

## Estudio teórico del primer paso en la degradación de diclofenaco por radicales hidroxilo

Carlos Hernández Alcantar<sup>1</sup>, Aleph Sanchez Ayala<sup>1</sup>, Sergio Martínez Delgadillo<sup>1</sup>, Miguel Morales Mora<sup>2</sup>, Cristina Iuga<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Ciencias Básicas. Av. San Pablo No. 180, Azcapotzalco, Ciudad de México. C.P. 02200. México.

<sup>2</sup>Escuela Superior de Ingeniería, Justo Sierra No.1207 Col. Guadalupe Victoria, Coatzacoalcos, Veracruz, México.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos. Calz. del Hueso 1100, Coyoacán, Ciudad de México. C. P. 04960. México.

\*Autor para correspondencia: [cristina\\_iuga@hotmail.com](mailto:cristina_iuga@hotmail.com)

### Recibido:

18/junio/2017

### Aceptado:

16/octubre/2017

### Palabras clave

diclofenaco,  
degradación, química  
computacional

### Keywords

diclofenac, degradation,  
computational  
chemistry

### RESUMEN

En este trabajo, se investigó el primer paso en la degradación ambiental del diclofenaco por radicales hidroxilo, utilizando métodos de la química cuántica computacional. Se estudiaron todas las posibles trayectorias de reacción independientes, y se calcularon las energías relativas de reacción. Asimismo, se calcularon los espectros UV-Vis teóricos del diclofenaco y los principales intermediarios. Los resultados teóricos demuestran que, en solución acuosa, la trayectoria de reacción correspondiente a la adición del radical  $\cdot\text{OH}$  al átomo de carbono en posición *para* con respecto al grupo  $>\text{NH}$  es la reacción más rápida en la degradación del diclofenaco. La adición del radical  $\cdot\text{OH}$  a los carbonos C8 y C12 con el subsecuente desplazamiento de átomos de cloro, son caminos de reacción con barreras relativamente altas, y se espera que no contribuyen significativamente en la formación de intermediarios.

### ABSTRACT

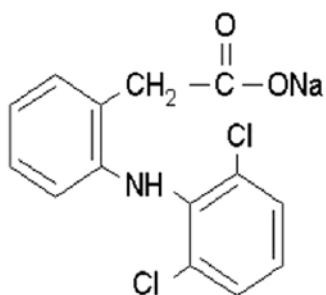
In this work, we investigated the first step in the environmental degradation of diclofenac by hydroxyl radicals using computational quantum chemistry methods. All possible independent reaction paths were studied, and the relative reaction energies were calculated. Likewise, the theoretical UV-Vis spectra of diclofenac and the main intermediates were calculated. Theoretical results show that, in aqueous solution, the reaction path corresponding to the addition of the  $\cdot\text{OH}$  radical to the carbon atom in *para* position with respect to the  $>\text{NH}$  group is the fastest reaction in the degradation of diclofenac. The addition of the  $\cdot\text{OH}$  radical to the C8 and C12 carbons with subsequent displacement of chlorine atoms are reaction paths with relatively high barriers and are expected to not contribute significantly to the formation of intermediates.

## Introducción

La presencia de productos farmacéuticos en aguas naturales se ha convertido en un problema ambiental importante, fundamentalmente debido a que esta presencia es causada por una incompleta eliminación en las plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas (Quinn et al., 2007; Joss et al., 2005). La contaminación por fármacos en el medio ambiente puede atribuirse a múltiples fuentes, como las emisiones en los lugares de producción, generación directa de residuos en casas, hospitales y granjas, excreción humana y animal, entre otras.

Al hacer un balance de los fármacos que entran y salen de las plantas de tratamiento de aguas residuales, se revela que muchos no son eliminados durante el tratamiento (Andreozzi et al., 2003; Ternes et al., 2002). Los compuestos farmacéuticos no suelen ser biodegradables, han sido diseñados para ser lipofílicos y biológicamente persistentes, con objeto de mantener su actividad terapéutica hasta que su función específica se haya desarrollado. Estas características hacen que la preocupación sobre este tipo de contaminantes sea aún mayor.

