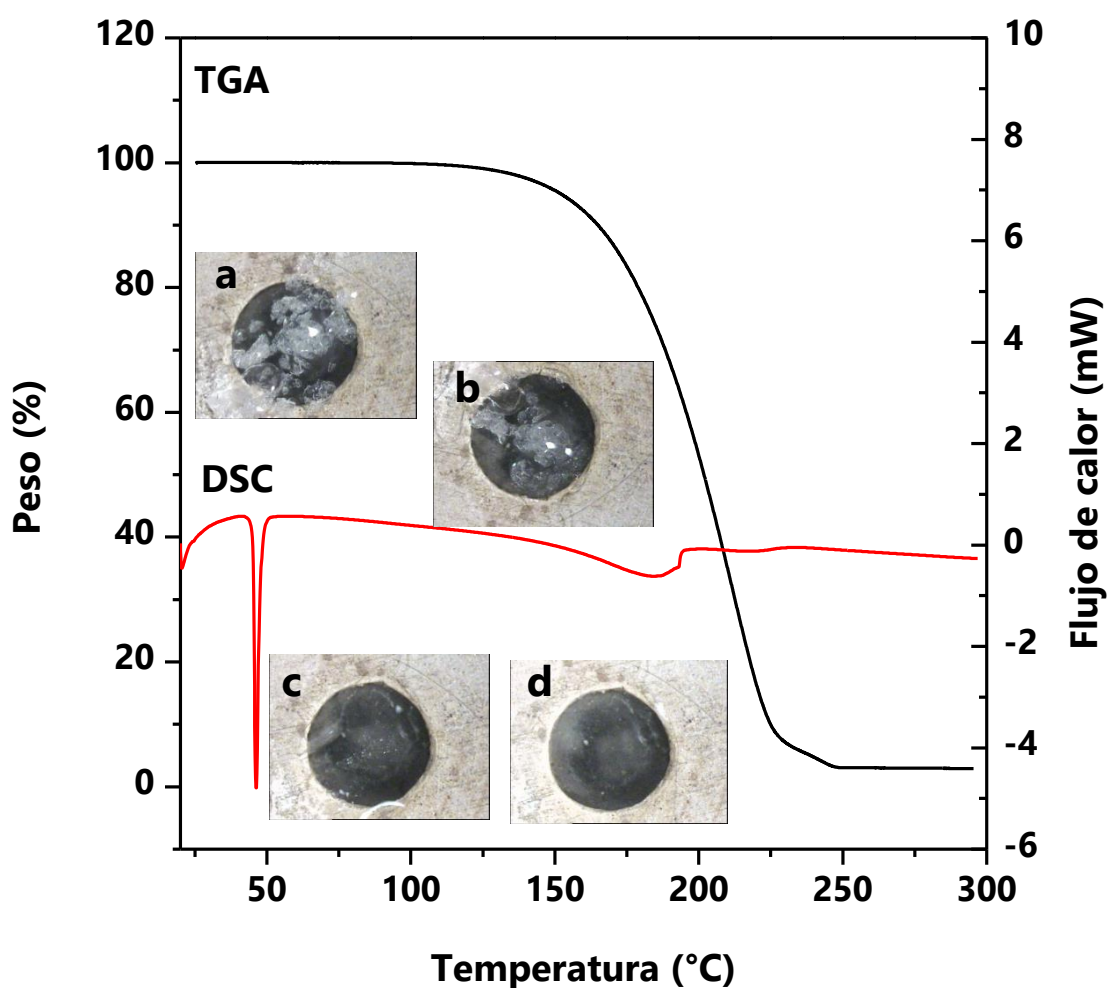


Figura 6.17: Trazas de TGA (negro) y DSC (rojo) de **1**. Microscopía de platina caliente registradas en: a) 20 °C, b) 46 °C, c) 56 °C y d) 100 °C.

6.3.4.-Preparación de complejos de TFA, NPTA, NO_x y **1** con ciclodextrinas

Para evaluar la tendencia de los compuestos **TFA**, **NPTA**, **NO_x** y **1** a formar complejos de inclusión en estado sólido con ciclodextrinas (CDs), se realizaron ensayos extensivos utilizando los métodos de mortereado y co-precipitación con CDs nativas y CDs derivatizadas (metilada y acetilada). Los productos se analizaron utilizando difracción de rayos X de polvo (PXRD), difracción de rayos X de monocristal y análisis térmico [análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y Microscopía de platina caliente (HSM)]. En todos los casos, se empleó una relación molar *huésped-receptor* 1:1 para la preparación de los complejos. Los experimentos que implicaban a los *huéspedes* (**TFA**, **NPTA**, **NO_x** y **1**) con α -, β -y γ -CD se basaron inicialmente en morterear los reactivos por 15 min usando solamente agua como fase líquida. El análisis por PXRD de los productos reveló la presencia sólo de mezclas físicas, por lo que el mortereo se repitió, esta vez usando una solución de agua-etanol (85:15 v/v) como medio líquido. Sin embargo, esta variación no dio lugar a la formación de complejos de inclusión, Tabla 6.2.

Cuando se utilizaron métodos de co-precipitación que implicaron la adición de los compuestos **TFA**, **NPTA**, **NO_x** y **1** a soluciones de CDs, tanto en agua pura como en una solución de etanol-agua y agitando por 6 ó 24 h, sólo se pudo producir un complejo de inclusión entre **1** y γ -CD, Tabla 6.2. Los resultados de los intentos de formar complejos de inclusión se confirmaron utilizando los métodos de caracterización mencionados anteriormente, siendo el más definitivo el análisis de rayos X de monocristales, que generalmente indicó que los productos observados mostraron dimensiones de la celda unidad de las ciclodextrinas solas o complejadas con agua o etanol. Se observó que los compuestos **TFA**, **NPTA**, **NO_x** y **1** eran solubles en las soluciones de CD.

Los experimentos de co-precipitación usando agua o etanol-agua realizados para intentar la formación de complejos entre las CDs derivatizadas (TRIMEA, DIMEB, TRIMEB, AcBCD, AcGCD y TRIMEG) y los *huéspedes* (**TFA**, **NPTA**, **NOx** y **1**), dio lugar a la precipitación de los compuestos cristalinos de los *receptores*, sin evidencia de complejos de inclusión, Tabla 6.2. Las razones de la aparente falta de afinidad de estos compuestos con las CDs para formar complejos de inclusión en estado sólido no están claras. Sin embargo, en esta tesis (Capítulo 5), fue posible determinar en solución las constantes de asociación para el complejo entre β -CD y **TFA** y **NPTA**; los valores obtenidos son moderados, lo que indica un complejamiento relativamente débil.

Tabla 6.2: Compuestos y CDs utilizadas para la formación de complejos.

