

Fotoquímica de azidas aromáticas: intermediarios, reacciones y su aplicación biológica

Denisse Atenea de Loera Carrera,* Elisa Leyva y Rogelio Jiménez Cataño

Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Dr. Manuel Nava No.6, Zona Universitaria, C.P. 78210, San Luis Potosí, S.L.P., México. Tel.: (444)826-2440 al 46 ext. 508. Fax (444)826-2372. denisseatenea@gmail.com

Resumen. Las azidas aromáticas pueden descomponerse liberando nitrógeno molecular, generando intermediarios de tipo nitreno, los cuales pueden llevar a cabo reacciones con importantes aplicaciones biológicas e industriales. Los nitrenos están involucrados en muchas transformaciones útiles en síntesis orgánica, por lo que la química de los nitrenos atrae el interés de un diverso grupo de científicos. Los investigadores en fisicoquímica orgánica buscan entender la reactividad de los nitrenos en las reacciones, los químicos de materiales buscan enlazar sondas a la superficie de diversos polímeros a través de reacciones con nitrenos. Los bioquímicos utilizan los grupos de tipo fluoro arilazidas como ligantes de macromoléculas biológicas, a través de la fotólisis de un complejo azida-biomolécula se genera un enlace covalente entre el ligando y la biomolécula. En esta revisión, se presentan los principales intermediarios reactivos generados en la fotólisis de azidas aromáticas. Asimismo, se presentan procesos fotoquímicos, reacciones de nitrenos, y la influencia de los sustituyentes y condiciones de reacción en los productos generados. Finalmente se describe el empleo de las azidas aromáticas en el marcado por fotoafinidad.

Palabras clave: Azidas aromáticas, fotólisis, fenilnitreno, marcado por fotoafinidad.

La fotoquímica puede ser definida como *el área de la química que estudia las reacciones químicas que proceden con la absorción de luz*. Normalmente, una reacción ocurre cuando una molécula adquiere la energía de activación necesaria para experimentar cambios. En el caso de las reacciones fotoquímicas esa energía de activación la provee la luz [1]. En la mayoría de las moléculas, en estado fundamental los electrones están en forma apareada, como singulete S_0 (Fig. 1). Cuando se absorbe un cuanto de radiación se genera el desapareamiento de dos electrones produciendo un estado electrónico excitado que puede también ser un singulete (multiplicidad, $m = 1$).

En el diagrama de Jablonski, figura 1, se pueden visualizar diversos procesos fotoquímicos unimoleculares, estados cuánticos involucrados, y sus correspondientes energías, estas últimas representadas cualitativamente en su posición vertical [2]. El exceso de energía generado por la absorción de luz puede disiparse a través de procesos unimoleculares como emisión o desactivación no radiante [2]. Si el sistema se encuentra en el estado singulete fundamental, S_0 , los únicos cuantos de luz que puede absorber son aquellos que lo llevan a algún nivel superior, un estado singulete excitado (S_1 o S_2). Las transiciones hacia o desde esos estados electrónicos excitados de las moléculas se observan como bandas relativamente anchas debido al efecto aditivo de los niveles de vibración y rotación [3]. Por la condición de Franck-Condon, la molécula tendrá más probabilidades de encontrarse en un estado vibracional excitado [1].

Abstract. Aromatic azides easily decompose generating molecular nitrogen and nitrene intermediates which may undergo important reactions with biological and industrial applications. Since nitrenes are involved in many useful transformations in organic synthesis their chemistry has attracted the attention of diverse research groups. Physical organic chemists seek to understand the reactivity of nitrenes in chemical reactions, materials chemists seek to attach probes to the surfaces of diverse polymers using nitrene reactions. Biochemists utilize fluoro arylazide groups as ligands of biological macromolecules and by means of the photolysis of a given complex azide-biomolecule a covalent bond is generated between the ligand and the biomolecule. In this review, the reactive intermediates generated by photolysis of aryl azides are presented. Furthermore, a discussion of several processes involved in photochemistry is presented. In addition, the influence of substituents and reaction conditions in the formation of intermediates and products is also presented. Finally, the use of aryl azides in photoaffinity labeling is described.

Keywords: Aryl azides, photolysis, phenyl nitrene, photoaffinity labeling.

Suponiendo que la molécula se encuentre en un estado vibracional S_2 , examinemos las diversas posibilidades. En soluciones líquidas la relajación hacia el estado basal vibracional es muy rápida, y el exceso de energía es convertido en calor a través de las colisiones de las moléculas con el solvente, lo cual se conoce como relajación vibracional (RV). La transición no radiante de S_2 a un estado vibracional de otro singulete S_1 también es rápida; esto se representa por una flecha punteada horizontal y se conoce como conversión interna (CI). Del nivel vibracional cero de S_1 la molécula puede regresar al estado basal S_0 a través de varios caminos [1, 2]:

- Transición radiante con emisión de un cuanto de radiación, conocida como fluorescencia (F).
- Cruce no radiante, conocido como cruce intersistémico (CIS), acompañado de una relajación vibracional (RV) para llegar al estado electrónico triplete, T_1 , para después perder el exceso de energía a través de una transición radiante, $T_1 \rightarrow S_0$, conocida como fosforescencia (P).
- La desactivación no radiante de S_1 a S_0 puede ocurrir vía conversión interna (CI) y la subsecuente relajación vibracional (RV).

En muchos casos el cruce intersistémico es lo suficientemente rápido para competir con la fluorescencia o incluso con la relajación vibracional [2].

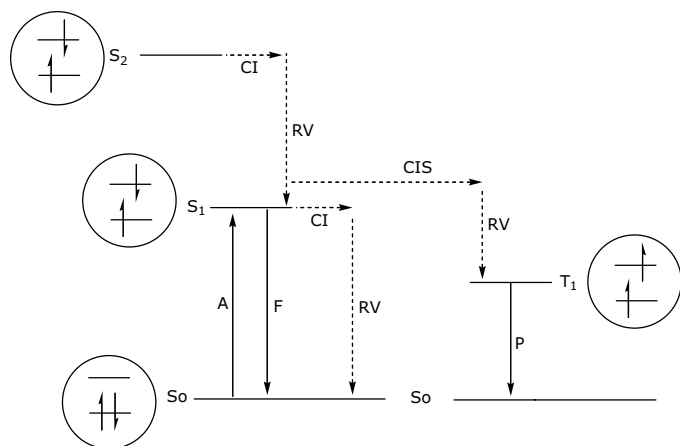


Fig. 1. Diagrama de Jablonski. La absorción (A) y los procesos de emisión (F = fluorescencia, P = fosforescencia) se representan con flechas sólidas. Los procesos de menor radiación (CI = conversión interna, CIS = cruce intersistémico, RV = relajación vibracional) se representan con flechas punteadas [2, 4].

Fotólisis de azidas aromáticas

Cuando se lleva a cabo la fotólisis de fenilazida, (**PA**, Fig. 2), se produce nitrógeno molecular, N_2 , y un fragmento de fórmula general C_6H_5N , al cual se le han asociado cuatro intermediarios reactivos: fenilnitreno singulete (1PhN), fenilnitreno triplete (3PhN), benzazirina (**BA**) y cetenimina (**CE**) [5].

Los nitrenos están involucrados en muchas transformaciones útiles en síntesis orgánica, por lo que han atraído el interés de un diverso grupo de científicos [6]. Los investigadores en fisicoquímica orgánica buscan entender el papel de estos intermediarios en las reacciones. Los químicos de materiales buscan enlazar sondas a la superficie de diversos polímeros a través de reacciones con nitrenos [7, 8]. Los bioquímicos utilizan los grupos azido ($-N_3$) como ligantes de macromoléculas biológicas, a través de la fotólisis de un complejo azida-biomolécula, lo cual puede generar un enlace covalente del ligando hacia la biomolécula [9, 10]. Esta técnica, creada por Singh y colaboradores, con carbenos, y más tarde por Knowles y Bayley, con nitrenos, es actualmente conocida como marcado por fotoafinidad [11].

La fotólisis de azidas aromáticas procede generalmente con la formación inicial del fenilnitreno singulete (1PhN), el cual, dependiendo de las condiciones de reacción, puede decaer al estado de menor energía fenilnitreno triplete (3PhN) a través del cruce intersistémico, CIS.

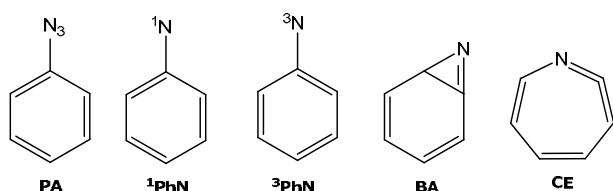


Fig. 2. Intermediarios reactivos provenientes de la fotólisis de fenilazida.

El fenilnitreno singulete fue capturado con piridina por el grupo de Platz y colaboradores, observando una absorción en el espectro UV-Vis en ~ 390 nm que fue asignada a un iluro (Fig. 3) generado por el ataque de los electrones libres del orbital sp^2 de la piridina, base de Lewis, al orbital p vacío del nitrógeno del pentafluorofenil nitreno [12].

Una vez generado el fenilnitreno, dependiendo de las condiciones de reacción puede tomar diferentes rutas para liberar su energía. En la figura 4 se esquematizan las diferentes reacciones que puede llevar a cabo, tales como abstracción de un átomo de hidrógeno (A), dimerización (B), inserción (C), reacciones de reordenamiento (D) y adición (E) [13].

Fotólisis en solución a temperatura ambiente

En 1958, Huisgen y colaboradores identificaron la azepina (**A**) como producto de la pirólisis de fenilazida en anilina [11]. Ocho años más tarde, Doering y Odum demostraron que esta misma azepina se formaba bajo la fotólisis de fenilazida en dietilamina [14]. En 1977 Carroll y colaboradores descubrieron la formación de una amina sustituida (**B**) bajo fotólisis de fenilazida en presencia de etanotiol, figura 5 [15].

Estos descubrimientos llevaron a la conclusión de que el 1PhN sufre una ciclización intramolecular para formar la benzazirina (**BA**), la cual está en equilibrio con la cetenimina (**CE**). Ambos intermediarios (**BA** y **CE**) pueden ser capturados nucleofílicamente generando anilinas sustituidas o azepinas como productos [5].