El diclofenaco, o ácido 2-[(2,6-diclorofenil) amino] fenilacético, es un fármaco muy popular utilizado como analgésico, antiartrítico y antirreumático que pertenece al grupo de los llamados fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID, nonnonsteroidal antiinflammatory drugs). Normalmente se utiliza en forma de sal sódica. Se usa en todo el mundo y se estima que el volumen de producción es de cientos de toneladas anuales. Es moderadamente soluble en agua, es soluble en metanol y etanol (96%) y ligeramente soluble en acetona. La estructura química de la molécula de sal sódica de diclofenaco se muestra en la figura 1.



**Figura 1.** Estructura química de la molécula de sal sódica de diclofenaco.

La molécula de diclofenaco tiene una constante de acidez de 4.0 y un coeficiente de partición de 13.4. La molécula

incluye un grupo fenilacético, una amina secundaria, un grupo fenilo con dos átomos de cloro en posición orto a la amina. La presencia de heteroátomos de N, O, Cl y Na causa una alta polaridad en la molécula, por lo tanto, es propicio a ser soluble en disolventes polares como el agua. Debido a la presencia del grupo NH que puede actuar ya sea como donador o aceptor de protones hacia los disolventes y a la presencia del grupo carboxílico, el fármaco posee un carácter ácido-base de acuerdo a la teoría de Lewis.

Hace dos décadas, el diclofenaco y otros fármacos antiinflamatorios como el ibuprofeno, el ácido acetilsalicílico y el ketoprofeno, fueron identificados por primera vez en aguas residuales y en ríos (Stumpf et al., 1996). En otro estudio, se encontraron niveles de diclofenaco, indometacina, ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno y fenazona en efluentes de aguas residuales que excedían el nivel del  $\mu\text{g/L}$  (Ternes et al., 1998). Todos estos compuestos también se encontraron en aguas superficiales en concentraciones más bajas.

En el medio ambiente, tanto en fase gas como en medio acuoso, la reacción con el radical hidroxilo es el proceso de degradación más importante para la mayoría de los compuestos orgánicos. En muchos casos, los intermediarios y/o los productos de degradación son más tóxicos que el contaminante original. Por esta razón, es importante conocer los mecanismos de degradación de los contaminantes, para poder evaluar mejor su impacto ambiental.

Los estudios teóricos pueden ayudar a comprender la compleja red de reacciones químicas que ocurren en la degradación de contaminantes en el medio ambiente, analizando los posibles caminos de reacción y los intermediarios generados, validando así los mecanismos propuestos en base a datos experimentales. En efecto, la química cuántica computacional permite determinar la estructura de moléculas y la de posibles intermediarios y estados de transición sin necesidad de sintetizarlos, así como entender los mecanismos de reacción.

En este trabajo, se investigó el primer paso en la degradación ambiental del diclofenaco por radicales hidroxilo, utilizando métodos de la química cuántica computacional. Se estudiaron todas las posibles trayectorias de reacción independientes, y se calcularon las energías relativas de reacción, con la finalidad de determinar cuál es la trayectoria de reacción que presenta la barrera de activación más baja en términos de la energía libre de Gibbs, y por lo tanto es más rápida. Asimismo, se calcularon los espectros UV-Vis teóricos del diclofenaco y los principales intermediarios.

## Metodología

Los cálculos teóricos de estructura electrónica se realizaron con el paquete de programas Gaussian 09 (Gaussian 09), utilizando el funcional M06-2X y el conjunto de bases 6-311++G(d,p). El funcional M06-2X ha sido calibrado con una extensa base de datos que incluye barreras y energías de reacción, y se ha demostrado que proporciona excelentes resultados para la cinética de reacciones, describe correctamente enlaces de hidrógeno e interacciones de Van der Waals, y además, reproduce muy bien la geometría de los puntos estacionarios para una gran variedad de sistemas químicos. Para incluir los efectos del solvente, se utilizó el modelo continuo SMD (Marenich et al., 2009), implementado en el programa Gaussian 09, con agua como disolvente. El efecto caja del solvente se incluyó de acuerdo con las correcciones propuestas por Okuno (Okuno, 1997) tomando en cuenta la teoría de volumen libre (Benson, 1982). En este trabajo, las correcciones a la energía libre de Gibbs de calcularon de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\Delta G_{sol}^{FV} \cong \Delta G_{sol}^0 - RT \left\{ \ln \left[ n 10^{(2n-2)} \right] - (n-1) \right\}$$

donde  $n$  representa la molecularidad de la reacción. De acuerdo con la expresión anterior, el efecto caja disminuye el valor de  $\Delta G$  por 2.54 kcal mol<sup>-1</sup> para reacciones bimoleculares, a 298.15 K. Así, el efecto de “empaquetamiento” del disolvente reduce la pérdida de entropía asociada a reacciones con molecularidad igual o mayor que dos.

