

Vol. 108 N°1-2

ISSN 2545-8655

**ANNALES DE LA
ASOCIACIÓN QUÍMICA
ARGENTINA**

Enero-Diciembre 2021



Anales de la Asociación Química Argentina

Editada desde 1913

Editora en Jefe

Dra. Susana Larrondo

Editora Invitada

Dra. Laura Harburguer

Comité Editorial

Dra. Alicia Fernández Cirelli

Dra. Alicia B. Pomilio

Dr. Angel Alonso

Dr. Alberto L. Capparelli

Dr. Eduardo A. Castro

Dra. Norma B. D'Accorso

Dr. Arturo Vitale

Comité Académico Asesor

Dra. Marta Litter (CNEA) – Dr. Gustavo Romanelli (CINDECA) – Dra. Alicia Penissi (IHEM)

Dr. Carlos O. Della Védova (CEQUINOR) – Dr. Roberto J. J. Williams (INTEMA)

Dra. Rosa Erra-Balsells (CIHIDECAR) – Prof. Rolando A. Spanevello (IQUIR)

Dra. Aida Ben Altabef (INQUINOA) – Dr. Jose Luis Crudo (CNEA)

Comité Científico Internacional

Prof. Sylvio Canuto (Brazil) - Prof. Juan M. Diez Tascón (Spain)

Prof. José Elguero (Spain) Prof. Ivan Gutman (Serbia) - Prof. Arsenio Muñoz de la Peña (Spain)

Prof. Emeritus Francisco Tomás Vert (Spain)

Asistente Editorial

Lic. Cristina E. Corbellani

e-mail: anales.aqa@gmail.com

Registro de Propiedad Intelectual N° 164.756

Asociación Química Argentina

Sánchez de Bustamante 1749, 1425 Buenos Aires, Argentina

TE/FAX: 54-11-4822-4886

<http://www.aqa.org.ar>

Contenido

Vol. 108 N°1-2, Enero-Diciembre de 2021

Editorial..... pp. *i*

Trabajos Regulares

Vibrational spectroscopic behavior of $K_7[Ti_2W_{10}PO_{40}] \cdot 6H_2O$: An interesting and potent antiviral polyoxometalate..... pp. 1-9
Enrique J. Baran and Beatriz S. Parajón-Costa

Estudio teórico de síntesis de hemiacetales catalizada por ácidos de Brønsted e influencia de solventes..... pp. 10-20
Silvana C. Caglieri, Héctor R. Macaño, Gustavo I. Servetti

Trabajos Invitados II Jornadas de la UNIDEF (CONICET-MINDEF)

UV photoresponse of ZnO films measured over long periods..... pp. 21-30
Claudia D. Bojorge, Mario D. Bianchetti, Eduardo A. Heredia, Horacio R. Cánepa

Mediciones de PM10 y NO₂ durante los primeros meses de la cuarentena de COVID-19 en el 2020 en Ciudad de Buenos Aires, Argentina..... pp. 31-41
L. Otero, F. Casasola, M. Prieto, C. Pereyra, S. Brusca

Estudio de estabilidad de fases en aleaciones envejecidas de CuAlNi con memoria de forma..... pp.42-59
M. Mosquera Panizo, F. de Castro Bubani, Rosana Gastien

Los monoterpenos vegetales eugenol y mentol sinergizan la toxicidad del insecticida permetrina en *Triatoma infestans*..... pp. 60-66
M.M.N. Reynoso, E.N. Zerba y R.A. Alzogaray

Trabajo de Revisión Invitado

Potenciales beneficios del uso de CBD en epilepsia..... pp. 67-82
C. Taborda Gómez, J. Auzmendi, A. Lazarowski

EDITORIAL

La presente edición de los Anales de la AQA reúne trabajos científico-tecnológicos invitados, seleccionados de aquellos presentados en el marco de las II Jornadas de la UNIDEF (CONICET-MINDEF) llevadas a cabo de manera virtual 17 al 19 de Noviembre de 2020. La selección de estos trabajos y la supervisión del proceso de su revisión por pares estuvo a cargo de la Editora Invitada, Dra. Laura Harburguer.

El volumen también incluye un trabajo de revisión por invitación sobre los potenciales beneficios del uso de CBD en epilepsia, una temática de gran actualidad, y dos contribuciones regulares de importantes investigadores del área de la química.

Esperamos que disfruten de este nuevo número, y contar con sus contribuciones en próximos números de la revista.

Dra. Susana A. Larrondo

Editora



Anales de la
Asociación
Química Argentina

**VIBRATIONAL SPECTROSCOPIC BEHAVIOR OF
K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀] \cdot 6H₂O: AN INTERESTING AND POTENT ANTIVIRAL
POLYOXOMETALATE**

Enrique J. Baran * and Beatriz S. Parajón-Costa

*Centro de Química Inorgánica (CEQUINOR/ CONICET-CICPBA-UNLP), Facultad de Ciencias Exactas,
Universidad Nacional de La Plata, Bvd.120 N°1465, 1900-La Plata, Argentina.*

**Autor Corresponsal: e-mail baran@quimica.unlp.edu.ar*

Resumen

Se preparó el K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀] \cdot 6H₂O, conteniendo un hetero-polioxoanión con estructura tipo Keggin y que posee interesantes propiedades farmacológicas. Se registraron los espectros de infrarrojo y Raman del compuesto en fase sólida y se los analizó brevemente, en forma comparativa con los de otros polioxoaniones de estructuras relacionadas.

Abstract

We prepared K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀] \cdot 6H₂O, containing a hetero-polyoxoanion with Keggin-type structure, which shows interesting pharmacological properties. The infrared and Raman spectra of the compound in the solid state were recorded and briefly analyzed in comparison with those of other polyoxoanions with related structures.

Palabras clave: *K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀] \cdot 6H₂O; espectros de IR y Raman; comportamiento vibracional.*

Keywords: *K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀] \cdot 6H₂O; IR and Raman spectra; vibrational behavior.*

1. Introduction

Polyoxometalates are anionic metal-oxygen clusters, involving the earlier transition metal cations. More specifically, they are oligomeric aggregates of metallic cations (usually species with d⁰ electronic configuration, such as V(V), Nb(V), Mo(VI) or W (VI)) bridged by oxide anions, generated by auto-assembling processes ^{1,2}. Basically, there are two different families of

polyoxometalates, the isopolyanions or isopolyoxometalates and the heteropolianions or heteropolyoxometalates, which contain one or more “heteroatoms” of elements of the groups p, d or f of the Periodic System. These “heteroatoms” can be located inside or on the surface of the cluster and are, therefore, inaccessible or accessible to solvents, respectively.

One of the most common polyoxoanion structures is the so-called “Keggin structure” schematized in Figure 1. It is constituted by units of three edge-sharing MO_6 - octahedra and four of these units arrange sharing corners between them, generating the $[\text{M}_{12}\text{O}_{40}]^{n-}$ structure. As it can be seen from Figure 1, there is a cavity on the center of the structure with an adequate size to allow the insertion of relatively small ions such as P(V), Si(IV), Ge(IV), Ti(IV), As(V), Zr(IV), etc., which adopt tetrahedral oxygen-coordination. The incorporation of these “heteroatoms” (X) generate a $[\text{XM}_{12}\text{O}_{40}]^{m-}$ stoichiometry. Besides, the “heteroatoms” can also be incorporated in the form of XO_6 octahedra, generating $[\text{X}_n\text{M}_{12-n}\text{O}_{40}]^{m-}$ arrangements.

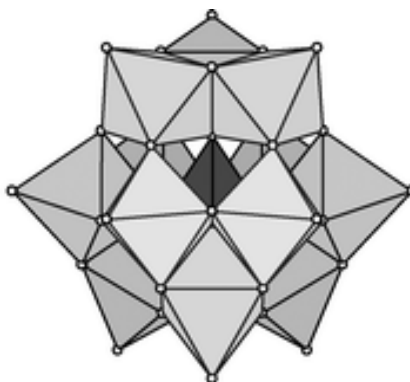


Figure 1. Schematic drawing of the Keggin-type structure.

Some other different structural types, conformed by other forms of octahedral and heteroatomic arrangements, are also known. Two of the most important ones are the “Anderson structure” of type $[\text{XM}_6\text{O}_{24}]^{n-}$, in which six MO_6 -octahedra generate a planar ring by edge sharing, trapping the X-heteroatom in the center of the ring also in octahedral coordination, or the polyoxoanions of formula $[\text{X}_2\text{M}_{18}\text{O}_{62}]^{n-}$ (“Dawson structure”) with a more complex structural ordering ¹.

Many polyoxometalate salts have been shown to be biologically active. Such activity includes highly selective inhibition of enzyme function, as well as *in vitro* and *in vivo* antitumoral, antiviral and antiretroviral activity²⁻⁸.

The first polyoxometalate to receive substantial attention as an antiviral and anti-HIV-1 agent was $[\text{NaSb}_9\text{W}_{21}\text{O}_{86}]^{18-}$, the so called HPA-23, and usually employed in the form of its sodium/ammonium salt, $(\text{NH}_4)_{17}\text{Na}[\text{NaSb}_9\text{W}_{21}\text{O}_{86}]\cdot n\text{H}_2\text{O}$. Its crystal structure, which can formally be derived from the Keggin type structure⁸ as well as its spectroscopic and thermal behavior⁹ has been determined. It presents an interesting biological activity⁴ and it has been shown that the reverse transcriptase activity of human immunodeficiency virus (HIV), a causative agent of AIDS, is completely inhibited by HP-23 at a concentration of 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^{10,11}.

Notwithstanding, phase I clinical trials indicated that it is too toxic to allow a sufficiently long administration of the drug and in sufficient doses to produce adequate therapeutic efficacy^{4,7}. However, a beneficial consequence of these initial studies with HPA-23 was that it provides a great impetus to investigate polyoxometalates as a new class of antiviral agents with multiple antiviral mechanisms. These studies show that numerous other polyoxometalates present also high antiviral activity and are less toxic than HPA-23⁴.

One of this polyoxometalates is $[\text{Ti}_2\text{W}_{10}\text{PO}_{40}]^{7-}$, which in the form of its hydrated potassium salt, and known as HP-19, was found to be a potent inhibitor of the replication of human immunodeficiency virus (HIV)¹². Additionally, most recently, the potential anti-SARS (severe acute respiratory syndrome) activity of this species has also been explored¹³.

In this paper we present the results of our analysis of the vibrational spectroscopic behavior of this interesting and pharmacologically highly promising polyoxometalate.

2. Materials and Methods

2.1. Synthesis of the compound

The investigated polyoxometalate salt was prepared according to the method described by Domaille and Knoth¹⁴ as follows: 6 g of NaPO₄H₂ were slowly added to a solution of Na₂WO₄·2H₂O (30 g in 100 mL of water). To this solution 1.8 mL of TiCl₄ was dropwise added under constant stirring. The mixture was then refluxed for 30 min followed by filtration. The clear colorless filtrate was stirred for 10 min with 30 g of KCl to precipitate a white solid salt, which was recrystallized from water to obtain the hydrate of K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀].

The water content was determined by heating a known sample amount to a constant weight at 120 °C and determining the loss of weight. These experiences, performed with three independent samples, confirmed the presence of six water molecules. The composition was additionally confirmed performing an analysis of the K-content using the gravimetric method based in the use of sodium tetraphenylborate (Kalignost[®]) as the precipitating agent^{15,16}. Two independent determinations gave K = 9.12% and 9.08% (theoretical value for K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀]·6H₂O = 9.16%).

2.2. Vibrational spectra

The infrared spectra, in the spectral range between 4000 and 400 cm⁻¹, were recorded with a FTIR-Bruker-EQUINOX-55 spectrophotometer, using the KBr pellet technique. Raman spectra were obtained in the same spectral range with a Thermo Scientific DXR Raman microscope, using the 532 nm line of a Thermo Scientific solid-state laser diode pump for excitation.

3. Results and Discussion

3.1. Structural characteristics

The structure of the hydrated $K_7[Ti_2W_{10}PO_{40}]$ has not been directly determined, but the crystal structure of the closely related tetrakis(diethylammonium)sodium dititanium decatungstophosphate undecahydrate, $[(C_2H_5)NH_2]_4Na[H_2Ti_2W_{10}PO_4] \cdot 11H_2O$, was solved by Ozeki and Yamase by single crystal X-ray diffractometry¹⁷. It belongs to the orthorhombic space group $P2_12_12_1$ with $Z = 4$ formulas in the unit cell. The $[H_2Ti_2W_{10}PO_4]^{5-}$ anion has the Keggin structure. The Ti substitution reduces the original T_d symmetry of the W_{12} skeleton to C_2 , as also determined by ^{183}W -NMR spectroscopy¹⁴. These spectroscopic studies also indicate that the $K_7[Ti_2W_{10}PO_{40}]$ samples essentially consist of one isomer (the mentioned C_2 -symmetry species with 1,4 substitutions of the Keggin structure¹⁸) and only very small amounts of other isomers present.

3.2. Spectroscopic Behavior

The infrared and Raman spectra of polyoxoanions adopting the Keggin structure have been systematically investigated much time ago by the group of Rocchiccioli-Deltcheff in France¹⁹⁻²¹ and the main conclusions of these studies can also be applied in the present case.

Following these general criteria one may assume that the PO_4 tetrahedron vibrate almost independently from the rest of the anion. On the other hand, stretching of the different types of W-O bonds can be expected in the following spectral regions: terminal W- O_t bonds at $1000-960\text{ cm}^{-1}$ W- O_b -W bridges ("inter" bridges between corner sharing octahedra) at $890-850\text{ cm}^{-1}$, and W- O_c -W bridges ("intra" bridges between edge-sharing octahedra) at $800-760\text{ cm}^{-1}$. Only the terminal W- O_t stretchings can be considered as pure vibrations; the stretchings involving bridging O-atoms usually present some bend character²².

The FTIR spectrum of $K_7[Ti_2W_{10}PO_{40}] \cdot 6H_2O$ in the full measured range ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) is shown in Figure 2 whereas the Raman spectrum, in the most relevant spectral range

(1200-200 cm^{-1}) is presented in Figure 3. The analysis of the vibrational spectra is presented in Table 1 and is briefly commented as follows:

- The stretching vibrations of the water molecules are seen in the infrared spectrum as a very strong and broad band centered at ca. 3500 cm^{-1} . This position suggests the participation of these molecules in the formation of long hydrogen bridges (2.9 - 3.3 Å)^{23,24}. The corresponding deformation mode, $\delta(\text{H}_2\text{O})$, is found as a medium intensity band at 1630 cm^{-1} . In the Raman spectrum these H_2O vibrational modes are only seen as very weak bands.

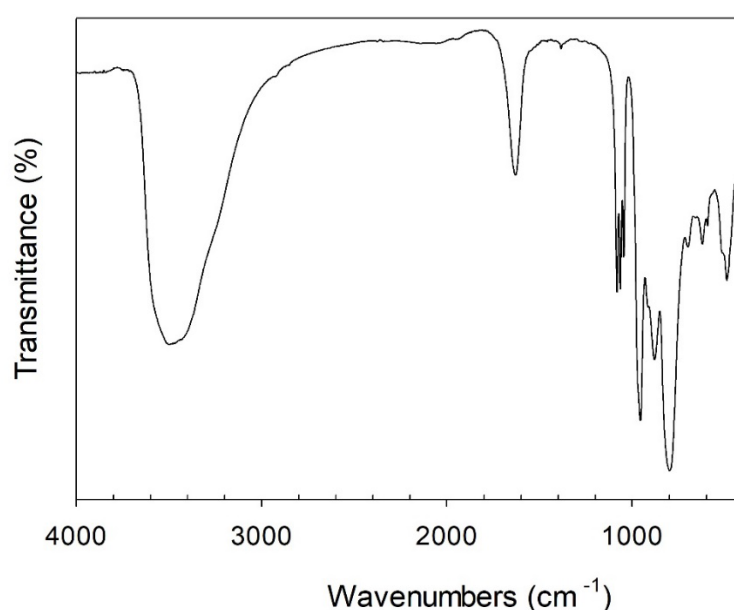


Figure 2. FTIR spectrum of $\text{K}_7[\text{Ti}_2\text{W}_{10}\text{PO}_{40}] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ between 4000 and 400 cm^{-1} .

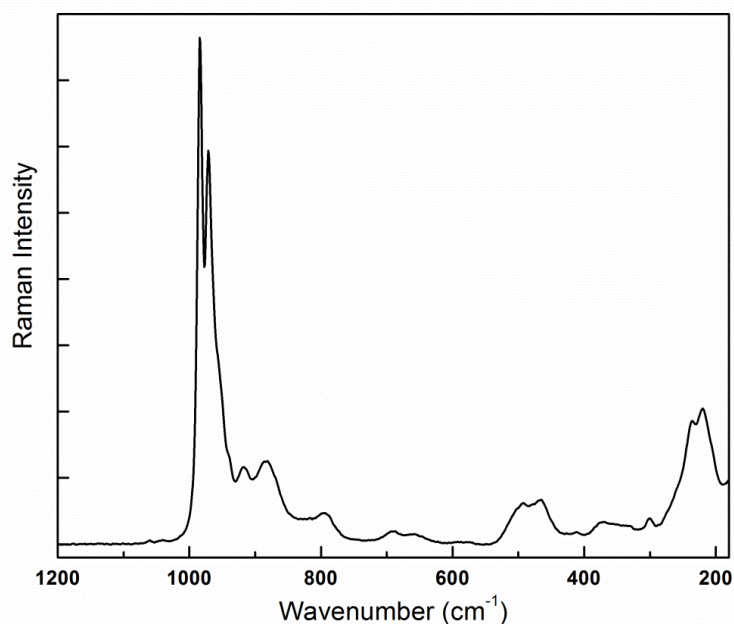


Figure 3. Raman spectrum of $K_7[Ti_2W_{10}PO_{40}] \cdot 6H_2O$ between 1200 and 200 cm^{-1} .

Table 1. Assignments of the FTIR and FT-Raman spectra of $K_7[Ti_2W_{10}PO_{40}] \cdot 6H_2O$ (Band positions in cm^{-1}).

Infrared	Raman	Assignments
3497 vs, br	3470 vw, br	$\nu(H_2O)$
1630 m	1628 vw	$\delta(H_2O)$
1083 s, 1064 s, 1046 m	1060 vw, 1045 vw	$\nu_3(PO_4)$
	983 vs	$\nu(W-O_t)$
	971 vs	$\nu_1(PO_4)$
956 s		$\nu(W-O_t)$
925 sh, 880 m	917 w, 881 w	$\nu(W-O_b-W)$
799 vs	794 w	$\nu(W-O_c-W)$
699 vw	688 w, 657 sh	MO_6 -deformations
622 w, 594 vw		$\nu_4(PO_4)$
515 sh, 490 m	578 vw	MO_6 -deformations
	492 w, 465 w	$\nu_2(PO_4)$
	370 w, 300 w	MO_6 -deformations
	235 w, 220 m	External modes

vs, very strong; s, strong; m, medium; w, weak; vw, very weak; sh, shoulder; br, broad.

- The behavior of the PO_4^{3-} vibrations is very interesting. If one admits that this ion is located at a C_1 crystallographic site¹⁷ the complete removal of all degeneracies and the activation of all vibrational modes of the formally tetrahedral unit are expected. In the infrared spectrum, the antisymmetric vibration (ν_3) is clearly seen as the expected triplet of bands, generated from the initially triple degenerated F_2 mode. Notwithstanding, the corresponding symmetric vibration (ν_1), apparently attains not enough intensity to become visible in the IR although it may be

accidentally overlapped by the next, relatively strong, IR band. In the Raman spectrum only two of the three expected ν_3 -components could be identified as very weak bands, whereas ν_1 appears, as expected²⁵, as one of the two strongest Raman signals. Regarding the deformational modes of this anion, the antisymmetric deformation, (ν_4), was identified as a doublet in the IR spectrum, whereas the corresponding symmetric mode, (ν_2), was found only in the Raman spectrum, as expected on the basis of known intensity criteria^{25,26}.

- The Keggin-skeleton presents characteristic bands for the terminal W-O_t bonds at 956 cm⁻¹ (IR) and 983 cm⁻¹ (Raman), and two groups of bands at lower energies related to the “inter” and “intra” W-O-W bridges, whereas some deformational vibrations were found below 700 cm⁻¹ in both spectra.

- A comparison with the solution IR and Raman spectra of the [W₁₂PO₄₀]³⁻ anion¹⁹ shows the expected similarities, although band displacements to lower energies in the present case are evident. This effect may be related to the presence of Ti in two of the MO₆-octahedra and of the water molecules in the lattice, which usually causes a decrease of frequency in the M-O vibrations²⁰.

4. Conclusions

The polyoxometallate salt K₇[Ti₂W₁₀PO₄₀].6H₂O was prepared using a known synthetic procedure. Their FTIR and Raman spectra were measured in the solid state and an assignment was proposed on the basis of known spectroscopic data for other related compounds belonging to the same structural type. The results are of interest as they allow a rapid and straightforward characterization of a chemical species with interesting pharmacological properties.

Acknowledgements

This work was supported by the Universidad Nacional de La Plata. Beatriz S. Parajón-Costa is a member of the CONICET Researcher Career.

References

- (1) M.T. Pope, *Heteropoly and Isopoly Oxometalates*, Springer, Berlin, **1983**.
- (2) M.T. Pope, A. Müller, *Angew. Chem. Internat. Edit.*, **1991**, 30, 34-48.
- (3) T. Yamase, H. Fujita, K. Fukushima, *Inorg. Chim. Acta*, **1988**, 151, 15-18.
- (4) C.L. Hill, M. Hartnup, M. Faraj, M. Weeks, C.M. Prosser-McCartha, R.B. Brown, M. Kadkhodayan, J.P. Sommadossi, R.F. Schinazi, *Polyoxometalates as Inorganic Anti-HIV-1 Compounds, Structure-Activity Relationships*, in: R.B. Dissio, J.P. Sommadossi (Eds.) *Advances in Chemotherapy of AIDS*, Pergamon Press, New York, **1990**, pp. 33-41.
- (5) E.J. Baran, *Acta Farm. Bonaerense*, **1992**, 11, 155-160.
- (6) S. Shigeta, S. Mori, J. Watanabe, M. Baba, A.M. Khenkin, C.L. Hill, R.F. Schinazi, *Antiv. Chem. Chemother.*, **1995**, 6, 114-122.
- (7) E.J. Baran, *Anales Acad. Nac. Cs. Ex. Fís. Nat.*, **2011**, 63, 67-97.
- (8) J. Fischer, L. Ricard, R. Weiss, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 3050-3052.
- (9) E.J. Baran, D. De Marco, *Acta Farm. Bonaerense*, **1993**, 12, 29-34.
- (10) D. Dormont, B. Spire, F. Barre-Sinoussi, L. Montagnier, J.C. Cherman, *Ann. Inst. Pasteur/Virol.*, **1985**, 136, 75-83.
- (11) W. Rozenbaum, D. Dormont, B. Spire, E. Vilmer, M. Gentilini, C. Griscelli, L. Montagnier, F. Barre-Sinoussi, J.C. Cherman, *Lancet*, **1985**, 325, 450-451.
- (12) Y. Inouye, Y. Take, Y. Tokutake, T. Yoshida, A. Yamamoto, T. Yamase, S. Nakamura, *Chem. Pharm. Bull.*, **1990**, 38, 285-287.
- (13) D. Hu, C. Shao, W. Guan, Z. Su, J. Sun, *J. Inorg. Biochem.*, **2007**, 101, 89-94.
- (14) P.J. Domaille, W.H. Knoth, *Inorg. Chem.*, **1983**, 22, 818-822.
- (15) P. Raff, W. Brotz, *Z. anal. Chem.*, **1951**, 133, 241-248.
- (16) H. Flaschka, *Z. anal. Chem.*, **1952**, 136, 99-102.
- (17) T. Ozeki, T. Yamase, *Acta Crystallogr.*, **1991**, C47, 693-696.
- (18) M.T. Pope, T.F. Scully, *Inorg. Chem.*, **1975**, 14, 953-954.
- (19) C. Rocchiccioli-Deltcheff, R. Thouvenot, R. Franck, *Spectrochim. Acta*, **1976**, 32A, 587-597.
- (20) Rocchiccioli-Deltcheff, M. Fournier, R. Franck, R. Thouvenot, *Inorg. Chem.*, **1983**, 22, 207-216.
- (21) R. Thouvenot, M. Fournier, R. Franck, C. Rocchiccioli-Deltcheff, *Inorg. Chem.*, **1984**, 23, 598-605.
- (22) C. Rocchiccioli-Deltcheff, R. Thouvenot, M. Fouassier, *Inorg. Chem.*, **1982**, 21, 30-35.
- (23) H. Siebert, *Anwendungen der Schwingungsspektroskopie in der Anorganischen Chemie*, Springer, Berlin, **1966**.
- (24) E. Libowitzky, *Monatsh. Chem.*, **1999**, 130, 1047-1059.
- (25) A. Müller, E.J. Baran, R.O. Carter, *Struct. Bonding*, **1976**, 26, 81-139.
- (26) N. Weinstock, H. Schulze, A. Müller, *J. Chem. Phys.*, **1973**, 59, 5063-5067.