El grupo de Schuster irradió una solución de fenilazida en ciclohexano a temperatura ambiente y monitoreó el curso de la reacción por medio de espectroscopía de infrarrojo observando una banda en 1887 cm^{-1} , la cual es característica de la cetenimina. Posteriormente Chapman y LeRoux observaron la misma banda en la fotólisis de naftilazida [16, 17].

En ausencia de un nucleófilo, las moléculas de cetenimina pueden reaccionar para generar un polímero. En la figura 6 se muestra la estructura, poli-1,2-azepina, propuesta por Meijer y colaboradores en 1988 en base a sus espectros de UV-Vis e IR [18].

Gritsan y Pritchina observaron por medio de espectroscopía láser que la cetenimina, en alta dilución, puede inter-

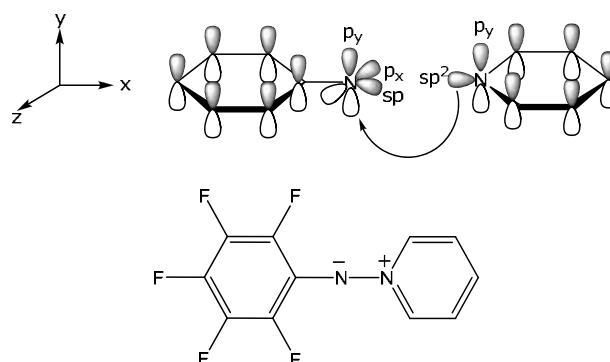


Fig. 3. Captura del pentafluoro-fenilnitreno [12].

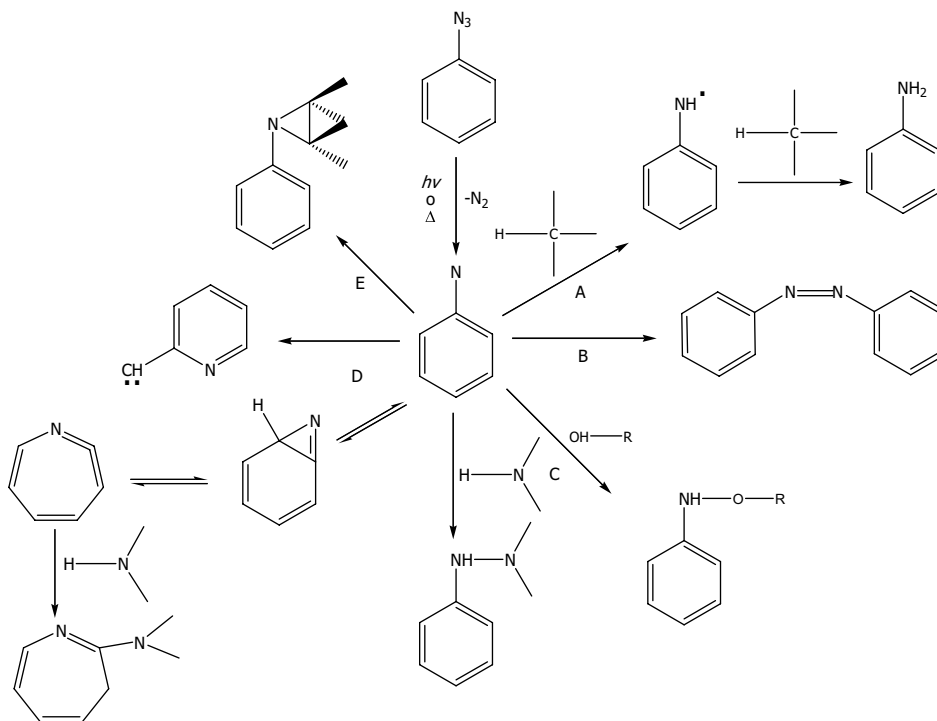


Fig. 4. Reacciones que puede llevar a cabo el fenilnitreno.

convertirse con el singulete, el cual eventualmente se relaja al triplete, de más baja energía, y experimenta dimerización generando el azobenceno [19].

Waddell y colaboradores observaron que altas concentraciones de fenilazida generan mayor porcentaje del polímero en la fotólisis, ya que al realizar la fotólisis de fenilazida en una concentración 4×10^{-3} M generó 9% de azobenceno y 91% de polímero, en cambio cuando la fotólisis se llevó a cabo en una concentración de 1×10^{-4} M el rendimiento del azobenceno aumento a un 45% [20].

Platz y colaboradores demostraron que la fotoquímica de fenilazidas en presencia de dietilamina es muy sensible a la temperatura [21]. Arriba de 200 K se forma la cetanimina (CE), pero debajo de 160 K se forma el azobenceno, producto de la dimerización del triplete (^3PhN).

En 1968, Wentrup y colaboradores estudiaron la fotólisis en gas de varios precursores del fenilnitreno y descubrieron inte-

resantes productos estables, incluyendo el cianociclopentadieno (CP, Fig. 7) formado por un proceso de contracción de anillo [22].

Miller y colaboradores reinvestigaron el espectro de los productos de la fotólisis en gas de fenilazida realizado por el grupo de Wentrup encontrando que el responsable del espectro era el radical cianociclopentadienilo (CPil) [23, 24]. Por lo que se concluyó que la fotólisis de fenilazida en gas genera ^1PhN (Fig. 8) con un exceso de energía vibracional, la cual no puede ser contrarrestada por la colisión con otras moléculas debido a que la fase es gaseosa. Por lo tanto, el ^1PhN eventualmente encuentra un mínimo, el CP, el cual contrarresta su exceso de energía perdiendo un átomo de hidrógeno para generar el radical cianociclopentadienilo (CPil) [23-25].

Fotólisis en solución a baja temperatura

En 1962, Smolinsky y colaboradores reportaron la fotólisis de fenilazida y su espectro de Resonancia de Espín del Electrón

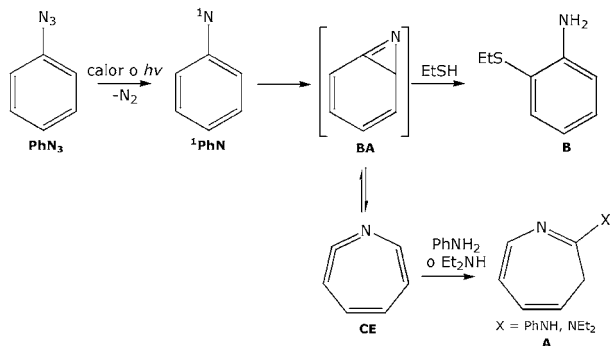


Fig. 5. Captura de benzazirina y cetanimina [15].

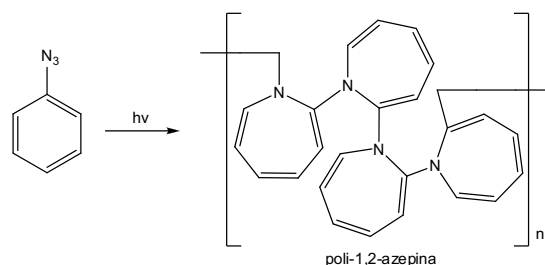


Fig. 6. Estructura del polímero generado a partir de la cetanimina [18].

(RSE) a 77 K, estableciendo con certeza que el estado basal del fenilnitreno era el triplete [26].

En 1965, Reiser y colaboradores describieron la fotoquímica y espectroscopia óptica de fenilazida en medio rígido a baja temperatura. En particular, la irradiación de fenilazida en solución a 77 K resultó en la formación de un intermedio triplete con absorciones en 241, 303 y 368 nm, estas bandas características desaparecieron conforme se calentó el cristal [27].

Un poco de tiempo después Wasserman demostró que la fotólisis de fenilazida inmovilizada en un cristal, previamente enfriado a 77 K, generó el espectro de RSE del fenilnitreno triplete (^3PhN), lo cual concordó con las conclusiones obtenidas en los estudios UV-Vis de Reiser y colaboradores [11].

El grupo de Platz estudió la fotólisis de fenilazida en presencia de dietilamina (DEA) variando la temperatura, encontrando que por debajo de 173 K se obtenía el azobenceno en lugar de la 3*H*-azepina, figura 9. También hicieron un estudio variando el tiempo de irradiación, observando que conforme se aumentaba el tiempo, el rendimiento de la 3*H*-azepina aumentaba. Estos resultados demuestran que el precursor del azobenceno (fenilnitreno triplete, ^3PhN) es un fotoproducto primario y el precursor de la 3*H*-azepina (cetenimina, CE) es producto secundario de la fotólisis [21].

En 1980, Dunkin y Thomson estudiaron la fotólisis de las naftil azidas por medio de la espectroscopia IR. Irradiaron la 1-naftil azida en argón a 10 K y observaron la formación de varias bandas entre 1708 y 1736 cm^{-1} , atribuidas a las benzazirinas. Al prolongar el tiempo de la fotólisis las benzazirinas se isomerizaron a las ceteniminas que fueron observadas con absorciones entre 1911 y 1926 cm^{-1} [28]. Muy recientemente, Wentrup y colaboradores reinvestigaron la fotólisis de 1- y 2-naftil azidas en matriz de argón, lo que les permitió asignar los espectros de UV-Vis e IR a naftilnitreno triplete, azirina y cetenimina correspondientes [29].

Tsao y Platz llevaron a cabo la fotólisis de 1-naftil azida en 3-metilpentano a 77 K y obtuvieron el espectro UV-Vis del 1-naftilnitreno singulete, el cual tuvo un tiempo de vida corto, experimentó cruce intersistémico hacia el 1-naftilnitreno

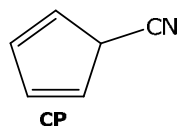


Fig. 7. Cianociclopentadieno (CP) obtenido bajo fotólisis de fenilazida en gas [22].