Las energías relativas se calcularon con respecto a la suma de los reactivos separados a 0 K. Así,  $\Delta E = E_p - E_R$  es la energía electrónica de reacción, y  $\Delta G = G_p - G_R$  es la energía libre de Gibbs de reacción. De la misma manera,  $\Delta E^\ddagger = E_{TS} - E_R$  y  $\Delta G^\ddagger = G_{TS} - G_R$  son las barreras de activación en términos de la energía electrónica y la energía libre de Gibbs. Las correcciones de energía de punto cero (ZPE) y las correcciones termodinámicas a 298.15 K se incluyeron en el cálculo de las energías relativas. El espectro UV-Vis de las estructuras previamente optimizadas se calculó mediante la teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo (TD-DFT) (Stratmann et al., 1998).

## Resultados y discusión

### a) Optimización geométrica y cálculo de frecuencias vibracionales

En reacciones con moléculas orgánicas el radical  $\cdot\text{OH}$  se comporta como electrófilo, y por lo tanto, se adiciona

fácilmente a enlaces insaturados. En la reacción del DCF con el radical  $\cdot\text{OH}$ , este radical puede adherirse a cualquiera de los átomos de carbono de los anillos aromáticos, generando productos hidroxilados, como se muestra esquemáticamente en la figura 2.

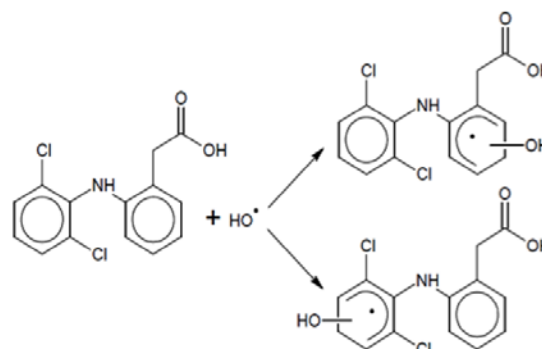


Figura 2. Representación esquemática de los posibles mecanismos de reacción en la reacción DCF +  $\cdot\text{OH}$ .

En este trabajo, se estudiaron todas las posibles trayectorias de reacción independientes. Se identificaron las estructuras de equilibrio de los reactivos, estados de transición, y productos, para cada una de las trayectorias de reacción, en fase gas y en medio acuoso. Se llevaron a cabo cálculos de análisis vibracional para la caracterización de las estructuras como mínimos locales, con todas las frecuencias vibracionales positivas, o como puntos de ensilladura, con una única frecuencia imaginaria (negativa). La estructura molecular optimizada del DCF, en medio acuoso, se muestra en la figura 3, indicando los sitios reactivos.