ESTUDIO TEÓRICO DE SÍNTESIS DE HEMIIACETALES CATALIZADA POR ÁCIDOS DE BRÖNSTED E INFLUENCIA DE SOLVENTES

Silvana C. Caglieri^{1*}, Héctor R. Macaño¹, Gustavo I. Servetti¹

¹ CIQA-Centro de Investigación y Transferencia en Ingeniería Química Ambiental, Facultad Regional Córdoba, Universidad Tecnológica Nacional. Córdoba. República Argentina

*Autor Corresponsal: e-mail: scaglieri@frc.utn.edu.ar

Resumen

Se llevó a cabo un estudio teórico comparativo de reactividad de formaldehído, acetaldehído, benzaldehído, 4-nitrobenzaldehído y 4-metilbenzaldehído frente a la reacción con metanol, catalizada por ácido y en presencia de diferentes solventes polares apróticos y no polares, a través del análisis de los intermediarios de reacción correspondientes. La síntesis de hemiacetales es una de las transformaciones más frecuentemente usadas en síntesis orgánica, ya que proporciona un medio eficiente y económico para proteger el grupo carbonilo en un proceso sintético. Las energías de activación y las energías de los intermediarios de reacción se calcularon con dos niveles de teoría DFT (B3LYP) y MP2 combinados con los conjuntos de base 3-21G* y 6-31G*. Para estudiar la influencia de los diferentes solventes se utilizó el modelo IEFPCM. Los valores obtenidos se compararon con datos de literatura. El formaldehído presentó la mayor reactividad frente a la reacción, el método DFT/6-31G* reportó los valores más bajos de energía y el dimetilsulfóxido resultó ser el solvente óptimo para la síntesis de hemiacetales.

Abstract

A comparative theoretical study of reactivity of formaldehyde, acetaldehyde, benzaldehyde, 4-nitrobenzaldehyde and 4-methylbenzaldehyde with methanol, catalyzed by acid and with several aprotic polar and nonpolar solvents, through the analysis of the corresponding reaction intermediates was carried out. The hemiacetal synthesis is one of the most frequently used transformations in organic synthesis as it provides an efficient and inexpensive means for protecting carbonyl groups in a synthetic process. The activation energies and the reaction intermediates energies were calculated with two levels of theory DFT (B3LYP) and MP2 combined with basis set 3-21G* and 6-31G*. The IEFPCM model used to study the influence of different solvents. The calculated values were compared with literature data. The

formaldehyde presented the higher reactivity in the reaction, the DFT/6-31G* method reported the lower energy values and the dimethyl sulfoxide turned out to be the best solvent for the hemiacetal synthesis.

Palabras clave: *aldehído; ácido Brönsted; DFT; hemiacetal; solventes*

Keywords: *aldehyde; Brönsted acid; DFT; hemiacetal; solvents*

1. Introducción

El estudio de la reacción de aldehídos con alcoholes, cuyos productos son los hemiacetales y acetales, es de gran utilidad dentro de la industria química en la manufactura de fragancias ¹, productos farmacéuticos ², resinas de poliactal ³ y constituye un medio eficiente para la protección de grupos carbonilos en un proceso sintético ^{4,5,6}. Desde el punto de vista ambiental busca aportar procedimientos alternativos de llevar a cabo la reacción, ambientalmente más favorables, con el objetivo de reemplazar los procedimientos convencionales existentes. Uno de los principales intereses radica en la conversión de glicerol en acetales, con el potencial para ser utilizados como aditivos de combustible. Acetales de glicerol se pueden sintetizar mediante la reacción catalizada por ácido de glicerol con aldehídos ^{7,8,9}.

La síntesis de hemiacetales catalizada por ácidos es una reacción de adición nucleofílica sobre carbono insaturado del aldehído, el ácido protona el oxígeno del carbonilo favoreciendo la polarización del mismo y posterior ataque del oxígeno del alcohol que actúa como nucleófilo, formando un intermediario tetraédrico. Se han llevado a cabo estudios experimentales ^{10,11} y trabajos teóricos ¹² sobre síntesis de hemiacetales y ambos coinciden que el mecanismo de dicha reacción transcurre a través de la formación de un intermediario tetraédrico.

Dicha reacción puede ser catalizada por medio de una base ^{13,14}, de un ácido de Brönsted ^{15,16}, de un ácido de Lewis ^{17,18,19} y en la búsqueda de procesos alternativos, ambientalmente favorables, se han llevado a cabo estudios experimentales de la síntesis de hemiacetales y acetales empleando iones metálicos como ácidos de Lewis $-Fe^{3+}$ ²⁰, utilizando $CoCl_2$ ²¹, $Bi(OTf)_3 \cdot 4H_2O$ ²² y $ZnCl_2$ ²³.

El objetivo de este trabajo consiste en efectuar un estudio teórico comparativo de reactividad de diferentes aldehídos: formaldehído, acetaldehído, benzaldehído, 4-nitro benzaldehído y 4-metil benzaldehído frente a la reacción con metanol, catalizada por ácido (ácido sulfúrico o 4-toluensulfónico) y en presencia de diferentes solventes polares apróticos (dimetilsulfóxido, acetonitrilo y tetrahidrofurano) y no polares (cloroformo), a través del análisis de los intermediarios de reacción correspondientes.

2. Materiales y Métodos

Las energías de los reactivos, productos e intermediarios y las energías de activación de cada una de las reacciones motivo de estudio, se calcularon con dos niveles de teoría DFT basados en la teoría de funcionales de densidad ²⁴ y dentro de este se utilizó el B3LYP ²⁵, combinados con el conjunto de base 3-21G* y 6-31G* y MP2 - 2nd order Møller–Plesset ²⁶ combinado con el conjunto de base 6-31G*.

Los conjuntos de base 3-21G* y 6-31G*, indican que se emplean tres y seis funciones gaussianas para representar los orbitales atómicos internos, mientras que los externos, capa de valencia, se representan mediante dos y tres funciones para la parte contraída y una para la parte difusa, más una función de polarización para átomos pesados, indicada mediante el *, que representa el efecto de los orbitales tipo d, respectivamente.

El método DFT (B3LYP) 6-31G* ha sido empleado para calcular las energías de activación de la acetilación de diferentes aminas en presencia de ácidos de Lewis ²⁷, las energías de activación de la acetilación de diferentes aminas en ausencia de catalizador ²⁸, las energías de activación de la hidrólisis de diferentes amidas ²⁹ y para calcular las energías de activación de las acetilaciones de diferentes alcoholes con anhídrido acético ³⁰. Se empleó el programa Gaussian'09 ³¹ para la realización de todos los cálculos.

En la Figura 1 se indica el esquema general y el mecanismo de reacción de la síntesis de hemiacetales de los siguientes aldehídos: formaldehído (R= H), acetaldehído (R= CH₃-), benzaldehído (R= C₆H₅-), 4-metil benzaldehído (R= C₇H₇-) y 4-nitro benzaldehído (R= NO₂C₆H₄-) con metanol, cuyos productos de reacción son: formaldehído metilhemiacetal, acetaldehído metilhemiacetal, benzaldehído metilhemiacetal, 4-metil benzaldehído metilhemiacetal y 4-nitro benzaldehído metilhemiacetal, respectivamente.

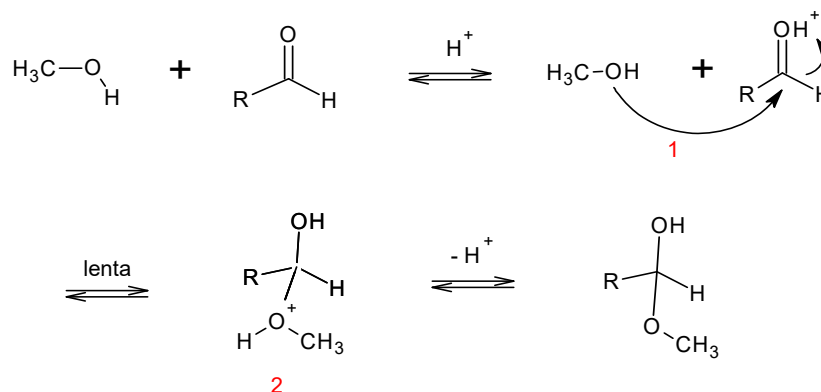


Figura 1. Mecanismo síntesis de hemiacetales

Se indica como etapa determinante de la velocidad de reacción la que involucra el pasaje del estado 1 (reactivos) al 2 (intermediario tetraédrico).

Para estudiar teóricamente la influencia de solventes no polares, con constante dieléctrica < 5 (cloroformo- CHCl₃) y polares apróticos (dimetilsulfóxido - DMSO, acetonitrilo-CH₃CN y tetrahidrofurano -THF), en las síntesis de hemiacetales a través del análisis de los intermediarios correspondientes, se utilizó el modelo IEFPCM o PCM (Polarizable Continuum Model)³². Se han llevado a cabo estudios experimentales sobre la influencia del solvente en la síntesis de glicerol etil acetal³³.

3. Resultados

La Tabla 1 reporta los valores de energías, en Hartree, del metanol (Em) y de los aldehídos protonados reactivos (Er) y la Tabla 2 muestra los valores de energías de los intermediarios tetraédricos (Ei) de cada una de las síntesis de hemiacetales motivo de estudio. Datos obtenidos de la aplicación de los métodos indicados.

Tabla 1. Energías de reactivos en Hartree

Métodos	Metanol Em	Formaldehído protonado Er	Acetaldehído protonado Er	Benzaldehído protonado Er	4-metil benzaldehído protonado Er	4-nitro benzaldehído protonado Er
DFT(B3LYP) 3-21G*	-115,0736	-114,1093	-153,2512	-343,9582	-383,0675	-547,2609
DFT(B3LYP) 6-31G*	-115,6795	-114,7078	-154,0545	-345,7777	-385,0909	-550,1608
MP2 6-31G*	-115,2040	-114,2664	-153,4114	-344,3041	-383,4235	-548,0156

Tabla 2. Energías intermediarios de reacción en Hartree

Métodos	Intermediario formaldehído Ei	Intermediario acetaldehído Ei	Intermediario benzaldehído Ei	Intermediario 4-metil benzaldehído Ei	Intermediario 4-nitro benzaldehído Ei
DFT(B3LYP) 3-21G*	-229,1637	-268,3050	-459,0092	-498,1169	-662,3122
DFT(B3LYP) 6-31G*	-230,3774	-269,7203	-461,4358	-500,7480	-665,8203
MP2 6-31G*	-229,4531	-268,5978	-459,4861	-498,6038	-663,1978

En la Figura 2 se muestran las estructuras de los intermediarios tetraédricos de cada una de las reacciones motivo de estudio.

En la Tabla 3 se indican las energías de activación de las diferentes síntesis de hemiacetales ($E_a = E_i - E$) en kcal.mol⁻¹. Siendo E_i la energía del intermediario tetraédrico y E la suma de las energías del metanol (Em) y del aldehído protonado (Er) correspondiente. La conversión 1 Hartree equivale a 627,51 kcal.mol⁻¹.

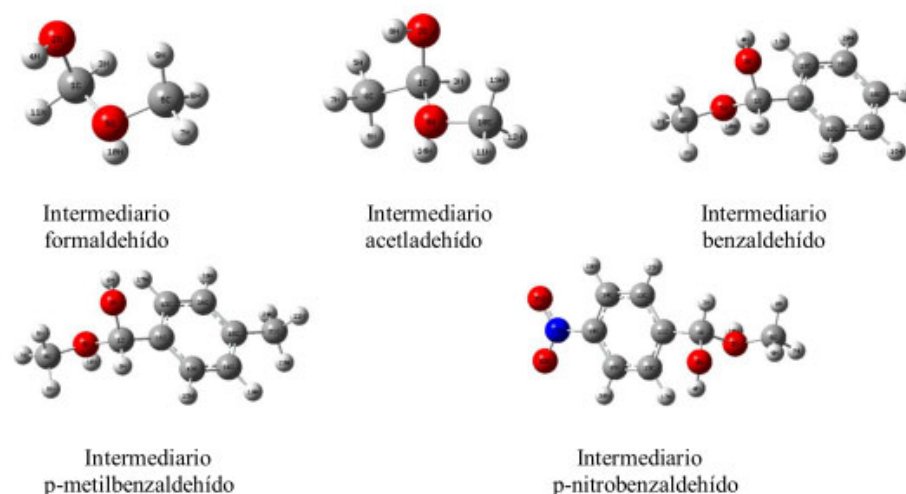


Figura 2. Estructura intermediarios tetraédricos

Tabla 3. Energías de activación de las diferentes síntesis de hemiacetales en kcal.mol⁻¹

Métodos	Formaldehído metil hemiacetal - Ea	Acetaldehído metil hemiacetal - Ea	Benzaldehído metil hemiacetal - Ea	4- metil benzaldehído metil hemiacetal - Ea	4-nitro benzaldehído metil hemiacetal - Ea
DFT(B3LYP) 3-21G*	12,05	12,42	14,18	15,18	13,99
DFT(B3LYP) 6-31G*	6,21	8,60	13,43	14,06	12,55
MP2 6-31G*	10,86	11,04	13,80	14,87	13,68

Se reportó un orden de reactividad para aldehídos: formaldehído > acetaldéhido > 4-nitro benzaldehído > benzaldehído > 4-metil benzaldehído frente a la reacción con metanol catalizada por ácidos de Brönsted, para sintetizar los correspondientes hemiacetales. La reacción de formaldehído con metanol presentó la mayor reactividad y el método DFT (B3LYP) 6-31G* reportó los valores más bajos de energía en comparación con los otros métodos empleados.

Para la síntesis de formaldehído metil hemiacetal se obtuvo una energía de activación (Ea) de 6,21 kcal.mol⁻¹, similar al valor reportado por estudios teóricos de 5,98 kcal.mol⁻¹ para dicha reacción ¹².

La Tabla 4 reporta los valores de energías en Hartree del metanol (Em) y de los reactivos (Er) y la Tabla 5 reporta los valores de las energías de los intermediarios (Ei), de cada una de las síntesis de hemiacetales motivo de estudio para los diferentes solventes no polares y polares apróticos. Datos obtenidos de la aplicación de los métodos indicados.

Tabla 4. Energías de reactivos con solventes en Hartree.

Disolventes	Metanol Em	Formaldehído protonado Er	Acetaldehído Protonado Er	Benzaldehído protonado Er	4-metil benzaldehído protonado Er	4-nitro benzaldehído protonado Er
DMSO	-115,6861	-114,8192	-154,1548	-345,8599	-385,1699	-550,2590
CH ₃ CN	-115,6861	-114,8184	-154,1541	-345,8593	-385,1694	-550,2583
THF	-115,6850	-114,8061	-154,1429	-345,8498	-385,1603	-550,2463
CHCl ₃	-115,6843	-114,7971	-154,1347	-345,8431	-385,1538	-550,2378

Tabla 5. Energías de intermediarios con solventes en Hartree

Disolventes	Intermediario formaldehído Ei	Intermediario acetaldehído Ei	Intermediario benzaldehído Ei	Intermediario 4-metil benzaldehído Ei	Intermediario 4-nitro benzaldehído Ei
DMSO	-230,4867	-269,8212	-461,5220	-500,8310	-665,9225
CH ₃ CN	-230,4858	-269,8202	-461,5211	-500,8302	-665,9217
THF	-230,4708	-269,8068	-461,5094	-500,8189	-665,9078
CHCl ₃	-230,4601	-269,7969	-461,5011	-500,8108	-665,8982

La Tabla 6 reporta las constantes dieléctricas de los solventes empleados en las diferentes síntesis de hemiacetales y los correspondientes valores de energías de activación ($E_a = E_i - E$) en kcal.mol⁻¹. Siendo E_i la energía del intermediario tetraédrico y E la suma de las energías del metanol (Em) y del aldehído protonado (Er) correspondiente. La conversión 1 Hartree equivale a 627,51 kcal.mol⁻¹.

Tabla 6. Energías de activación con solventes en kcal.mol⁻¹

Solventes	Constante dieléctrica a 25 °C	Formaldehído metil hemiacetal - Ea	Acetaldehído metil hemiacetal - Ea	Benzaldehído metil hemiacetal - Ea	4-metil benzaldehído metil hemiacetal - Ea	4-nitro benzaldehído metil hemiacetal - Ea
DMSO	46,45	11,67	12,36	15,06	15,69	14,18
CH ₃ CN	37,50	11,73	12,55	15,25	15,88	14,24
THF	7,58	12,74	13,24	15,94	16,57	14,75
CHCl ₃	4,81	13,36	13,87	16,50	17,13	15,00

Para todas las síntesis de hemiacetales la menor energía de activación se observó para el dimetilsulfóxido, solvente con la mayor constante dieléctrica y alta polaridad. Además, se reportó una mayor energía de activación al emplear solventes con constante dieléctrica menor a 5.

4. Discusión

El formaldehído resultó ser más reactivo que el acetaldehído frente a la adición nucleofílica, esto puede asociarse al efecto inductivo adicional por diferencia de hibridación $Csp^3 \rightarrow Csp^2$ que ejerce el grupo metilo sobre el carbono del carbonilo del aldehído protonado, neutralizando la densidad de carga positiva producto de la polarización del mismo, desfavoreciendo el ataque nucleofílico del alcohol. Además, el reemplazo de un hidrógeno por un grupo metilo presenta un mayor impedimento estérico que se traduce en un aumento en la correspondiente energía de activación, coincidiendo con estudios experimentales que reportan una disminución de la conversión del glicerol del 20% cuando reacciona con butanal al 10 % cuando lo hace con hexanal ⁹ y una disminución del rendimiento de 94% a 75% cuando el metanol reacciona con hexanal y heptanal, respectivamente ²².

El benzaldehído es menos reactivo que el formaldehído y que el acetaldehído, ya que la densidad de carga positiva generada en el carbono cuando se polariza el carbonilo del aldehído protonado, puede deslocalizarse en el anillo aromático dificultando el ataque nucleofílico del alcohol. Los aldehídos alifáticos resultaron ser más reactivos que los aromáticos, coincidiendo con estudios experimentales de la reacción de glicerol con benzaldehído y formaldehído (en condiciones más suaves) reportando conversiones de 20% y 21%, respectivamente ⁹.

El 4-metil benzaldehído resultó ser menos reactivo que el benzaldehído debido al efecto inductivo adicional por diferencia de hibridación $Csp^3 \rightarrow Csp^2$ ejercido por el grupo metilo en posición para respecto al carbono del anillo enlazado al carbonilo, favoreciendo la deslocalización de la carga positiva, estabilizando la misma y de esta manera dificultando el ataque nucleofílico del alcohol. Concordando con estudios realizados sobre síntesis de acetales, que reportan un rendimiento de

92 % y 80 % en la obtención de benzaldehído dietil acetal y 4-metil benzaldehído dietil acetal, respectivamente ³⁴.

Por el contrario el 4-nitro benzaldehído resultó ser más reactivo que el benzaldehído frente a la adición nucleofílica. Esto puede asociarse al efecto de atracción de electrones ejercido por el grupo nitro sobre el anillo aromático, por diferencia de electronegatividad, que genera una densidad de carga positiva en el anillo que dificulta la deslocalización de la carga positiva del carbono del carbonilo, favoreciendo de esta manera el ataque nucleofílico del alcohol a dicho centro reactivo. Concordando con estudios experimentales de la reacción de metanol con 4-clorobenzaldehído (que produce un efecto similar de atracción de electrones) y benzaldehído, reportando rendimientos de 99% y 93%, respectivamente ¹⁵.

Las energías de activación de las diferentes síntesis de hemiacetales aumentan a medida que disminuye la constante dieléctrica y polaridad de los disolventes empleados. Los solventes influyen sobre la reacción, favoreciéndola de acuerdo al siguiente orden: DMSO > acetonitrilo > THF > cloroformo, coincidiendo con estudios experimentales de influencia de solventes en la síntesis de glicerol etil acetal con un rendimiento de 82 %, 68 %, 35 % y 29 % en DMSO, acetonitrilo, TNF y cloroformo, respectivamente⁸.

5. Conclusiones

Luego del análisis y discusión de los resultados presentados en este trabajo, se observó un orden de reactividad: formaldehído > acetaldehído > 4-nitro benzaldehído > benzaldehído > 4-metil benzaldehído frente a la reacción con metanol.

Los aldehídos alifáticos resultaron ser más reactivos que los aromáticos frente a la síntesis de hemiacetales catalizada por ácido, presentando el formaldehído el valor más bajo de energía de activación.

Los solventes influyen sobre la síntesis de hemiacetales y el dimetilsulfóxido resultó ser el solvente óptimo para todas las reacciones estudiadas.

El método DFT (B3LYP) con el conjunto de base 6-31G* reportó, en todos los casos, los valores más bajos de energía, describiendo correctamente la adición nucleofílica sobre carbono insaturado o carbonilo.

La existencia de una marcada concordancia entre los resultados teóricos y datos de literatura, valida el empleo de los métodos DFT y IEFPCM como herramientas para el estudio del sistema químico planteado y la influencia de solventes en el mismo.

Agradecimientos

Agradecemos a UTN por el financiamiento del Proyecto homologado PAECACO0008059TC.

Referencias

- (1) Bauer, K.; Garbe, D.; Surburg, H.; *Common Fragrances and Flavors Materials*, 4th ed., Wiley, New York, **2001**.
- (2) *The Merck Index*, 12th ed.; Merck & Co., Inc.: Rahway, NJ, **1996**.
- (3) Aizawa, T.; Nakamura, H.; Wakabayashi, K.; Kudo, T.; Hasegawa, T.; Process for producing acetaldehyde dimethylacetal. U.S. Patent 5,326,918, **1994**.
- (4) Greene, T. W.; Wuts, P. G. M.; *Greene's Protective Groups in Organic Chemistry*, 4th ed., John Wiley and Sons, New York, **2007**.
- (5) Wuts, P. G. M.; Michigan, K.; *Protection for the Carbonyl Group. Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 5th ed., Academic Press, New York, **2014**.
- (6) Hanson, J. R.; *Protecting groups in organic synthesis*, Sheffield, England; Malden, MA, Sheffield Academic Press; Blackwell Science, **1999**.
- (7) Trifoi, A. R.; Agachi, P. S.; Pap, T. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2016**, 62, 804-814.
- (8) Faria, R. P. V.; Pereira, C. S. M.; Silva, V. M. T. M.; Loureiro, J. M. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, 52 (4), 1538-1547.
- (9) Smirnov, A. A.; Selishcheva, S. A.; Yakovlev, V. A. *Catalysts*. **2018**, 8, 595-620.
- (10) Ferreira, G. K. B.; Carvalho, C.; Nakagaki, S. *Catalysts*. **2019**, 9, 334-347.
- (11) Trifoi, A. R.; Agachi, P. S.; Pap, T. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2016**, 62, 804-814.
- (12) Azofra, L. M.; Alkorta, I.; Elguero, J.; Toro-labbé, A. *J. Phys. Chem. A*. **2012**, 116 (31), 8250- 8259.
- (13) Funderburk, L. H.; Aldwin, L.; Jencks, W. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 5444-5459.
- (14) Grabowski, J.; Granda, J. M. and Jurczak, J. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, 16, 3114-3120.
- (15) Dong, J-L.; Yu, L-S-H; Xie, J-W. *ACS Omega*. **2018**, 3, 4974-4985.
- (16) Yang, S-j; Du, X-x; He, L.; Sun J-t. *J. Zhejiang Univ. SCI.* **2005**, 6B(5), 373-377.
- (17) Kumar, R.; Chakraborti, A. K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 8319-8323.
- (18) Zhang, S.; Zhao, Z.; Ao, Y. *Appl. Catal., A.* **2015**, 496, 32-39.
- (19) Velusamy, S.; Punniyamurthy, T. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 4917-4920.
- (20) Ferreira, G. K. B.; Carvalho, C.; Nakagaki, S. *Catalysts*. **2019**, 9, 334-347.
- (21) Zong, Y.; Yang, L.; Tang, S.; Li, L.; Wang, W.; Yuan, B.; Yang, G. *Catalysts*. **2018**, 8, 48-57.
- (22) Leonard, N. M.; Oswald, M. C.; Freiberg, D. A.; Nattier, B. A.; Smith, R. C.; Mohan, R. S. *J. Org. Chem.* **2002**, 67 (15), 5202- 5207.
- (23) Roy, A.; Rahman, M.; Das, S.; Kundu, D.; Kundu, S. K.; Majee, A.; Hajra, A. *Synth. Commun.* **2009**, 39, 590 -595.
- (24) Parr, R. G.; Yang, W.; *Density-functional theory of atoms and molecules*, 1th ed., Oxford University Press, Nueva York, 1989.
- (25) Becke, A. D. *J Chem Phys.* **1997**, 107, 8554-8560.

- (26) Møller, C. ; Plesset, M.S.; Note on an approximation treatment for many-electron systems, *Physical Review*, **1934**, 46, 618-622.
- (27) Caglieri, S.C.; Macaño, H.R. *Ingeniería Investigación y Tecnología*. 2018, 19 (2), 239–244.
- (28) Caglieri, S.C.; Macaño, H.R. *Inf. Tecnol.* **2016**, 27 (2), 105–110.
- (29) Caglieri, S.C.; Pagnan, M. *Inf. Tecnol.* **2013**, 24 (3), 35–40.
- (30) Caglieri, S.C.; Macaño, H.R.; Servetti , G.I. *An. Asoc. Quim.* **2020**, 107(1), 33-42.
- (31) Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; y otros 71 autores. *Gaussian 09, Revision D.1., 2th Edition*. USA: Gaussian, Inc., **2013**.
- (32) Cancès, E.; B. Mennucci, J. *Chem. Phys.* **2001**, 115, 6130- 6136.
- (33) Faria, R.P.V.; Pereira, C.S.M.; Silva, V.M.T.M.; Loureiro, J.M.; Rodrigues, A.E. *Chem. Eng. J.* **2013**, 233, 159- 167.
- (34) Leonard, N.M.; Oswald, M.C.; Freiberg, D.A.; Nattier, B.A.; Smith, R.C.; Mohan, R.S. *J. Org. Chem.* **2002**, 67 (15), 5202- 5207.