Comp. CD	TFA	NPTA	NOx	1
α -CD	x	x	x	x
β -CD	x	x	x	x
γ -CD	x	x	x	✓
TRIMEA	x	x	x	x
TRIMEB	x	x	x	x
DIMEB	x	x	x	x
AcBCD	x	x	x	x
AcGCD	x	x	x	x
TRIMEG	x	x	x	x

x = No se forma complejo, ✓ = Se forma complejo. TRIMEA (hexakis-(2,3,6-tri-O-metil- α -CD)), DIMEB (heptakis-(2,6-di-O-metil- β -CD)), TRIMEB (heptakis-(2,3,6-tri-O-metil- β -CD)), AcBCD (heptakis-(2,3,6-tri-O-acetil)- β -CD)), AcGCD (Octakis-(2,3,6-tri-O-acetil)- γ -CD)) y TRIMEG (Octakis-(2,3,6-tri-O-metil)- γ -CD)).

6.3.5.- Caracterización del complejo de inclusión entre γ -CD y 1

6.3.5.1.- Análisis de Rayos X de monocristales

Refinamiento de la estructura

Se recolectaron los datos de intensidad de rayos X de monocristales para el complejo con una baja simetría triclinica en el grupo espacial P1. Se utilizó el

programa *XPRER* para analizar los datos colectados y se encontró una simetría superior en el grupo espacial $P4_212$. En la Sección experimental 6.4.5 se encuentra descrito el método de obtención del monocristal del complejo entre γ -CD y **1** (**GCD1**).

Los datos de cristalografía y los parámetros de refinamiento de la estructura del cristal del complejo de inclusión se muestran en la Tabla 6.3. El complejo **GCD1** cristaliza en el grupo espacial tetragonal $P4_212$.

Hay tres moléculas independientes de γ -CD A, B y C en la estructura cristalina. La unidad asimétrica está compuesta por seis residuos de glucosa y la estructura se resolvió mediante el programa *SHELX-D*.²⁸ La celda unidad tiene un eje y una simetría *four-fold*, es decir, el complejo puede rota 4 veces (cada 90 grados) para que sea la misma estructura, por ejemplo, en la Figura 6.18 el eje c (perpendicular a la hoja) se haría rotar cada 90 °.

Debido a que el eje *four-fold* se encuentra posicionado en γ -CD, no fue posible modelar la molécula *huésped* (**1**). Para modelar **1**, ésta necesitaría tener la misma simetría de *four-fold*. Este tipo de desorden es común en complejos con γ -CD, ya que la molécula huésped, **1**, puede migrar a través del canal en el arreglo de empaquetamiento y ocupar diversos sitios aleatorios dentro del mismo. Se trató de refinar los picos más intensos en la cavidad, pero esto no dio lugar a ningún modelo satisfactorio para la molécula *huésped*, ni siquiera los átomos pesados (Cl, P, S). Así que, las únicas imágenes que se pueden generar para el complejo son aquellas en las que se muestran las moléculas de γ -CD "vacías", Figura 6.18.

Tabla 6.3: Datos cristalinos, parámetros de recopilación de datos y detalles de refinamiento obtenidos para el complejo de inclusión **GCD1**.

N° de compuesto	GCD1
Fórmula	$3C_{48}H_{80}O_{40} \cdot C_8H_7N_1O_3P_1S_1Cl_3 \cdot 20H_2O$
Peso Fórmula / g mol⁻¹	1618,67
Sistema Cristalino	Tetragonal
Grupo espacial	P4 ₂ 1 ₂ (N°. 90)
a / Å	23,7297 (0,0057)
c / Å	23,0278 (0,0053)
V / Å³	12966,92 (9)
Z	8
D_c / Mg m⁻³	1,6851
μ (MoKα) / mm⁻¹	0,313
F (000)	6792
Temperatura de colección de datos/ K	173
Tamaño del cristal / mm	0,14 x 0,16 x 0,25
Rango escaneado θ / °	1,21 – 25,38
Rango de índice ±h, ±k, ±l	-28, 24; -21, 28; -27, 27
Reflexiones (total)	35511
Reflexiones Independientes	11909
Reflexiones con I > 2σ(I)	5483
Completeness (%)	99,7
N° de parámetros	645
Goodness-of-fit, S	1,336
R₁ [I > 2σ(I)]	0,1516
wR on F²	0,3776
Weighting scheme a, b in w = 1/[σ²(F_o²) + (aP)² + (bP)]	0,200; 0,000
(Δ/σ)_{mean}	0.038
Δρ excursions / e Å⁻³	-0,88, 2,00

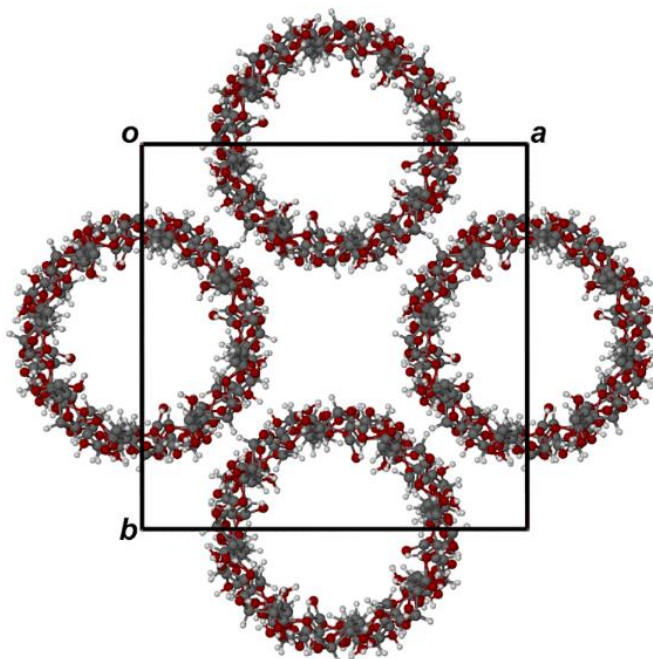


Figura 6.18: Diagrama del empaquetamiento con proyección hacia abajo del eje c, ilustrando la simetría de rotación *four-fold* del complejo **GCD1**. Las moléculas de agua fueron omitidas para una mayor claridad.