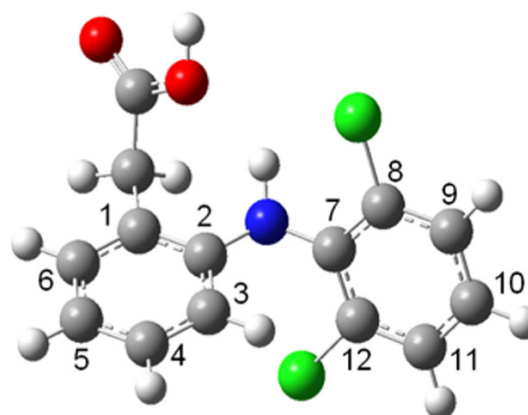
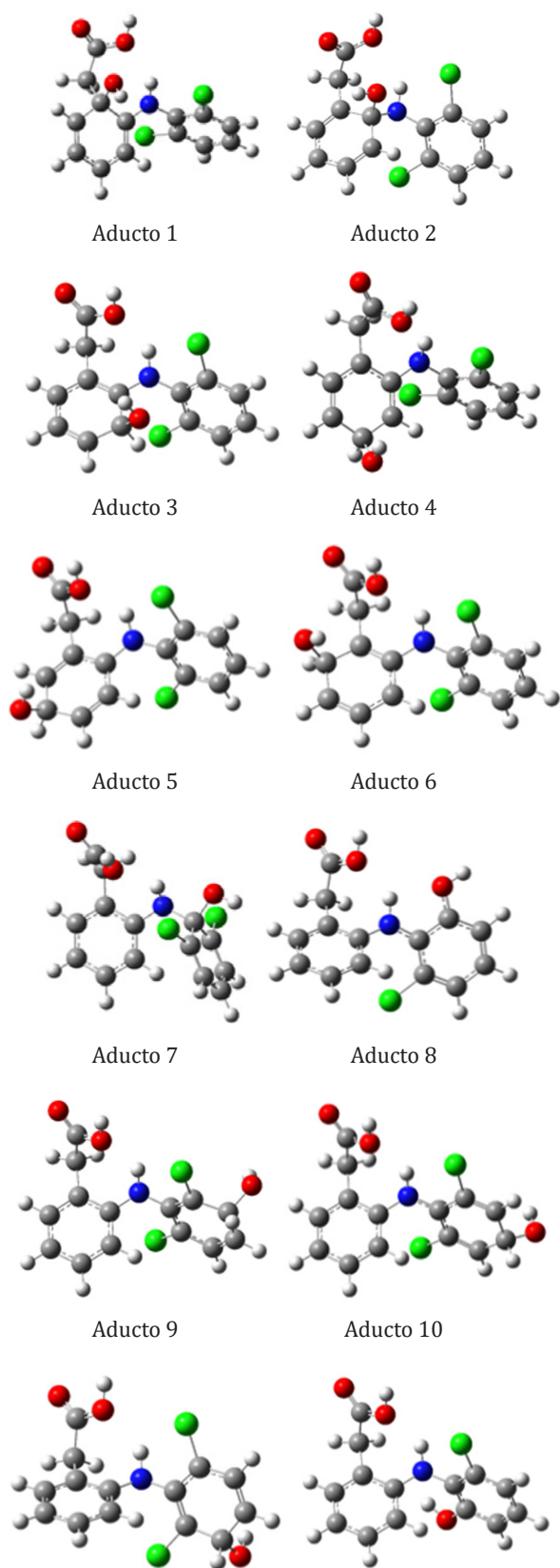


Figura 3. Estructura optimizada de la molécula de diclofenaco, a pH > 4.

En la figura 4, se muestran las estructuras optimizadas de los aductos hidroxilados formados en la reacción de DCF +  $\cdot\text{OH}$ , en medio acuoso.



**Figura 4.** Estructuras optimizadas de los aductos hidroxilados formados en la reacción de DCF + ·OH, en medio acuoso.

**b) Cálculo de las energías relativas de reacción**

Las energías relativas de reacción, calculadas con respecto a la suma de los reactivos separados a 0 K, se reportan en las tablas 2 y 3, para todas las posibles trayectorias de reacción, en fase gas y en solución acuosa, respectivamente. En estas tablas,  $\Delta E^\ddagger$  y  $\Delta G^\ddagger$  son las barreras de activación, en términos de la energía electrónica y energía libre de Gibbs.  $\Delta E$  y  $\Delta G$  son las energías de reacción, en términos de la energía electrónica y la energía libre de Gibbs, respectivamente.

**Tabla 2.** Energías relativas (en kcal mol<sup>-1</sup>) en la reacción de diclofenaco con radicales ·OH, calculadas a nivel M062X/6-311++G(d,p) en fase gas.

Trayectoria de reacción	$\Delta E^\ddagger$	$\Delta E$	$\Delta G^\ddagger$	$\Delta G$
C1	-1.57	-19.63	8.34	-10.27
C2	0.22	-17.66	9.89	-8.18
C3	-1.55	-19.96	7.81	-10.68
C4	2.51	-16.47	11.14	-7.49
C5	0.50	-18.43	9.00	-9.50
C6	0.31	-17.40	9.59	-8.37
C7	1.54	-19.75	10.07	-10.24
C8	1.80	-31.94	10.41	-22.82
C9	1.78	-18.39	10.53	-9.43
C10	1.33	-19.17	9.98	-10.30
C11	2.59	-17.39	11.50	-8.61
C12	3.28	-29.87	12.67	-21.37

**Tabla 3.** Energías relativas (en kcal mol<sup>-1</sup>) en la reacción de diclofenaco con radicales ·OH, calculadas a nivel M062X/6-311++G(d,p) en medio acuoso.