UV PHOTORESPONSE OF ZnO FILMS MEASURED OVER LONG PERIODS

Claudia D. Bojorge^{1*}, Mario D. Bianchetti¹, Eduardo A. Heredia¹, Horacio R. Cánepa¹

¹ UNIDEF (MINDEF-CONICET), DECAPE, CITEDEF, J. B. de La Salle 4397, 1603 Villa Martelli, Pcia. de Buenos Aires, Argentina.

*Autor Corresponsal: e-mail cbojorge@citedef.gob.ar

Resumen

El ZnO es un material semiconductor tipo n con una alta energía de ligadura excitónica (60 meV) y un bandgap directo de 3,37 eV. Esta última característica hace que se lo considere un material fotoconductor, apto para la detección UV.

La fotoconductividad es una propiedad importante en los sólidos por medio de la cual la conductividad global de la muestra cambia debido a la radiación incidente. En general esta propiedad es un proceso complejo que incluye la generación y recombinación de portadores de carga y su transporte a los electrodos. En el caso del ZnO, la interpretación de la fotoconductividad resulta particularmente difícil por el hecho que, además de los mencionados, ocurren simultáneamente otros procesos, entre ellos la absorción y desorción de oxígeno sobre la superficie.

En el presente trabajo se estudió la fotorespuesta de films de ZnO nanoestructurados obtenidos por el método de sol-gel y depositados por spin-coating, para tiempos largos de exposición a la radiación o en oscuridad.

En los gráficos obtenidos de resistencia vs. tiempo se observa que, tanto en el pasaje desde la oscuridad hacia la iluminación UV, como a la inversa, hay un efecto de cambio de tendencia en el comportamiento de la curva luego de un período de horas. La mayoría de los trabajos existentes en literatura se relacionan con las características de dispositivos detectores de UV en tiempos muy breves de exposición-oscuridad (no mayores a algunos minutos). En los trabajos existentes con mediciones a tiempos largos no se hace mención a este comportamiento. Se discuten posibles mecanismos involucrados.

Abstract

ZnO is an n-type semiconductor material with a high exciton binding energy (60 meV) and a direct bandgap of 3.37 eV. This last characteristic makes it considered a photoconductive material, suitable for UV detection.

Photoconductivity is an important property in solids whereby the overall conductivity of the sample changes due to incident radiation. In general, this property is a complex process that includes the generation and recombination of charge carriers and their transport to the electrodes. In the case of ZnO, the interpretation of photoconductivity is particularly difficult due to the fact that, in addition to the aforementioned effects, other processes occur simultaneously, including the absorption and desorption of oxygen on the surface.

In the present work, the photo response of nanostructured ZnO films obtained by the sol-gel method and deposited by spin-coating, was studied for long times of exposure to radiation or in the dark.

On the resistance vs. time curves, it is observed that, both in the passage from darkness to UV illumination and vice versa, there are changes in the behavior of the curve after a period of hours. Most of the existing works in the literature are related to the characteristics of UV detection devices in very short exposure-dark times (no longer than a few minutes). In the existing works with measurements at long times, there is no mention about this behavior. Possible mechanisms involved are discussed.

Palabras clave: ZnO; películas nanocristalinas; fotoconductividad; UV.

Keywords: ZnO; nanocrystalline films; photoconductivity; UV.

1. Introduction

ZnO is a semiconductor material with a high exciton binding energy (60 meV) and a direct bandgap of 3.37 eV. This last characteristic makes it a photoconductive material, suitable for UV detection¹, as well as a promising candidate for photonic devices in the UV spectral range at room temperature². It is used in device systems such as photodetectors, gas sensors, photoemission and field emission devices, and Schottky diodes.

Undoped ZnO typically exhibits n-type conductivity, which many authors often associate with oxygen vacancies. However, first principles calculations showed that oxygen vacancies are not associated with shallow donor levels, but rather with deep levels³. The origin of n-type conductivity to this day remains a matter of debate. The presence of this and other native defects in the crystal, such as zinc interstitials or involuntary impurities, play a very important role in the

electrical properties of the material, both directly and through the interaction of the material with the surrounding atmosphere.

The interpretation of photoconductivity in ZnO is not simple at all, because many aspects of a semiconductor are involved simultaneously: optical absorption, carrier recombination kinetics, defects that control the useful life and transport properties, and among the most important, the absorption and desorption of oxygen on the surface^{1,4,5}.

According to the theory, it would be expected that as soon as the lighting is interrupted, the conductivity drop very rapidly; but in ZnO this is known not to happen. On the contrary, the decay process is very slow and it is governed by surface effects such as absorption and desorption of oxygen gas^{4,6}.

An understanding of all these processes would allow the development of more stable and reliable devices.

2. Materiale y Methods

2.1 Synthesis of the films

For the synthesis of the films, a precursor solution was prepared using zinc acetate dihydrated $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ZAD) (Merck) as organic precursor agent, absolute ethanol (EtOH) (Merck) as solvent and acetic acid (HAC) (Merck) in aqueous solution to promote hydrolysis, in the following molar ratios: $\text{Zn} / \text{EtOH} = 0.012$; $\text{HAC} / \text{Zn} = 0.01$ (in a 0.08M aqueous solution).

The solution was kept under reflux and with constant thermal stirring at 67 °C for 1 hour. After 24 hours of aging at room temperature, the solution was deposited on quartz substrates by spin-coating technique. After each deposit, the samples received a drying treatment at 200 °C for 10 min. There were made as many deposits as the desired number of layers. Finally, the samples received a final heat treatment at 450 °C for 3 hours.

2.2 Structural and morphological characterization

The samples were characterized by grazing incidence X-ray diffraction (GIXRD) (incidence angle $\alpha_i = 1^\circ$) using a conventional Phillips PW 3710, Cu-K α (1.54056 Å) equipment.

The observation of the films was carried out in a Kar Zeiss FESEM DSM 982 Gemini scanning microscope, belonging to the Advanced Microscopy Center, FCEyN, UBA.

2.3 Electrical characterization

The electrical characterization of the films was carried out by the four-point method, for which, on the ZnO films, four rectangular, parallel and equidistant Au electrodes were made. Such electrodes were deposited by sputtering, using an *ad hoc* matrix of our own design (built in the laboratory).

The measurements were made by mounting a system in a tube oven at 50 °C in order to keep the film in absolute darkness and isolated from any source of external light excitation, avoiding at the same time fluctuations in room temperature and humidity. The resistivity of a sample is determined from the injection of a current I between the external electrodes and the measurement of the voltage V between the internal electrodes.

2.4 Photoconductivity Measurements

For the photoconductivity study, a source of UV LEDs with wavelength $\lambda = 395$ nm was constructed, which was mounted above the sample.

In this work, only the results obtained corresponding to a 12-layer film are shown. In the measurements presented, the periods of both darkness and illumination were greater than 15 hours, with records at 10-minute intervals.

3. Results

In Figure 1 it can be seen the GIXRD diffractogram corresponding to the ZnO film, in the 2θ range between 30° and 40° , where the main peaks corresponding to the reflections of the (100), (002) and (101) planes of the hexagonal wurtzite structure of ZnO appear ⁷.

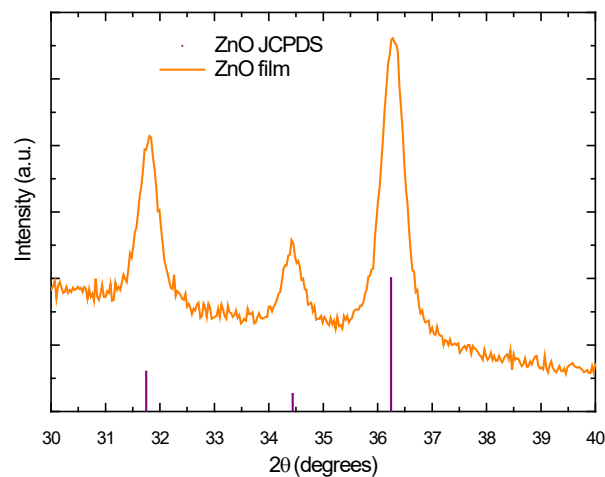


Figure 1. GIXRD diffractogram corresponding to the 12 layers ZnO sample

Figure 2 corresponds to FESEM micrographs of the studied ZnO sample: image a) shows the topography of the surface film, while image b) presents the profile. It can be seen a continuous film with a uniform thickness of about 220 nm, made up of nanometric particles.

Graphs presented in Figures 3 and 4 correspond to photoconductivity measurements. Ordinates axis represents variation of voltage (ΔV) with UV illumination, which corresponds, according to Ohm's Law, to a linear variation of sample resistance.

Figure 3a) shows that, after several hours of darkness and when lighting at $t = 0$, the resistance drops drastically. In the enlargement of the graph (fig. 3b) it can be observed that at 4 hours a minimum appears, reaching 0.8% of the value in the dark, after which the resistance grows smoothly until reaching 1.2% at 25 hours.

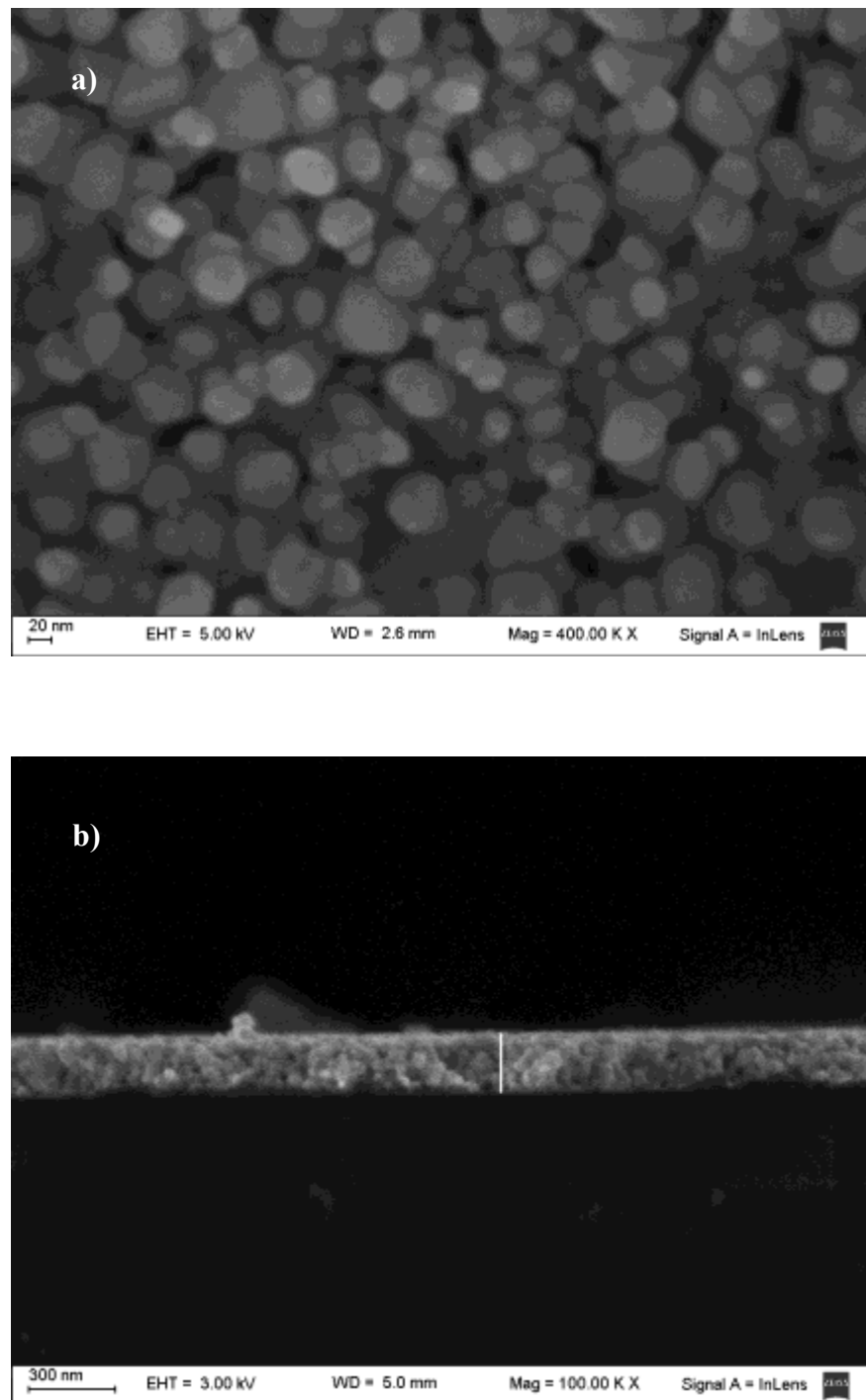


Figure 2. FESEM micrograph of the ZnO sample studied: a) Surface image; b) Profile image.

In fig. 4.a), after several hours of illumination, at $t = 0$ the UV source is turned off. At first, the resistance begins to grow until reaching a maximum (corresponding to 50V) at $t = 6$ hours, after which, it decrease smoothly till 12% of the reached value.

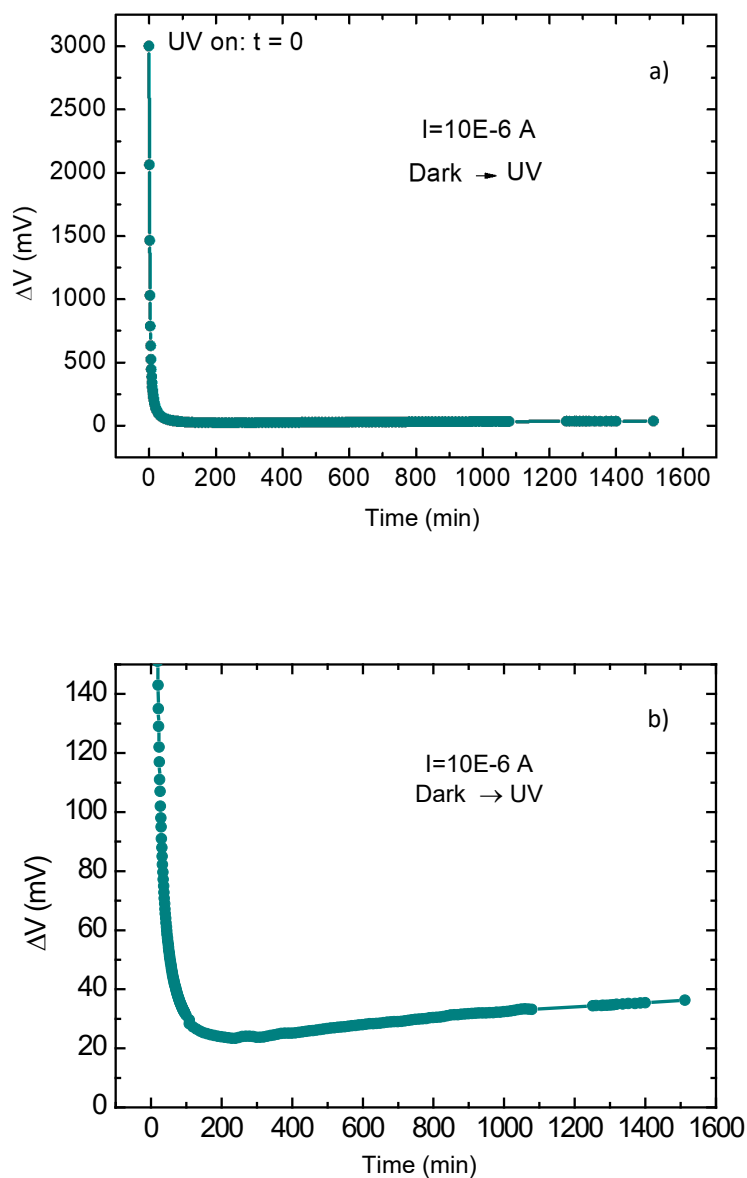


Figure 3. a) Voltage variation during the Dark \rightarrow UV transition; b) Zoom in of fig. 3a).

In fig. 4.b), after illuminating the sample for several hours with a certain intensity (feeding LEDs with 10mA), at $t = 0$ the power of the source is lowered (feeding LEDs with 1mA). Resistance grows to a maximum at 6 hours and, again, declines at a slow rate, reaching the 55% of this value at $t = 49$ hours.

It can be observed that the response speed is faster when it is illuminated or the illumination is increased than when the lighting is interrupted or simply dimmed. In the first case, the response

times are in the order of seconds or minutes, while when lighting decreases it can be minutes or hours.

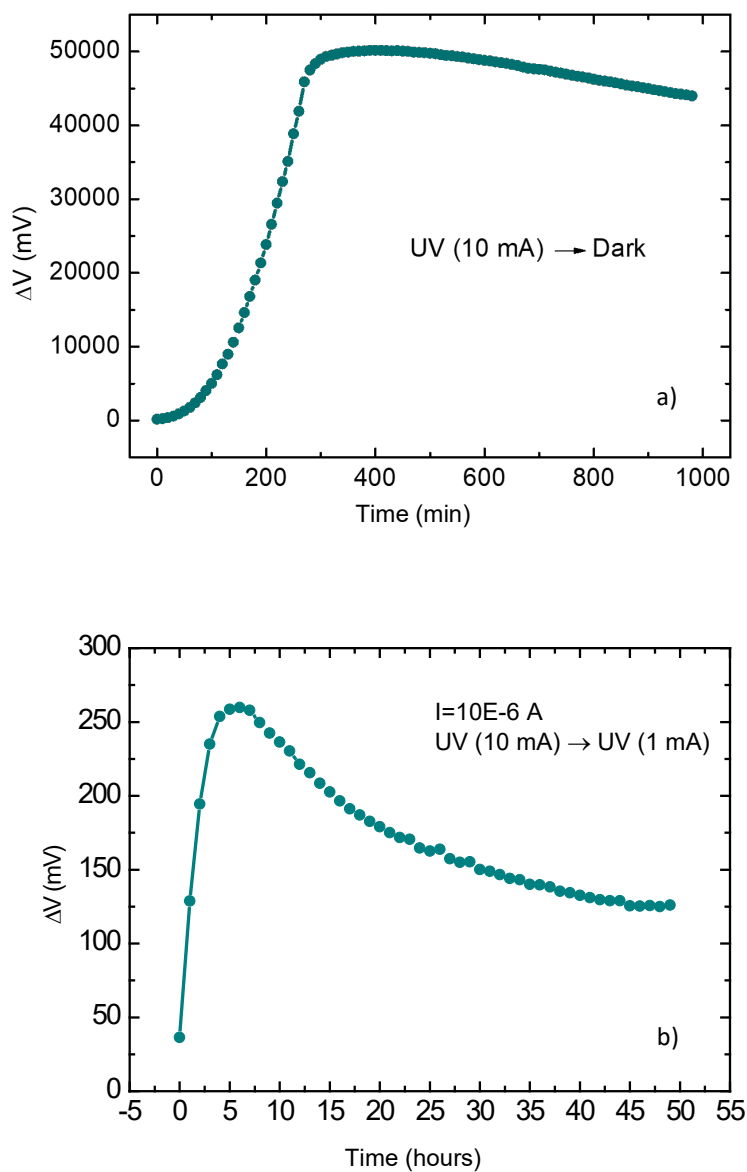


Figure 4. a) Voltage variation during the UV → dark transition. b) Voltage variation as UV illumination intensity is lowered from UV (10mA) to UV (1mA)

Similar results to those presented in these figures were obtained in other ZnO studied samples. It is important to note that these observations are not reported in the existing literature for long-time photoconductivity measurements.

4. Discussion

Photoconductivity curves show that so in the passage from dark to UV as viceversa, there is a change in the behavior of the curve after a period of 4 and 6 hours respectively. This effect also appears at 6 hours when the intensity of UV lighting is decreased.

This suggests the competition of at least two processes, with their characteristic times, and acting in opposite directions.

The interpretation of photoconductivity in ZnO is particularly complex due to the fact that different processes occur simultaneously.

There is a fast response associated with processes such as transitions between bands.

On the contrary, adsorption and photodesorption processes of oxygen on the surface of the sample² due to the presence of defects, show a slow behavior. These processes occur as follow:

- In the absence of light, ZnO adsorbs O₂ from the surrounding air due to the presence of surface states. The O₂ captures a free electron from the crystal, remaining as a charged ion (O²⁻) and generating a region of charges near the surface, that is, a potential barrier that reduces electrical conduction.

- When illuminating with UV, an electron-hole pair (e⁻-h⁺) is produced: e⁻ contributes to conduction while h⁺ is captured by O²⁻, the latter being released (photodesorption). The e⁻ trapped by the O²⁻ will return to the interior of the ZnO, also contributing to conduction and causing, in turn, a decrease in the barrier, also favoring conductivity.

- When the lighting is removed, the O₂ are readsorbed on the surface until the balance is restored.

This process is slower than photodesorption.

Intrinsic defects of ZnO (oxygen vacancies and interstitial zinc) play a key role in the response to UV. ZnO tends to lose oxygen and thus become non-stoichiometric. Its n-type conduction is due to such intrinsic defects that they act as donors in the ZnO matrix. After a sufficiently long time during which the structural relaxation of the network takes place, some oxygens move towards the surface and can form surface states. Then the oxygen vacancies that remain in regions close to

the surface, act by supplying electrons to the O^{2-} which is found as an adsorbate (increasing the electrical resistance as already mentioned). These surface states increase the density of adsorbed O^{2-} . These extra oxygens can be incorporated into the network filling the vacancies and even creating zinc interstitials.

5. Conclusions

The difference in response speed when turning on and when lighting is interrupted could be interpreted as follows: when ZnO is exposed to ultraviolet light, a large number of unpaired electrons are generated through the surface, resulting in a rapid increase in photocurrent, whereas once UV exposure is turned off, it takes longer to discharge these photogenerated electrons. Probably these slow processes, take about hours to reach equilibrium.

But, in addition, another extra process should be acting, in a weaker way, at even longer times and in the opposite direction, being the one that generates the presence of these soft changes in behavior. More studies should be carried out aiming to determine if the observed characteristic times are related to the dynamics of the defects and the relaxation of the ZnO network.

Acknowledgements

The authors want to thank CITEDEF for the support received to carry out this work.

References

- (1) L. K. Larsen, R. E. Moore, G. M. L. Patterson, *J. Nat. Prod.* **1994**, 57, 419-421. (1) Khokhra, R.; Bharti, B.; Lee, H.; Kumar, R. *Scientific Reports*. 2017, vol 7, Article number: 15032.
- (2) Özgür, Ü.; Alivov, Y. I.; Liu, C.; Teke, A.; M. Reshchikov, A.; Doğan, S.; Avrutin, V.; Cho, S. J.; Morkoç, H. *J. Appl. Phys.* **2005**, 98 (4), 41301.
- (3) Bao, J.; Shalish, I.; Su, Z.; Gurwitz, R.; Capasso, F.; Wang, X.; and Ren Z. *Nanoscale Research Letters* **2011**, 6, 404.
- (4) Ghosh, S.; Das, K.; Tripathy, N.; Bose, G.; Kim, D.H.; Lee, T.I.; Myoung, J.M.; Kar, J.P. *Materials Science and Engineering* **2016**, 115, 012035.
- (5) Zhang, L.; Fu, G.; Teng, X.; Yu, W.; Xu, H., *Symposium on Photonics and Optoelectronics, SOPO 2009*. IEEE Conference Publications.
- (6) Mrigha, S.; Basak, D. *Chemical Physics Letters*. **2006**, 427, 62-66.
- (7) JCPDS; 5-0664, ZnO (**1999**).



MEDICIONES DE PM₁₀ y NO₂ DURANTE LOS PRIMEROS MESES DE LA CUARENTENA DE COVID-19 EN EL 2020 EN CIUDAD DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

L. Otero^{a,b,c}, F. Casasola^{a,c,d,e}, M. Prieto^{d,e}, C. Pereyra^{d,e}, S. Brusca^b

^a Universidad de la Defensa Nacional, Facultad de Ingeniería del Ejército, Gral. Div. Manuel N. Savio. Av. Cabildo 15 (C1426AAA), C.A.B.A., Argentina.

^b CITEDEF, CEILAP- UNIDEF (MINDEF-CONICET) – Juan Bautista de La Salle 4397 (B1063ALO), Villa Martelli, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

^c Universidad Tecnológica Nacional - Facultad Regional Buenos Aires. Medrano 951 (C1179AAQ), C.A.B.A., Argentina.

^d Servicio Geográfico Militar, Instituto Geográfico Nacional, Av. Cabildo 381 (C1426AAA), C.A.B.A., Argentina.

^e Dirección General de Investigación y Desarrollo del Ejército Argentino, Azopardo 250 (C1107ADB), C.A.B.A., Argentina..