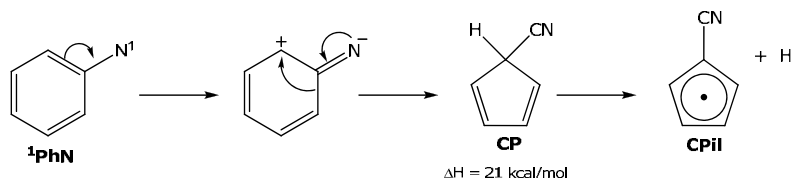


Fig. 8. Formación del cianociclopentadienilo (CPil) [23, 24].

triplete, siendo este último caracterizado por la comparación de su espectro UV-Vis, con el espectro teórico obtenido por medio de química computacional [30].

De acuerdo a los diferentes estudios realizados a temperatura ambiente y a baja temperatura, las reacciones generadas por la fotólisis de fenilazida se resumen en el esquema de la figura 10.

Tanto el cianociclopentadienilo como la cetenimina han sido identificados por UV-Vis e IR (CPil 370 y 345 nm ; 2250 cm^{-1} , CE 340 nm ; 1880 cm^{-1}) [21, 31, 32]. El fenilnitreno triplete ha sido caracterizado por fosforescencia y por espectroscopias UV-Vis y RSE (241, 303 y 368 nm ; 6700G) [21, 26, 27, 33].

Fotólisis en estado cristalino

Las reacciones químicas generalmente se llevan a cabo en un medio fluido (solución o fase gas), donde las moléculas reactivas se pueden difundir libre e isotrópicamente. Por otro lado, si la reacción se efectúa en un medio cristalino las moléculas reactivas tienen una difusión anisotrópica y restringida debido al estrecho empaquetamiento en el arreglo tridimensional [34-36]. La reactividad química en la fase sólida depende de la distancia y la orientación de los sitios de reacción de las moléculas [37-39].

El cristal ayuda a controlar la reactividad de intermediarios reactivos como nitrenos, carbenos, biradicales y pares radicales [40]. La rigidez de la matriz inhibe el movimiento y difusión de los intermediarios que están atrapados en el cristal, y por lo tanto, su reactividad en fase sólida es más selectiva que en solución, lo que propicia una reacción regio- y estereoselectiva [41]. En consecuencia, la mayoría de las reacciones moleculares en el cristal se llevan a cabo bajo un control topológico, donde la reactividad intrínseca es menos importante que el empaquetamiento de las moléculas. Puesto que la sepa-

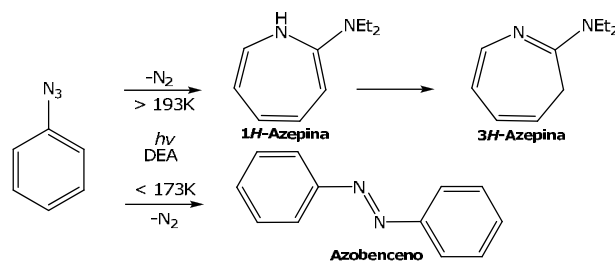


Fig. 9. Productos de la fotólisis de fenilazida dependiendo de la temperatura.

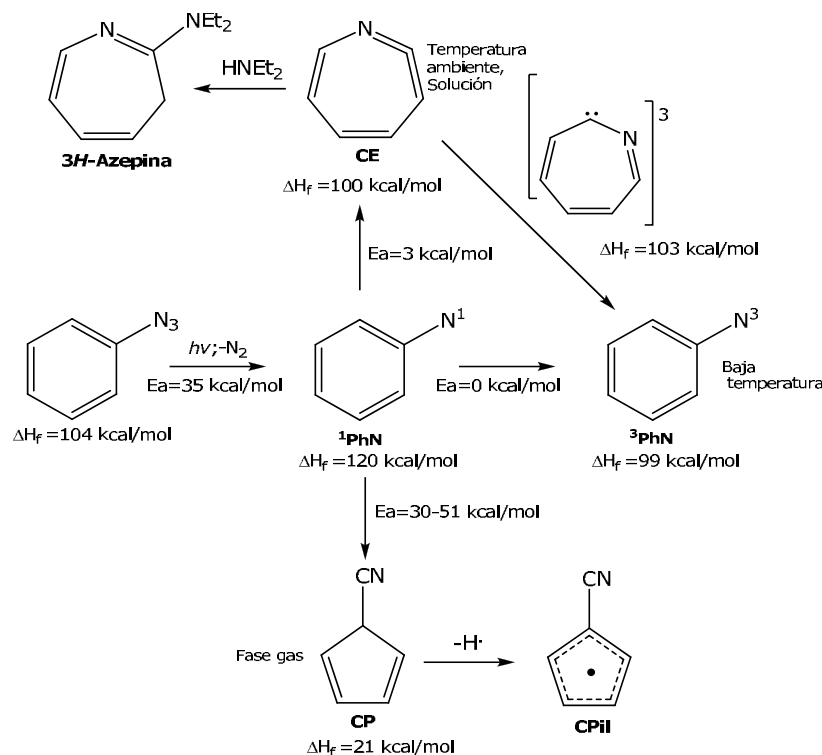


Fig. 10. Esquema general de las reacciones generadas por la fotólisis de fenilazida en diferentes condiciones y energías de activación experimentales.

ración y orientación de las moléculas reactivas está definida y controlada por la estructura del cristal, en la mayoría de los casos se generan reacciones específicas. Sin embargo, existen varios factores que controlan la estructura del cristal, como son las fuerzas intermoleculares y la presencia de diferentes tipos de defectos en el cristal, lo que ocasiona que no todas las reacciones fotoquímicas en estado sólido se lleven a cabo bajo control topoquímico [42].

Por lo anteriormente descrito, las reacciones bimoleculares en fase sólida no pueden predecirse basándose únicamente en información sobre estas mismas reacciones en solución. Sin embargo, las reacciones unimoleculares están regidas por las propiedades moleculares intrínsecas (factores conformacionales entre otros), y no por el empaquetamiento, por lo que se pueden predecir los productos que se generarán en el cristal [40, 41].

Cohen y Schmidt han estudiado diferentes reacciones en estado sólido con lo que han llegado a concluir que las reacciones en cristal proceden con un mínimo de movimiento atómico y molecular. El empaquetamiento de las moléculas vecinas rige la reactividad de la molécula. Es decir, la orientación, distancia y simetría de los grupos funcionales determinan los productos obtenidos. Esto se describe en la literatura como el control topoquímico [43-46].

Por lo tanto, la formación de productos de reacciones bimoleculares en cristal no está gobernada por la energía de activación de la reacción, sino por la barrera de difusión del fenilnitreno hacia el sitio de reacción o la molécula vecina. En cambio, en la fotólisis en solución lo crucial es pasar la barrera para la formación del producto, ya que la estabilidad del fenil-

nitreno es menor. En la figura 11 se muestra la diferencia energética en las rutas de reacción en cristal y en solución. Debido a que la barrera de difusión es alta, los productos generados en el cristal corresponden a moléculas que provienen del mínimo movimiento del intermediario.

En varios trabajos de investigación de García-Garibay y colaboradores se propone que es posible generar estructuras cristalinas que favorezcan una reacción topoquímica en particular. A través de la comprensión de los factores que determinan la estructura de la matriz del cristal, y del modelaje para predecir estructuras cristalinas de menor energía, se puede lograr un diseño estructuralmente óptimo. Entender completamente la forma en que las interacciones inter- e intramoleculares controlan el empaquetamiento de las moléculas en el cristal es útil para diseñar la unión de grupos funcionales reactivos a moléculas con la adecuada orientación y así tener una reacción fotoquímica regio- y estereoselectiva [40, 48].

Sugawara y colaboradores llevaron a cabo la fotólisis de diversas azidas aromáticas ($R = p\text{-COOH}$, $m\text{-COOH}$, $p\text{-NHCOCH}_3$, $p\text{-N(CH}_3\text{)COCH}_3$, $o\text{-C}_6\text{H}_5$, $p\text{-C}_6\text{H}_5$, $p\text{-CN}$, $p\text{-NO}_2$) en sólido a 77 K por 24 h. La reacción se finalizó a temperatura ambiente, encontrando como principal producto el azobenceno, proveniente del fenilnitreno triplete. La presencia de este intermediario se comprobó por medio de RSE, y se calculó su tiempo de vida mostrando que el triplete es estable en el cristal. A través del estudio cristalográfico de las azidas aromáticas sustituidas observaron que la orientación del grupo azido ($-\text{N}_3$) era cara a cara, lo que generó una reacción de dimerización eficiente para la formación del azobenceno [49].

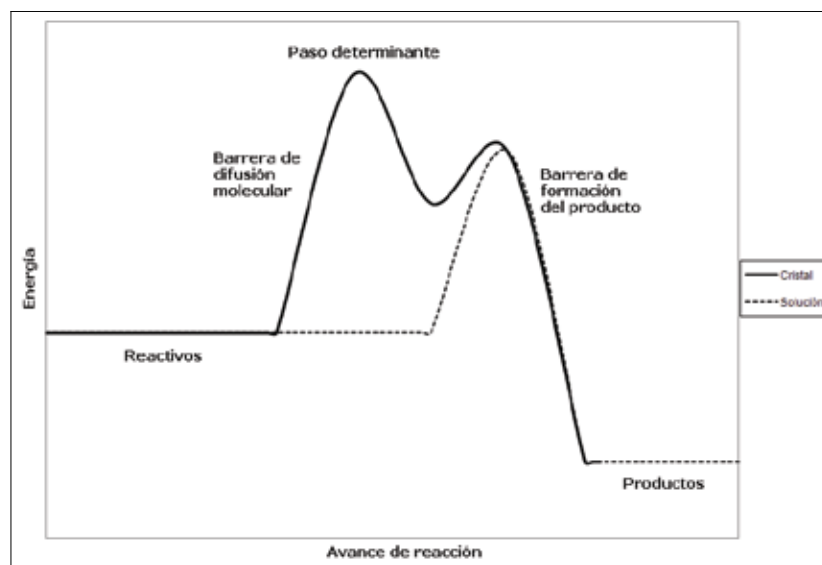


Fig. 11. Diferencia energética en las rutas de reacción en sólido y en solución [47].

Formación de polímeros

Reiser y colaboradores fueron los primeros en describir el mecanismo de formación de polímeros en la fotólisis de fenilazidas. Ellos propusieron que las moléculas de polímero (Fig. 12) eran generadas como resultado de la inserción del fenilnitreno singulete en el enlace C-H del anillo aromático [50-52].

