

AMORTIGUACION DE LA FLUORESCENCIA DEL CARBAZOL POR ALCALOIDES TROPANICOS (II)

Talavera, E. M., Quintero, B., Jiménez, M., Alvarez, J. M.

RESUMEN

Se ha estudiado la amortiguación de la fluorescencia en estado estacionario del carbazol por alcaloides tropanicos en acetonitrilo, en base a determinar las constantes de velocidad bimoleculares de la amortiguación. Estas han resultado ser 1.2×10^9 l y $5.8 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para los sistemas carbazol-tropanol y carbazol-atropina respectivamente. Además se da cuenta de la aparición de una nueva emisión fluorescente a mayores longitudes de onda.

SUMMARY

The fluorescence quenching of carbazole by tropanic alkaloids in acetonitrile has been studied in the steady-state, in order to determine the bimolecular quenching rate constants. These constants are 1.2×10^9 and $5.8 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ for the carbazole-tropine and carbazole-atropine systems respectively. Besides the appearance of a new fluorescen emission at higher wavelenghts can be observed.

INTRODUCCION

En un trabajo previo (1) hemos demostrado la utilidad del carbazol como lumóforo para el estudio de la desactivación de fluorescencia por alcaloides tropanicos, así como el mecanismo a través del cual transcurren los procesos de excitación y desactivación del sistema carbazol-alcaloide tropanico en disolución de ciclohexano.

Al objeto de un mejor conocimiento de la desactivación de fluorescencia del carbazol por tropánicos, se ha abordado el comportamiento fluorescente de tales sistemas en un medio polar no hidroxilado.

MATERIAL Y METODOS

Carbazol (99% Aldrich) fue recrystalizado dos veces en etanol absoluto, secado y sublimado antes de usarlo. Endo-8-metil-8-azabicyclo [3.2.1] octan-3-ol (tropanol) y α -(hidroximetil) ácido bencenoacético 8-metil-8-azabicyclo [3.2.1.] oct-3-il ester (Atropina) grado analítico fueron donadas por Boehringer Ingelheim, recrystalizados dos veces en n-heptano, y almacenados en desecador. Acetonitrilo Merck, grado espectroscópico fue utilizado como disolvente sin posterior purificación.

Los espectros de absorción de las muestras fueron registrados en un Espectrofotómetro Lambda 5 de Perkin-Elmer. Las medidas de fluorescencia en estado estacionario se realizaron en un Espectrofluorímetro Shimadzu RF-5000 con un paso de banda de 15 Å y 30 Å para excitación y emisión respectivamente. La longitud de onda de excitación fue 320.5 nm.

En todos los casos, las muestras fueron desoxigenadas en la cubeta de fluorescencia por paso de argón durante 4 minutos.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la fig. 1 se han representado los espectros de absorción de carbazol solo $5 \times 10^{-5} \text{M}$ y carbazol $5 \times 10^{-5} \text{M}$ -tropanol a distintas concentraciones; como se puede observar el cambio espectral es prácticamente nulo en los márgenes de concentración estudiados. Estos resultados parecen indicar que en el estado fundamental no hay complejación por enlace de hidrógeno, o que, en caso de haberla, su constante de equilibrio es despreciable (2).

La figura 2 muestra los espectros de emisión del carbazol y de la mezcla carbazol-tropanol a distintas concentraciones en acetonitrilo. Con el aumento de la concentración de tropanol, se puede observar un decrecimiento de la intensidad de la banda de emisión típica del carbazol, así como la aparición a mayor longitud de onda de una nueva banda estructurada con máximos a 418, 444 y 475 nm, que aumenta su intensidad con la concentración de tropanol. También se debe resaltar la presencia de un punto isoemisivo a 395 nm.