Arreglo del empaquetamiento del cristal

La molécula de γ -CD cristaliza como un trímero (A, B y C de la Figura 6.19) y estos trímeros se apilan uno encima del otro para formar canales infinitos, paralelos al eje y. Las moléculas de γ -CD se apilan de una manera tal que dos de las tres moléculas se ubican paralelas y una esta anti-paralela. Las conexiones intermoleculares entre las caras de las moléculas de γ -CD ocurren como cabeza a cabeza (A-B), cabeza a cola (B-C) y cola a cola (C-A'), Figura 6.19. Este patrón también se puede ver en la Figura 6.20, donde se muestra el diagrama de empaquetamiento. En la Figura 6.21, se muestran las moléculas de agua distribuidas en el espacio intersticial. En la estructura cristalina, se modelaron 13 moléculas de agua, lo que equivale a 22,75 moléculas de agua por molécula de γ -CD. Esto se relaciona adecuadamente con el resultado obtenido por TGA de 19,94 moléculas de agua por molécula de γ -CD (ver el siguiente punto 6.3.5.2), pues puede ser que algunas moléculas de agua no son distinguibles debido al desorden.

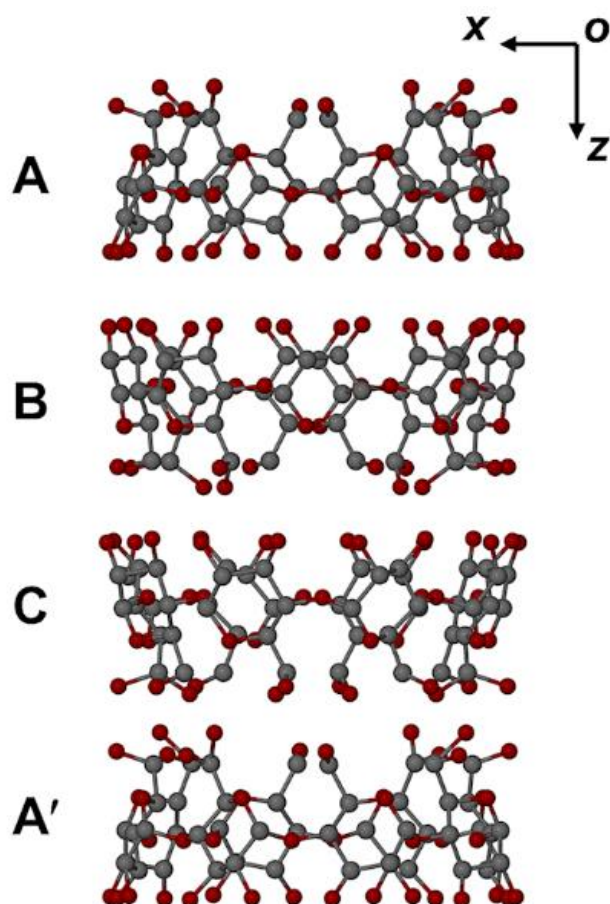


Figura 6.19: Diagrama de un canal en el complejo **GCD1** con proyección hacia abajo del eje z.

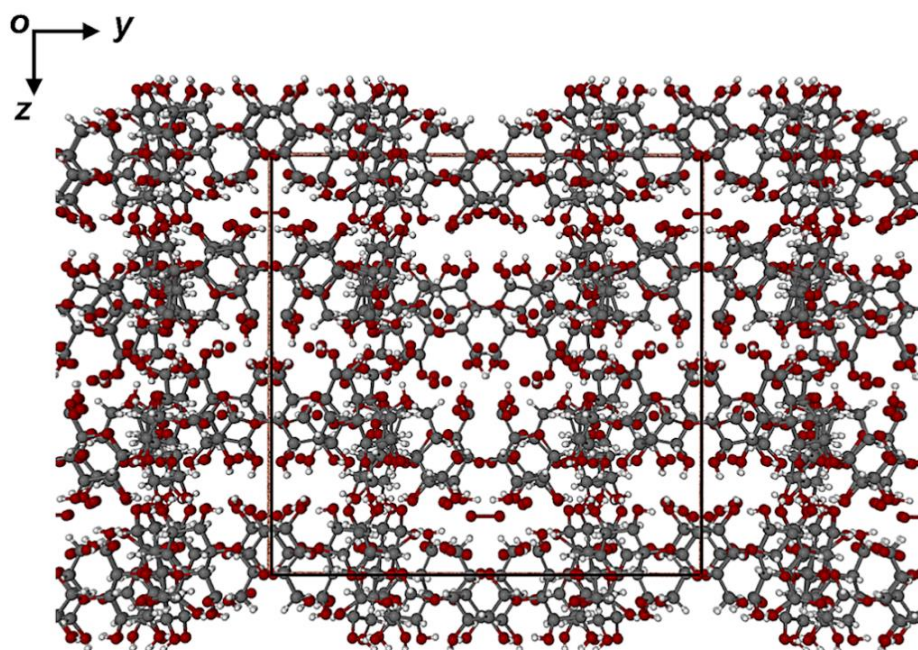


Figura 6.20: Diagrama de empaquetamiento del complejo **GCD1** con proyección hacia abajo del eje z, omitiendo las moléculas de agua para una mayor claridad.

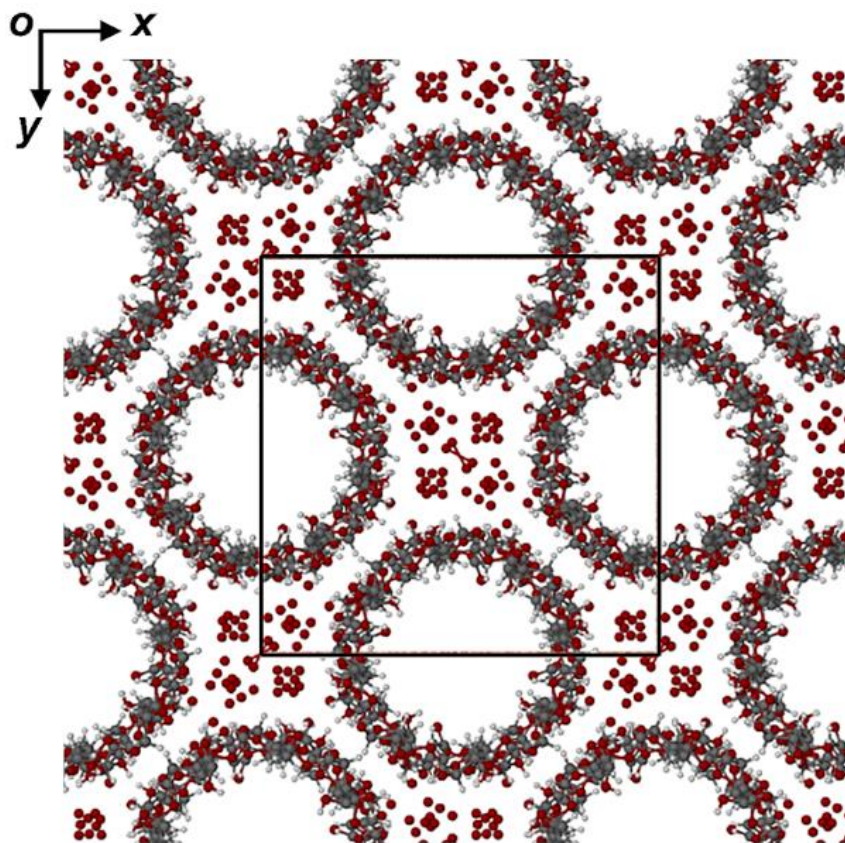


Figura 6.21: Diagrama de empaquetamiento del complejo **GCD1** con la proyección hacia abajo del eje z, mostrando las moléculas de agua como círculos rojos sólidos.