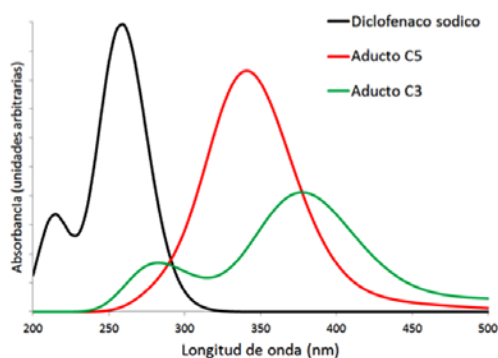
Trayectoria de reacción	$\Delta E^\ddagger$	$\Delta E$	$\Delta G^\ddagger$	$\Delta G$
C1	-2.15	-16.87	5.64	-9.87
C2	0.25	-14.75	8.21	-7.33
C3	-2.72	-18.02	4.71	-10.92
C4	1.54	-15.13	7.94	-8.76
C5	-1.93	-17.24	3.85	-10.56
C6	0.13	-16.30	6.91	-9.49
C7	0.39	-20.29	7.11	-12.35
C8	1.70	-41.25	8.29	-35.10
C9	1.41	-17.53	8.08	-11.17
C10	0.67	-17.46	6.72	-10.59
C11	1.94	-16.75	8.48	-10.76
C12	2.61	-38.51	9.38	-32.13

Se observa que todas las trayectorias de reacción son exotérmicas ( $\Delta H < 0$ ) y exergónicas ( $\Delta G < 0$ ), y por lo tanto son irreversibles, tanto en fase gas como en medio acuoso. En fase gas, las trayectorias de reacción correspondientes a la adición del radical  $\cdot\text{OH}$  a los carbonos C8 y C12 presentan las energías de reacción más bajas, lo que significa que estas trayectorias son las más favorecidas del punto de vista termodinámico. Sin embargo, la trayectoria de reacción correspondiente a la adición del radical  $\cdot\text{OH}$  al carbono C3 presenta la barrera de activación más baja en términos de la energía libre de Gibbs (7.81 kcal/mol), y por lo tanto esta es la trayectoria favorecida del punto de vista cinético. En solución acuosa, las trayectorias de reacción favorecidas del punto de vista termodinámico son las mismas que en fase gas (la adición del radical  $\cdot\text{OH}$  a los carbonos C8 y C12). Sin embargo, en agua, la trayectoria de reacción favorecida del punto de vista cinético es la adición del radical OH al carbono C5, que presenta la barrera de activación más baja, en términos de la energía libre de Gibbs (3.85 kcal/mol).

Estos resultados demuestran que la degradación del DCF en fase gas y en medio acuoso por acción de radicales  $\cdot\text{OH}$  sigue distintos mecanismos. Así, mientras en fase gas la adición del radical al carbono C3 conduce a la formación del intermediario hidroxilado más abundante, en medio acuoso, la adición del radical OH al carbono C5 es la reacción más rápida. Las trayectorias de reacción correspondientes a la adición del radical OH a los carbonos C8 y C12 con el subsecuente desplazamiento de átomos de cloro, son caminos de reacción con barreras relativamente altas, y se espera que no contribuyan significativamente en la formación de intermediarios.

### c) Cálculo de las espectros UV-Vis teóricos

Los espectros UV-Vis teóricos para el diclofenaco sodico y los intermediarios más importantes (los productos hidroxilado P3 y P5), en solución acuosa, se muestran en la figura 5.



**Figura 5.** Espectro UV-Vis teórico del diclofenaco (DFC) y sus principales intermediarios hidroxilados en el primer paso de degradación, en agua.

## Conclusiones

Los resultados teóricos demuestran que, en solución acuosa, la trayectoria de reacción correspondiente a la adición del radical  $\cdot\text{OH}$  al átomo de carbono en posición *para* con respecto al grupo  $>\text{NH}$  (C5) es la reacción más rápida en la degradación del diclofenaco. La adición del radical  $\cdot\text{OH}$  a los carbonos C8 y C12 con el subsecuente desplazamiento de átomos de cloro, son caminos de reacción con barreras relativamente altas, y se espera que no contribuyen significativamente en la formación de intermediarios.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a CONACYT por el apoyo financiero otorgado a través del proyecto CB2011/169786, así como al Laboratorio de Supercómputo y Visualización en Paralelo de la UAM-Iztapalapa.