*Autor Corresponsal: e-mail lotero@citedef.gob.ar lidia1116@gmail.com

Resumen

La contaminación del aire repercute en el bienestar de los seres vivos, en sus ecosistemas y en el medioambiente. Ésta incide directamente en la salud humana y afecta el rendimiento de la agricultura, la economía y la biodiversidad. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), alrededor de 4,2 millones de personas mueren cada año como resultado de la exposición a una mala calidad del aire.

Durante los primeros meses de la cuarentena se observó en varias ciudades del mundo, una reducción significativa de la presencia de dióxido de nitrógeno (NO₂) y de material particulado (PM) en suspensión. Esta reducción en los niveles se registró también en nuestro país. En este trabajo, se presentan las variaciones medidas de PM y de NO₂ en la estación de monitoreo de Av. Córdoba en Ciudad de Buenos Aires y el análisis de mediciones satelitales de NO₂ del sensor OMI (Ozone Monitoring Instrument) para estudiar el comportamiento en todo el territorio nacional. Se presentan los niveles mínimos detectados comparados con los valores antes de la cuarentena y como lentamente esos niveles se ven influenciados por el incremento paulatino de la actividad antropogénica.

Abstract

Air pollution affects the well-being of living beings, their ecosystems and the environment. This has a direct impact on human health and affects the performance of agriculture, the economy and biodiversity. According to the World Health Organization (WHO), around 4.2 million people die each year as a result of exposure to poor air quality.

During the first months of quarantine, a significant reduction in the presence of nitrogen dioxide (NO₂) and particulate matter (PM) in suspension was observed in several cities around the world. This reduction in levels was also registered in our country. In this work, the measured variations of PM and NO₂ at the monitoring station of Av. Córdoba in the Buenos Aires' City and the analysis of satellite measurements of NO₂ from the OMI sensor (Ozone Monitoring Instrument) are presented to study the behavior throughout the National territory. The minimum levels detected are presented compared to the values before quarantine and how slowly these levels are influenced by the gradual increase in anthropogenic activity.

Palabras clave: *calidad del aire, NO₂, material particulado, aerosoles.*

Keywords: *air quality, NO₂, particulate matter, aerosols.*

1. Introduction

La contaminación del aire es la presencia de gases tóxicos y de partículas sólidas y líquidas en suspensión en la atmósfera, nocivos para la salud y el medioambiente. La calidad del aire permite conocer su grado de contaminación. Una mala calidad del aire repercute directamente en el bienestar de los seres vivos, provoca una mayor incidencia de accidente cerebrovascular, enfermedad cardíaca, cáncer de pulmón y asma. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS): alrededor de 4,2 millones de personas mueren cada año como resultado de la exposición a la mala calidad del aire exterior y el 91 % de la población mundial vive en áreas donde la calidad del aire excede los límites máximos de las normas de la OMS ¹.

La contaminación del aire fue el cuarto factor riesgo de muerte en todo el mundo en 2019, superado solo por la presión arterial alta, consumo de tabaco y mala alimentación ².

La pandemia de COVID-19 ha provocado reducciones de viajes a escala mundial y local, cierre de escuelas y empresas, y detuvo parte de la actividad industrial. Las mediciones satelitales y el monitoreo de la calidad del aire desde la superficie han mostrado reducciones en las

concentraciones de contaminantes como el dióxido de nitrógeno (NO₂) y, en algunos casos, reducciones del material particulado. Como muestran los datos, estos cambios fueron solo temporales. A medida que se levantaron las restricciones, aumentaron las emisiones y se borró rápidamente cualquier mejora en la calidad del aire alcanzada ^{2,3}.

En este trabajo se analizan los efectos de la cuarentena por la pandemia de COVID-19 sobre las mediciones de material particulado y dióxido de nitrógeno utilizando datos de la Estación de Monitoreo de la Avenida Córdoba de la Ciudad de Buenos Aires y datos satelitales del sensor OMI (Ozone Monitoring Instrument).

2. Descripción del evento. Medición de la calidad del aire

Durante los primeros meses de la cuarentena muchas ciudades del mundo observaron una mejora en las mediciones de la calidad del aire producto de una disminución de la actividad del hombre ^{2,3}. Las principales fuentes antropogénicas que inciden directamente en el aumento o disminución de la calidad del aire y que influyen en la contaminación del mismo son: el tráfico vehicular y aéreo; las actividades y procesos industriales y las quemas de biomasa.

Se puede determinar la calidad del aire por la medición diaria y continua de 5 variables o parámetros atmosféricos ^{4,5,6}:

1. Material Particulado (Aerosoles): son partículas sólidas y líquidas de diferentes tamaños en el aire, se las puede clasificar por su diámetros en PM10 (partículas de 10 micrómetros de diámetro) las cuales, por su tamaño, puede penetrar al organismo a nivel pulmonar; PM2.5 (partículas de 2.5 micrómetros de diámetro) pueden ingresar al torrente sanguíneo a través de la barrera aire-sangre en los pulmones (son las causantes de altos índices de mortalidad en personas expuestas a niveles altos durante largos períodos). Los valores máximos de referencia actuales de la OMS para PM2.5 son 10 µg/m³ (media anual) y 25 µg/m³ (promedio diario), mientras que para PM10 son 20 µg/m³ (promedio anual) y 50 µg/m³ (media diaria) ^{3,4}. Para la ciudad de Buenos Aires para PM10 en promedio 24 horas: 150 µg/m³ y para PM2.5 en promedio 24 horas ⁷: 65 µg/m³.

2. Dióxido de nitrógeno (NO_2): es un gas de efecto invernadero. Está relacionado con las emisiones producto del tránsito vehicular y aéreo y con la actividad industrial. El NO_2 se libera al aire al quemar carbón, gasolina y biocombustibles, como la madera. Tiene efectos nocivos en la salud humana y además, participa en la formación de otros contaminantes atmosféricos como el ozono troposférico. Su permanencia en la atmósfera es muy dependiente de la fuente de emisión, es decir, cuando la fuente cesa de producir NO_2 , en pocos días su contenido en la atmósfera disminuye. Su tiempo de residencia es del orden de 1 a 2 días ^{5,6}. Los valores actuales máximos tolerados de la OMS son $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (media anual) y $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (media por hora) ⁴. Para la ciudad de Buenos Aires el estándar para el NO_2 es en promedio para 1 hora: 0,200 PPM (200 PPB) ⁷.

3. Monóxido de carbono (CO): es un gas venenoso que es incoloro, inodoro e insípido. Es el resultado de la combustión incompleta de gas natural y otros materiales que contienen carbono. A diferencia del NO_2 , su permanencia en la atmósfera es de varios meses, aun cuando la fuente de emisión haya cesado. Su tiempo de residencia es del orden de 60 días ^{5,6}. Es dañino para el organismo porque al respirarlo desplaza el oxígeno en la sangre. Para la ciudad de Buenos Aires los valores máximos permitidos son en promedios 8 horas: 9 PPM y en promedio 1 hora de 35 PPM ⁷.

4. Dióxido de azufre (SO_2): es un gas que proviene de la quema de combustibles fósiles y la fundición de minerales también se libera naturalmente por la actividad volcánica. Irrita las vías respiratorias (las personas que sufren de asma) y los ojos. Componente principal de la lluvia ácida. Los valores actuales de la guía de la OMS son $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (media diaria) y $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (media de 10 minutos) ⁴. Para CABA el promedio de 24 horas: 140 PPB y promedio de 1 hora: 75 PPB ⁷.

5. Ozono (O_3): gas que a nivel del suelo puede dañar el sistema respiratorio. El valor actual máximo tolerado por la OMS es de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (media de 8 horas) ^{3,4}. Para la ciudad de Buenos Aires los valores máximos permitidos son en promedios 8 horas: 0,08 PPM y en promedio 1 hora de 0.12 PPM ⁷.

3. Descripción de datos procesados

Para el análisis de los efectos de la pandemia sobre la calidad del aire se utilizaron los datos de PM10 y NO₂ debido a que su tiempo de residencia es del orden de pocos días y de esta manera se pueden detectar las variabilidades casi inmediatamente. Para el estudio sobre Ciudad de Buenos Aires se utilizaron los datos de la Red de Monitoreo de la ciudad ⁸. La ciudad cuenta con tres estaciones de monitoreo que se muestran en la Figura 1, una en la Avenida Córdoba y Rodríguez Peña, una en Parque Centenario (Ramos Mejía al 800) y la tercera en La Boca (Brasil al 100). Para este trabajo se usaron las mediciones de la Estación de Monitoreo ubicada en la Av. Córdoba por estar situada en una zona alejada de industrias y solamente influenciada por la actividad propia de una gran urbe. Las estaciones publican sus datos en valores medios cada 8 horas o en promedio de 24 horas.

Para estudiar los efectos sobre todo el territorio argentino se utilizaron mediciones del Instrumento de Monitoreo de Ozono (OMI - Ozone Monitoring Instrument), sensor que mide el NO₂ a bordo del satélite AURA. El producto usado es el OMNO2d de nivel 3, en el que los datos se promedian en cuadrículas globales de 0,25 x 0,25 grados ⁹. Este producto contiene la columna troposférica total NO₂, para las condiciones del cielo donde la fracción de nubes es inferior al 30 % ^{9,10}.

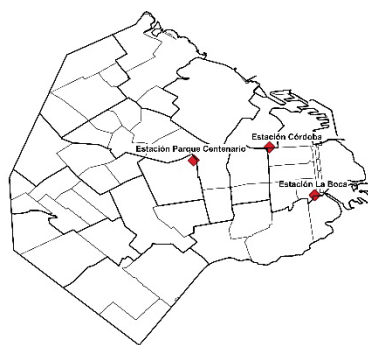


Figura 1. Ubicación de las Estaciones de Monitoreo Automático EPA de la Ciudad de Buenos Aires.

4. Metodología y Resultados

Para la Ciudad de Buenos Aires se analizaron los datos diarios en promedio de 8 horas de PM₁₀ y NO₂ de la estación de Av. Córdoba, desde el 1 de enero al 30 de agosto de 2020. Se seleccionó el rango entre las 8 y las 16 horas por ser la franja horaria de mayor actividad de circulación de transporte. En la Figura 2 se muestra la evolución temporal del PM₁₀ en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ observándose una disminución a partir del 20 de marzo de 2020 de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en promedio. A partir del 13 de abril se observa una recuperación de los valores, alcanzando los mismos niveles que antes de la cuarentena. Desde el 5 de agosto los niveles aumentaron a valores de $40 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en promedio, observándose valores máximos de $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ a mediados del mes de agosto.

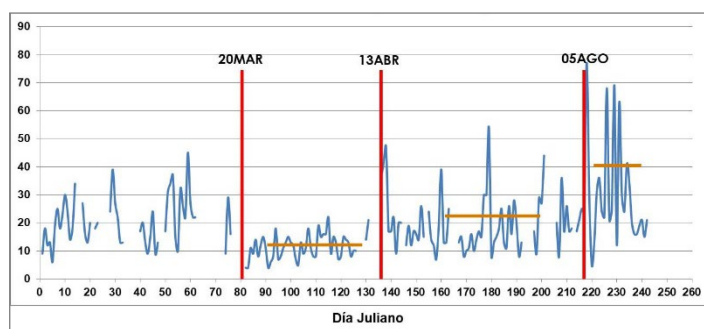


Figura 2. Evolución temporal de PM₁₀ [$\mu\text{g}/\text{m}^3$], promedio de 8 horas (de 08 a 16 horas) desde el 1 de enero al 31 de agosto de 2020 en día juliano.

Para poder comparar los niveles de PM₁₀ con las mediciones de los mismos meses durante el 2019, se graficó en la Figura 3 la evolución temporal promedio de 8 horas (entre las 8 y 16 horas) para los meses de marzo y agosto de 2019 y 2020. Se puede observar que las mediciones de fines de marzo de 2020 son los niveles más bajos, con un promedio de $7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y que durante mediados de agosto 2020 se presentaron los valores más altos con un máximo de $77 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Un análisis similar se realizó con los datos de NO₂. En la Figura 4 se muestra la evolución temporal del NO₂ en PPB observándose una importante disminución a partir del 20 de marzo de 2020 alcanzando un promedio de 5 PPB para fines de marzo. A partir del 13 de abril los niveles alcanzan los valores de antes de la cuarentena. Se compararon los valores con las mediciones registradas

durante 2019. En la Figura 5 se presenta la evolución temporal promedio de 8 horas (entre las 8 y 16 horas) para los meses de marzo y agosto 2019 y 2020. Se puede observar que las mediciones de fines de marzo de 2020 son los niveles más bajos, con un promedio de 6 PPB y a fines de julio de 2020 se presentaron los valores más altos con un máximo de 66 PPB.

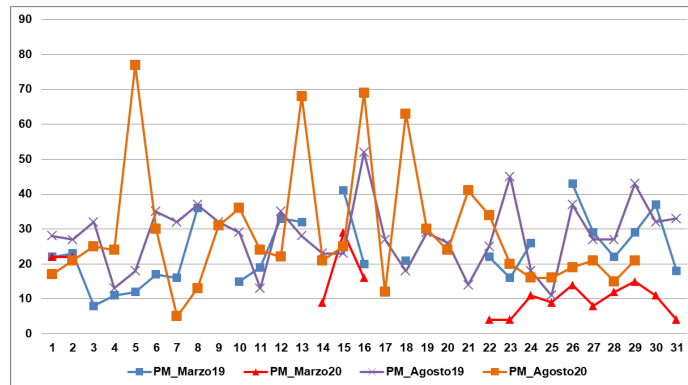


Figura 3. Comparación de la evolución temporal de PM10 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$], promedio de 8 horas (de 08 a 16 horas) para los meses de marzo y agosto 2019 y 2020.

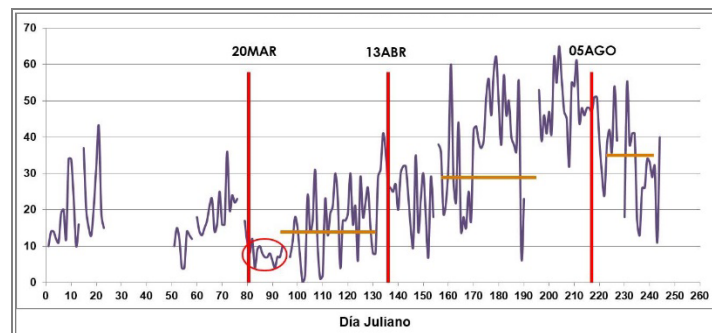


Figura 4. Evolución temporal de NO₂ [PPB], promedio de 8 horas (de 08 a 16 horas) desde el 1 de enero al 31 de agosto de 2020 en día juliano.

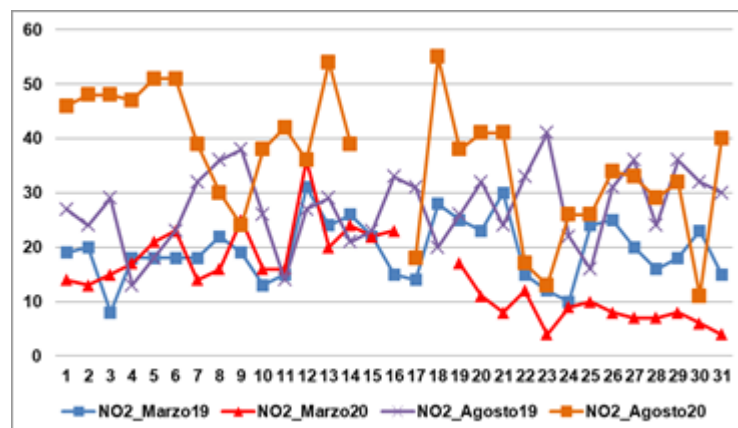


Figura 5. Comparación de la evolución temporal de NO₂ [PPB], promedio de 8 horas (de 08 a 16 horas) para los meses de marzo y agosto 2019 y 2020.

Para determinar los valores medios de NO_2 presentes en la atmósfera sobre el territorio argentino se promediaron las mediciones del sensor OMI desde el 1 enero de 2005 al 31 de diciembre de 2019. En la Figura 6 panel derecho se muestra el valor medio obtenido de 14 años de datos. Se destacan valores altos en Ciudad de Buenos Aires, Gran Buenos Aires, Córdoba, Tucumán, Mendoza y en Rosario. Durante los primeros días de la cuarentena del 20 al 23 de marzo de 2020, donde la movilidad y la actividad industrial se vieron prácticamente suspendidas, se registraron los menores valores de NO_2 sobre el territorio. En la Figura 6 panel izquierdo, se puede observar el promedio de las mediciones para esos 4 días. Se observa que la abundancia de NO_2 presenta casi un nivel uniforme para todo el país. Esto nos permite determinar un “umbral” de abundancia de NO_2 presente en la atmósfera ya que la influencia de las emisiones antropogénicas se vieron disminuidas. Para determinar la contribución de la actividad del hombre en el nivel de NO_2 presente, se resta al valor medio calculado entre los años 2005 al 2019 el valor “umbral” calculado con los datos del 20 al 23 marzo 2020. El resultado de esta diferencia se muestra en la Figura 7 donde se puede visualizar claramente las fuentes de emisión producto de la actividad socio-industrial.

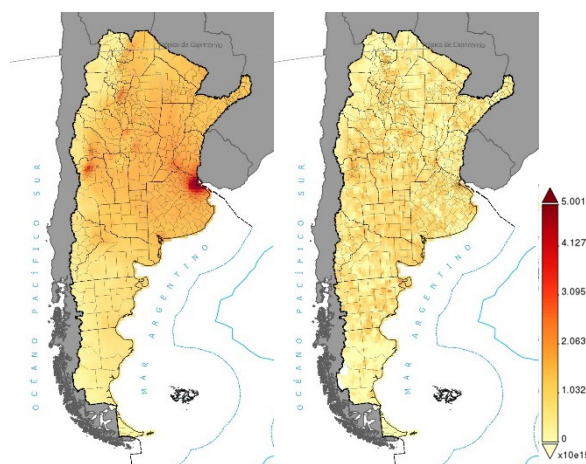


Figura 6. Panel derecho: NO_2 [molec/cm^2] promedio calculado desde 01 de enero de 2005 al 31 de diciembre de 2019. Panel izquierdo: NO_2 [molec/cm^2] promedio calculado desde 20 al 23 de marzo de 2020.

Si se compara el resultado de la Figura 7 con el panel derecho de la Figura 8 donde se grafica la densidad poblacional por departamento obtenida del INDEC del censo 2010¹¹, se puede observar

que hay una buena correlación entre ambas variables, indicando que hay una relación importante entre la cantidad de habitantes por km² y las emisiones de NO₂.

Para completar el estudio, se grafica en la Figura 8 panel izquierdo los casos acumulados al 17 de noviembre de 2020 de COVID-19 por departamento¹². Comparando las Figuras 7 y 8 (ambos paneles) se puede apreciar que tienen una distribución muy semejante las tres variables, indicando la posibilidad de una relación entre la densidad de población, las emisiones de NO₂ y los casos de COVID-19.

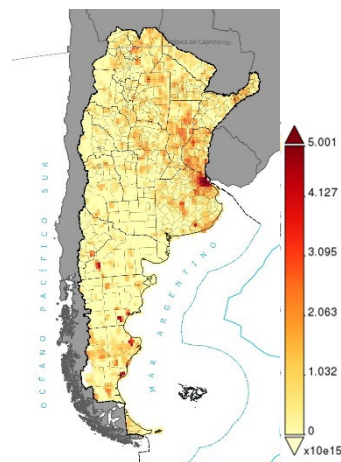


Figura 7. NO₂ [molec/cm²] promedio calculado desde 01 de enero de 2005 al 31 de diciembre de 2019 menos el promedio del 20 al 23 de marzo de 2020 (medición “umbral”).

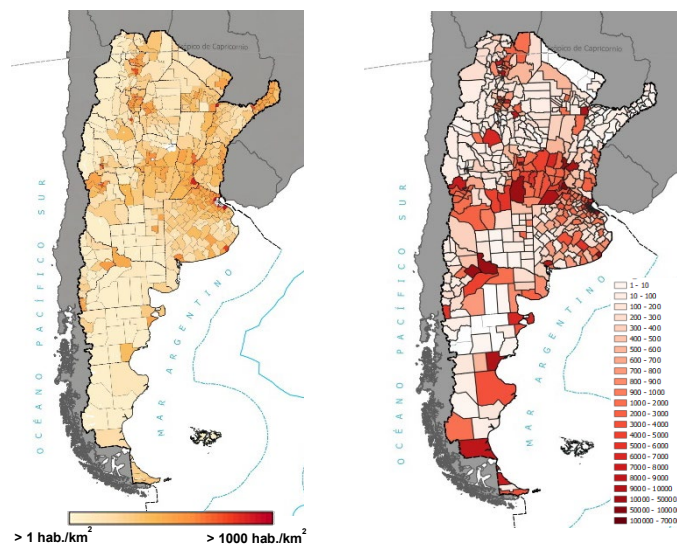


Figura 8. Panel derecho: Densidad de población por departamento (Censo 2010) [hab./km²]. Panel izquierdo: Casos acumulados de COVID-19 al 17 de noviembre de 2020 por departamento.

5. Conclusiones

El monitoreo de la calidad del aire es primordial para salvaguardar la salud humana. La contaminación del aire también afecta el rendimiento de los cultivos y varios otros sectores económicos. En el presente trabajo se analizó el efecto de la cuarentena en las mediciones de PM10 y NO₂ en Ciudad de Buenos Aires y de NO₂ sobre todo el territorio argentino.

Se observaron reducciones de los niveles de PM10 y NO₂ los primeros días de la cuarentena y que permitieron, en el caso de NO₂ determinar un umbral natural de abundancia en la atmósfera.

Los niveles de PM10 y NO₂ en Ciudad de Buenos Aires durante julio y agosto se vieron influenciados por el transporte de los vientos de columnas de humo de las quemas de biomasa que se registraron en el Delta del Paraná. Este análisis pone de manifiesto que los aerosoles pueden recorrer cientos de kilómetros desde su origen y afectar el clima, calidad del aire y visibilidad de otras zonas muy distantes desde su fuente de emisión.

Finalmente se concluye que se visualiza una relación entre la densidad de población, las emisiones de NO₂ y los casos de COVID-19 acumulados. Esta relación se deberá estudiar y analizar en profundidad una vez que la pandemia haya finalizado y se tengan los datos totales. También debería incluir la tasa de mortalidad y de incidencia por departamento para un mejor y acabado estudio.

La cuarentena por COVID-19 ofreció sólo un respiro temporal de la contaminación del aire. Marcó que las acciones para restringir la propagación de COVID-19 dieron una solución temporal, que podrían ser el inicio de hábitos renovados para demandas de aire más limpio a largo plazo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a: CONICET, UNDEF, Proyectos UNDEFI, UTN y Ministerio de Defensa por el apoyo brindado para la realización del presente trabajo.

Referencias

- (1) Calidad del aire ambiente (exterior) y salud WHO | World Health Organization [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)
- (2) State of Global Air 2020. Special Report. Boston, MA: Health Effects Institute. ISSN 2578-6873, 2020.
- (3) Ambient air pollution: A global assessment of exposure and burden of disease. World Health Organization ISBN: 9789241511353, **2016**.
- (4) Guías de calidad del aire de la OMS relativas al material particulado, el ozono, el dióxido de nitrógeno y el dióxido de azufre Actualización mundial 2005 Resumen de evaluación de los riesgos. WHO/SDE/PHE/OEH/06.02, **2006**.
- (5) Vallero, D. Fundamentals of Air Pollution - Fifth Edition. 10.1016/B978-0-12-401733-7.01001-X, Print Book ISBN: 9780124017337 - eBook ISBN: 9780124046023, 2014.
- (6) Davies, M. L., S. J Masten y V. González y Pozo. Ingeniería y Ciencias Ambientales. Mc Graw-Hill ISBN 9789701049785, **2005**.
- (7) Decreto 198-06 Reglamentario de Ley 1356-GCBA.
- (8) Red de Monitoreo de Aire y Ruido de la Ciudad de Buenos Aires www.buenosaires.gob.ar/areas/med_ambiente/apra/calidad_amb/red_monitoreo
- (9) Krotkov, N., Lamsal, L., Celarier, E., Swartz, W., Marchenko, Sergey V., Bucsela, E. J., Chan, K., Wenig, M., Zara, M. Atmos. Meas. Tech. **2017**, 10, 9, 3133-3149.
- (10) Liu, F., Duncan, B., Krotkov, N., Lamsal, L., Beirle, S., Griffin, D., McLinden, C., Goldberg, D., Lu, Z. Atmos. Chem. Phys. **2020**, 20, 1, 99-116.
- (11) Instituto Nacional de Estadística y Censos de la República Argentina INDEC es el organismo que unifica y ejerce todas las actividades estadísticas oficiales. <https://www.indec.gob.ar>
- (12) Ministerio de Salud, Nuevo coronavirus COVID-19; Información epidemiológica. Información epidemiológica <https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus-COVID-19/sala-situacion>



ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE FASES EN ALEACIONES

ENVEJECIDAS DE CuAlNi CON MEMORIA DE FORMA

M. Mosquera Panizo^{1*}; F. de Castro Bubani^{2,3,4}, R. Gastien⁵

¹Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad de Buenos Aires.

²División Física de Metales, Centro Atómico Bariloche (CAB-CNEA), Av. Bustillo 9500, S.C.de Bariloche, Río Negro, Argentina.

³CONICET, Godoy Cruz 2290, CABA, Argentina.