6.3.5.2.- Análisis térmico

Las curvas de TGA y DSC se muestran en la Figura 6.21, con fotografías de HSM registradas a las temperaturas de 30 **(a)**, 125 **(b)**, 250 **(c)** y 300 °C **(d)**.

Para obtener fotografías usando la técnica de HSM, los cristales del complejo **GCD1** se secaron con papel de filtro y se colocaron en un cubreobjetos. Los cristales se cubrieron con aceite de silicona para que la pérdida de agua pudiera ser vista por la formación de burbujas en el calentamiento.

La técnica de HSM se utilizó para observar los cambios físicos de los cristales de manera cualitativa, dónde, en la fotografía **a** se observan los cristales de **GCD1**, en **b** y **c** se observa que con el calentamiento los cristales se encogieron levemente, pero conservaron su forma y en **d** se observan burbujas y cambio de color, lo que

posiblemente corresponde a la descomposición de **GCD1** observado por DSC. Por HSM no se observó un punto de fusión definido.

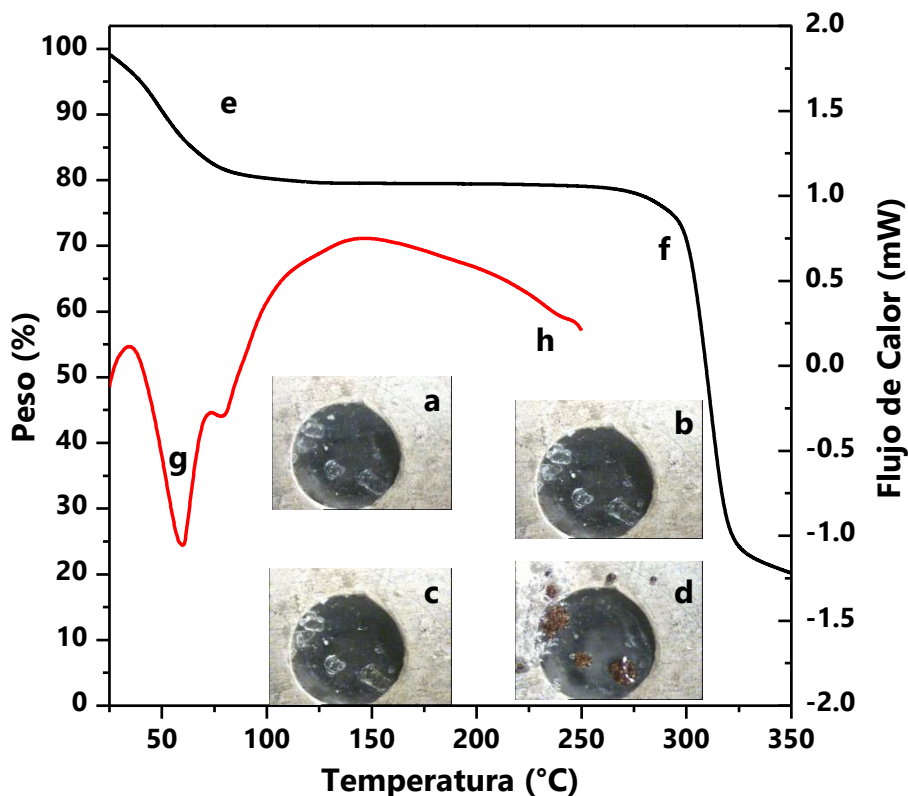


Figura 6.22: Trazas de TGA (negro) y DSC (rojo) para el complejo de **GCD1**. Microscopía de platina caliente registradas en: a) 30 °C, b) 125 °C, c) 250 °C y d) 300 °C.

El análisis por TGA se utilizó para determinar el número de moléculas de agua por unidad de complejo de inclusión con γ -CD. Una muestra de 6,5520 mg se secó superficialmente, luego se lo pesó en un crisol y por último se lo colocó en el horno calentando hasta 350 °C. Se registró una pérdida de peso de 20,50 % entre 25-160 °C (**e**), correspondiente a la pérdida de 19,94 moléculas de agua por γ -CD. La descomposición comenzó a 250 °C y llegó hasta 330 °C y se observa una pérdida del 80 % de peso (**f**).

El análisis DSC se realizó utilizando 1,39 mg de muestra seca. La muestra fue sellada en un crisol de platino y calentada hasta 250 °C de tal manera que no se alcanzó la descomposición completa, ya que el equipo trabaja hasta esa

temperatura. El DSC muestra un amplio proceso endotérmico entre 34-150 °C, con un pico a 60 °C (**g**) correspondiendo a la pérdida de agua. La descomposición comienza en 250 °C (**h**).

6.3.5.3.- Espectroscopía de ^1H RMN

La espectroscopía de RMN ^1H se utilizó para determinar la estequiometría del complejo de inclusión. Los espectros para γ -CD y **1** se registraron para comprobar que los picos del *receptor* no se solapan con los picos del *huésped*. La estequiometría del complejo (**GCD1**) entonces se determinó por la integración de protones.

Los protones de γ -CD identificables por ^1H RMN, son, H₁, H₂ y H₄ en la superficie exterior de la cavidad de la CD, H₃ y H₅ en el interior de la cavidad y el metileno H₆ situado en el borde primario de la estructura de γ -CD, así como los tres protones O-H. La numeración de los átomos se muestra en la Figura 6.23 para γ -CD y **1**, **a** y **b**, respectivamente.

Los picos correspondientes a H₁, O-H₂, O-H₃ y O-H₆ demostraron ser los picos más útiles para la evaluación, debido a la carencia de la separación de los picos por la baja resolución del equipo (multiplete en el intervalo 3-4 ppm) de H₂, H₃, H₄ y H₆ (Figura 6.24).

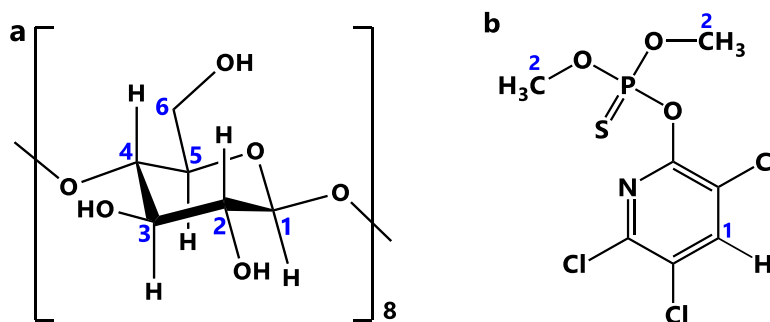


Figura 6.23: Esquema de numeración utilizado para ^1H RMN de **a:** γ -CD, y **b:** **1**.