Asimismo se ha registrado el espectro de emisión de carbazol ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) con diferentes concentraciones de tropanol (o atropina) en acetonitrilo antes y después de acidular con acético. En la fig. 3a se puede observar la desaparición de la banda centrada alrededor de los 450 nm, así como la ausencia de amortiguación en el medio acidulado. Además, se ha obtenido y representado, en la fig. 3b, el espectro

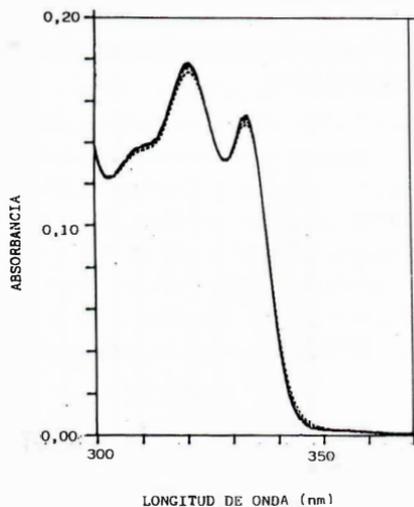


Fig. 1. Espectro de absorción de carbazol $5 \times 10^{-5} M$ (—) y carbazol 5×10^{-5} -tropanol (0.5×10^{-2} - $10 \times 10^{-2} M$) (....).

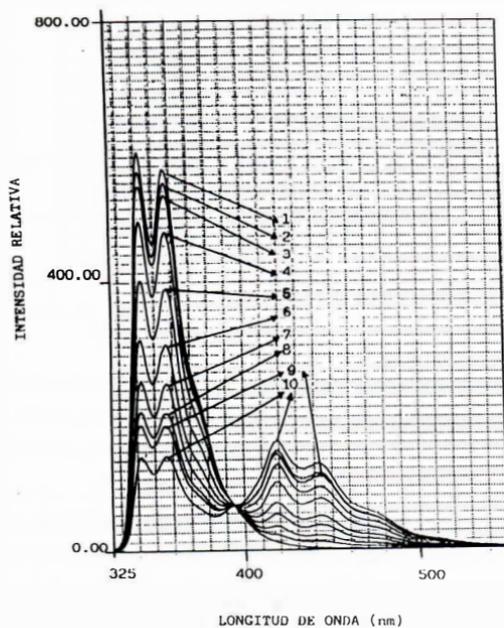


Fig. 2. Espectro de fluorescencia de carbazol $5 \times 10^{-5} M$ y tropanol a diferentes concentraciones, en disolución de acetonitrilo (1) 0.0, (2) 0.25×10^{-2} ; (3) 0.5×10^{-2} ; (4) 1.0×10^{-2} ; (5) 2.0×10^{-2} ; (6) $4.0 \times 10^{-2} M$; (7) 6.0×10^{-2} ; (8) 8.0×10^{-2} ; (9) 10×10^{-2} ; (10) $15 \times 10^{-2} M$.

de emisión de una disolución de carbazol alcalinizada con NH_4OH . Se puede observar la aparición de una banda de parecidas características a la encontrada en el sistema carbazol-alcaloide tropánico.

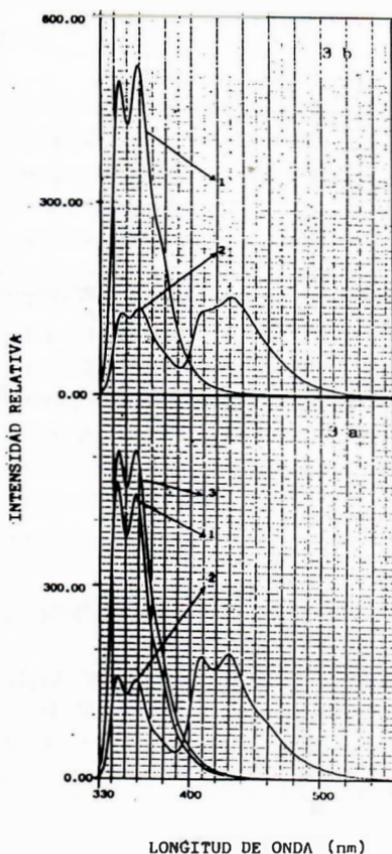


Fig. 3. a) Espectros de emisión de (1) carbazol solo; (2) sistema carbazol-tropanol; (3) sistema carbazol-tropanol-ácido acético, en disolución de acetnitrilo.
b) Espectros de emisión de (1) carbazol solo; (2) sistema carbazol NH_4OH .