⁴Instituto Balseiro, Universidad Nacional de Cuyo, Av. Bustillo 9500, S.C.de Bariloche, Río Negro, Argentina.

⁵Departamento de Investigaciones en Sólidos, Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas para la Defensa, UNIDEF (CONICET-MINDEF)

*Autor Corresponsal: e-mail micaela.mpanizo@gmail.com

Resumen

Los materiales con memoria de forma han despertado gran interés desde el punto de vista científico y tecnológico debido a sus propiedades termomecánicas especiales como el efecto memoria de forma y pseudoelástico. Estos materiales tienen la capacidad de cambiar su forma mediante la aplicación de un estímulo externo, y de recuperarla posteriormente. Estas propiedades particulares que los diferencian de los metales convencionales ocurren debido a una transformación martensítica (TM) que puede inducirse por enfriamiento o por aplicación de carga mecánica.

Dentro de estos materiales se encuentran las aleaciones de CuAlNi, cuya principal ventaja frente a otras aleaciones de base Cu es su baja difusión a temperaturas superiores a ambiente. Por ello resultan interesantes para su uso como actuadores y sensores en esos rangos de temperatura, siendo fundamental el estudio del comportamiento de las mismas cuando son sometidas a tratamientos térmicos de envejecimiento.

Este trabajo presenta un abordaje integral de la Ciencia de Materiales aplicado a una aleación Cu-14.3Al-4.1Ni (%peso) desde el proceso de fabricación a partir de los metales puros, su caracterización y estudio de las interrelaciones entre microestructura, procesamiento y propiedades.

Las aleaciones, sometidas a tratamientos de envejecimiento a 200°C, registraron un aumento de la temperatura de transformación y disminución de la carga de transformación hasta alcanzar un estado

asintótico. Luego de alcanzar dicho estado, el cual resultó ser el más estable, se realizaron tratamientos de recuperación a ciertas muestras concluyendo que la recuperación puede no ser completa. Defectos microestructurales fueron observados en muestras envejecidas y recuperadas.

Abstract

Shape memory alloys are potential candidates for high temperature technological applications, such as actuator or sensor devices, because of their particular thermo-mechanical properties. Their thermomechanical behavior is different from the rest of the known metallic materials, with the capacity to change its shape through the application of an external stimulus and to recover it later. These special properties, such as shape memory and pseudoelasticity are derived from a first order martensitic transformation (MT). MT can be induced either by cooling or by applying stress. Particularly, CuAlNi alloys are an alternative for high temperature applications due to their low diffusion at temperatures higher than room temperature. From a technological point of view, the study of the alloys' behavior and microstructure after aging treatment is very important to predict the response of the material. The aim of this work is to present a thorough study of Cu-14.3Al-4.1Ni (wt.%) shape memory alloys since from refurbishing to thermomechanical and microstructure's characterization. Changes in MT, such as an increase in critical temperatures and a decrease in critical stresses, were studied after ageing at 473K and after annealing. Phase stability was analyzed at different ageing times. Results show that the asymptotic state is the most stable condition. Microstructural modifications in samples were analyzed by transmission electron microscopy.

Palabras clave: *Materiales con memoria de forma; transformación martensítica; transformaciones de fase; defectos; propiedades mecánicas.*

Keywords: *Shape memory materials; martensitic transformation; phase transformation; defects; mechanical properties.*

1. Introducción

Las aleaciones con composiciones químicas cercanas a Cu-14Al-4Ni (%peso) pertenecen a la categoría de materiales memoria de forma, cuyas propiedades termomecánicas peculiares las vuelven potencialmente útiles como actuadores y sensores a temperaturas superiores a ambiente. Estas aleaciones presentan un comportamiento muy diferente al resto de los metales convencionales conocidos ya que tienen propiedades singulares tales como efecto memoria de forma y pseudoelasticidad. Estos efectos se atribuyen a una transformación de fase sólido-sólido no difusiva llamada transformación martensítica.

Este tipo de transformación fue reportada en CuAlNi desde hace más de 40 años ^{1,2} y su investigación continúa en la actualidad en estudios para desarrollo de nanoactuadores ³⁻⁵, análisis de propiedades macroscópicas ^{6,7}, posibles aplicaciones de como material con memoria de forma ^{8,9}, entre otros.

Una transformación martensítica (TM) es una transformación de fase de primer orden sin difusión atómica en el estado sólido que ocurre por un movimiento coordinado de átomos, no involucra cambios de composición química y es atérmica (sin activación térmica). La particularidad de ser una transformación de fase sin difusión implica que, por medio de pequeños desplazamientos coordinados de átomos se llega a la constitución de una nueva fase que hereda la composición química, el orden atómico y los defectos de la estructura cristalina de la fase matriz. Al no ser necesaria la difusión atómica a larga distancia, no son necesarias altas temperaturas para observar la transformación. El hecho de que los átomos se desplazan distancias menores que las interatómicas provee reversibilidad a la transformación desde el punto de vista macroscópico. Durante la misma ocurre un cambio de estructura cristalina desde la fase madre a la fase resultante llamada martensita, existiendo una relación cristalográfica bien definida entre ambas. Como se mencionó, la TM es una transformación de primer orden, por lo que existen cambios de entalpía y entropía entre la fase matriz y la martensítica asociados a la transformación ¹⁰.

Las aleaciones trabajadas Cu-14.3Al-4.1Ni (%peso) presentan una fase β a altas temperaturas, con estructura bcc desordenada. Para concentraciones alrededor de 14% peso de Al se encuentra la zona de mayor estabilidad de la fase β (ver Figura 1 ¹¹). Esta fase puede ser obtenida a temperatura ambiente de forma metaestable enfriando rápidamente un material con esta composición química.

Durante este proceso, denominado templado, el material sufre dos ordenamientos sucesivos de la red cristalina: el primero, llamado B2, resulta un ordenamiento a primeros vecinos, y el segundo, llamado L21, ocurre a menor temperatura produciendo un ordenamiento a segundos vecinos ¹².

Cuando la fase martensítica es inducida por aplicación de carga mecánica existe una relación (Ec. 1) del tipo Clausius Clapeyron entre la tensión crítica en la cual comienza la TM y la temperatura a la cual se realiza el ensayo ¹⁷, única para cada tipo de TM inducida por tensión:

$$\mu \frac{d\sigma}{dT} = \frac{\Delta S}{V\gamma} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde μ es el factor de Schmid, σ la tensión aplicada, T la temperatura del ensayo, ΔS la variación de entropía asociada a la TM, γ la deformación de corte y V el volumen de la probeta.

Para aleaciones de base Cu se tiene que ^{18,19}:

$$\mu \frac{d\sigma^{(\beta \rightarrow \beta')}}{dT} \sim 1 \text{MPa}/^\circ \text{C}$$

$$\mu \frac{d\sigma^{(\beta \rightarrow \gamma')}}{dT} \sim 2 \text{MPa}/^\circ \text{C}$$

Realizando ciclos pseudoelásticos (tensión vs deformación) para diferentes temperaturas, puede obtenerse la relación lineal entre la tensión crítica de transformación y la temperatura del ensayo con la Ec. 1. Esto permite la obtención de los llamados diagramas σ -T o diagramas (rectas) de Clausius-Clapeyron (CC) para cada aleación trabajada.

Tanto la temperatura como la carga de transformación sufren modificaciones cuando la aleación es sometida a tratamientos térmicos de envejecimiento (TTs) a temperaturas intermedias. Conocer estos cambios es fundamental en vista de utilizar estas aleaciones como posibles sensores y/o actuadores a temperaturas superiores a ambiente.

Experimentos previos a este trabajo evidencian un aumento de la temperatura de transformación M_s y una disminución de la tensión crítica de transformación σ_c ^{20,21} cuando estos materiales son envejecidos a 150°C y 200°C.

Diferentes autores atribuyen estos cambios a dos procesos que ocurren en estas aleaciones cuando son sometidas a tratamientos térmicos en esos rangos de temperatura. Por un lado, la precipitación de la fase γ ^{22,23}, cercana a la fase β en el diagrama de fases (ver Figura 1), tiene una concentración

de Al mayor que la fase β pudiendo generar una alteración en la composición química en los alrededores de los precipitados de la fase β , generando un corrimiento de Ms y de la tensión de transformación σ_c . Por otro lado, la culminación de procesos de ordenamiento incompletos durante el tratamiento de templado realizado al material virgen ^{24, 25} podría ser responsable de estos cambios.

De acuerdo a lo reportado por diferentes autores ^{20,21} tanto la Ms como σ_c alcanzan valores asintóticos luego de cierto intervalo de envejecimiento acumulado en la muestra. Estos valores varían dentro del rango de error aun cuando se continúe el proceso de envejecimiento.

El decrecimiento de la carga de transformación puede ser estudiado a partir de un diagrama de CC. Los diagramas de CC presentarán un corrimiento hacia la derecha a medida que la muestra acumula tiempo de envejecimiento, debido a que σ_c va disminuyendo. La pendiente de las rectas será la misma mientras se mantenga el mismo tipo de transformación.

Una vez alcanzado el estado asintótico es posible recuperar las propiedades de la aleación en estado virgen mediante un tratamiento de recuperación (TR) ²⁶. Este tipo de tratamiento térmico consiste en un recocido a 930 °C, favoreciendo la difusión atómica, con una posible desaparición de defectos microestructurales generados durante el envejecimiento, más un posterior templado en agua y hielo para evitar la precipitación de fases no deseadas. Luego de este proceso es posible obtener nuevamente la fase β a temperatura ambiente en condición metaestable. El objetivo de este trabajo es estudiar la estabilidad y microestructura de las fases involucradas en las transformaciones martensíticas inducidas por enfriamiento y aplicación de carga mecánica en aleaciones Cu-14.3Al-4.1Ni (%peso) con diferentes períodos de envejecimiento a 200°C y luego de tratamientos de recuperación.

2. Materiales y Métodos

Las aleaciones fueron preparadas en la División Física de Metales del Centro Atómico Bariloche (CAB). Inicialmente se calcularon los pesos de cada metal puro 99.99% Cu, 99.99% Al y 99.99% Ni para obtener la composición química deseada: Cu-14.3Al-4.1Ni (%peso). Luego del corte de las proporciones adecuadas de cada metal, se pesó un metal por vez en una balanza con precisión del miligramo. Esta medición debe realizarse de forma precisa ya que la aleación es muy sensible a la composición química. El proceso de fundición se realizó en dos etapas. Debido a que el punto de fusión del Al es inferior al del Cu y Ni primero se fundió el Cu junto con el Ni en un horno de inducción y alto vacío BALZERS. Fundidos el Cu y Ni, la aleación binaria se fundió con el Al en un horno resistivo. Obtenida la aleación ternaria, se crecieron monocristales según el método de Bridgman. Para ello la aleación se colocó en la zona de mayor diámetro de una cápsula tal como se observa en la Figura 2.



Figura 2. Cápsula utilizada para crecer monocristales según el método de Bridgman.

La fundición se realizó en un horno resistivo con un perfil de temperatura conocido y controlado. El mismo está montado en una estructura de acero que también sostiene en su parte superior un motor eléctrico de tres velocidades, capaz de mover una polea rodeada de una tanza con la cual es posible sostener la varilla de las cápsulas mientras éstas se encuentran dentro del horno.

Se colocó la cápsula en la zona de temperatura más alta para que la aleación funda y llene la cavidad inferior con forma de lápiz. En este momento se conectó el motor para que la cápsula comience su descenso dentro del horno, barriendo el perfil de temperaturas mencionado. De este modo, fue posible que la solidificación de la aleación comience desde la punta hacia arriba, lo que debería ocurrir con una única orientación cristalina. Ya que la punta es lo primero en solidificar,

ésta debería actuar como semilla para que toda la aleación crezca con la misma orientación cristalina. Una vez retirada del horno se realizó inmediatamente el templado del material. Al romper la cápsula, el cristal cayó en una solución de agua y hielo con el objetivo de enfriar el cristal de forma rápida para evitar la precipitación de fases no deseadas durante el enfriamiento del material.

Los cristales crecidos fueron sometidos a un control de calidad en un microscopio óptico para detectar posibles bordes de grano y/o fases no deseadas.

A continuación, se detallará el proceso de preparación de muestras para la caracterización termomecánica junto con el procedimiento experimental al cual fue sometido cada una de ellas. Con la punta del cristal se determinó la orientación cristalina del eje, utilizando el método de Laue de retrodispersión de rayos X.

Del resto del cristal, una parte fue destinada a la confección de muestras para caracterizar la TM por enfriamiento. Se cortaron muestras en forma longitudinal al eje geométrico del cristal con una sierra de hoja diamantada.

Con las muestras obtenidas se llevaron a cabo mediciones de resistividad eléctrica, magnitud elegida para estudiar el cambio de fase, vs temperatura. Para llevar adelante la medición se hizo circular corriente eléctrica por la muestra y se midió la tensión eléctrica, magnitud proporcional a la resistencia eléctrica, en función de la temperatura, registrando así la transformación de fase y las temperaturas críticas de la transformación martensítica.

La tensión eléctrica fue medida utilizando el método de cuatro puntas en un equipo construido por el grupo. Un esquema del mismo se muestra en la Figura 3.

Se utiliza un multímetro HP34401A, una placa de adquisición Measurement Computing USB-TC y una fuente de corriente continua regulable de 0 a 200 mA de tipo Howland. Sobre una de las caras de la muestra se adhirieron con pintura conductiva de plata cuatro cables de cobre. Por los cables externos se hizo circular una corriente continua y controlada de 200 mA, mientras que por

los dos cables internos se registró la caída de tensión. La Figura 4 (a) muestra una foto de la muestra con los cuatro cables adheridos, mientras que la Figura 4(b) presenta un esquema de los cables y conexiones.

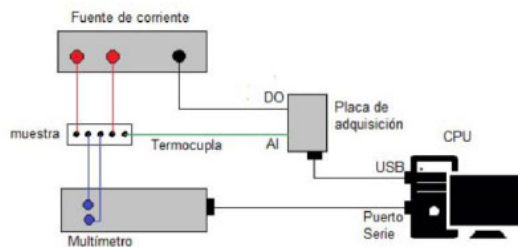


Figura 3. Esquema de las conexiones del equipo utilizado para medir tensión eléctrica en función de la temperatura ²⁵.

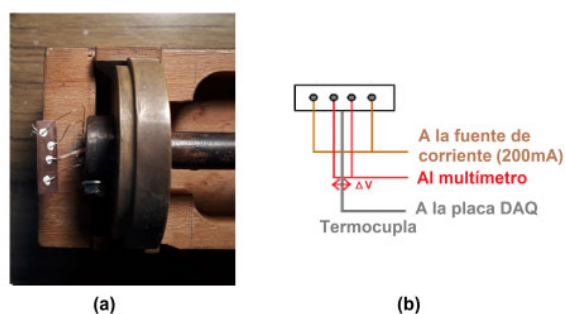


Figura 4. (a) Cables adheridos a la muestra con pintura de plata. (b) Esquema de la muestra, sus cables y conexiones.

El multímetro se conectó a una computadora, la fuente de corriente a la placa de adquisición, y ésta última a la computadora. En la otra cara de la muestra se colocó con cinta adhesiva una termocupla tipo K. La misma se encontró conectada a la placa de adquisición permitiendo registrar la temperatura de la muestra. La muestra junto con los cables adheridos se colocó en un contenedor de latón cerrado que lleva adosado un dedo frío de cobre. Este último puede ser sumergido en un termo de nitrógeno líquido, lo que permitió enfriar la muestra alcanzando temperaturas mínimas de -110°C . Para aumentar la temperatura de la aleación se utilizó un calentador resistivo.

La adquisición de datos se realizó utilizando una rutina programada en LabVIEW, de la empresa National Instruments, con el cual se midió la caída de potencial en la muestra en función de la temperatura.

Para minimizar efectos de anisotropía de la muestra, una vez comenzado el ensayo el programa invirtió la polaridad de la fuente cada 5s cambiando el sentido de la corriente que circula por la muestra y midiendo la caída de tensión en ambas polaridades. El programa realizó la semirresta entre las tensiones medidas en ambos sentidos, obteniendo un valor promedio.

Dado que el objetivo de estos ensayos es obtener las temperaturas de transformación, no es necesario conocer el valor de la resistencia eléctrica para cada temperatura, sino que resulta suficiente la semirresta de tensiones en función de la temperatura.

La parte restante de cristal, fue cortada en secciones monocristalinas para confeccionar probetas en el taller de CITEDEF. Estas probetas fueron utilizadas para caracterizar la TM por carga mecánica. Se utilizó para ello una máquina universal de ensayos mecánicos EMIC (ver Figura 5) junto con una rutina de adquisición preprogramada. Los diagramas de CC se confeccionaron realizando entre 4 a 7 ciclos pseudoelásticos por muestra tomando la temperatura ambiente como límite inferior de temperatura. Para aumentar la temperatura de la muestra se utilizó un sistema de mordazas calefactoras cuyo sistema calefactor de resistencias tipo cartucho es capaz de proveer la potencia térmica necesaria para aumentar la temperatura, junto a una termocupla tipo K adherida a la misma. Tanto las mordazas como la termocupla se conectaron a un controlador PID (mecanismo de control por retroalimentación) que permitió ajustar la temperatura del ensayo.

Acorde a los resultados termomecánicos obtenidos, se seleccionaron muestras para observar en un microscopio electrónico de transmisión luego de una preparación especial en un equipo Tenupol-5.



Figura 5. Máquina universal de ensayos mecánicos.

3. Resultados

En esta sección se expondrán los resultados obtenidos de la siguiente manera: primero se mostrarán los resultados obtenidos para caracterizar la TM por enfriamiento y luego los resultados para caracterizar la TM inducida por carga mecánica.

Para estudiar la TM por enfriamiento se seleccionaron muestras para analizar la evolución de la temperatura de transformación M_s en función del tiempo de envejecimiento de la muestra.

En la Figura 6 se observa la evolución de la M_s nominal $\Delta M_s = M_s(t) - M_s(0)$ en función del tiempo de envejecimiento. Se observa un aumento de la temperatura crítica en los primeros estadios de envejecimiento hasta alcanzar un estado asintótico, comportamiento que coincide con la bibliografía.

Alcanzado el estado asintótico, la muestra fue sometida a un tratamiento de recuperación. El ciclo de la muestra recuperada (naranja) se compara con el ciclo de la muestra virgen (rosa) en la Figura 7.

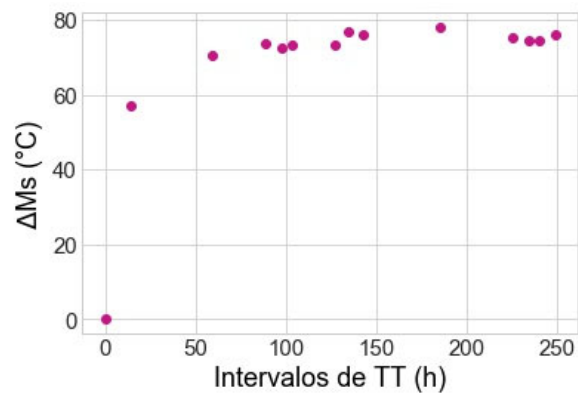


Figura 6. Evolución de la Ms nominal de una muestra en función del intervalo de envejecimiento.

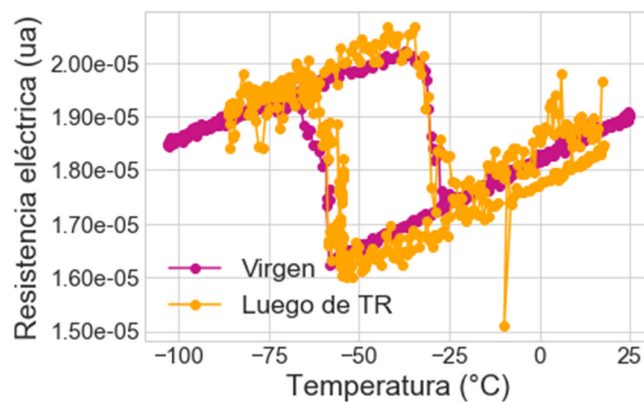


Figura 7. Comparación entre ciclos de resistividad vs temperatura de la muestra virgen (rosa) y de la muestra luego de TR (naranja).

A pesar de que la muestra recuperada presentó temperaturas de transformación y ancho de histéresis similares a los de la muestra virgen, se observa un ruido notorio en la curva de la muestra recuperada.

Se decidió observar la muestra en un microscopio electrónico de transmisión para estudiar el impacto de los TTs y TR sobre la microestructura de la muestra.

La microestructura de la misma se observa en la imagen de campo claro obtenida en TEM (Figura 8). Se observan dislocaciones distribuidas de manera desordenada sobre toda la superficie de la muestra recuperada.

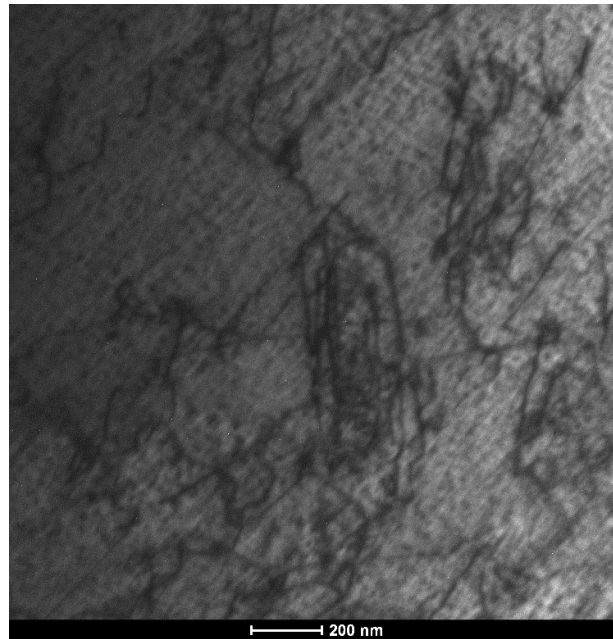


Figura 8. Microestructura de una muestra luego de TR. Imagen de campo claro obtenida en TEM.

A continuación, se presentarán los resultados de la TM inducida por carga. Como uno de los objetivos de este trabajo fue estudiar como varían las propiedades físicas en aleaciones sometidas a tratamientos térmicos a 200 °C, se decidió establecer un rango de error sobre el cual varían estas magnitudes en una muestra virgen, en particular la tensión de transformación. Se monitoreó el diagrama de una muestra virgen estudiando la fluctuación inherente del diagrama CC de la muestra en función del tiempo. Se realizaron mediciones periódicas de control a una muestra virgen obteniéndose un error de 2.9 °C. Este análisis se repitió en muestras con diferentes tiempos acumulados de TTs y en muestras luego de TR. Por otro lado, también se estudió la evolución del diagrama CC para una misma muestra en función de tiempo de TT.

Tal como se observa en la Figura 9, la recta se corre hacia la derecha al someter a la muestra a 39,5h de envejecimiento, estado que correspondió al estado asintótico de dicha muestra. Como en el caso anterior, la muestra fue sometida a un tratamiento de recuperación al alcanzar el estado asintótico. El diagrama de CC de la muestra recuperada coincide con el de la muestra virgen dentro del rango de error, obteniendo valores de transformación similares a los de la muestra virgen.

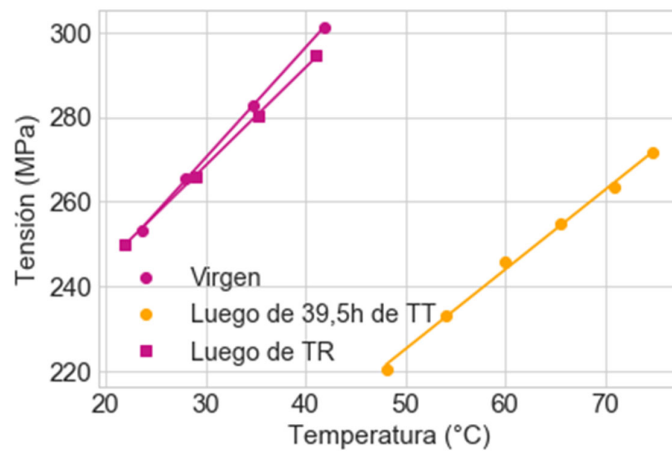


Figura 9. Diagrama de CC para una misma muestra en diferentes estadios: virgen, con 39.5h de TT a 200°C y luego de TR.

Las curvas de tensión-deformación realizadas a temperaturas similares para la muestra virgen y recuperada se comparan en la Figura 10.

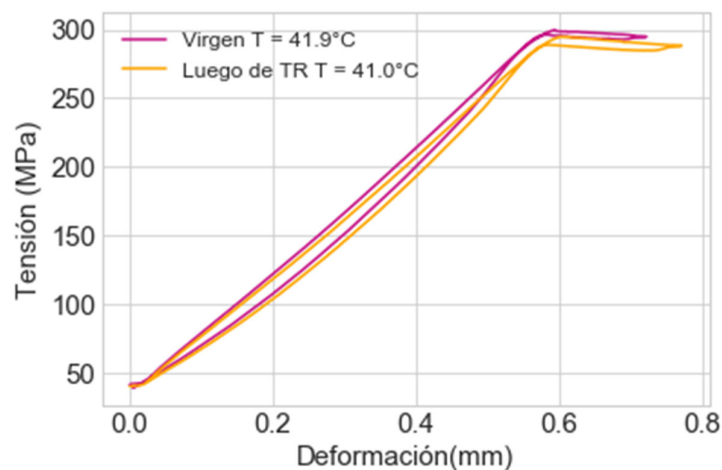


Figura 10. Comparación entre ciclos pseudoelásticos para una misma muestra en diferentes estados: virgen (rosa) y luego de TR (naranja).