En la Figura 6.24 se muestran los ^1H RMN de **1**, γ -CD y el complejo de inclusión **GCD1**. La Tabla 6.4 muestra los desplazamientos químicos y la asignación de los picos identificados

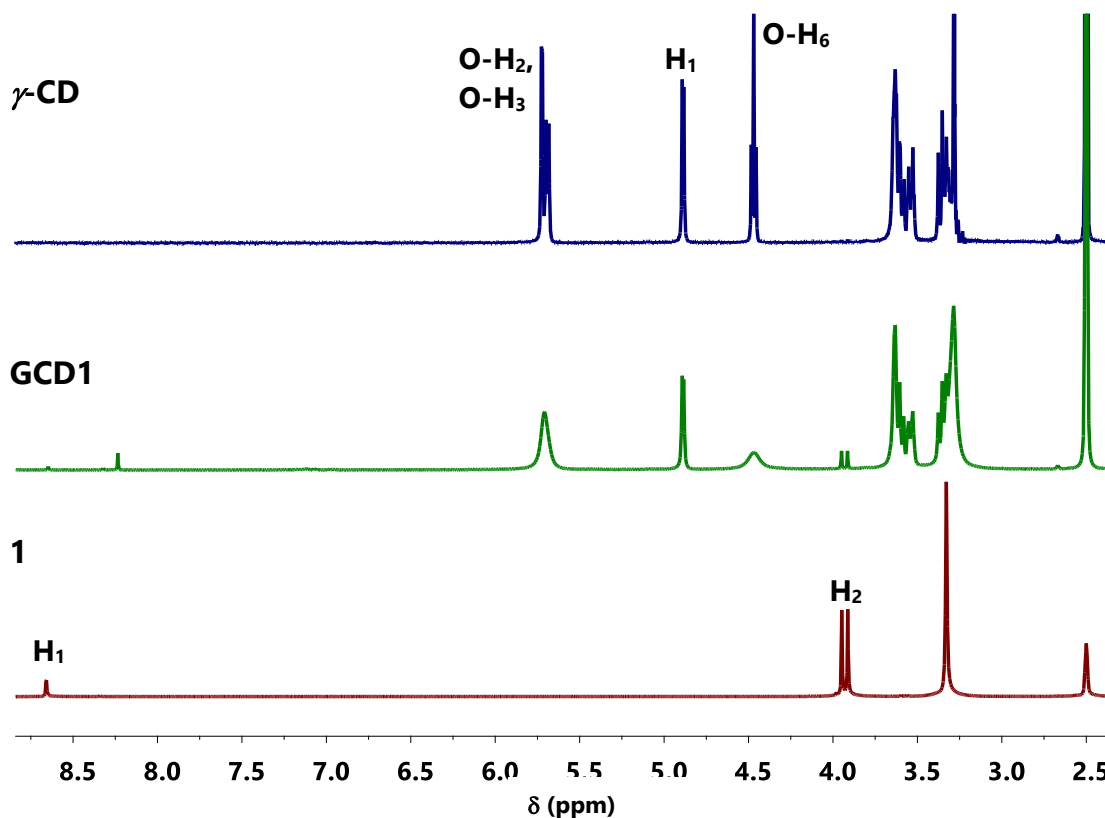


Figura 6.24: Espectro de ^1H RMN para **1**, complejo **GCD1** y γ -CD. **1**, **GCD1** y γ -CD preparados en DMSO- d_6 .

Tabla 6.4: Desplazamientos químicos de ^1H RMN y cuantificación de protones para **1**, γ -CD y **GCD1** usados en la determinación de estequiometría.

1 δ/ppm	γ -CD δ/ppm	GCD1 δ/ppm	$\Delta\delta^a$ /ppm	Asignación
3,92 (6H)	-	3,93 (6H)	-0,01	H ₂
8,66 (1H)	-	8,23 (1H)	0,43	H ₁
-	4,52 (8H)	4,47 (24H)	0,05	O-H ₆
-	4,93 (8H)	4,88 (24H)	0,05	H ₁
-	5,75 (16H)	5,71 (48H)	0,04	O-H ₂ , O-H ₃

$$^a\Delta\delta = \delta_{\gamma\text{-CD}} - \delta_{\text{GCD1}} \text{ ó } \Delta\delta = \delta_1 - \delta_{\text{GCD1}}$$

Al comparar los desplazamientos de los protones de **1** puro y de **1** del complejo **GCD1**, Tabla 6.4, se observa que el protón aromático del complejo se corre a campos más altos con respecto a **1** puro, mientras que el protón del grupo metilo del complejo sufre un pequeño corrimiento a campos más bajos comparado con **1** puro. Los picos correspondientes a H₁, O-H₂, O-H₃ y O-H₆ de la γ -CD del complejo **GCD1** se corren a campos más altos comparados con las señales correspondientes a γ -CD pura.

Botsi *et al.* estudiaron el acomplejamiento de las CDs nativas y permetiladas con las feromonas de moscas del olivo por RMN de ¹H; explicaron el corrimiento químico de los protones externos de la CD es indicativo de un cambio en la conformación del macrociclo inducida por el complejamiento. De acuerdo a lo observado en los desplazamientos se evidencia el complejamiento.

Se integraron las señales para el complejo **GCD1** en el espectro de RMN de ¹H, Figura 6.24, de donde se obtuvo una relación *receptor:huésped* de 3:1.

6.4.- Sección experimental

6.4.1.- Materiales

La trifluralina (**TFA**), *N*-propil-2,6-dinitro-4trifluorometilanilina (**NPTA**) y 2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**NOx**) se describieron en el Capítulo 5, Sección 5.6

Los *receptores* usados se compraron en *Cyclolab* (Hungria) y se utilizaron como se recibieron. Estos fueron: α -CD, β -CD, γ -CD, TRIMEA (hexakis-(2,3,6-tri-O-metil- α -CD)), DIMEB (heptakis-(2,6-di-O-metil- β -CD)), TRIMEB (heptakis-(2,3,6-tri-O-metil- β -CD)), AcBCD (heptakis-(2,3,6-tri-O-acetil- β -CD)), AcGCD (Octakis-(2,3,6-tri-O-acetil- γ -CD)) and TRIMEG (Octakis-(2,3,6-tri-O-metil- γ -CD)).

Los solventes utilizados para recristalizar fueron Etanol 99 % (Cicarelli), Metanol y Éter Etílico de grado Pro-análisis. El agua se purificó con un equipo *Millipore Milli-Q*.