Estos estudios llevaron al grupo de investigación de Yabe y colaboradores a proponer la formación de azopolímeros resistentes. En la figura 13 se muestra el esquema para la formación de azopolímeros [52].

Zelentsov y colaboradores propusieron un mecanismo para la formación del azopolímero bajo fotólisis de *p*-fenildiazida en medio cristalino (Fig. 14). Este consistía en la descomposición de la azida para generar el fenilnitreno singulete que experimenta CIS a triplete y reacciona con una molécula de azida adyacente formando un biradical. En el siguiente paso el intermediario formado puede reaccionar con otra molécula de azida y dar lugar a la formación del azopolímero [53].

El grupo de investigación de Oleinik concluyó que el mecanismo para la formación del azopolímero termina con la reacción de abstracción de un hidrógeno [54].

La aplicación de dos valiosas herramientas: fotólisis láser y cálculos *ab initio*, permitió realizar estudios detallados acerca de los intermediarios presentes en la fotólisis de azidas aromáticas sustituidas.

Radiación láser

La palabra "láser" es un acrónimo derivado de "light amplification by the stimulated emission of radiation" [55]. La espectroscopía láser es una metodología para inducir y examinar la transformación de la materia en tiempo real, en una escala de tiempo de femtosegundos (10^{-15} s). El uso de láser permite el registro de concentraciones traza de estados de transición,

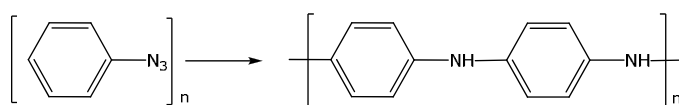


Fig. 12. Formación del polímero a partir del fenilnitreno [52].

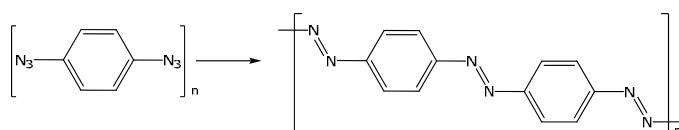


Fig. 13. Formación de azopolímeros [52].

intermediarios de reacción, fragmentos provenientes de fotodisociaciones. Además por medio de radiación láser se logra una mayor cantidad de fotones que produce la disociación y/o ionización [55-56].

La interacción entre la radiación láser y las moléculas puede ser muy selectiva, permitiendo a los químicos investigar si la energía necesaria para el movimiento molecular o la excitación pueden influir en la reactividad. El proceso fotoquímico se puede realizar con suficiente control, además usando la técnica de excitación y registro en femtosegundos, se pueden estudiar reacciones ultrarápidas en tiempo real. La espectroscopía láser puede ser utilizada tanto para estudiar la formación de intermediarios o productos [56].

Estudios teóricos de los intermediarios producidos en la fotólisis de la fenilazida

Los cálculos computacionales ayudan a relacionar los intermediarios con su estabilidad, y comprender como afecta la estabilidad de las moléculas la presencia de diferentes sustituyentes,

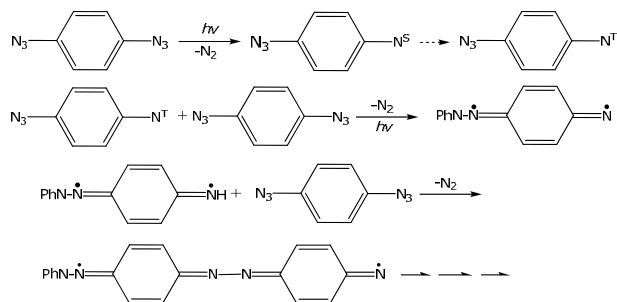


Fig. 14. Mecanismo propuesto para la formación del azopolímero [53].

además de poder determinar los diferentes estados electrónicos excitados en la fotólisis, comprobando así lo encontrado en estudios previos [57].

Smith y Cramer llevaron a cabo el estudio computacional de los estados excitados del fenilnitreno. En la figura 15 se representa la estructura y energía de los diferentes estados del fenilnitreno. El estado basal corresponde a un triplete (3A_2), el primer estado excitado es un singulete abierto (1A_2) que se encuentra 18 kcal/mol arriba del triplete, y un estado más alto en energía corresponde a un primer singulete cerrado (todos los electrones apareados) (1^1A_1). Para este estado no se tiene un valor experimental de su energía referida al triplete (3A_2), pero por medio de cálculos de interacción de configuraciones (CISD+Q) se le asignó un valor de 31-39 kcal/mol sobre el triplete. La configuración electrónica de este singulete cerrado corresponde a la doble ocupación del orbital *p* del nitrógeno que se encuentra en el plano del anillo aromático [58].

Existe otro singulete cerrado de mayor energía (2^1A_1) que se deriva de la excitación del par electrónico del orbital *p* hacia el sistema aromático π con un valor energético estimado de 52 kcal/mol arriba del triplete. [58].

Diferentes grupos de investigación han llegado a la conclusión de que el fenilnitreno que participa en las diferentes reacciones es el fenilnitreno singulete abierto (1A_2) [7].

Estudios realizados por Doering y Odum concluyeron que el fenilnitreno singulete (1PhN) experimenta expansión de anillo hacia la cetanimina (CE) vía el intermediario benzazirina (BA) [14]. Años más tarde Karney y Borden (Fig. 16) estudiaron esta ruta de reacción a través de cálculos computacionales CASSCF y CASPT2N [59].

El primer paso es la ciclización del 1PhN hacia BA, siendo el paso determinante. El estado de transición correspondiente, (ET1), tiene una geometría donde el nitrógeno se encuentra fuera del plano del anillo. La BA se forma a través de un enlace entre el orbital atómico ocupado σ del nitrógeno y el orbital atómico $p-\pi$ de uno de los carbonos *orto*, dejando al nitrógeno aproximadamente 60° fuera del plano del anillo [59].

En la figura 17 se muestra el paso de BA hacia CE que involucra la apertura de un anillo electrocíclico distorsionado de seis miembros donde la cetanimina formada no se encuentra plana; por ejemplo, el ángulo diedro C7-N1-C3-C4 es de 36° [59].

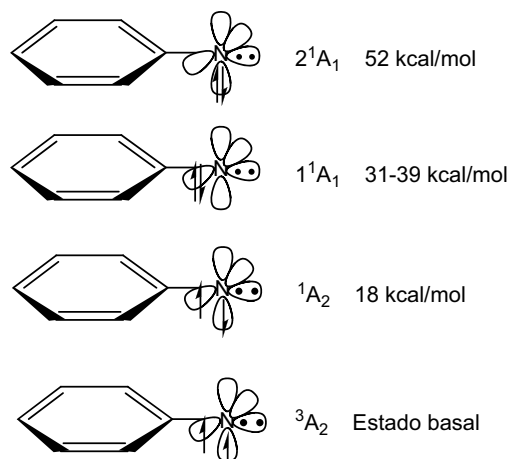


Fig. 15. Estructura y energía de los estados del fenilnitreno [58].

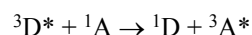
Estudios de azidas aromáticas sustituidas

Se han reportado estudios de fotólisis de azidas aromáticas con diferentes sustituyentes mostrando que los intermediarios y productos generados en la fotólisis dependen de la posición y características del sustituyente.

Fluoro-fenilazidas

Dunkin observó que la fotólisis de las 2,6-difluoro- y 2,6-dimetil-fenilazidas en argón a 10 K generaron el fenilnitreno triplete, ya que a través del análisis IR no se observó evidencia de las cetaniminas correspondientes [60].

La fotólisis sensibilizada se refiere a una reacción fotoquímica de una azida aromática en presencia de un reactivo sensibilizador, es decir, una molécula donadora (D) que fácilmente forme un estado triplete debido a que la diferencia entre sus estados singulete y triplete es pequeña, y transfiera energía favoreciendo el CIS del fenilnitreno singulete, molécula aceptora (A), al correspondiente triplete.



Platz y colaboradores llevaron a cabo la fotólisis directa y sensibilizada de pentafluoro fenilazida en tolueno, encontrando productos provenientes tanto del singulete como del triplete (Fig. 18). El singulete generó como productos anilinas sustituidas provenientes de la inserción CH aromático y CH₃. Este último producto también se formó en la fotólisis sensibilizada, además del decafluoro azobenceno y pentafluoro anilina, generados por la dimerización del pentafluoro-fenilnitreno triplete, y por la abstracción de átomos de hidrógeno respectivamente [61].

Platz y colaboradores reportan cálculos *ab initio* del pentafluorofenil nitreno, encontrando que el nitrógeno tiene una hibridación *sp*, donde uno de los orbitales *p* está doblemente ocupado y se encuentra en el plano del anillo aromático. El orbital *p* vacío del nitrógeno se conjuga con los pares de

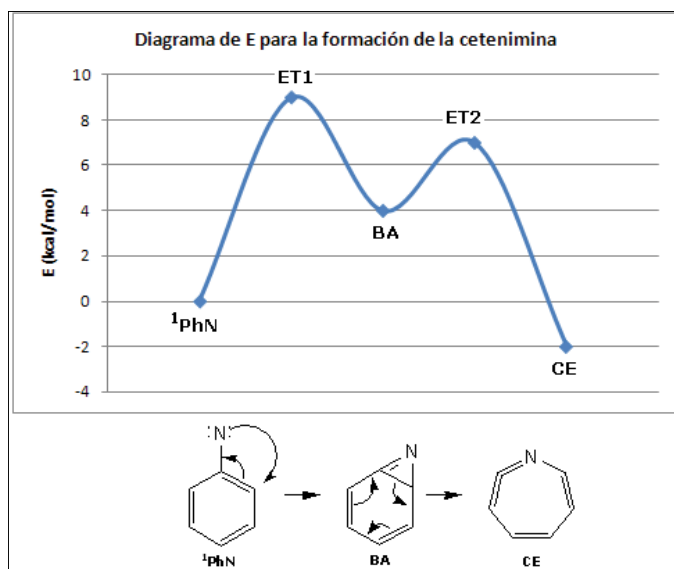


Fig. 16. Diagrama de energía calculado por Karney y Borden con CASPT2N/6-311G(2d,p), y mecanismo para la formación de la cetenimina [59].

electrones libres del átomo de flúor en posición *orto*. Como se muestra en la figura 19 la expansión de anillo es retardada porque se requiere el movimiento fuera del plano de los electrones del enlace C-C hacia el orbital *p* ocupado del nitrógeno, por lo tanto es necesaria la promoción hacia el singulete de mayor energía en el cual el rearreglo es más factible porque ahora el orbital ocupado es el *p* que se encuentra conjugado con el sistema π [11].