Muestras con diferentes intervalos de TT fueron observadas en TEM luego de ser sometidas a ensayos de tracción. Se observaron defectos microestructurales como precipitados, cuyo tamaño promedio aumentó a medida que la muestra acumuló más tiempo de envejecimiento.

En la Figura 11 se observan los precipitados de una muestra con 2.5h de TT a 200°C. Esta imagen de campo oscuro fue obtenida en TEM.

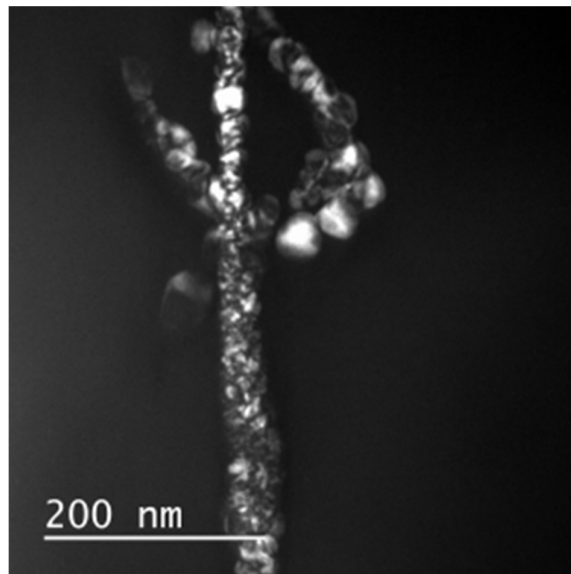


Figura 11. Precipitados observados en una muestra con 2.5h de TT a 200°C. Imagen de campo oscuro obtenida en TEM.

4. Discusión

Tal como se mencionó en la sección anterior, los valores de temperatura crítica M_s aumentaron conforme la muestra acumuló tiempo de envejecimiento hasta alcanzar un estado asintótico a las 80h de TT. Estos resultados concuerdan con experimentos reportados en bibliografía. Alcanzado el estado asintótico, se recuperó la muestra con el objetivo de estudiar las propiedades termomecánicas y microestructurales de dicho estado.

Como se puede observar en la Figura 7, a pesar de que la muestra recuperada tiene un comportamiento térmico similar al de la muestra virgen, ya que las temperaturas críticas y ancho de histéresis son similares, imágenes obtenidas en TEM de las mismas (Figura 8) revelan una gran cantidad de dislocaciones. Es notable el ruido observado en la curva de la muestra recuperada, efecto que podría tener una relación directa con las dislocaciones observadas en la microestructura de la misma.

Estos resultados son fundamentales para tener en cuenta en el diseño de actuadores basados en estas aleaciones, ya que a pesar de que la recuperación de las propiedades termomecánicas es

completa, una microestructura diferente podría generar modificaciones en el comportamiento posterior de la aleación.

Respecto de la caracterización de la TM inducida por carga mecánica, se determinó un error de fluctuación de los diagramas de CC. Este error resulta muy importante a la hora de determinar corrimientos en los diagramas de CC y en la correcta determinación de estados asintóticos.

Gracias al análisis de estabilidad realizado en muestras con diferentes intervalos de TT y TR se pudo concluir que el estado asintótico es el estado más estable, cuya fluctuación inherente solapa dentro del rango de error.

Para muestras con diferentes períodos de envejecimiento se observaron precipitados en TEM, cuyo tamaño promedio fue creciendo en relación al aumento de periodo de envejecimiento.

Por otro lado, se observó una disminución de la tensión de transformación a medida que la muestra acumuló tiempo de envejecimiento, lo que se traduce en un corrimiento hacia la derecha de los diagramas de CC, hasta alcanzar un estado asintótico, comportamiento que coincide con lo reportado en bibliografía. Alcanzado el estado asintótico se sometió a la muestra a un tratamiento de recuperación. Al igual que en el caso anterior, las curvas de tensión vs deformación obtenidas a temperatura similar para la muestra virgen y recuperada se comparan en la Figura 10. Se observa una recuperación, dentro del rango de error, de las propiedades mecánicas, como lo son la carga de transformación y el ancho de histéresis.

5. Conclusiones

Este trabajo presenta un abordaje integral de la Ciencia de los Materiales aplicado a una aleación con composición química Cu-14.3Al-4.1Ni (% peso) con memoria de forma que incluye desde la fabricación a partir de los metales puros Cu, Al, Ni hasta el estudio de las interrelaciones entre microestructura, procesamiento y propiedades. Se confeccionaron aleaciones realizando dos fundiciones: primero una aleación binaria CuNi y luego una aleación ternaria CuAlNi con la

composición química mencionada. A partir de ellas fue posible crecer monocristales por el método de Bridgman. La orientación cristalina fue obtenida a partir del método de Laue. De los cristales se obtuvieron muestras para caracterizar la TM por enfriamiento y carga mecánica.

Para caracterizar la TM por enfriamiento, se estudió la evolución de la temperatura M_s vs el tiempo de envejecimiento. Se observó un aumento de M_s durante los primeros estadíos de TT y luego un estado asintótico para tiempos mayores. Las temperaturas críticas y ancho de histéresis en las muestras recuperadas fueron similares a los de la muestra virgen, pero su microestructura resultó diferente, con gran presencia de dislocaciones, las cuales podrían tener una relación directa con el gran nivel de ruido observado en las curvas de resistencia eléctrica vs temperatura. Respecto a la TM inducida por aplicación de carga, se monitoreó en el tiempo las rectas de transformación para una muestra virgen. La fluctuación inherente que presentaron las mismas (2.9°C) fue tomado como el error inherente en la confección de los diagramas de CC.

Por otro lado, se realizó el mismo análisis de estabilidad en muestras con diferentes períodos de envejecimiento y luego de TR, obteniendo que el estado asintótico es el más estable, ya que su fluctuación solapa dentro del rango de error. Además, se estudió el comportamiento del diagrama de CC de una muestra sometida a diferentes intervalos de envejecimiento. Se obtuvo un corrimiento de las rectas de transformación hacia la derecha hasta alcanzar un estado asintótico. Luego del tratamiento de recuperación, se observó que los valores de tensión crítica son similares a los de la muestra virgen. Imágenes obtenidas en TEM de probetas con ciclos pseudoelásticos, revelaron un aumento en el tamaño de precipitados conforme la muestra acumuló más tiempo de envejecimiento. Luego de estos estudios es posible concluir que los tratamientos térmicos de envejecimiento son capaces de generar cambios tanto en las propiedades termomecánicas como en la microestructura de las aleaciones trabajadas. Para un correcto diseño de sensores y/o actuadores lo ideal es que la misma se encuentre en su estado asintótico, o sea su estado más estable. Además, es muy importante tener presente que los tratamientos de recuperación no son completos, sino que las propiedades termomecánicas pueden recuperarse a sus valores iniciales,

pero la microestructura presenta una gran cantidad de dislocaciones que podría afectar el comportamiento de la aleación en el futuro.

Agradecimientos

Se agradece a la Fundación YPF, UNIDEF(CONICET-MINDEF) y a la ANPCyT (Proyecto PICT-2017-0427 y PICT-2017-2198) por su apoyo económico para la realización de este trabajo y estaba en el CAB.

Referencias

- (1) Oishi, K.; Brown, L.C. Metallurgical Transactions. **1971**, 2, 1971-1977.
- (2) Otsuka, K.; Shimizu K. Philosophical Magazine. **1971**, 24, 481-484.
- (3) Bilican, D.; Kurdi, S.; Zhu, Y.; Solsona, P.; Pellicer, E.; Barber, Z. H.; Greer, A.L.; Sort, J.; Fornell, J. Coatings. **2019**, 9 1-10.
- (4) Gómez-Cortés, J.F.; Nó, M.L.; López-Echarri A; Ruiz-Larrea I.; Breczewski, T.; San Juan, J. M. Physica Status Solidi A. **2018**, 215, 1800340.
- (5) Morán M.; Condó, A.M.; Suárez, S.; Soldera, F.; Haberkorn N. Materials Letters **2019** 255, 126569.
- (6) Torra, V.; Martorell, F.; Lovey, F.C.; Sade, M. Shape Memory and Superelasticity. **2018** 4, 272-284.
- (7) Ivanić, I.; Kožuh, S.; Holjevac Grgurić, T.; Kosec, B.; Gojić, M. Kem. Ind. **2019**, 68,111-118.
- (8) Pul'nev, S.A.; Pryadko, A.I.; Yastrebov, S.G.; Nikolaev, V.I. Technical Physics. **2018**, 63, 817-823.
- (9) Saravana Mohan, M.; Samuel Ratna Kumar, P.S.; Thirumalaikumar, S.; Sikkandhar Thanish, G. Materials Today: Proceedings. En prensa. **2020**
- (10) Gastien R. "Ciclado pseudoelástico en monocristales de Cu-Al-Ni con memoria de forma, generación de defectos y su relación con las fases metaestables presentes", Tesis Doctoral, FCEyN-UBA, **2005**.
- (11) Dunne, D.P.; Kennon, N.F. Metals Forum. **1981**, 4, 176-183.
- (12) Otsuka, K.; Shimizu K. Trans JIM. **1974**, 15, 103.
- (13) Recarte, V.; Pérez-Sáez, R. B.; Bocanegra, E. H.; Nó, M. L.; San Juan J. Mat Sci & Eng A, **1999**, 273-275, 380-384.
- (14) Otsuka K.; Sakamoto, H.; Shimizu K. Acta Metall. **1979**, 27, 585-601.
- (15) Novák, V.; Kocer, M.; Zarubova N. Key Eng Mat. **1994**, 97-98, 413-418.
- (16) Novák, V.; Sittner, P.; Vokoun, D.; Zarubova N. Mat Sci & Eng A. **1999**, 273-275, 280-285.
- (17) Otsuka K., Wayman C.M., eds. "Shape Memory Materials". Cambridge University Press, Cambridge, UK, **1998**
- (18) Horikawa, H.; Ichinose, S.; Morii, K.; Miyazaki S.; Otsuka, K. Metall Trans A **1988**, 19A, 915-923.
- (19) Otsuka, K.; Wayman, C.M.; Nakai, K.; Sakamoto, H.; Shimizu, K. Acta Metall, **1976** 24,207-226.
- (20) Gastien, R.; Corbellani, C.E.; Araujo, V.E.A.; Zelaya, E.; Beiroa, J.I.; Sade, M. Lovey, F.C. Materials Characterization. **2013**, 84, 240-246.
- (21) Araujo, V.E.A.; Gastien, R.; Zelaya, E.; Beiroa, J.I.; Corro, I.; Sade, M.; Lovey, F.C. Journal of Alloys and Compounds. 2015, 641, 155-161.
- (22) Picornell, C.; Pons, J.; Cesari E. J Phys IV France. **1997**, 7C5, 323-328.
- (23) Zarubova, N.; Gemperle, A.; Novak, V. J Phys IV France, **1997**, 7C5, 281-286.
- (24) Cingolani, E.; Ahlers M.; Van Humbeeck, J. Metall Mater Trans A. **1999**, 30, 493-499.
- (25) Recarte V., Pérez-Saez, R.B.; Nó, M.L.; San Juan, J. J Appl Phys. **1999**, 86, 5467-5473.
- (26) Perez Aguilera, R. "Optimización y caracterización termo-mecánica de material con memoria de forma para aplicaciones tipo sensor-actuador" Trabajo Final de Ingeniería en Materiales, Instituto Prof. J. A. Sabato, **2017**.



LOS MONOTERPENOS VEGETALES EUGENOL Y MENTOL SINERGIZAN LA TOXICIDAD DEL INSECTICIDA PERMETRINA EN

Triatoma infestans

M.M.N. Reynoso^{1*}, E.N. Zerba² y R.A. Alzogaray^{1,2}

¹ UNIDEF-CITEDEF-CONICET-CIPEIN, J. B. de La Salle 4397, (1603) Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina.

² Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), San Martín, Buenos Aires, Argentina.

*Autor Corresponsal: e-mail get_juy87@hotmail.com

Resumen

En Argentina, la chinche hematófaga *Triatoma infestans* es el principal vector de la enfermedad de Chagas, y su control se basa principalmente en la aplicación de insecticidas piretroides. Los monoterpenos son los principales componentes de los aceites esenciales de las plantas aromáticas. Algunos monoterpenos presentan actividad insecticida, pero sus interacciones toxicológicas con insecticidas convencionales han recibido muy poca atención. El objetivo del presente trabajo fue investigar si ocurren interacciones toxicológicas al aplicar en *T. infestans* mezclas binarias constituidas por el piretroide permetrina y un monoterpeno (eugenol o mentol). La permetrina sola o mezclada con una concentración subletal de monoterpeno se aplicó en forma de filme sobre papel de filtro. Se colocaron grupos de diez ninfas del primer estadio de *T. infestans* sobre cada papel y se registró a distintos tiempos la cantidad de individuos volteados. Se realizaron cuatro réplicas independientes de cada ensayo. Cada réplica incluyó un papel tratado con solvente solo. Con los resultados se calcularon valores de Tiempo de Volteo 50% (TV50) y de Tasa de Sinergismo (TS) (valores de TS mayores que 1 indican sinergismo). Eugenol y mentol sinergizaron la velocidad de acción de la permetrina (TV50: permetrina = 47,29 min; permetrina más eugenol = 34,08 min; permetrina más mentol = 27,54 min; TS = 1,52 y 1,85, respectivamente). La identificación de fenómenos sinérgicos como los aquí reportados podría conducir al desarrollo de productos insecticidas más eficaces a menores dosis que las recomendadas para insecticidas convencionales aplicados en forma individual.

Abstract

In Argentina, the blood-sucking bug *Triatoma infestans* is the main vector of Chagas disease, and its control is mainly based on the application of pyrethroid insecticides. Monoterpenes are the main components of the essential oils from aromatic plants. Many monoterpenes exhibit insecticidal activity, but their toxicological interactions with conventional insecticides have received little attention. The objective of this work was to investigate whether toxicological interactions occur when binary mixtures consisting of the pyrethroid permethrin, and a monoterpene (eugenol or menthol) are applied to *T. infestans*. Permethrin alone or mixed with a sublethal concentration of monoterpene was applied as a film on filter paper. Groups of ten nymphs of the first stage of *T. infestans* were placed on each paper and the number of knocked down individuals was recorded at different times. Four independent replicates of each assay were made. Each replica included a filter paper treated with solvent alone. With the results, values of Knock Down Time 50% (KT50) and Synergism Rate (SR) were calculated (SR values greater than 1 indicate synergism). Eugenol and menthol synergized the speed of action of permethrin (KT50: permethrin = 47.29 min; permethrin plus eugenol = 34.08 min; permethrin plus menthol = 27.54 min; SR = 1.52 and 1.85, respectively). The identification of synergistic interactions such as those reported here could lead to the development of more effective insecticide products at lower doses than those recommended for conventional insecticides individually applied.

Palabras clave: vinchuca, sinergismo, monoterpenos, permetrina.

Keywords: kissing-bugs, synergism, monoterpene, permethrin.

1. Introduction

Triatoma infestans es una plaga sanitaria ¹ y el principal vector de la enfermedad de Chagas en Argentina, Perú, Bolivia y Paraguay ². Su control se basa principalmente en la aplicación de insecticidas piretroides, pero la aparición de focos resistencia a estos insecticidas en Argentina y Bolivia impone la necesidad de encontrar nuevas herramientas de control ³.

Eugenol y mentol son monoterpenos de origen vegetal que poseen una baja toxicidad en mamíferos y se utilizan para la fabricación de productos cosméticos, comestibles, farmacéuticos y de uso sanitario ^{4,5}. Ambos producen efectos letales y subletales en algunos insectos ^{6,7,8,9}. En *T. infestans*, tanto el eugenol como el mentol actúan como repelentes e hiperactivantes ^{8,9,10,11}.

Existen muy pocos estudios sobre interacciones toxicológicas entre insecticidas convencionales y monoterpenos vegetales ^{12,13,14,15}. En *T. infestans*, la toxicidad por contacto de azametifós

aumenta cuando se lo aplica simultáneamente con eugenol, mentol o acetato de mentilo¹¹. Y ninfas del tercer estadio de la misma especie, hiperactivadas por eugenol, absorben más insecticida al caminar sobre una superficie tratada con permetrina y, en consecuencia, se intoxican más rápido que ninfas no hiperactivadas¹⁰. La identificación de interacciones sinérgicas entre estas sustancias podría dar lugar al desarrollo de herramientas para controlar con menor impacto ambiental vinchucas resistentes a insecticidas. El objetivo del presente trabajo consistió en investigar qué tipo de interacciones ocurren al aplicar en ninfas de *T. infestans* mezclas binarias formadas por permetrina y un monoterpeno (eugenol o mentol).

2. Materiales y Métodos

2.1. Material biológico

Se usaron ninfas del primer estadio de *T. infestans* de 5-7 días de edad, pertenecientes a la colonia CIPEIN. Las condiciones de cría fueron 25 ± 2 °C, 60-90% HR y un fotoperíodo de 12:12 h (L:O). Las colonias son alimentadas con sangre de paloma, siguiendo un protocolo aprobado por el Comité de Uso y Cuidado Animal del CIPEIN (IACUC/CICUAL 1531/13).

2.2. Reactivos

Eugenol (99%) y mentol (99%) fueron comprados a Sigma Aldrich (Buenos Aires, Argentina); la acetona (grado técnico) y el aceite de silicona (556), a Merck (Darmstadt, Alemania) y Daltosur S.R.L. (Buenos Aires, Argentina), respectivamente. La permetrina (95,4%) fue provista por Chemotecnica S.A. (Buenos Aires, Argentina).

2.3. Bioensayos

Las ninfas fueron expuestas a círculos de papel de filtro de 11 cm de diámetro (102 FAST, Hangzhou Xinxing Paper Industry & Co., Ltd., Funyang, China) impregnados con 0,5 ml de una solución de permetrina sola o mezclada con un monoterpeno (eugenol o mentol). Como solvente se usó una mezcla 1:1 de acetona y silicona. Se dejó evaporar el solvente durante 24 h, luego se

colocó sobre el papel de filtro un aro de vidrio para evitar que las ninfas se escaparan. Finalmente, se depositaron sobre cada papel diez ninfas de *T. infestans* y se registró cada cinco minutos el número de insectos volteados. Se consideraron volteadas las ninfas que no se desplazaban en forma espontánea ni después de tocarlas suavemente con el extremo de una pinza blanda. Cada ensayo se dio por terminado cuando al menos el 90% de las ninfas estaban volteadas.

Los tratamientos fueron: a) acetona:aceite de silicona (1:1) (solvente), b) permetrina (100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), c) monoterpeno (390 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de eugenol o mentol) y d) permetrina (100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) mezclada con un monoterpeno (390 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Todas las concentraciones fueron seleccionadas a partir de los resultados de ensayos preliminares. Se realizaron cuatro réplicas independientes y con los resultados se calcularon valores de Tiempo de Volteo 50% (TV50) y Tasa de Sinergismo (TS).

2.4. Análisis estadístico

Los valores de TV50 con sus respectivos intervalos de confianza (IC 95%) se calcularon con el software para datos correlacionados desarrollado por Throne y col (17). Las diferencias entre los valores de TV50 se consideraron significativas ($p < 0,05$) cuando sus IC 95% no se superponían. También se calcularon valores de Tasa de Sinergismo ($\text{TS} = \text{TV50 del insecticida} / \text{TV50 de la mezcla}$) con sus respectivos IC 95% (18). Valores de TS significativamente mayores que 1 implican sinergismo, mientras que valores menores que 1 indican antagonismo. Los valores de TS se consideraron significativamente diferentes que 1 cuando sus IC 95% no contenían a la unidad.

3. Resultados

Se evaluó la toxicidad de permetrina sola y mezclada con un monoterpeno (eugenol o mentol) en ninfas del primer estadio de *T. infestans* expuestas a papeles de filtro tratados. Los valores de TV50 de las mezclas con eugenol (34,08 min; IC 95% = 29,61 - 39,01) y mentol (27,54 min; IC 95% = 23,28 - 32,55) fueron significativamente diferentes al TV50 de la permetrina sola (47,29 min; IC 95% = 39,92 - 56,32) ($p < 0,05$). Los valores de TS indican sinergismo en ambas mezclas (con eugenol: 1,52, IC 95% = 1,65 - 1,68; con mentol: 1,85, IC 95% = 1,51 - 2,19). De esta manera,

el eugenol y el mentol sinergizaron la velocidad de acción de la permetrina en ninfas del primer estadio de *T. infestans*.

4. Conclusiones

En este trabajo se demostró que los monoterpenos vegetales eugenol y mentol sinergizan la velocidad de acción del insecticida permetrina en ninfas del primer estadio de *T. infestans* expuestas a papeles de filtro tratados. Este sinergismo puede ocurrir como consecuencia de una alteración en uno o más procesos que gobiernan la toxicocinética y la toxicodinámica de la permetrina (absorción, distribución, metabolismo, interacción con el sitio de acción).

Los estudios sobre interacciones en mezclas binarias constituidas por un insecticida convencional y un monoterpeno son escasas ^{12, 13, 14, 15, 16} y, en general, no han investigado la causa de la interacción. La toxicocinética y la toxicodinámica de los monoterpenos vegetales también es un área apenas explorada. En el presente trabajo, la naturaleza oleosa de eugenol y mentol podría aumentar la tasa de absorción de permetrina. Pero no se pueden descartar otras causas del sinergismo. Por ejemplo, que estos monoterpenos interactúen con las enzimas detoxicantes que participan en el metabolismo de permetrina. De hecho, algunos monoterpenos inhiben o son sustratos competitivos de enzimas como esterasas, oxidasas del sistema P450 y transferasas ^{19, 20, 21, 22}.

La identificación de mezclas sinérgicas integradas por un monoterpeno y un insecticida convencional podría ser el primer paso hacia el desarrollo de productos para controlar poblaciones de insectos resistentes a insecticidas. Por otra parte, el sinergismo podría permitir una reducción en las dosis de insecticidas aplicadas a campo, lo cual implicaría un menor impacto ambiental y menores riesgos para la salud humana.

Agradecimientos

E.N.Z. es profesor en el Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional de San Martín. R.A.A. es miembro de la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico del Consejo

Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET). M.M.N.R. es becaria del CONICET (Argentina). Este trabajo fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de Argentina (PICT 2012/1471 a E.N.Z. y PICT 2017/1512 a R.A.A.) y por Chemotecnica S.A.

References

- (1) World Health Organization; Vector control, Geneva, Switzerland, **1997**.
- (2) Schofield, C., Gorla, D. Who, how, what and where? *Nature*. **2010**, 465: S8–S9.
- (3) Mougabure-Cueto G., Picollo M.I. Insecticide resistance in vector Chagas disease: evolution, mechanisms and management. *Acta Trop*. **2015**, 149: 70-85.
- (4) Kamatou, G.P., Vermaak, I., Viljoen, A.M. Eugenol—from the remote Maluku islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*. **2012**, 17: 6953-6981.
- (5) Kamatou, G.P., Vermaak, I., Viljoen, A.M; Lawrence, B.M. Menthol: A simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry*. **2013**, 96:15-25.
- (6) Enan, E.E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comp. Biochem. Physiol. C*. **2001**, 130:325-337.
- (7) Zhang, N., Tang, L., Hu, W., Wang, K., Zhou, Y., Li, H., Huang, C., Chun, J., Zhang, Z. Insecticidal, fumigant, and repellent activities of sweet wormwood oil and its individual components against red imported fire ant workers (*Hymenoptera: Formicidae*). *J. Insect Sci*. **2014**, 241:1:14.
- (8) Moretti, A., Zerba, E.N., Alzogaray, R.A. Behavioral and toxicological responses of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to ten monoterpene alcohols. *J. Med. Entomol*. **2013**, 50:1046-1054.
- (9) Moretti, A.N., Seccacini, E.A., Zerba, E.N., Canale, D., Alzogaray, R.A. The botanical monoterpenes linalool and eugenol flush-out nymphs of *Triatoma infestans*. *J. Med. Entomol*. **2017**, 54:1293-1298.
- (10) Reynoso, M.M.N., Lucia, A., Zerba, E.N., Alzogaray, R.A. Eugenol-hyperactivated nymphs of *Triatoma infestans* become intoxicated faster than non-hyperactivated nymphs when exposed to a permethrin-treated surface. *Parasit. Vectors*. **2018**, 11:573, <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3146-4>.
- (11) Reynoso, M.M.N., Lucia, A., Zerba, E.N., Alzogaray, R.A. The octopamine receptor is a possible target for eugenol-induced hyperactivity in the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol*. **2020**, 57:627-630.
- (12) Abbassy, M.A., Abdelgaleil, S.A.M., Rabie, R.Y.A. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. *Entomol. Exp. Appl*. **2009**, 131:225-232.
- (13) Mesbah, H.A., Mourad, A.K., Rokaia, A.Z. Efficacy of some plant oils alone and/or combined with different insecticides on the cotton leaf-worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) in Egypt. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci*. **2006**, 71:305-328.
- (14) Tong, F., Bloomquist, J.R. Plant essential oils affect the toxicities of carbaryl and permethrin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol*. **2013**, 50: 826-832.
- (15) Faraone, N., Hillier, N.K., Cutler, G.C. Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera:Aphididae). *PLoS One*, **2015**, 10:e0127774.
- (16) Reynoso, M.M.N., Seccacini, E.A., Zerba, E.N., Alzogaray, R.A. Botanical monoterpenes synergise the toxicity of azamethiphos in the vector of Chagas disease, *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Trop. Med. Int. Health*. **2020**, 25:1480-1485.
- (17) Throne, J.E., Weaver, D.K., Chew, V., Baker, J.E. Probit analysis of correlated data: multiple observations over time at one concentration. *J Econ Entomol*. **1995**, 88:1510-1512.
- (18) Robertson, J. L., Jones, M. M., Olguin, E., Alberts, B. Bioassays with arthropods. CRC press, Boca Ratón, **2017**.
- (19) Feng, R., Chen, W., Isman, M.B. Synergism of malathion and inhibition of midgut esterase activities by an extract from *Melia toosendan* (Meliaceae). *Pestic. Biochem. Physiol*. **1995**, 53:34-41.
- (20) Rachokarn, S., Piyasaengthong, N., Bullangpoti, V. Impact of botanical extracts derived from leaf extracts *Melia azedarach* L. (Meliaceae) and *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) on populations of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and detoxification enzyme activities. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci*. **2008**, 73:451-457.