6.4.2.- Equipos

- Se utilizó la Microscopia de Infrarrojo (*FT-IR Microscopes*) para los monocristales obtenidos. El equipo es de marca *Thermo scientific Nicolet iN10 FT-IR Microscope* con una cámara de marca *StCamSWare(x64): v.1.0.0.6*. Se utilizó una pastilla de bromuro de potasio para depositar los monocristales.
- Resonancia magnética nuclear (RMN): Los espectros de RMN ^1H se registraron por un espectrómetro de alta resolución Bruker Advance II 400 BBI (sonda de detección inversa multinuclear); frecuencia central 400,16 MHz en H, equipado con resolución digital y unidad de temperatura variable usando $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ como solvente para **1**, **NOx**, γ -CD y **GCD1**. Los desplazamientos químicos se expresan en δ (ppm).

6.4.3.- Análisis Térmicos

Las mediciones de TGA se realizaron mediante un analizador *Mettler Toledo TGA* con N_2 seco como gas de purga que fluye con una velocidad de 30 mL min^{-1} . Las muestras se secaron superficialmente en papel de filtro y se colocaron en un crisol de platino abierto. Las muestras se calentaron en el horno a una velocidad de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ de $20 - 280 \text{ }^\circ\text{C}$.

Los experimentos de DSC se realizaron en un equipo *Perkin-Elmer PC7-Series DSC* con N_2 seco como gas de purga que fluye a una velocidad de 30 mL min^{-1} . Las muestras se calentaron a una velocidad de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ de 20 a $350 \text{ }^\circ\text{C}$.

La microscopía de platina caliente (HSM, *Hot stage microscopy*) se utilizó para observar los cambios físicos en la muestra, que frecuentemente están relacionados con los eventos térmicos medidos por TGA y DSC. Los cambios físicos que se

observaron principalmente en este estudio fueron burbujas debido a la pérdida de disolvente o agua, fusión y cambio de color debido a la descomposición. Las muestras se sumergieron en aceite de silicona sobre un cubreobjetos y se vieron con un microscopio estereoscópico *Nikon SMZ-10* equipado con una platina caliente *Linkam THM* y una unidad de control de temperatura *Linkam TP92*. Las imágenes se capturaron con una video cámara de color en tiempo real *Sony Digital Hyper HAD* y vistas con el programa *Soft Imaging System program, analysis*.²⁹

6.4.4.- Preparación de monocristales y análisis de difracción de rayos-X de TFA, NPTA y NOxA.

Los monocristales de **TFA** y **NOxA** se aislaron por la recristalización de metanol mientras que el compuesto **NPTA** fue recristalizado de éter etílico. Los datos de intensidad de rayos X se recogieron en un difractómetro Bruker KAPPA APEX II DUO 4-circle con radiación de grafito monocromado $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Los cristales se enfriaron a temperatura constante ($100 \pm 2 \text{ K}$ para **TFA** y $173 \pm 2 \text{ K}$ para **NPTA** y **NOxA**) en una corriente de vapor de nitrógeno (*Oxford Cryostream, UK*). La reducción de datos incluyó correcciones de polarización de *Lorentz* y correcciones de absorción. Las estructuras se resolvieron utilizando métodos directos y se refinaron por matriz completa de cuadrados mínimos. En general, los átomos de F de los grupos trifluorometilo estaban desordenados y se modelaron con 6-12 átomos individuales del desorden con parámetros térmicos isotrópicos variables y los factores apropiados de la ocupación del sitio para explicar su distribución de densidad electrónica. Restricciones de longitud de enlace C-F se aplicaron para asegurar geometrías razonables y refinamientos estables. Después del refinamiento de los átomos distintos a los átomos de hidrógeno, los átomos de H fueron situados por diferencia de Fourier y se incluyeron en un modelo con los parámetros térmicos isotrópicos que tenían valores de 1,2-1,5 veces los de sus átomos dominantes. Para

completar el refinamiento de la estructura, en los ciclos finales del refinamiento, los átomos distintos a los H ordenados, se refinaron anisotrópicamente.

6.4.5.- Métodos generales para obtención de complejos sólidos

Se describen a continuación los procedimientos generales que se llevaron a cabo por distintos métodos para preparar los complejos sólidos. Se utilizaron distintas estrategias y modificaciones en los procedimientos para obtener monocristales; los cambios en el procedimiento se realizaban de a uno a la vez para conocer la variable modificada.

Método de mortereado

Se morterea durante 5-15 min el *huésped* (**TFA**, **NPTA**, **NOx** o **1**) y las CDs (nativas y modificadas) como una pasta, se añaden unas gotas de agua o 15% alcohol/H₂O de ser necesario. En este método no se disuelven los sustratos. Luego de morterear, resulta un polvo que se analiza por PXRD.³⁰ Se observaron mezclas físicas entre el *receptor* y el *huésped* en todos los casos excepto para **1** con γ -CD, donde se evidenció un complejo sólido.

Método de co-precipitado con las CDs nativas

Se preparó en un vial una solución (acuosa o 15% alcohol/H₂O) saturada caliente (50 - 90 °C) de (α , β o γ)-CD y se le adicionó una cantidad equimolar de **TFA**, **NPTA**, **NOx** o **1** (\approx 20 mg). La solución resultante se agitó con un agitador magnético entre 6 a 24 horas y durante este período, en ocasiones, se agitó vigorosamente. La solución turbia resultante se filtró a través de un microfiltro con un poro de 0,45 μ m a un vial limpio. El vial se colocó en un termo *dewar* que contenía agua a la temperatura de la solución. La temperatura del termo desciende lentamente y promueve una cristalización lenta y selectiva; a las 24 horas se sacó el vial y se lo dejó quieto. Después de 1-15 días se formaban en ocasiones monocristales en el vial

de **TFA, NPTA, NO_x, 1** o las CDs, pero en ningún caso se observó complejos de inclusión. Los datos de intensidad de rayos-X se recogieron con el mismo equipo descrito en la sección 6.4.4. Los cristales fueron enfriados a temperatura constante de (173 ± 2) K.

Método de co-precipitado con las CDs modificadas

Una solución acuosa o 15% alcohol/H₂O saturada de **TRIMEB, TRIMEA, DIMEB, AcBCD, AcGCD o TRIMEG** se preparó a temperatura ambiente en un vial y se le adicionó una cantidad equimolar de **TFA, NPTA, NO_x o 1** (≈ 10 mg). La solución resultante se agitó con un agitador magnético entre 1 a 2 horas.