Smith y Cramer compararon la estabilidad de los fluoro-fenil nitrenos (FPhN) utilizando los métodos BLYP/cc-pVTZ//BLYP/cc-pVDZ encontrando que cuando se tienen sustituyentes *o,o*-diF o *p*-F se estabiliza el primer singulete cerrado, 1^1A_1 , y se desestabiliza el segundo, 2^1A_1 . En cambio, cuando se tienen los sustituyentes en posición *meta* disminuye la separación energética entre los dos singuletes cerrados, Fig. 15 [58].

La estabilidad del primer singulete cerrado, 1^1A_1 , en los sistemas *diorto*- y *para*-sustituidos puede deberse a la polarización electrónica del sistema aromático π . En los singuletes cerrados existe una densidad electrónica negativa en los átomos de flúor y carbonos *orto* y *para*. En el primer singulete cerrado, 1^1A_1 , de los *diorto*- y *para*-sustituidos la densidad de carga negativa se encuentra adyacente al orbital vacío *p* del nitrógeno, lo que promueve una formación parcial de un doble enlace en el átomo de nitrógeno deficiente en electrones, haciendo el enlace C-N más corto. Por otro lado, en el segundo singulete cerrado, 2^1A_1 , la polarización resulta en una interacción repulsiva entre la densidad localizada en el nitrógeno y el carbono *ipso*. Nuevamente esto se refleja en la longitud del enlace C-N, haciéndose más largo. En el caso del *m,m*-diFPhN no se observa ningún efecto, por lo que la reactividad de este estado es similar a la del fenilnitreno [58].

Leyva y colaboradores han estudiado la fotólisis de fenilazidas fluoradas en presencia de nucleófilos (piridina o DEA), observando que la expansión de anillo se lleva a cabo hacia el carbono no sustituido. En el caso de tener la azida *o,o*-difluorada solo se obtiene la hidrazina, proveniente de la abstracción de hidrógeno por el fenilnitreno, figura 20. Esto también se observó en el caso de la pentafluoro fenilazida [62-63].

El grupo de Platz obtuvo la estructura cristalina del iluro proveniente de la reacción del pentafluorofenil nitreno con piridina (Fig. 3), que presentó una banda de absorción en 390 nm. Cuando llevaron a cabo la fotólisis en bajas concentraciones de piridina, observaron una banda alrededor de 520 nm, que correspondía al iluro de la pentafluoro-cetenimina [62]. En este experimento el nitreno singulete se expande a la cetenimina antes de reaccionar con la piridina.

La fotólisis de 2,6-difluoro fenilazidas en ambientes hidrofóbicos genera el intermediario fenilnitreno singulete, el cual puede reaccionar con aminas, sulfuros, sulfóxidos, alquenos y con menor eficiencia con anillos aromáticos y enlaces CH no reactivos. Por lo tanto, estas azidas pueden ser reactivos eficientes en el marcado por fotoafinidad de aminoácidos. Por otro lado, la fotólisis de 2,6-difluoro fenilazida en ambientes

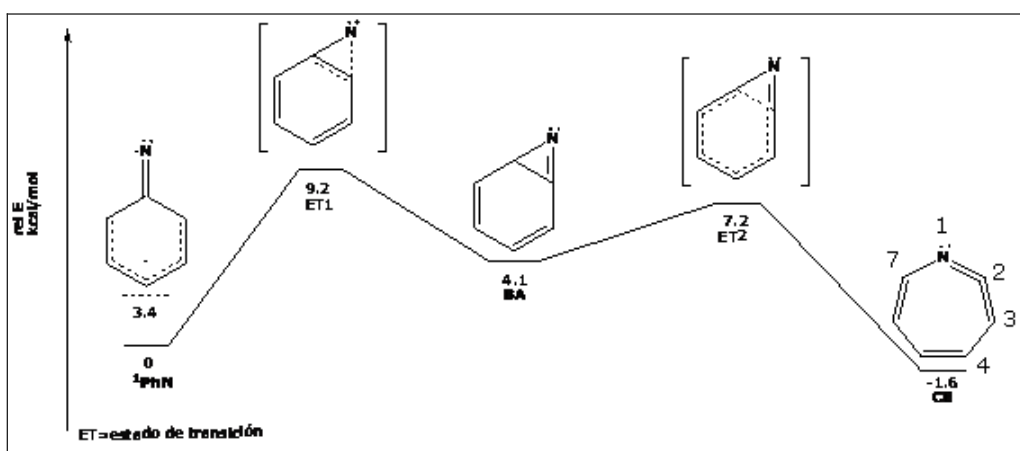


Fig. 17. Diagrama de energía para la formación de cetenimina, calculado por Karney y Borden con CASPT2(8,8)/6-31G(2d,p)/CASSCF(8,8)/6-31G* [59].

hidrofílicos genera fenilnitreno triplete a través del cruce inter-sistémico. Este intermediario puede llevar a cabo reacciones radicales con aminoácidos [63].

Usando el método CASPT2N, Karney y Borden encontraron que cuando se tiene un sustituyente *o*-flúor la barrera para la ciclización hacia la benzazirina (Fig. 21) se incrementa en aproximadamente 3.5-4.5 kcal/mol, a través de una combinación de factores estéricos y electrónicos, por lo que la ciclización hacia el carbono no sustituido es más rápida [64, 65].

Se cree que ese incremento en la barrera energética es debido a la inestabilidad de la cetenimina formada, ya que existe repulsión entre los dos carbonos adyacentes al N con doble enlace, porque ambos carbonos están enlazados a átomos electronegativos (N y F) y por lo tanto tienen una carga parcial positiva, figura 22 [65].

Leyva y de-Loera irradiaron la 7-azido-1-etil-3-carboxilato-6,8-difluoroquinolona en cloroformo/DEA obteniendo el derivado hidrazina y la correspondiente amina como productos, figura 23. Los productos formados se deben a la presencia de átomos de flúor en las posiciones *orto*, lo que evita la formación de la cetenimina. Por lo tanto esta azida puede tener

importantes aplicaciones en el marcado por fotoafinidad por presentar altos rendimientos de productos de inserción. [70]

La eficiente reacción de inserción del pentafluoro-fenilnitreno singulete en los enlaces C-H y N-H, figuras 18 y 20, llevó a proponer a las azidas precursoras de estos intermediarios como reactivos para el marcado por fotoafinidad, reactivos en síntesis orgánica y modificaciones covalentes de superficies poliméricas [5, 6, 66-69].

Alquil-fenilazidas

Cuando el sustituyente en el anillo aromático es un grupo alquilo, la energía para la ciclización del fenilnitreno hacia la benzazirina y posteriormente a la cetenimina no se ve severamente modificada, ya que cuando se lleva a cabo la descomposición térmica o fotolítica de *o*-alquil fenilazidas en presencia de aminas primarias se generan las 2-alquilamino-3*H*-azepinas. Sundberg y colaboradores llevaron a cabo la fotólisis en presencia de DEA, de una variedad de fenilazidas alquiladas, obteniendo como productos principales anilinas y

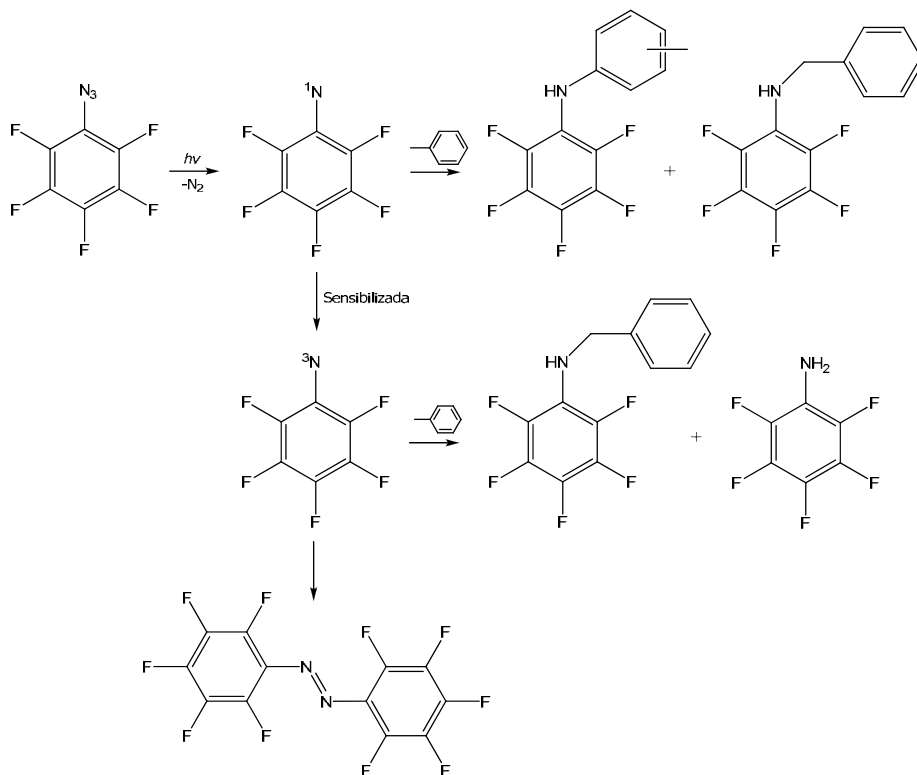


Fig. 18. Productos de la fotólisis de pentafluoro-fenilazida [61].