- (21) Rattanapan, A. Effect of rotenone from derris crude extract on esterase enzyme mechanism in the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* **2009**, 74:437–444.
- (22) Picking, D., Chambers, B., Barker, J., Shah, I., Porter, R., Naughton, D.P., Delgoda, R. Inhibition of cytochrome P450 activities by extracts of *Hyptis verticillata* Jacq.: Assessment for potential HERB-drug interactions. *Molecules.* **2018**, 15:23.



POTENCIALES BENEFICIOS DEL USO DE CBD EN EPILEPSIA

(Artículo de Revisión)

Taborda Gómez C.^{1,2}, Auzmendi J.^{1,2}, Lazarowski A.^{1*}

¹Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires C1120AAF, Argentina

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires C1425FQD, Argentina

Nota: La presente revisión, está basada en el artículo: “Is cannabidiol a drug acting on unconventional targets to control drug-resistant epilepsy? Rocha L, Frías-Soria CL, Ortiz JG, Auzmendi J, Lazarowski A. *Epilepsia Open*. 2020;5(1):36-49

*Autor Corresponsal: e-mail nadiatom@ffyba.uba.ar

Resumen

En los últimos años ha crecido la evidencia del uso de cannabis para el control de las crisis convulsivas en las epilepsias resistentes (ER) al tratamiento. De la gran cantidad de compuestos obtenidos de las plantas de cannabis, solo el cannabidiol (CBD) ha sido aprobado para su uso en el control de las ER. En esta revisión resumimos la información más reciente concerniente al rol de CBD en el control de las crisis epilépticas, así como posibles mecanismos de acción a nivel central y periférico y potenciales efectos colaterales inducidos por su administración crónica.

Abstract

In recent years, evidence of the use of cannabis to control seizures in treatment-resistant epilepsies (RD) has grown. Of the large number of compounds obtained from cannabis plants, only cannabidiol (CBD) has been approved for use in the control of RD. In this review we summarize the most recent information concerning the role of CBD in the control of epileptic seizures, as well as possible mechanisms of action at the central and peripheral levels and potential side effects induced by its chronic administration.

Palabras clave: Cannabidiol; epilepsias refractarias; Glicoproteína-P; estrés oxidativo, inflamación.

Keywords: Cannabidiol; refractory epilepsies; P-glycoprotein; oxidative stress, inflammation.

1. Introduction

La epilepsia es una enfermedad neurológica caracterizada por la presencia de convulsiones espontáneas y recurrentes ¹. En la actualidad, 50 millones de personas en todo el mundo padecen epilepsia ².

A pesar del desarrollo de nuevos medicamentos antiepilépticos en las últimas décadas, el 30% de los pacientes con epilepsia continúan teniendo convulsiones, resultando en el desarrollo de una epilepsia farmacorresistente o refractaria (ER). La ER se asocia con comorbilidades psiquiátricas y psicológicas, mientras que la falta de control de las crisis epilépticas, se asocia a dificultades socioeconómicas y laborales, alto índice de suicidio y alto riesgo de muerte súbita inesperada (cuadro denominado como SUDEP) ^{3,4}. La alta prevalencia de epilepsia farmacorresistente ha generado la búsqueda de nuevas soluciones utilizando fármacos antiguos.

2. ¿El cannabis es una opción para la epilepsia?

El cannabis, una de las plantas más antiguas que cultivan los humanos, fue utilizado alrededor 1800 AC, en el Medio Oriente para controlar las convulsiones nocturnas ⁵.

La evidencia experimental obtenida durante la década de 1970-1980 indica que los "fitocannabinoides" obtenidos del cannabis ejercen efectos anticonvulsivos en modelos experimentales tanto de convulsiones agudas ⁶⁻⁹ como de modelos de epilepsia ¹⁰.

Durante la última década, el uso de extractos de cannabis ha sido de gran interés en el control de la ER, principalmente en niños con síndromes epilépticos graves (epilepsias catastróficas), con disfunción cognitiva como es el caso del síndrome de Dravet, caracterizado por mutantes en el gen del canal de sodio SCN1A, o el síndrome de Lennox-Gastaut. Las evidencias clínicas han mostrado que tanto los pacientes pediátricos como los adultos con ER pueden lograr una mejora significativa, con la administración de cannabis. Sin embargo, otros estudios indican que la eficacia de los fitocannabinoides para el tratamiento anticonvulsivo es contradictoria ^{11,12}. Basado

en esta información, la National Academy of Science, Engineering and Medicine de los EE. UU ha indicado que la evidencia respaldatoria del uso de cannabis en la epilepsia es aún insuficiente¹³. Los resultados contradictorios sobre el fracaso o el éxito del cannabis en la epilepsia pueden explicarse por varias circunstancias. En primer lugar, la farmacocinética y la farmacodinámica de los cannabinoides dependen de su formulación y su vía de administración. De hecho, algunos efectos de los cannabinoides se explican por interacciones farmacocinéticas, ya sea por la inhibición o por inducción de las enzimas implicadas en el metabolismo de los fármacos anticonvulsivantes¹⁴. Otro problema importante es que la biodisponibilidad de los cannabinoides administrados oralmente en formulaciones líquidas que aumenta especialmente con la ingestión de comidas ricas en grasas¹⁵.

Por otro lado, se desconocen los efectos del cannabis sobre diversos tipos específicos de epilepsia. Con respecto a este tema, existen pocos estudios sobre los efectos de los extractos de cannabis en la epilepsia del lóbulo temporal (ELT), el síndrome epiléptico farmacorresistente más común en adultos (ver más abajo). La influencia de factores clínicos (edad del paciente, género, etc.) en la eficacia del cannabis no se ha considerado en los estudios clínicos. Otro factor que puede modificar los efectos del cannabis es su coadministración con otros fármacos, especialmente anticonvulsivos. Existen pocos datos sobre la interacción farmacocinética y farmacodinámica entre los diferentes compuestos del cannabis y otras drogas¹⁶.

Una condición importante que explica los efectos contradictorios de cannabis en la epilepsia es que esta planta contiene más de 480 compuestos, incluidos los no cannabinoides como flavonoides prenilados, derivados de estilbenoides y lignanammidas¹⁷. El contenido de los diferentes fitocannabinoides depende de cada especie, por ejemplo, mientras que *Cannabis sativa* Europea contiene más cannabidiol (CBD) que Δ 9-tetrahidrocannabidiol (THC), *Cannabis indica* Asiática tiene más THC que CBD¹⁸ y *Cannabis ruderalis* contiene las menores concentraciones de THC¹⁹.

Aunque el cannabis artesanal se considera una "terapia milagrosa", en la actualidad no existen normativas para garantizar la calidad y pureza del fármaco durante el procedimiento de obtención. El aceite de cannabis artesanal puede contener contaminantes abióticos (polvo, fertilizantes) y bióticos (es decir, insectos, hongos, bacterias), metales pesados, pesticidas, etc.²⁰, situación que representa un alto riesgo para la salud de los pacientes. Desafortunadamente, la evaluación de los efectos del cannabis artesanal es difícil, ya que ha arrojado resultados controvertidos y carece de suficientes estudios clínicos controlados²¹.

La administración de cannabis a largo plazo aumenta el riesgo de adicción y se asocia con efectos secundarios como la bronquitis crónica. También potencia la posibilidad de presentar psicosis y esquizofrenia en personas con predisposición a dichos trastornos. Los adolescentes son más vulnerables a los efectos secundarios del consumo crónico de cannabis, ya que puede presentarse un desarrollo cerebral alterado, deterioro cognitivo, malos resultados académicos, etc.²². Según esta información, es evidente la necesidad de obtener más información sobre los efectos beneficiosos del aceite de cannabis en el control de la ER y establecer procedimientos estandarizados para obtener productos homogéneos. Además, es fundamental dilucidar la contribución de cada compuesto en los efectos terapéuticos y/o a los efectos adversos inducidos por el cannabis.

3. ¿Es el cannabidiol una nueva esperanza en la terapia de la epilepsia resistente a drogas?

En la actualidad, existen estudios que indican que algunos compuestos derivados de cannabis como THC, CBD, Δ^9 -tetrahidrocannabivarina, cannabidivarina y ácido Δ^9 -tetrahidrocannabinólico, pueden inducir efectos antiepilépticos^{23,24}. Los principales fitocannabinoides evaluados con este fin son el THC y el CBD. El THC es un ingrediente activo de la planta de cannabis que induce efectos psicoactivos, aumenta el estrés oxidativo y produce disfunción mitocondrial en el cerebro, condiciones que incrementan el riesgo de accidente cerebrovascular y daño cerebral^{25,26}. Por estas razones, existe poco interés por THC como fármaco

anticonvulsivo. Por otra parte, el CBD tiene una estructura terpenofenólica y grupos hidroxilo en los carbonos 1 y 3 ²⁷. El CBD comparte características lipofílicas con el resto de cannabinoides, carece de efectos psicoactivos ²⁸ e induce efectos neuroprotectores ²⁹.

El metabolismo del CBD comprende oxidación e hidroxilación a través de diferentes enzimas de la familia del citocromo P450 (CYP450) ³⁰⁻³². Los estudios *in vitro* con microsomas hepáticos humanos revelaron que la 6 α -hidroxilación del CBD está mediada por las isoformas CYP3A4 y CYP2C19, la 6 β -hidroxilación es inducida por CYP3A4, mientras que la 7-hidroxilación está mediada por CYP2C19 ³¹.

Las enzimas glucuronosiltransferasas y sulfotransferasas también están involucradas en el metabolismo del CBD ^{32,33}. En la actualidad, se han identificado más de cincuenta metabolitos del CBD en la orina ^{30,34} entre los que se destacan el 7-carboxi-cannabidiol (7-COOH-CBD), el 7-hidroxi-cannabidiol (7-OH-CBD) y el 6-hidroxi-cannabidiol (6-OH-CBD) como los más abundantes. Aunque se desconoce la actividad biológica de muchos de estos metabolitos ^{32,35}, se ha sugerido que el 7-OH-CBD, detectado y aislado de humanos, induce efectos anticonvulsivos en ratones ³⁶.

Por otro lado, el CBD es un potente inhibidor de CYP1A1, CYP2B6, CYP2D6 y CYP2C19 con una consiguiente reducción del metabolismo de algunas drogas, lo que explica al menos en parte los aumentos en los niveles séricos de THC, topiramato, rufinamida, clobazam y N-desmetilclobazam cuando se administran conjuntamente con CBD ³⁷⁻³⁹.

Este efecto es más evidente cuando los medicamentos se administran por vía oral sugiriendo que el CBD favorece los efectos de los medicamentos anticonvulsivos ⁴⁰. Esta idea está respaldada por el estudio clínico llevado a cabo por Cunha y cols., quienes describieron por primera vez, que la administración crónica de CBD conjuntamente con fármacos anticonvulsivos redujo la actividad convulsiva en siete de ocho pacientes con ELT resistente a los medicamentos ⁴¹. También apoyan esta observación los resultados obtenidos empleando modelos experimentales en los que se observó que CBD reduce la actividad convulsiva ⁴²⁻⁴⁴, retrasa el proceso de epileptogénesis,

disminuye la excitabilidad neuronal y evita la muerte celular en el hipocampo particularmente de animales con ELT ⁴⁵⁻⁴⁷. A partir de 2018 la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. (FDA) aprobó el uso de CBD en solución oral (Epidiolex®) ⁴⁸ para controlar las convulsiones asociadas con el síndrome de Lennox-Gastaut ⁴⁹, el síndrome de Dravet ⁵⁰, y los espasmos infantiles ⁵¹.

Además del efecto antiepiléptico, se ha descrito que CBD induce un efecto ansiolítico, antipsicótico y neuroprotector, postulándolo como un candidato para el control de las comorbilidades de la ELT ⁵². Sin embargo, los efectos del CBD en otros tipos de ER no son concluyentes debido a la presencia de sujetos que no responden al tratamiento ⁵³.

Los datos clínicos en humanos indican que los extractos ricos en CBD son más efectivos para reducir la frecuencia de las convulsiones en comparación con el CBD purificado. Además, los extractos ricos en CBD reducen la actividad convulsiva con una dosis diaria promedio significativamente más baja, lo que respalda una mayor potencia en comparación con el CBD purificado. Estos efectos sugieren que otros componentes presentes en los extractos, potenciarían el efecto del CBD, pero aún dichos componentes y/o los mecanismos de interacción con CBD no han sido dilucidados. Entre los efectos adversos observados, podemos mencionar alteraciones del apetito, náuseas, diarreas y otras alteraciones gastrointestinales, somnolencia, cambios de peso, fatiga, entre otros ⁵⁴. Se sabe que el THC aumenta los efectos analgésicos del CBD ⁵⁵. Por otro lado, El CBD potencia o reduce algunos efectos inducidos por el THC ⁵⁶. Sin embargo, se desconoce si la interacción THC y CBD facilita o reduce la actividad convulsiva.

4. Efectos convencionales que explican la acción antiepiléptica del cannabidiol

Diferentes blancos moleculares están involucrados en los mecanismos por los cuales el CBD puede inducir efectos antiepilépticos. El análisis computacional y los ensayos de desplazamiento de ligandos revelaron que el CBD aumenta los niveles de endocannabinoides (anandamida) como

resultado de la inhibición de las proteínas de unión a ácidos grasos (FABP) que median el transporte de anandamida a su enzima catabólica (amida- ácido graso- hidrolasa [FAAH])³⁹. Por otro lado, los experimentos realizados por Pertwee y col., han indicado que el CBD es un ligando de muy baja afinidad por los receptores del sistema endocannabinoide CB1 y CB2 sobre los que actúa como antagonista⁵⁷. El CBD es un agonista de los canales TRPV1²³ y activador de los canales TRPV2⁵⁸. Además, actúa como un modulador alostérico de los receptores opioides mu y delta⁵⁹. El CBD induce un bloqueo en estado de reposo de los canales de sodio y bloquea la subunidad dependiente de voltaje del canal potasio Kv2.1⁶⁰.

Se ha mostrado que CBD ejerce su efecto neuroprotector mediante la activación de los receptores CB2 y adenosina A2⁶¹ y en modelos experimentales de dolor, el CBD induce efectos analgésicos a través de la activación de los canales 5HT1A y TRPV1^{62,63}. Usando cocultivos de células endoteliales microvasculares del cerebro humano y de astrocitos para modelar la barrera hematoencefálica (BHE) se encontró que CBD induce la neuroprotección en el accidente cerebrovascular isquémico mediante la activación de los receptores PPAR γ y 5-HT1A⁶⁴.

También se documentó que CBD ejerce efectos de tipo ansiolítico a través de la activación de los receptores 5-HT1A cuando fue inyectado en el área dorsolateral gris periacueductal de ratas⁶⁵.

Se ha sugerido que el CBD juega un papel fundamental en la neurotransmisión glutamatérgica, sin embargo, los hallazgos fueron controvertidos. El CBD indujo efectos similares a los antidepresivos asociados con una mayor neurotransmisión de serotonina y glutamato en un modelo de depresión en ratones⁶⁶. Otros estudios indican que el CBD reduce la hiperactividad de los receptores NMDA a través del antagonismo de los receptores sigma 1 (σ 1R)⁶⁷. El CBD también redujo la liberación de glutamato y protegió de la actividad convulsiva en un modelo experimental de convulsiones inducidas por cocaína⁶⁸. El efecto del CBD sobre la neurotransmisión glutamatérgica es relevante porque altos niveles extracelulares de glutamato están asociados con convulsiones recurrentes y epilepsia crónica⁶⁹. De hecho, el bloqueo de los receptores NMDA

puede prevenir y, en algunos casos, revertir ciertas condiciones patológicas asociadas con enfermedades neurológicas, incluida la epilepsia ^{70,71}.

La alta neurotransmisión glutamatérgica, la neuroinflamación y el estrés oxidativo son fenómenos interconectados que ocurren en el cerebro de sujetos con epilepsia. Curiosamente, el aumento del estrés oxidativo y la neuroinflamación asociados con la epilepsia farmacorresistente pueden revertirse cuando la actividad convulsiva disminuye como resultado de la resección quirúrgica de los focos epilépticos ⁷²⁻⁷⁵.

La neuroinflamación inducida por convulsiones es una afección asociada con el aumento de citocinas como la interleuquina IL-1 β , el factor de necrosis tumoral (TNF), el factor de crecimiento transformante (TGF) - β y señales de peligro como el grupo de alta movilidad Box 1 (HMGB1). La activación de las citoquinas puede ser la base de la hiperexcitabilidad y la neurotoxicidad, situación que facilita la descarga epiléptica ^{76,77}.

Concerniente a este problema, se ha descrito que la IL-1 β inducida en astrocitos activados y microglia contribuye a la aparición de actividad convulsiva ^{78,79}. IL-1 β y TNF producen efectos excitadores por aumento del influjo de Ca²⁺ y niveles extracelulares de glutamato con una posterior producción de radicales hidroxilos. El TNF también modifica la composición de subunidades del receptor de glutamato en las neuronas y aumenta la liberación de glutamato desde la microglía. En los astrocitos, el TNF aumenta la movilización de Ca²⁺ con la activación subsecuente de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX- 2) que induce la expresión de la glicoproteína P-gp responsable del fenotipo de resistencia a múltiples drogas (MDR), síntesis de prostaglandina-2 y liberación de glutamato ^{80,81}.

El estrés oxidativo es una condición que se detecta durante la epileptogénesis y la epilepsia crónica. Es una consecuencia de disfunción mitocondrial y aumento de la actividad de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NOX), xantina oxidasa y la isoforma inducible de la óxido nítrico sintasa (iNOS) que dan como resultado la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS). El estrés oxidativo facilita la inflamación

mediante la inducción de la expresión del gen COX-2 y citocinas iictogénicas^{81,82}. La alta liberación de glutamato y la activación del receptor NMDA en la epilepsia crónica también pueden facilitar los mecanismos oxidativos y la neurotoxicidad^{83,84}.

5. El cannabidiol puede actuar sobre objetivos centrales y periféricos no convencionales para controlar la epilepsia resistente a drogas

La glicoproteína P (P-gp), es un transportador de eflujo presente en la barrera hematoencefálica (BHE) que limita el acceso y acumulación del fármaco en el cerebro. Su sobreexpresión en la cara luminal de las células endoteliales de la BHE se asocia con ER dando como resultado una disminución en la penetración de los fármacos anticonvulsivos en el cerebro^{85,86} (ver Figura 1). La sobreexpresión de P-gp también ha sido determinada en astrocitos y neuronas del tejido cerebral ya sea obtenidos de pacientes o animales con ER^{87,88}. Los altos niveles extracelulares de glutamato producidos en el cerebro de sujetos con ER⁸⁹ representan un mecanismo que facilita la sobreexpresión de la P-gp mediante la activación de COX-2 (como vía proinflamatoria)⁹⁰ y HIF-1 α (como como vía hipoxiante)⁹¹.

La sobreexpresión de la P-gp en las células de la BHE también puede ser generada por estrés oxidativo crónico o neuroinflamación prolongada⁹². Según varias evidencias experimentales, la administración de inhibidores de su función de bombeo o directamente de su expresión proteica representa una estrategia terapéutica potencial para controlar la epilepsia farmacorresistente^{69,93}. –En este sentido el uso de celecoxib, un inhibidor específico de la COX-2, revierte la sobreexpresión de P-gp y facilita el acceso cerebral de fármacos anticonvulsivos⁹⁴.

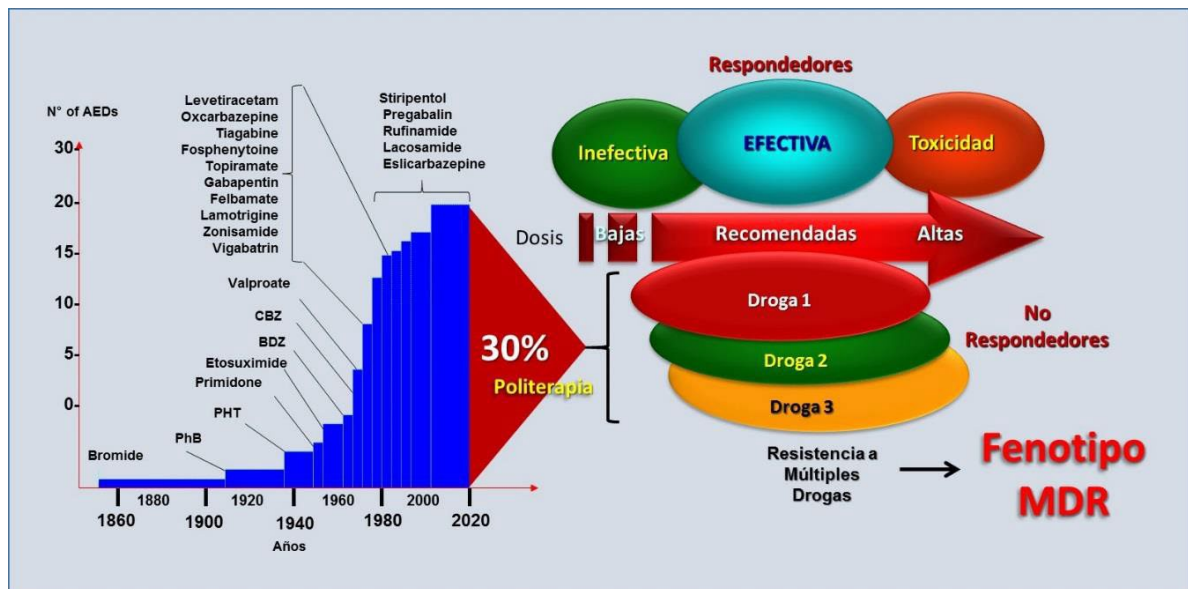


Figura.1: A pesar del amplio desarrollo de diferentes fármacos anticonvulsivos, desde los bromuros (1860), hasta la actualidad, el porcentaje de pacientes (no respondedores), que desarrollan un fenotipo farmacorresistente a distintas estrategias terapéuticas de múltiples combinaciones de drogas, sigue siendo históricamente el mismo (~30%). Uno de los mecanismos más relevantes que explican este fenotipo de resistencia a múltiples drogas (MDR), es la sobre-expresión de la glicoproteína P (P-gp), capaz de expulsar un muy amplio espectro de compuestos fuera de las células P-gp positivas, y del cerebro, a través de la barrera hematoencefálica donde se encuentra altamente expresada.

La administración de inhibidores de la P-gp como el verapamilo, induce efectos alentadores en pacientes con epilepsia farmacorresistente. Sin embargo, estos medicamentos pueden inducir efectos secundarios importantes que restringen su aplicación clínica⁹⁵. La evidencia experimental también respalda que podría obtenerse un mejor control de la ER si los medicamentos anticonvulsivos se asocian con inhibidores de P-gp^{93,96,97}.

Diversos estudios indican que el CBD regula a la baja la expresión de proteínas y el ARNm de P-gp e inhibe su función de bombeo diferentes líneas celulares⁹⁸. El CBD también interactúa con un sitio específico de la P-gp que interfiere con la actividad de la ATPasa estimulada por los sustratos y, en consecuencia, disminuye la energía requerida para su transporte en las células Caco-2 y LLC-PK1 / MDR1⁹⁹⁻¹⁰¹.

En este sentido, nuestro grupo pudo demostrar que CBD es capaz de inhibir el transporte de Rho-123 mediado por P-gp, en células cerebrales cultivadas y sometidas a excitotoxicidad por glutamato, y que la P-gp cuenta con dos sitios de unión específicos para CBD ¹⁰². Finalmente debemos destacar recientes hallazgos (in-vitro de nuestro laboratorio mostrando que el CBD provoca serias alteraciones funcionales, morfológicas y de viabilidad en los PMN neutrófilos ¹⁰³ como así también induce severa deformabilidad y generación liberación de microvesículas en los eritrocitos (datos no publicados).