Sin dejar de agitar, la solución turbia se calienta hasta 40-70 °C y luego se deja enfriar a temperatura ambiente; este ciclo se realizó entre 4-6 veces. La solución turbia resultante se filtró a través de un microfiltro con un poro de 0,45 μm a un vial limpio. El vial se colocó en un horno o una plancha caliente entre 50-60 °C. Después de 1 a 5 días se formaban en ocasiones monocristales en el vial de **TFA, NPTA, NO_x, 1** o las CDs modificadas, pero en ningún caso se observó complejos de inclusión. Los datos de intensidad de rayos-X se recogieron con el mismo equipo descrito en la sección 6.4.4. Los cristales fueron enfriados a temperatura constante de (173 ± 2) K.

6.4.6.- Método de co-precipitación: preparación de monocristales del complejo GCD1.

Una solución acuosa saturada caliente (50 °C) de γ -CD se preparó en un vial y se le adicionó una cantidad equimolar de **1** (≈ 20 mg). La solución resultante se agitó con un agitador magnético por 6 horas a 60 °C y durante este período, en ocasiones, se agitó vigorosamente. La solución turbia resultante se filtró a través de un microfiltro con un poro de 0,45 μm a un vial limpio. El vial se colocó en un termo *dewar* que contenía agua a una temperatura de 60 °C; la temperatura del termo

desciende lentamente y promueve una cristalización lenta y selectiva. A las 24 horas se sacó el vial y se lo dejó quieto. Después de 2 días se formaron monocristales en el vial. En la Tabla 6.1, se describen los parámetros obtenidos de estos monocristales.

Se realizó otro procedimiento con la diferencia que el agua se encontraba a 90 °C y se agitó por 24 horas; después de 1 día se obtuvieron monocristales.

Los datos de intensidad de rayos-X se recogieron con el mismo equipo descrito en la sección 6.4.4. Los cristales fueron enfriados a temperatura constante de (173 ± 2) K.

6.5.- Conclusión

Mediante las técnicas experimentales y estructurales presentadas en este capítulo se puso en evidencia la formación de un complejo de inclusión entre **1** y γ -CD en estado sólido utilizando para corroborar la formación del complejo el método de difracción de rayos X de monocristal, RMN ^1H y un análisis por las técnicas de TGA, DSC y HSM. No se obtuvieron complejos sólidos de **TFA**, **NPTA** ó **NOx** con CDs nativas o derivatizadas por ninguno de los métodos ensayados.

Se elucidaron las estructuras de los monocristales de **TFA** y **NPTA**. Para el *N*-óxido en estado sólido por Rayos-X y FT-IR se observa el tautómero **NOxA**, mientras que en solución de DMSO se observa al tautómero **NOx**.

6.6.- Bibliografía

- (1) Ladd, M. En *Symmetry of Crystals and Molecules*; Oxford University Press, Ed.; Oxford University Press: United Kingdom, 2014; pp 1–329.
- (2) Crystallography - ACS
<https://www.acs.org/content/acs/en/careers/college-to-career/chemistry-careers/cystallography.html> (acceso Nov 1, 2018).
- (3) Deschamps, J. R. *Life Sci.* **2010**, *86*, 585.

- (4) Massa, W. En *Crystal Structure Determination*; Massa, W., Ed.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Germany, 2004; pp 1–12.
- (5) Spagna, R. *Ref. Modul. Mater. Sci. Mater. Eng.* **2016**, No. April 2015, 1.
- (6) Papiz, M. Z.; Winter, G. En *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*; Lindon, J. C., Tranter, G. E., Koppenaal, D. W., Eds.; Academic Press, Elsevier: Spain, 2010; pp 185–193.
- (7) West, A. R. En *Solid State Chemistry and its Applications*; John Wiley & Sons, Ltd: United Kingdom, 2014; pp 1–82.
- (8) Rissanen, K. En *Analytical Methods in Supramolecular Chemistry*; Schalley, C., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007; pp 305–336.
- (9) Harata, K. En *Cyclodextrins and Their Complexes: Chemistry, Analytical Methods, Applications*; Dodziuk, H., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Alemania, 2006; pp 147–198.
- (10) Odagaki, Y.; Hirotsu, K.; Higuchi, T.; Harada, A.; Takahashi, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, No. 24, 1230.
- (11) Kamitori, S.; Hirotsu, K.; Higuchi, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, 61 (11), 3825.
- (12) Harata, K.; Uekama, K.; Otagiri, M.; Hirayama, F.; Ohtani, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, 58 (4), 1234.
- (13) Steed, J. w.; Atwood, J. L. En *Supramolecular Chemistry*; Steed, J. w., Atwood, J. L., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd: Reino Unido, 2009; pp 307–384.
- (14) Kamitori, S.; Toyama, Y.; Matsuzaka, O. *Carbohydr. Res.* **2001**, 332 (2), 235.
- (15) Aree, T.; Chaichit, N. *Carbohydr. Res.* **2008**, 343 (13), 2285.

- (16) Rougier, N. M. Estabilidad de pesticidas organofosforados y de sus complejos de inclusión con ciclodextrinas. Estudios en solución y en estado sólido. Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Córdoba, 2012.
- (17) Giordano, F.; Novak, C.; Moyano, J. R. *Thermochim. Acta* **2001**, *380* (2), 123.
- (18) Steed, J. W.; Atwood, J. L. En *Supramolecular Chemistry*; Steed, J. W., Atwood, J. L., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd, 2009; pp 1–48, 559–561.
- (19) Gill, P.; Moghadam, T. T.; Ranjbar, B. *J. Biomol. Tech.* **2010**, *21* (4), 167.
- (20) Caira, M. R. En *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry. Vol. 5: Recent Advances, Techniques and Applications*; Brown, M. E., Gallagher, P. K., Eds.; Elsevier B.V., 2008; pp 597–629.
- (21) Boiani, M.; Cerecetto, H.; González, M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108* (51), 11241.
- (22) Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Badertscher, M. En *Structure Determination of Organic Compounds*; Pretsch, E., Bühlmann, P., Badertscher, M., Eds.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Zürich, 2009; pp 269–336.
- (23) Leitis, E.; Crosby, D. G. *J. Agric. Food Chem.* **1974**, *22* (5), 842.
- (24) Nikitina, P. A.; Peregudov, A. S.; Koldaeva, T. Y.; Kuz'Mina, L. G.; Adiulin, E. I.; Tkach, I. I.; Perevalov, V. P. *Tetrahedron* **2015**, *71*, 5217.
- (25) Smith, D. M. En *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Benzimidazoles and Cogeneric Tricyclic Compounds, Part 1, Volume 40*; Preston, P. N., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Canada, 1981; pp 287–330.
- (26) Szczeciński, P.; Bartusik, D. *J. Chem. Res.* **2002**, No. 5, 84.
- (27) Buján, E. I.; Salum, M. L. *Can. J. Chem.* **2004**, *82* (8), 1322.
- (28) Sheldrick, G. M.; Schneider, T. R. *Macromol. Crystallogr.* **1997**, No.