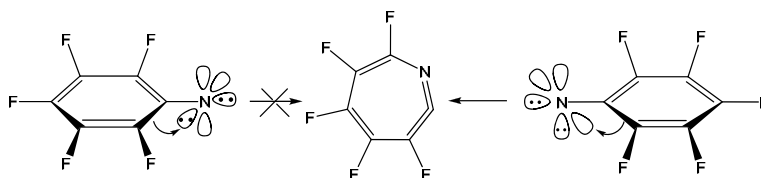


Fig. 19. Formación de la pentafluoro cetenimina [11].

3*H*-azepinas, en la Tabla 1 se muestran las azidas estudiadas y los rendimientos de sus productos [71].

Cuando se tienen dos sustituyentes *orto* el rendimiento de la anilina se ve incrementado debido a que la formación de la cetanimina es ligeramente retardada por la presencia de los grupos alquilo [71].

Gritsan y colaboradores estudiaron la fotólisis de fenilazidas metiladas, observando que el tiempo de vida del 2,6-dimetilfenilnitreno aumentaba alrededor de 12 ns a temperatura ambiente e incrementaba la barrera energética para la ciclización por 2 kcal/mol [72].

Tsao y Platz llevaron a cabo el estudio de la fotólisis de fenilazidas con sustituyentes *o,o'*-dietil, dimetil, diisopropil y 2,4,6-triterbutil para poder explicar el efecto estérico debido a los sustituyentes alquilo [73].

Cuando se tienen grupos metil o etil la energía de activación necesaria para la ciclización se ve incrementada en comparación con el fenilnitreno, sin sustituir, en cambio cuando se tienen grupos isopropil o terbutil la energía de activación disminuye. En la figura 24 se observa que la distancia N a H del sustituyente en el estado de transición, disminuye cuando se tienen presentes grupos alquilo pequeños y en el caso de tener grupos alquilo voluminosos esa distancia aumenta, por lo que en el 2,6-dimetil fenilnitreno el efecto estérico se ve incrementado, en cambio en el caso del 2,6-diterbutil fenilnitreno ese efecto se ve disminuido por el ligero aumento en la distancia N a H [73].

Ciano-fenilazidas

La ciclización hacia el carbono *orto* sustituido es mucho más rápida cuando el sustituyente es un ciano y no un metilo o flúor. Smalley y colaboradores estudiaron la fotólisis de varios *o*-azido benzonitrilos en tetrahidrofurano(THF)-agua donde encontraron como producto principal el inesperado isómero 7-ciano, proveniente de la ciclización hacia el carbono sustituido por el ciano, y en algunos casos el isómero 3-ciano, de

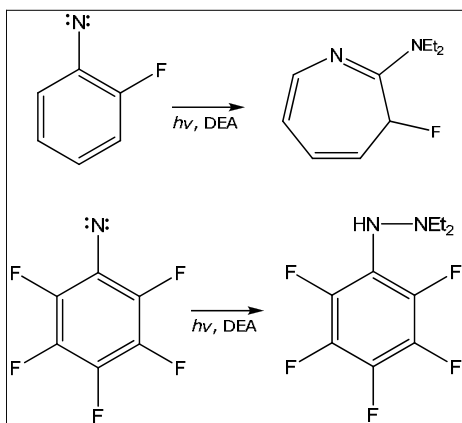


Fig. 20. Productos obtenidos en la fotólisis de 2-fluoro-fenilazida y pentafluoro-fenilazida [63].

la ciclización hacia carbono no sustituido. En la Tabla 2 se muestran los *o*-azido benzonitrilos estudiados y las azepinonas obtenidas a través de la reacción de la cetanimina correspondiente con el agua del medio [74].

Gritsan y colaboradores realizaron estudios experimentales y computacionales de fenilnitrenos con sustituyentes ciano en diferentes posiciones, utilizando los métodos CASSCF(8,8) y CASPT2/6-31G*, encontrando que el 2-ciano y 2,6-diciano fenilnitrenos tienen una barrera de energía menor para la ciclización que el 4-ciano. Además, de un ligero aumento en la barrera energética de la ciclización hacia el carbono no sustituido en comparación con la ciclización hacia el carbono sustituido con ciano. Esto se puede deber a que el sustituyente ciano, al ser un grupo electroattractor, mantiene al radical nitreno en estado singulete abierto en el carbono unido al grupo ciano (1A_2 , figura 15), lo que facilita la ciclización hacia ese carbono. Esto hace que la barrera energética para la ciclización en 2-ciano y 2,6-diciano fenilnitreno sea menor que la del fenilnitreno sin sustituir [75].

Marcado por fotoafinidad

Uno de los estudios bioquímicos más utilizados en biología es el reconocimiento específico de un ligando a su receptor proteico. El marcado por fotoafinidad es una técnica capaz de proveer el etiquetado directo de la proteína a través de un enlace covalente entre el ligando y el receptor específico. Los bioquímicos utilizan esta técnica para fijar ligandos a los sitios de enlace de macromoléculas biológicas [11].

El marcado por fotoafinidad se aplica en el descubrimiento y desarrollo de fármacos, ya que puede dar la información estructural del punto de interacción fármaco-receptor. Con el surgimiento de nuevas técnicas, como la química combinatoria y DNA recombinante, el marcado por afinidad se ha convertido en una vía más rápida y sensible para la identificación del par fármaco-receptor, así como para la elucidación del mecanismo molecular [76].

La fotólisis de un ligando modificado genera un intermediario reactivo que reacciona fácilmente con la biomolécula

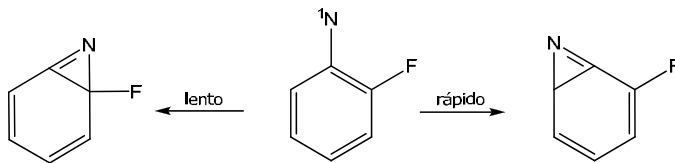


Fig. 21. Posible benzazirina del 2-fluorofenil nitreno [64].

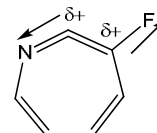


Fig. 22. Cargas parciales generadas en la 3-fluoro-cetanimina [65].

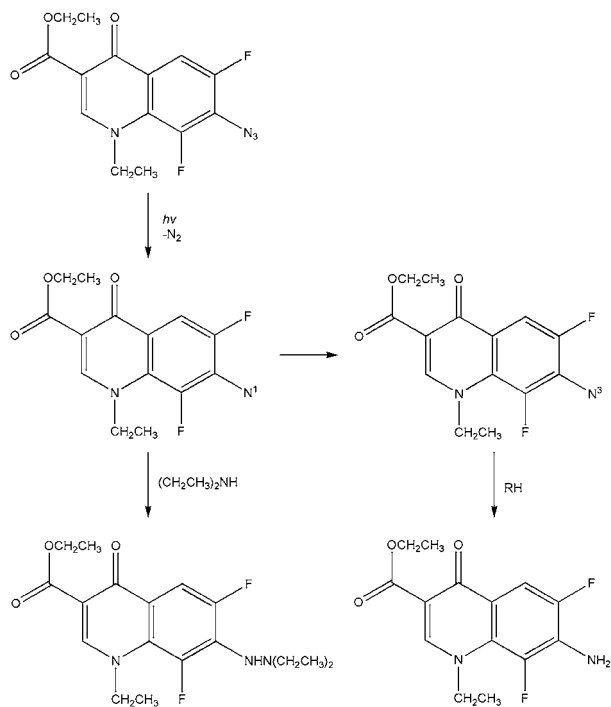


Fig. 23. Productos obtenidos en la fotólisis de 7-azido-1-etil-3-carboxilato-6,8-difluoroquinolona [70].

produciendo un enlace covalente, entre el ligando y el receptor. Este enlace se lleva a cabo a través de reacciones de inserción C-H o N-H, típicas del singulete, o la abstracción de un hidrógeno por el triplete para formar un par radical que puede combinarse para generar el producto de inserción. Por lo tanto para que una molécula sea utilizada como marcador debe realizar eficientemente este tipo de reacciones [7, 11, 77].

En un reactivo para marcado por fotoafinidad lo ideal es que el ligando modificado mantenga su habilidad de no unirse covalentemente con el sitio receptor antes de la fotólisis. El éxito de esta técnica depende de la formación de un enlace covalente estable en un sitio cercano al receptor y que este enlace sea capaz de mantenerse, resistiendo los procedimientos analíticos (electroforesis, proteólisis, etc...) que se llevan a cabo para el mapeo topológico del sitio receptor [77].

Las fenilazidas no sustituidas pueden ser utilizadas para localizar sitios de unión en receptores, a pesar de que la eficiencia en la formación de productos de inserción es muy baja, debido a que generan azepinas o polímeros, por lo que no son apropiadas para su aplicación en medicina nuclear [77]. En cambio, los fenilnitrenos polifluorados han sido propuestos como buenos reactivos marcadores debido a que la formación

de la cetenimina se ve disminuida por el incremento en la barrera energética, favoreciéndose los productos de inserción [7, 11].

Una de las mejores aplicaciones de los reactivos marcadores está en medicina nuclear, donde son útiles para el diagnóstico y terapia con radioisótopos (^{99}Tc , ^{109}Pd , ^{186}Re). Estos últimos deben ser enlazados a anticuerpos, desde donde envían “balas mágicas” para marcar células cancerígenas. En esta clase de marcado por fotoafinidad es más importante la accesibilidad del marcador que contiene el radioisótopo hacia cualquier parte de la macromolécula y la eficiencia con la cual se forma un enlace covalente estable, en lugar de que el enlace se lleve a cabo en el sitio receptor [77].

Una desventaja de las perfluoro fenilazidas es que presentan su máximo de absorción cerca de 260 nm, que es la región donde las proteínas y los ácidos nucleicos absorben. Introducir grupos nitro en el anillo aromático genera un desplazamiento batocrómico en el máximo de absorción [78]. Keana y colaboradores llevaron a cabo el estudio de la fotólisis del 4-azido-tetrafluoro-benzoato de metilo (ATFB) y el 4-azido-3-nitro-tetrafluoro-benzoato de metilo (NO_2ATFB) en tolueno a 350 nm, observando que para el NO_2ATFB el producto mayoritario fue la amina sustituida (71%). Esto indica que tener un grupo nitro aumenta la velocidad del cruce intersistémico y ocasiona la formación de productos del triplete [7].