7. Conclusiones

En la era moderna de la medicina de precisión con terapias específicas y altamente efectivas blanco-dirigidas, los esfuerzos deben centrarse en identificar la composición real de los extractos de fitocannabinoides utilizados y conocer sus múltiples mecanismos de acción.

En cuanto al CBD, es evidente que induce efectos terapéuticos que se pueden aplicar para controlar la resistencia a los medicamentos en las epilepsias refractarias. Sin embargo, es necesario identificar los tipos de epilepsias refractarias potencialmente accionables por los CBD. Además, es fundamental conocer su farmacocinética, sus efectos secundarios, así como sus efectos celulares y moleculares inducidos por su administración repetitiva y prolongada, y sea administrado solo o asociados a los fármacos anticonvulsivos. Otro tema importante a considerar es la evaluación de objetivos y mecanismos de acción no convencionales del CBD y otros cannabinoides para controlar la epilepsia farmacorresistente (como su acción inhibitoria de P-gp y otros transportadores) y reducir las complicaciones fatales como SUDEP. Varios estudios apoyan que el CBD disminuye la expresión y función de la P-gp en diferentes tipos de células. Si el CBD es capaz de disminuir la sobreexpresión de este transportador en el cerebro de pacientes con epilepsia farmacorresistente, podría usarse como terapia complementaria para mejorar la biodistribución y el acceso al SNC de los fármacos anticonvulsivos. Finalmente, una validación científica de las propiedades antiepilépticas de los diferentes cannabinoides y sus metabolitos, así como de los

terpenos (solos y en combinación) beneficiaría en el control de diferentes tipos de epilepsia. Esta validación debe considerar el trasfondo genético para comprender las respuestas a los cannabinoides.

Referencias

- (1) Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. **2014**; 55:475–82.
- (2) GBD 2015 Neurological Disorders Collaborator Group. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Neurol*. **2017**; 16:877–97.
- (3) Ryvlin P, Nashef L, Tomson T. Prevention of sudden unexpected death in epilepsy: a realistic goal? *Epilepsia*. **2013**;54(Suppl 2):23–8.
- (4) Granata T, Marchi N, Carlton E, Ghosh C, Gonzalez-Martinez J, Alexopoulos AV, et al. Management of the patient with medically refractory epilepsy. *Expert Rev Neurother*. **2009**; 9:1791–802.
- (5) Friedman D, Sirven JI. Historical perspective on the medical use of cannabis for epilepsy: Ancient times to the 1980s. *Epilepsy Behav*. **1980**; 70:298–301.
- (6) Chesher GB, Jackson DM, Malor RM. Interaction of delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol with phenobarbitone in protecting mice from electrically induced convulsions. *J Pharm Pharmacol*. **1975**; 27:608–9.
- (7) Izquierdo I, Orsingher OA, Berardi AC. Effect of cannabidiol and of other Cannabis sativa compounds on hippocampal seizure discharges. *Psychopharmacologia*. **1973**; 28:95–102.
- (8) Consroe P, Benedito MA, Leite JR, Carlini EA, Mechoulam R. Effects of cannabidiol on behavioral seizures caused by convulsant drugs or current in mice. *Eur J Pharmacol*. **1982**; 83:293–8.
- (9) Ten Ham M, Loskota WJ, Lomax P. Acute and chronic effects of beta9- tetrahydrocannabinol on seizures in the gerbil. *Eur J Pharmacol*. **1975**; 31:148–52.
- (10) Karler R, Turkkanis SA. Cannabis and epilepsy. *Adv Biosci*. **1978**; 22–23:619–41.
- (11) Neale M. Efficacy and safety of cannabis for treating children with refractory epilepsy. *Nurs Child Young People*. **2017**; 29:32–7.
- (12) Rosenberg EC, Patra PH, Whalley BJ. Therapeutic effects ofcannabinoids in animal models of seizures, epilepsy, epileptogenesis, and epilepsy-related neuroprotection. *Epilepsy Behav*. **2017**; 70:319–27.
- (13) Abrams DI. The therapeutic effects of cannabis and cannabinoids: an update from the National Academies of Sciences, Engineering and Medicine report. *Eur J Intern Med*. **2018**; 49:7–11.
- (14) Lucas CJ, Galettis P, Schneider J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *Br J Clin Pharmacol*. **2018**; 84:2477–82.
- (15) Birnbaum AK, Karanam A, Marino SE, Barkley CM, Rimmel RP, Roslawski M, et al. Food effect on pharmacokinetics ofcannabidiol oral capsules in adult patients with refractory epilepsy. *Epilepsia*. **2019**; 60:1586–92.
- (16) Anderson GD, Chan LN. Pharmacokinetic drug interactions with tobacco, cannabinoids and smoking cessation products. *Clin Pharmacokinet*. **2016**; 55:1353–68.
- (17) Pollastro F, Minassi A, Fresu LG. Cannabis phenolics and their bioactivities. *Curr Med Chem*. **2018**; 25:1160–85.
- (18) McPartland JM. Cannabis systematics at the levels of family, genus, and species. *Cannabis Cannabinoid Res*. **2018**; 3:203–12.
- (19) Gloss D. An overview of products and bias in research. *Neurotherapeutics*. **2015**; 12:731– 4.
- (20) Russo EB. Current therapeutic cannabis controversies and clinical trial design issues. *Front Pharmacol*. **2016**; 7:309.
- (21) Sulak D, Saneto R, Goldstein B. The current status of artisanal cannabis for the treatment of epilepsy in the United States. *Epilepsy Behav*. **2017**; 70:328–33.
- (22) Volkow ND, Baler RD, Compton WM, Weiss SRB. Adverse health effects of marijuana use. *N Engl J Med*. **2014**; 370:2219–27.
- (23) Gaston TE, Friedman D. Pharmacology of cannabinoids in the treatment of epilepsy. *Epilepsy Behav*. **2017**; 70:313–8.

- (24) Hill AJ, Mercier MS, Hill TDM, Glyn S, Jones N, Yamasaki Y, et al. Cannabidivarin is anticonvulsant in mouse and rat. *Br J Pharmacol.* **2012**; 167:1629–42.
- (25) Rosales-Corral S, Hernández L, Gallegos M. Cannabinoids in neuroinflammation, oxidative stress and neuro excitotoxicity. *Pharm Anal Acta.* **2015**; 6:346.
<https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000346>
- (26) Wolff V, Schlagowski A-I, Rouyer O, Charles A-L, Singh F, Auger C, et al. Tetrahydrocannabinol induces brain mitochondrial respiratory chain dysfunction and increases oxidative stress: a potential mechanism involved in cannabis-related stroke. *Biomed Res Int.* **2015**; 2015:1–7.
- (27) Palazzoli F, Citti C, Licata M, Vilella A, Manca L, Zoli M, et al. Development of a simple and sensitive liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the determination of cannabidiol (CBD), Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and its metabolites in rat whole blood after oral administration of a single high dose of CBD. *J Pharm Biomed Anal.* **2018**; 150:25–32.
- (28) Croxford JL. Therapeutic potential of cannabinoids in CNS disease. *CNS Drugs.* **2003**; 17:179–202.
- (29) Fernández-Ruiz J, Sagredo O, Pazos MR, García C, Pertwee R, Mechoulam R, et al. Cannabidiol for neurodegenerative disorders: Important new clinical applications for this phytocannabinoid? *Br J Clin Pharmacol.* **2013**; 75:323–33.
- (30) Harvey DJ, Mechoulam R. Metabolites of cannabidiol identified in human urine. *Xenobiotica.* **1990**; 20:303–20.
- (31) Jiang R, Yamaori S, Takeda S, Yamamoto I, Watanabe K. Identification of cytochrome P450 enzymes responsible for metabolism of cannabidiol by human liver microsomes. *Life Sci.* **2011**; 89:165–70.
- (32) Ujváry I, Hanuš L. Human metabolites of cannabidiol: A review on their formation, biological activity, and relevance in therapy. *Cannabis Cannabinoid Res.* **2016**; 1:90–101.
- (33) Mazur A, Lichti CF, Prather PL, Zielinska AK, Bratton SM, Gallus-Zawada A, et al. Characterization of human hepatic and extrahepatic UDP-glucuronosyltransferase enzymes involved in the metabolism of classic cannabinoids. *Drug Metab Dispos.* **2009**; 37:1496–504.
- (34) Harvey DJ, Samara E, Mechoulam R. Urinary metabolites of cannabidiol in dog, rat and man and their identification by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr.* **1991**; 562:299–322.
- (35) Devinsky O, Patel AD, Thiele EA, Wong MH, Appleton R, Harden CL, et al. Randomized, dose-ranging safety trial of cannabidiol in Dravet syndrome. *Neurology.* **2018**; 90:e1204–11.
- (36) Whalley BJ, Stott C, Gray RA, Jones NA. The human metabolite of cannabidiol, 7-hydroxy cannabidiol, but not 7-carboxy cannabidiol, is anticonvulsant in the maximal electroshock seizure threshold test (MEST) in mouse. *American Epilepsy Society Meeting.* 1.435, Abstract, **2017**, p 1.
- (37) Gaston TE, Bebin EM, Cutter GR, Cutter GR, Liu Y, Szaflarski JP. Interactions between cannabidiol and commonly used antiepileptic drugs. *Epilepsia.* **2017**; 58:1586–92.
- (38) Geffrey AL, Pollack SF, Bruno PL, Thiele EA. Drug-drug interaction between clobazam and cannabidiol in children with refractory epilepsy. *Epilepsia.* 2015; 56:1246–51.
- (39) Elmes MW, Kaczocha M, Berger WT, Leung K, Ralph BP, Wang L, et al. Fatty acid-binding proteins (FABPs) are intracellular carriers for Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). *J Biol Chem.* **2015**; 290:8711–21.
- (40) Nadulski T, Pragst F, Weinberg G, Roser P, Schnelle M, Fronk EM, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled study about the effects of cannabidiol (CBD) on the pharmacokinetics of Delta9-tetrahydrocannabinol (THC) after oral application of THC versus standardized cannabis extract. *Ther Drug Monit.* **2005**; 27:799–810.
- (41) Cunha JM, Carlini EA, Pereira AE, Ramos OL, Pimentel C, Gagliardi R, et al. Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology.* **1980**; 21:175–85.
- (42) Jones NA, Glyn SE, Akiyama S, Hill TDM, Hill AJ, Weston SE, et al. Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. *Seizure.* **2012**; 21:344–52.
- (43) Vilela LR, Lima IV, Kunsch ÉB, Pinto HPP, de Miranda AS, Vieira ÉLM, et al. Anticonvulsant effect of cannabidiol in the pentylenetetrazole model: Pharmacological mechanisms, electroencephalographic profile, and brain cytokine levels. *Epilepsy Behav.* **2017**; 75:29–35.
- (44) Patra PH, Barker-Haliski M, White HS, Whalley BJ, Glyn S, Sandhu H, et al. Cannabidiol reduces seizures and associated behavioral comorbidities in a range of animal seizure and epilepsy models. *Epilepsia.* **2019**; 60:303–14.
- (45) Do Val-da Silva RA, Peixoto-Santos JE, Kandratavicius L, De Ross JB, Esteves I, De Martinis BS, et al. Protective effects of cannabidiol against seizures and neuronal death in a rat model of mesial temporal lobe epilepsy. *Front Pharmacol.* **2017**; 8:131.

- (46) Hosseinzadeh M, Nikseresht S, Khodagholi F, Maghsoudi N. Cannabidiol post-treatment alleviates rat epileptic-related behaviors and activates hippocampal cell autophagy pathway along with antioxidant defense in chronic phase of pilocarpine-induced seizure. *J Mol Neurosci*. **2016**; 58:432–40.
- (47) Khan AA, Shekh-Ahmad T, Khalil A, Walker MC, Ali AB. Cannabidiol exerts antiepileptic effects by restoring hippocampal interneuron functions in a temporal lobe epilepsy model. *Br J Pharmacol*. **2018**; 175:2097–115.
- (48) FDA approves first drug comprised of an active ingredient derived from marijuana to treat rare, severe forms of epilepsy. FDA News Release. **2018**. Available from <https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm611046.htm> (accessed 15 Jul **2019**).
- (49) Thiele EA, Marsh ED, French JA, Mazurkiewicz-Beldzinska M, Benbadis SR, Joshi C, et al. Cannabidiol in patients with seizures associated with Lennox-Gastaut syndrome (GWPCARE4): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet (London, England)*. **2018**; 391:1085–96.
- (50) Devinsky O, Nabbout R, Miller I, Laux L, Zolnowska M, Wright S, et al. Long-term cannabidiol treatment in patients with Dravet syndrome: An open-label extension trial. *Epilepsia*. **2019**; 60:294–302.
- (51) Hussain SA, Dlugos DJ, Cilio MR, Parikh N.A phase-2 study of pharmaceutical grade synthetic cannabidiol oral solution for treatment of refractory infantile spasms. AES Annual Meeting. **2017**, p Abst. 3.278.
- (52) Crippa JA, Guimarães FS, Campos AC, Zuardi AW. Translational investigation of the therapeutic potential of cannabidiol (CBD): toward a new age. *Front Immunol*. **2018**; 9:2009.
- (53) Gloss D, Vickrey B. Cannabinoids for epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev*. **2014**; 3:CD009270. <https://doi.org/10.1002/14651858>
- (54) Pamplona FA, da Silva LR, Coan AC. Potential clinical benefits of CBD-rich cannabis extracts over purified CBD in treatment-resistant epilepsy: Observational data meta-analysis. *Front Neurol*. **2018**; 9:759.
- (55) King KM, Myers AM, Soroka-Monzo AJ, Tuma RF, Tallarida RJ, Walker EA, et al. Single and combined effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in a mouse model of chemotherapy-induced neuropathic pain. *Br J Pharmacol*. **2017**; 174:2832–41.
- (56) Karniol IG, Carlini EA. Pharmacological interaction between cannabidiol and delta 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacologia*. **1973**; 33:53–70.
- (57) Pertwee RG. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabinol. *Br J Pharmacol*. **2008**; 153:199–215.
- (58) Pumroy RA, Samanta A, Liu Y, Hughes TET, Zhao S, Yudin Y, et al. Molecular mechanism of TRPV2 channel modulation by cannabidiol. *Elife*. **2019**; 8:48792.
- (59) Kathmann M, Flau K, Redmer A, Tränkle C, Schlicker E. Cannabidiol is an allosteric modulator at mu- and delta-opioid receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. **2006**; 372:354–61.
- (60) Ghovanloo M-R, Shuart NG, Mezeyova J, Dean RA, Ruben PC, Goodchild SJ. Inhibitory effects of cannabidiol on voltage-dependent sodium currents. *J Biol Chem*. **2018**; 293:16546–58.
- (61) Castillo A, Tolón MR, Fernández-Ruiz J, Romero J, Martínez-Orgado J. The neuroprotective effect of cannabidiol in an in vitro model of newborn hypoxic-ischemic brain damage in mice is mediated by CB(2) and adenosine receptors. *Neurobiol Dis*. **2010**; 37:434–40.
- (62) Costa B, Giagnoni G, Franke C, Trovato AE, Colleoni M. Vanilloid TRPV1 receptor mediates the antihyperalgesic effect of the nonpsychoactive cannabinoid, cannabidiol, in a rat model of acute inflammation. *Br J Pharmacol*. **2004**; 143:247–50.
- (63) Ward SJ, McAllister SD, Kawamura R, Murase R, Neelakantan H, Walker EA. Cannabidiol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain through 5-HT(1A) receptors without diminishing nervous system function or chemotherapy efficacy. *Br J Pharmacol*. **2014**; 171:636–45.
- (64) Hind WH, England TJ, O'Sullivan SE. Cannabidiol protects an in vitro model of the blood-brain barrier from oxygen-glucose deprivation via PPAR γ and 5-HT1A receptors. *Br J Pharmacol*. **2016**; 173:815–25.
- (65) Campos AC, Guimarães FS. Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. *Psychopharmacology*. **2008**; 199:223–30.
- (66) Linge R, Jiménez-Sánchez L, Campa L, Pilar-Cuéllar F, Vidal R, Pazos A, et al. Cannabidiol induces rapid-acting antidepressant-like effects and enhances cortical 5-HT/glutamate neurotransmission: role of 5-HT1A receptors. *Neuropharmacology*. **2016**; 103:16–26.
- (67) Rodríguez-Muñoz M, Onetti Y, Cortés-Montero E, Garzón J, Sánchez-Blázquez P. Cannabidiol enhances morphine antinociception, diminishes NMDA-mediated seizures and reduces stroke damage via the sigma 1 receptor. *Mol Brain*. **2018**; 11:51.

- (68) Gobira PH, Vilela LR, Gonçalves BDC, Santos RPM, de Oliveira AC, Vieira LB, et al. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, inhibits cocaine-induced seizures in mice: Possible role of the mTOR pathway and reduction in glutamate release. *Neurotoxicology*. **2015**; 50:116–21.
- (69) Bankstahl JP, Hoffmann K, Bethmann K, Löscher W. Glutamate is critically involved in seizure-induced overexpression of P-glycoprotein in the brain. *Neuropharmacology*. **2008**; 54:1006–16.
- (70) Parsons CG, Stöffler A, Danysz W. Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system—too little activation is bad, too much is even worse. *Neuropharmacology*. **2007**; 53:699–723.
- (71) Ghasemi M, Schachter SC. The NMDA receptor complex as a therapeutic target in epilepsy: a review. *Epilepsy Behav*. **2011**; 22:617–40.
- (72) López J, González ME, Lorigados L, Morales L, Riverón G, Bauzá JY. Oxidative stress markers in surgically treated patients with refractory epilepsy. *Clin Biochem*. **2007**; 40:292–8.
- (73) Lorigados Pedre L, Gallardo JM, Morales Chacón LM, Vega García A, Flores-Mendoza M, Neri-Gómez T, et al. Oxidative stress in patients with drug resistant partial complex seizure. *Behav Sci (Basel, Switzerland)*. **2018**; 8:59.
- (74) Lorigados Pedre L, Morales Chacón LM, Pavón Fuentes N, Robinson Agramonte M, Serrano Sánchez T, Cruz-Xenes R, et al. Follow-up of peripheral IL-1 β and IL-6 and relation with apoptotic death in drug-resistant temporal lobe epilepsy patients submitted to surgery. *Behav Sci (Basel, Switzerland)*. **2018**; 8:21.
- (75) Merelli A, Repetto M, Lazarowski A, Auzmendi J Hypoxia, Oxidative Stress, and Inflammation: Three Faces of Neurodegenerative Diseases. *J Alzheimers Dis*. 2020 Dec 2. doi: 10.3233/JAD-201074
- (76) Riazi K, Galic MA, Pittman QJ. Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res*. **2010**; 89:34–42.
- (77) Lorigados Pedre L, Morales Chacón LM, Orozco Suárez S, Pavón Fuentes N, Estupiñán Díaz B, Serrano Sánchez T, et al. Inflammatory mediators in epilepsy. *Curr Pharm Des*. **2013**; 19:6766–72.
- (78) Akin D, Ravizza T, Maroso M, Carcak N, Eryigit T, Vanzulli I, et al. IL-1 β is induced in reactive astrocytes in the somatosensory cortex of rats with genetic absence epilepsy at the onset of spike-and-wave discharges, and contributes to their occurrence. *Neurobiol Dis*. **2011**; 44:259–69.
- (79) Vezzani A, Ravizza T, Balosso S, Aronica E. Glia as a source of cytokines: implications for neuronal excitability and survival. *Epilepsia*. **2008**; 49(Suppl 2):24–32.
- (80) Vezzani A, Viviani B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. *Neuropharmacology*. **2015**; 96:70–82.
- (81) Terrone G, Balosso S, Pualetti A, Ravizza T, Vezzani A. Inflammation and reactive oxygen species as disease modifiers in epilepsy. *Neuropharmacology*. **2019**; 107742. [Epub ahead of print]. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107742>.
- (82) Feng L, Xia Y, Garcia GE, Wilson CB. Involvement of reactive oxygen intermediates in cyclooxygenase-2 expression induced by interleukin-1, tumor necrosis factor-alpha, and lipopolysaccharide. *J Clin Invest*. **1995**; 95:1669–75.
- (83) Küçükaya B, Haklar G, Yalçın AS. NMDA excitotoxicity and free radical generation in rat brain homogenates: application of a chemiluminescence assay. *Neurochem Res*. **1996**; 21:1535–8.
- (84) Shaw CA, Bains JS. Synergistic versus antagonistic actions of glutamate and glutathione: the role of excitotoxicity and oxidative stress in neuronal disease. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. **2002**; 48:127–36.
- (85) Tang F, Hartz AMS, Bauer B. Drug-resistant epilepsy: Multiple hypotheses, few answers. *Front Neurol*. **2017**; 8:301.
- (86) Höcht C, Lazarowski A, Gonzalez NN, Auzmendi J, Opezzo JAW, Bramuglia GF, et al. Nimodipine restores the altered hippocampal phenytoin pharmacokinetics in a refractory epileptic model. *Neurosci Lett*. **2007**; 413:168–72.
- (87) Lazarowski A, Ramos AJ, Garcia-Rivello H, Brusco A, Girardi E. Neuronal and glial expression of the multidrug resistance gene product in an experimental epilepsy model. *Cell Mol Neurobiol*. **2004**; 24:77–85.
- (88) Marchi N, Hallene KL, Kight KM, Cucullo L, Moddel G, Bingaman W, et al. Significance of MDR1 and multiple drug resistance in refractory human epileptic brain. *BMC Med*. **2004**; 2:37.
- (89) During MJ, Spencer DD. Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain. *Lancet (London, England)*. **1993**; 341:1607–10.
- (90) Bauer B, Hartz AMS, Pekcec A, Toellner K, Miller DS, Potschka H. Seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein at the bloodbrain barrier through glutamate and cyclooxygenase-2 signaling. *Mol Pharmacol*. **2008**; 73:1444–53.

- (91) Merelli A, Ramos AJ, Lazarowski A, Auzmendi J. Convulsive Stress Mimics Brain Hypoxia and Promotes the P-Glycoprotein (P-gp) and Erythropoietin Receptor Overexpression. Recombinant Human Erythropoietin Effect on P-gp Activity. *Front Neurosci.* **2019** Jul 17; 13:750110.
- (92) Roberts DJ, Goralski KB. A critical overview of the influence of inflammation and infection on P-glycoprotein expression and activity in the brain. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* **2008**; 4:1245–64.
- (93) Robey RW, Lazarowski A, Bates SE. P-glycoprotein—a clinical target in drug-refractory epilepsy? *Mol Pharmacol.* **2008**; 73:1343–6.
- (94) van Vliet EA, Zibell G, Pekcec A, Schlichtiger J, Edelbroek PM, Holtman L, et al. COX- 2 inhibition controls P-glycoprotein expression and promotes brain delivery of phenytoin in chronic epileptic rats. *Neuropharmacology.* **2010**; 58:404–12.
- (95) Nicita F, Spalice A, Raucci U, Iannetti P, Parisi P. The possible use of the L-type calcium channel antagonist verapamil in drug-resistant epilepsy. *Expert Rev Neurother.* **2016**; 16:9–15.
- (96) Lazarowski A, Czornyj L, Lubienieki F, Girardi E, Vazquez S, D'Giano C. ABC transporters during epilepsy and mechanisms underlying multidrug resistance in refractory epilepsy. *Epilepsia.* **2007**; 48(Suppl 5):140–9.
- (97) Narayanan J, Frech R, Walters S, Patel V, Frigerio R, Maraganore DM. Low dose verapamil as an adjunct therapy for medically refractory epilepsy – an open label pilot study. *Epilepsy Res.* **2016**; 126:197–200.
- (98) Feinshtein V, Erez O, Ben-Zvi Z, Erez N, Eshkoli T, Sheizaf B, et al. Cannabidiol changes P-gp and BCRP expression in trophoblast cell lines. *PeerJ.* **2013**; 1:e153.
- (99) Zhu H-J, Wang J-S, Markowitz JS, Donovan JL, Gibson BB, Gefroh HA, et al. Characterization of P-glycoprotein inhibition by major cannabinoids from marijuana. *J Pharmacol Exp Ther.* **2006**; 317:850–7.
- (100) Holland ML, Panetta JA, Hoskins JM, Bebawy M, Roufogalis BD, Allen JD, et al. The effects of cannabinoids on P-glycoprotein transport and expression in multidrug resistant cells. *Biochem Pharmacol.* **2006**; 71:1146–54.
- (101) Brzozowska N, Li KM, Wang XS, Booth J, Stuart J, McGregor IS, et al. ABC transporters P-gp and Bcrp do not limit the brain uptake of the novel antipsychotic and anticonvulsant drug cannabidiol in mice. *PeerJ.* **2016**; 4:e2081
- (102) Auzmendi J, Palestro P, Blachman A, Gavernet L, Merelli A, Talevi A, Calabrese GC, Ramos AJ, Lazarowski A. Cannabidiol (CBD) Inhibited Rhodamine-123 Efflux in Cultured Vascular Endothelial Cells and Astrocytes Under Hypoxic Conditions. *Front Behav Neurosci.* **2020**; 17:14:32.
- (103) Gómez CT, Lairion F, Repetto M, Ettcheto M, Merelli A, Lazarowski A, Auzmendi J. Cannabidiol (CBD) Alters the Functionality of Neutrophils (PMN). Implications in the Refractory Epilepsy Treatment. *Pharmaceuticals (Basel).* **2021**;14(3):220.