Todos estos resultados experimentales se pueden justificar, suponiendo la existencia de dos especies en el estado excitado, una de ellas el carbazol y otra especie, cuya asignación no se puede realizar con certeza plena con los medios de que se disponen, pero que, según el esquema propuesto para la desactivación en ciclohexano (1), pudiera ser el resultado de la transferencia de un protón al aceptor, en el estado excitado (3-4) que tras estabilizarse con el disolvente, emite a mayor longitud de onda que el carbazol.

Según Mataga (5), cuando no hay complejación o ésta es despreciable en el estado fundamental, y el estado excitado resulta desactivado por la formación de un complejo que no emite a la misma longitud de onda que el fluoróforo, se puede llevar a cabo un simple análisis de Stern-Volmer para el cálculo de la constante de velocidad bimolecular de la amortiguación.

Así se ha medido la intensidad total de fluorescencia emitida por la disolución en presencia (Φ) y ausencia (Φ_0) del amortiguador, a partir del área del espectro de fluorescencia entre 325 y 395 nm. En la figura 4 se puede observar que hay una concordancia muy buena entre los datos experimentales y la ecuación de Stern-Volmer, lo que indica que la amortiguación es un proceso dinámico controlado por difusión. Los resultados obtenidos del ajuste por mínimos cuadrados se indican en la tabla I.

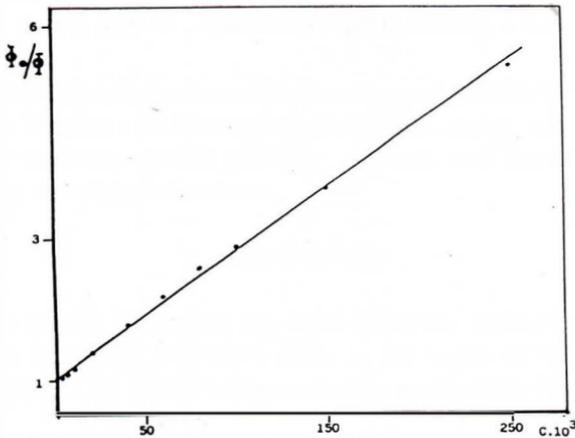


Fig. 4. Representación de Stern-Volmer para la desactivación por tropanol de carbazol $5 \times 10^{-5} \text{M}$ en disolución de acetonitrilo. Φ_0 y Φ son los rendimientos cuánticos de fluorescencia de carbazol solo y del sistema carbazol-tropanol.

TABLA I

Valores de las constantes de velocidad bimolecular de amortiguación calculadas mediante un análisis de Stern-Volmer para los sistemas carbazol/tropanol (C/T) y carbazol/atropina (C/A) usando acetonitrilo como disolvente.

| Sistema | $K_{sv}(\text{M}^{-1})$ | $\tau_0(\text{ns})^b$ | $K_q(\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$ | r^{2a} |
|---------|-------------------------|-----------------------|-----------------------------------|----------|
| C/T | 17.76 | 15.2 | 1.2×10^9 | 1.00 |
| C/A | 8.832 | 15.2 | 5.8×10^8 | 0.99 |

a) r^2 es el coeficiente de determinación, b) el valor de τ_0 para el carbazol en acetonitrilo ha sido calculado a partir de la ecuación de Strickler-Berg (6).

BIBLIOGRAFIA

- (1) TALAVERA, E.M., QUINTERO, B., JIMÉNEZ, M., ALVAREZ, J.M., *Ars. Pharm.* (en prensa).
- (2) MARTIN, M.M., y WARE, W.R., *J. Phys. Chem.*, 82, 2770-2776, (1978).
- (3) MARTIN, M.M., IKEDA, N., OKADA, T. y MATAGA, N., *J. Phys. Chem.*, 86, 4148-4156 (1982).
- (4) MARTIN, M.M., MIYASAKA, H., KAREN, A. y MATAGA, N., *J. Phys. Chem.*, 89(1), 182-185, (1985).
- (5) MATAGA, N. y KUBOTA, T. In *Molecular interactions and electronic spectra*. Marcel Dekker: New York, pp. 346-351, (1970).
- (6) STRICKLER, S.J. y BERG, R.A., *J. Chem. Phys.*, 37, 814, (1962).