Platz y colaboradores llevaron a cabo la fotólisis de fenilazidas sustituidas con yodo, encontrando que la presencia de yodo y azida en el mismo anillo disminuye la eficiencia de los experimentos de fotomarcado, ya que cuando realizaron la fotólisis de la *o*- y la *p*-yodo fenilazida en DEA no se detectó la formación de las hidrazinas correspondientes, en su lugar el producto obtenido fue la anilina. Esto indica que el yodo induce el cruce intersistémico [79].

Keana y colaboradores encontraron resultados similares en la fotólisis de 4-azido-yodo-perfluoro benzoatos, por lo que este grupo diseñó un compuesto donde el átomo de yodo se encontrara en un anillo vecino al anillo que contenía el grupo azida, figura 25. Este nuevo compuesto generó un aumento en los productos de inserción NH, por lo que tener el átomo de yodo en un anillo diferente al de la azida reduce el efecto de promover el cruce intersistémico y por lo tanto genera un fotomarcador eficiente [80].

Pandurangi y colaboradores han reportado que la eficiencia de la inserción, del fenilnitreno singulete a enlaces C-H y N-H, se ve favorecida por la presencia de grupos electro-atradores, ya que observaron que tener grupos como nitro, ciano, carbonilo, fluoro y trifluorometil en posición *para* a la azida incrementa la inserción en un 30 a 60%, mientras que tener grupos electro-donadores como amina reduce la eficiencia; ellos concluyeron que cualquier efecto de conjugación a través del anillo que incremente la densidad electrónica del nitreno reduce su capacidad electrofilica y por lo tanto disminuye su reactividad [77].

La química de coordinación de los quelatos de metales de transición juega un papel importante en la medicina nuclear, monitoreo por imagen o terapias de cáncer. La principal apli-

Tabla 1. Productos de la fotólisis de fenilazidas en presencia de DEA [71].

Fenilazida	Anilina (%)	3H-azepina (%)
<i>o</i> -metil	~10	67
<i>o,p</i> -dimetil	30	28
<i>o,o,p</i> -trimetil	34	33

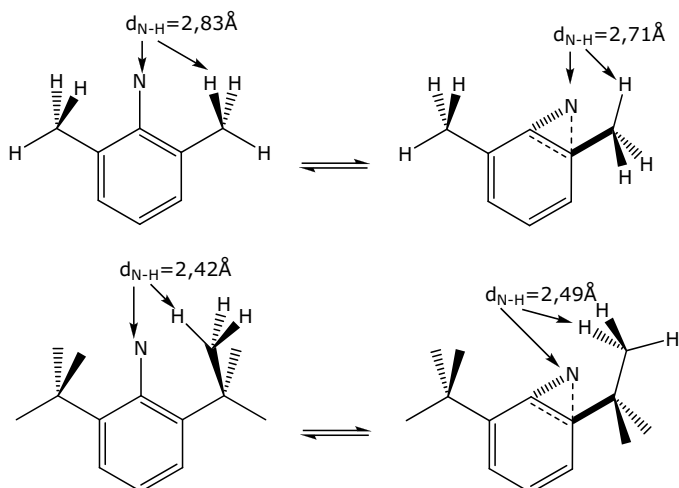


Fig. 24. Formación de estados de transición *o*-dimetil y *o*-diterbutil [72].

cación de los quelatos metálicos como marcadores de sistemas biológicos gira alrededor de los metales de transición como el tecnecio, paladio, rodio y renio, utilizados en los diagnósticos de cáncer y enfermedades cardiovasculares debido a sus propiedades nucleares. Un agente quelante bifuncional contiene un grupo quelante y un grupo de conjugación químicamente reactivo para la formación de enlaces covalentes. El análogo fotoquímico de estos agentes posee un grupo fotoactivo y un metal de transición, preferentemente separados espacial y electrónicamente. Los agentes quelantes bifuncionales utilizados en marcado deben tener ciertas características como: estabilidad *in vivo* de los enlaces de coordinación entre el metal y el ligando funcionalizado, así como mantener las propiedades para la inserción fotoquímica del marcador después de la modificación [77].

La aplicación de las técnicas de fotomarcado en medicina nuclear depende de varios factores: la selección de un agente quelante bifuncional altamente específico, la fácil preparación de los complejos (Renio o Tecnecio) y la preservación del grupo azida después de la complejación con el metal [81].

El grupo de Pandurangi llevó a cabo la síntesis y fotólisis en presencia de DEA de un agente quelante bifuncional de Renio, Re-MAG₃ (mercaptoacetilglicilglicina), figura 26. Encontraron como producto mayoritario la hidrazina originada por la inserción del fenilnitreno singulete en el enlace N-H de la dietilamina. El espectro de masas de la hidrazina muestra

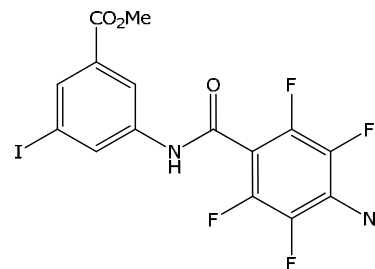


Fig. 25. Estructura del 3-(4-azido-tetrafluorobenzamido)-5-yodo-benzoato de metilo, estudiado por Keana y colaboradores [80].

las señales en 764.3 y 766.3 (*m/z*) correspondientes a los isótopos 185 y 187 del Renio, lo que demuestra que el complejo de Renio se mantiene estable durante las condiciones de fotólisis [81].

Este grupo de investigación también realizó la conjugación fotoquímica del agente quelante (Re-MAG₃) con suero de albúmina humana. Estos experimentos demostraron que la inserción intermolecular ocurrió eficazmente, sin la oxidación del metal (Renio) o la reducción del grupo azida, y que en las condiciones fotoquímicas no se llevó a cabo la descomplejación del metal; concluyendo que la conjugación fotoquímica es una técnica útil para el marcado de tejidos por medio de iones metálicos [81].

Las fenilazidas también han sido ampliamente utilizadas para obtener información estructural acerca de los complejos proteína-ADN o ARN. Weeks y colaboradores estudiaron la fotólisis de 3-hidroxi fenilazidas como posibles marcadores de ARN. Los resultados mostraron que la unión de la 3-hidroxi fenilazida con el ARN involucró un intermediario, cetanimina, que reaccionó fácilmente con los nucleótidos, por lo que esta azida puede ser una herramienta para la elucidación estructural en la dinámica de las moléculas de ARN [82].

El ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA) es un compuesto que ha tenido un desarrollo como potencial agente quimioterapéutico en el tratamiento de cáncer, debido a que induce la apoptosis en células transformadas. El mecanismo de este tipo de compuestos no está completamente comprendido, por lo que el grupo de Richon sintetizó un reactivo para el marcado por fotoafinidad basado en la estructura del SAHA (Fig. 27) y estudio el enlace SAHA-proteína en células eritroleucémicas de murino. A través de esto pudieron identificar la proteína involucrada en la interacción entre la célula y el compuesto [83].

Tabla 2. Productos de la fotólisis de *o*-azido benzonitrilo en THF-agua [74].

<i>o</i> -azido benzonitrilo R	3-ciano-3 <i>H</i> -azepin-2(1 <i>H</i>)-ona	7-ciano-3 <i>H</i> -azepin-2(1 <i>H</i>)-ona
4-Cl	30%	25%
5-Cl	—	10%
5-Me	14%	14%
5-CN	—	—

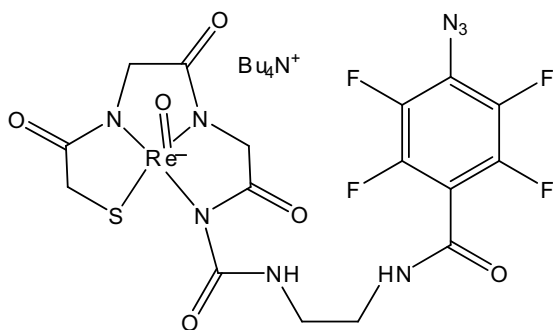


Fig. 26. Agente quelante bifuncional de Renio (Re-MAG₃) [81].

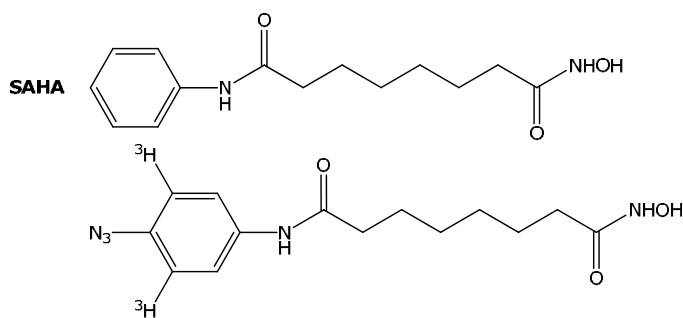


Fig. 27. SAHA y reactivo fotomarcador derivado del SAHA [83].

Conclusiones

La mayoría de los estudios sobre fotólisis de azidas aromáticas se han centrado en encontrar las condiciones de reacción que favorecen los diferentes intermediarios, ya que dependiendo de los sustituyentes en el anillo ocurrirán diferentes reacciones y es deseable generar solo ciertos productos. Dichos estudios se han realizado principalmente en medio fluido, donde el principal inconveniente es la polimerización de la cetenimina cuando no se tiene presencia de un solvente nucleofílico, lo que reduce el rendimiento del producto principal. La fotólisis en medio cristalino presenta una buena metodología para evitar ese inconveniente y generar de forma selectiva los productos deseables, ya que se desfavorece la polimerización debido a la rigidez de la matriz, generando un solo producto con alto rendimiento. Existe únicamente un estudio de fotólisis de azidas aromáticas en medio cristalino, aunque las condiciones de reacción favorecen el cruce intersistémico hacia el triplete por mantener la solución a temperaturas por debajo de 196 °C. Es conveniente ampliar el estudio de la fotólisis en estado cristalino, en condiciones que no utilicen temperatura baja, así como estudiar los sustituyentes que favorecen la formación de heterociclos, azobencenos, y azepinas. Como la principal aplicación biológica de las azidas aromáticas es en el marcado por fotoafinidad, se debe continuar el estudio de diversos sistemas con posibles aplicaciones como reactivos marcadores, buscando compuestos que generen rendimientos altos de inserción y sean buenos candidatos para su aplicación biológica.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT, por el financiamiento otorgado a través de la beca de doctorado (registro No. 176877) y convenio de investigación (SEP-2004-C01-45936). Al Fondo de Apoyo a la Investigación, FAI, de la UASLP (convenio CO8-FAI-01-1.1). Al Fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica y Tecnológica CONACYT-Gobierno del Estado de San Luis Potosí (convenio FMSP-2006-C01-62891, Modalidad C, "Fortalecimiento del Doctorado en Ciencias Químicas").