## Referencias

- Andreozzi R., Raffaele M., Nicklas P. (2003) Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere*, 50, 1319.
- Benson S. W. (1982). The Foundations of Chemical Kinetics, *Krieger*, FL.
- (Gaussian 09). Frisch M.J.; Trucks G.W.; Schlegel H.B.; Scuseria G.E.; Robb M.A.; Cheeseman J. R.; Montgomery Jr J.A., Vreven T.; Kudin K.N.; Burant, J.C.; Millam J.M.; Iyengar S.S., Tomasi J., Barone V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G.A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K, Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H., Klene M, Li X, Knox J.E., Hratchian H. P, Cross J.B., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Ayala P.Y., Morokuma K., Voth G.A., Salvador P, Dannenberg J.J, Zakrzewski V. G., Dapprich S, Daniels A.D., Strain M.C., Farkas, O., Malick D.K., Rabuck A.D., Raghavachari K., Foresman J.B., Ortiz J. V., Cui Q, Baboul A. G., Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B.B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox S.D.J.; Keith, T; Al-Laham M.A., Peng C.Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill P. M.W.; Johnson, B.; Chen, W; Wong, M.W.; Gonzalez, C. and. Pople J. A. (2009) Gaussian 09, Revision D.01.
- Hong-guang G., Nai-yun G., Lei L., Xuan-xiong J, Zhe C. (2011). Degradation of chlorothalonil by ultrasonic irradiation: Kinetics and impact factors, *J. Cent. South Univ. Technol.* 18: 1068–1073.



Joss A., Keller E., Alder A.C., Göbel A., McArdell C.S., Ternes T., Siegrist H. (2005) Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research*, 39, 3139.

Marenich A. V., Cramer C. J., Truhlar D. G. (2009). Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *J. Phys. Chem. B*, 113: 6378.

Minghui W., Jing D., Junjie L., Ying L., Jinze L., Heng X. (2016). Simultaneous biological-photocatalytic treatment with strain CDS-8 and TiO<sub>2</sub> for chlorothalonil removal from liquid and soil. *J. Hazard. Mat.* 320: 612–619

Okuno Y. (1997). *Chem. Eur. J.*, 3: 210.

Pérez M., Navarro H. y Miranda E. (2013). Residuos de plaguicidas en hortalizas: problemática y riesgo en México. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 29 (:45-64.

Quinn B., Gagné F., Blaise C. (2008). An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuate*. *Science of the Total Environment*, 389, 306.

Shane S. Que H., Hanaa Z. (2010). Permeation of chlorothalonil through nitrile gloves: Collection solvent effects in the closed-loop permeation method. *J. Hazard. Mat.* 179: 57–62

Stratmann R.E., Scuseria G.E., Frisch M.J. (1998). An efficient implementation of time-dependent density-functional theory for the calculation of excitation energies of large molecules. *J. Chem. Phys.* 109, 8218.

Stumpf M.; Ternes T.A.; Haberer K.; Seel P.; Baumann W. (1996). Determination of drugs in sewage treatment plants and river water. *Vom Wasser*, 86: 291-303

Ternes T.A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res*, 32(11): 3245-3260

Ternes T. A., Meisenheimer M., Mcdowell D., Sacher F., Brauch H-J, Haist-Gulde B., Preuss G., Wilme U., Zulei-Seibert N. (2002). Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science and Technology*, 36, 3855.

Torres R. A., Abdelmalek F., Combet E. Petrier C, Pulgarin C.A. (2007). A comparative study of ultrasonic cavitation and Fenton's reagent for bisphenol. A degradation in deionised and natural waters. *J. Hazard. Mat.*146: 546–551.

Yongqiang T., Qinghua H., Taozhong S., Laijia J., Rimao H., Xiangwei W. (2014). Promoting Photosensitized Reductive Dechlorination of Chlorothalonil Using Epigallocatechin Gallate in Water. *J. Agric. Food Chem.* 62: 12090–12095.