B277319.

- (29) Digital Solutions for Imaging and Microscopy Version 3.1 for Windows
(Copyright 1987–2000). .
- (30) Szejtli, J. En *Cyclodextrin Technology*; Kluwer Academic Publishers:
Dordrecht, 1988; p 450.

Capítulo 7

CONCLUSIONES GENERALES

7.1.- Conclusiones generales

En esta tesis se alcanzó el objetivo general de buscar métodos efectivos y seguros de fotodegradación de pesticidas.

En virtud de lo estudiado se describieron los procesos que conducen a la fotodegradación directa del clorpirifos-metil (**1**) con y sin presencia de ciclodextrinas en solución. Además, en este trabajo de tesis se estudiaron las propiedades de los complejos de inclusión del pesticida trifluralina (**TFA**) y dos de sus productos de fotodegradación con ciclodextrinas en solución y en estado sólido.

7.2.- Estudios del insecticida Cloripirifos-metil

La fotodegradación directa a 254 nm de clorpirifos-metil (**1**), *O,O*-dimetil *O*-(3,5,6-tricloro-2-piridinol)-fosfato (**2**) y 3,5,6-tricloro-2-piridinol (**3**) en 10% ACN/H₂O sigue una decaimiento de primer orden.

Se propusieron vías de degradación para **1**, a través de los productos identificados por la fotodegradación de **1**, **2** y **3**. Se identificaron varios fotoproductos en aire y en ausencia de oxígeno que incluyen **2**, **3**, el *O,O*-dimetil fosforotioato (**4**), el dimetil fosfato (**5**) y compuestos donde uno o dos átomos de cloro en los compuestos **1**, **2** ó **3** se intercambiaron por hidrógeno. Se pudo identificar el compuesto **10** (dicloro-2-piridinol) como el único producto después de la irradiación de **3**. Por lo tanto, considerando los resultados de Devi *et al.*,¹ pensamos que la ruta que conduce a la mineralización de **3** a hidróxido de amonio, dióxido de carbono y agua podría ocurrir de acuerdo a lo observado por la técnica de espectrofotometría UV-visible.

El producto mayoritario observado en la fotólisis directa de **1** que se encontró por RMN ³¹P fue el compuesto **5**, que coincide con el único producto observado por esa técnica en la fotólisis directa de **1** en presencia de β -CD.

En presencia de CDs nativas y modificadas, se estudió la fotodegradación directa a 254 nm de **1** y **2**, donde la cinética de la degradación en 10% ACN/H₂O de los dos compuestos sigue un decaimiento de primer orden, como se observó en ausencia de β -CD. Se advirtió, para ambos compuestos, un proceso fotocatalítico en presencia de CDs nativas y modificadas, es decir, se percibió un aumento en las constantes de desaparición observadas de fotodegradación de **1** y **2**. En presencia de las CDs nativas, el efecto de aceleración aumenta con el aumento del tamaño de la cavidad de las CDs como consecuencia de un mejor complejamiento. Los resultados obtenidos para **1** y **2** en presencia de RAMEB (β -CD modificada) son similares a los observados en presencia de β -CD.

En presencia de β -CD, se propuso un mecanismo general para la degradación del compuesto **2**; la complejidad del sistema para **1** no permitió discernir entre modelos probables.

En estado sólido, se puso en evidencia la formación de un complejo de inclusión entre **1** y γ -CD utilizando para corroborar la formación del complejo el método de difracción de rayos X de monocristal, RMN ¹H y un análisis por las técnicas de TGA, DSC y HSM.

7.3.- Estudios del herbicida trifluralina

Trifluralina (*N,N*-di-*n*-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilnilina, **TFA**) y *N*-propil-2,6-dinitro-4-trifluorometilnilina (**NPTA**) en soluciones de 1% ACN/buffer fosfato a pH 7 forman complejos de inclusión de estequiometría 1:1 con β -CD. Las constantes de asociación calculadas por diagrama de solubilidad de fases para **TFA** y titulación espectrofotométrica para **NPTA** son $\overline{K_{asoc}} = (25 \pm 7) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$ y $\overline{K_{asoc}} = (18 \pm 2) \times 10^1 \text{ M}^{-1}$, respectivamente, lo que indica una asociación débil.

Para 2-etil-7-nitro-5-trifluorometil-1-*H*-bencimidazol-3-óxido (**NOx**) no se pudo calcular la constante de asociación con β -CD por titulación

espectrofotométrica, aunque por el método de variación continua se determinó una estequiometría 1:1.

En estado sólido, se elucidaron las estructuras de los monocristales de **TFA**, **NPTA** y **NOxA**. Para el *N*-óxido en estado sólido por Rayos-X y FT-IR se observa el tautómero **NOxA**, mientras que en solución de DMSO se observa al tautómero **NOx**. No se obtuvieron complejos sólidos de **TFA**, **NPTA** ó **NOx** con CDs nativas o derivatizadas por ninguno de los métodos ensayados.

7.4.- Observaciones finales

Con estos estudios se ha podido avanzar en el conocimiento del comportamiento de estos pesticidas en presencia y ausencia de CDs.

Se puede concluir que la irradiación con luz UV puede ser un método útil para la detoxificación de soluciones de clorpirifos-metil y para degradar clorpirifos-metil y clorpirifos-metil oxón en presencia de CDs por la aceleración observada.

Al observar el complejo de inclusión entre β -CD y **TFA** y con dos de sus productos de fotodegradación (**NPTA** y **NOx**) en solución, se puede proyectar el estudio de lo que le sucede al complejo al fotolizarlo a 254 nm, para poder comparar con el estudio ya realizado de la fotodegradación de **TFA**.²

7.5.- Bibliografía

- (1) Devi, L. G.; Murthy, B. N.; Kumar, S. G. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2009**, 308, 174.
- (2) Sarmiento Tagle, M. G.; Salum, M. L.; Buján, E. I.; Argüello, G. A. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, 4 (11), 869.

Publicaciones de esta tesis doctoral

- ✓ "TRIFLURALIN AND TWO OF ITS PHOTODEGRADATION PRODUCTS: CRYSTAL STRUCTURES AND PHASE SOLUBILITY/UV STUDIES WITH CYCLODEXTRINS" **V. L. Lobatto, G. A. Argüello, M. R. Caira*, E. I. Buján***. Artículo enviado a Heliyon el 26/09/18.
- ✓ "PRODUCTS OF PHOTOLYSIS OF CHLORPYRIFOS-METHYL AND CHLORPYRIFOS-METHYL OXON". **V. L. Lobatto, G. A. Argüello*, E. I. Buján***. Artículo enviado a Science of the Total Environment el 31/10/18.