Referencias

- Castellan, G. W. *Fisicoquímica*. 2a edición. Pearson, Addison Wesley, **1998**.
- Klessinger, M.; Michl, J. *Excited States and Photochemistry of Organic Molecules*. New York: VCH Publishers, Inc., **1995**.
- Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Métodos Espectroscópicos en Química Orgánica*. Editorial Sintesis S.A., **1995**.
- Turro, N. *Modern Molecular Photochemistry*. University Science Books, **1991**.
- Smith, P. A. S.; Platz, M. S. *Azides and Nitrenes*. San Diego, CA: Scriven, E. F. V., **1984**.
- Smith, M. B.; March, J. *Advanced Organic Chemistry*. 5a edición. New York: John Wiley & Sons, Inc., **2001**.
- Keana, J. F. W.; Cai S. X. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3640.
- Cai, S. X.; Keana, J. F. W. *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 38.
- Bayley, H. *Photogenerated Reagents in Biochemistry and Molecular Biology*. Amsterdam: Elsevier, **1983**.
- Fleming, S. A. *Tetrahedron*. **1995**, *51*, 12479.
- Moss, R. A.; Platz, M. S.; Jones Jr., M. *Reactive Intermediate Chemistry*. Wiley-Interscience, **2004**.
- Gritsan, N. P.; Zhai, H. B.; Yuzawa, T.; Karweik, D.; Brooke, J.; Platz, M. S. *J. Phys. Chem. A*. **1997**, *101*, 2833.
- Horspool, W. M.; Song, P. S. *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*. CRC Press, Inc., **1995**.
- Doering, W.; Odum, R. A. *Tetrahedron* **1966**, *22*, 81.
- Carroll, S. E.; Nay, B.; Scriven, E. F. V.; Suschitzki, H.; Thomas, D. R. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 3175.
- Chapman, O. L.; LeRoux, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 282.
- Li, Y-Z.; Kirby, J. P.; George, M. W.; Poliakoff, M.; Schuster, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8092.
- Meijer, E. W.; Nijhuis, S.; van Vroonhoven, F. C. B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7209.
- Gritsan, N. P.; Pritchina, E. A. *Russ. Chem. Rev.* **1992**, *61*, 500.
- Go, C. L.; Waddel, W. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 715.
- Leyva, E.; Platz, M. S.; Persy, G.; Wirz, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3783.
- Crow, W. D.; Wentrup, C. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 6149.
- Cullin, D. W.; Yu, L.; Williamson, J. M.; Platz, M. S.; Miller, T. A. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 3387.
- Ishida, T.; Abe, H.; Nakajima, A.; Kaya, K. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *170*, 425.
- Wentrup, C. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 1301.
- Smolinsky, G.; Wasserman, E.; Yager, Y. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *30*, 3220.
- Reiser, A.; Frazer, V. *Nature (London)* **1965**, *208*, 682.
- Dunkin, I. R.; Thomson, P. C. P. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 499.
- Maltsev, A.; Bally, T.; Tsao, M-L.; Platz, M. S.; Kuhn, A.; Vosswinkel, M.; Wentrup, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 237.
- Tsao, M-L.; Platz, M. S. *J. Phys. Chem. A*. **2004**, *108*, 1169.

31. Murata, S.; Sugawara, T.; Iwamura, H. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1198.
32. Schrock, A. K.; Schuster, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5228.
33. Hayes, J. C.; Sheridan, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5879.
34. Gavezzotti, A.; Simonetta, M. *Chem. Rev.* **1982**, *82*, 1.
35. Titman, J. J.; Luz, Z.; Spiess, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3765.
36. Müller, K.; Zimmerman, H. E.; Krieger, C.; Poupko, R.; Luz, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8006.
37. Patel, G. N.; Chance, R. R.; Turi, E. A.; Khanna, Y. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 6644.
38. Gudmundsdottir, A. D.; Lewis, T. J.; Randall, L. H.; Scheffer, J. R.; Rettig, S. J.; Trotter, J.; Wu, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6167.
39. Schultz, A. G.; Taveras, A. G.; Taylor, R. E.; Tham, F. S.; Kulling, R. K.; Patel, G. N.; Chance, R. R.; Turi, E. A.; Khanna, Y. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8725.
40. García-Garibay, M. A. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 491.
41. García-Garibay, M. A.; Campos, L. M. *CRC Handbook of Organic Photochemistry & Photobiology*. Horseshoe W. M. CRC Press: Boca Raton, **2003**.
42. Moorthy, J. N.; Venkatakrishnan, P.; Savitha, G.; Weiss, R. G. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2006**, *5*, 903.
43. Cohen, M. D.; Schmidt, G. M. J. *J. Chem. Soc.* **1964**, 1996.
44. Cohen, M. D.; Schmidt, G. M. J.; Sonntag, F. I. *J. Chem. Soc.* **1964**, 2000.
45. Schmidt, G. M. J. *J. Chem. Soc.* **1964**, 2014.
46. Schmidt, G. M. J. *Solid State Photochemistry*. Verlag Chemie: Weinheim, **1976**.
47. Sasaki, A.; Mahé, L.; Izuoka, A.; Sugawara T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1998**, *71*, 1259.
48. Zimmerman, H. E.; Nesterov, E. E. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 77.
49. Sasaki, A.; Mahé, L.; Izuoka, A.; Sugawara, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1998**, *71*, 1259.
50. Reiser, A.; Layshon, L. J.; Spin, J. *Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 4051.
51. Harada, Y.; Takahashi, T.; Mutai, K. *J. Chem. Phys.* **1981**, *75*, 2014.
52. Yabe, A.; Ouchi, A.; Moriyama, H.; Masuda, E. US Patent 4875986.
53. Zelentsov, S. V.; Oleinik, A. V.; Karjakina, L. N. *Photobiology*, **1986**, *20*, 339.
54. Karkajina, L. N.; Zidkiva, E. M.; Janin, A. M.; Oleinik, A. V. *High Energy Chem.* **1987**, *21*, 348.
55. Hollas, J. M., *Modern Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Ltd, **2004**.
56. Telle, H. H.; Ureña, A. G.; Donovan, R. J. *Laser Chemistry. Spectroscopy, Dynamics, and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd, **2007**.
57. Borden, W. T.; Gritsan, N. P.; Hadad, C. M.; Karney, W. L.; Kemnitz, C. R.; Platz, M. S. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 765.
58. Smith, B. A.; Cramer, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5490.
59. Karney, W. L.; Borden, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1378.
60. Dunkin, I. R.; Donnelly, T.; Lockhart, R. S. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 359.
61. Leyva, E.; Young, M. J. T.; Platz, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 8307.
62. Schnapp, K. A.; Poe, R.; Leyva, E.; Soundararajan, N.; Platz, M. S.; *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4*, 172.
63. Leyva, E.; Sagredo, R. *Tetrahedron.* **1998**, *54*, 7367.
64. Karney, W. L.; Borden, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3347.
65. Gritsan, N. P.; Gudmundsdóttir, A. D.; Tigelaar, D.; Zhu, Z.; Karney, W. L.; Hadad, C. M.; Platz, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1951.
66. Poe, R.; Grayzar, J.; Young, M. J. T.; Leyva, E.; Schnapp, K.; Platz, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3209.
67. Poe, R.; Schnapp, K.; Young, M. J. T.; Grayzar, J.; Platz, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5054.
68. Marcinek, A.; Platz, M. S. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 12674.
69. Marcinek, A.; Platz, M. S.; Chan, Y.; Floresca, R.; Rajagopalan, R.; Golinski, M.; Watt, D. S. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 412.
70. Leyva, E.; de-Loera, D.; Leyva, S. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6759.
71. Sundberg, R. J.; Suter, S. R.; Brenner, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 513.
72. Gritsan, N. P.; Gudmundsdóttir, A. D.; Tigelaar, D.; Platz, M. S. *J. Phys. Chem. A.* **1999**, *103*, 3458.
73. Tsao, M-L.; Platz, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12014.
74. Lamara, K.; Redhouse, A. D.; Smalley, R. K.; Thompson, J. R. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 5515.
75. Gritsan, N. P.; Likhovotvorik, I.; Tsao, M-L.; Celebi, N.; Platz, M. S.; Karney, W. L.; Kemnitz, C. R.; Borden, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1425.
76. Hatanaka, Y.; Sadakane, Y. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* **2002**, *2*, 271.
77. Pandurangi, R. S.; Karra, S. R.; Kuntz, R. R.; Volkert, W. A. *Photochem. Photobiol.* **1997**, *65*, 208.
78. Geiger, M. W.; Elliot, M. M.; Karacostas, V. D.; Moricone, T. J.; Salmon, J. B.; Sidel, V. L.; St Onge, M. A. *Photochem. Photobiol.* **1984**, *40*, 545.
79. Watt, D. S.; Kawada, K.; Leyva, E.; Platz, M. S. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 899.
80. Cai, S. X.; Glenn, D. J.; Keana, J. F. W. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1299.
81. Rajagopalan, R.; Kuntz, R. R.; Sharma, U.; Volkert, W. A.; Pandurangi, R. S. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6748.
82. Buchmueller, K. L.; Hill, B. T.; Platz, M. S.; Weeks, K. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *25*, 10850.
83. Webb, Y.; Zhou, X.; Ngo, L.; Cornish, V.; Stahl, J.; Erdjument-Bromage, H.; Tempst, P.; Rifkind, R. A.; Marks, P. A.; Breslow, R.; Richon, V. M. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 14280.