

**SÍNTESIS DE COMPUESTOS FOTOSENSIBILIZADORES DERIVADOS DE CLOROFILA
CON POTENCIAL ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

KAREN IVONNE RODRÍGUEZ PRADA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2018**

**SÍNTESIS DE COMPUESTOS FOTOSENSIBILIZADORES DERIVADOS DE CLOROFILA
CON POTENCIAL ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

KAREN IVONNE RODRÍGUEZ PRADA

Trabajo de grado para optar el título de Químico

**Director del proyecto
Julio Roberto Pinzón Joya
Químico, PhD**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2018**

DEDICATORIA

A Dios por su inspiración constante y ser mi fortaleza en todos los momentos de mi vida, a mi mamá María Bibiana Prada mi ángel y a mi papá Daniel Alirio Rodríguez, quien es mi apoyo fundamental en cada logro.

Autor

AGRADECIMIENTOS

Al profesor **Julio R. Pinzón**, por la orientación a lo largo del desarrollo de este proyecto de grado y por la confianza dada al permitirme ser parte del inicio de su grupo de investigación. A todos los integrantes del grupo de investigación **GIFTEX** por la colaboración brindada en las jornadas de trabajo, especialmente al estudiante de doctorado **Sebastian Ramírez** por su guía en el transcurso de esta investigación. A la entidad COLCIENCIAS por el apoyo económico para el desarrollo de este proyecto.

A mi papá **Daniel Rodríguez** que con su esfuerzo, dedicación, apoyo, amor y confianza ha contribuido a mi formación. A mi familia **Prada Velandia**, que siempre han creído en lo que me he propuesto lograr, y me mantuvieron motivada desde el comienzo de mi estudio universitario hasta el final de este trabajo de grado.

A mi amiga de vida **Juliana Pérez** por hacer ameno mis largos días en el laboratorio, por mostrarme siempre el verdadero valor de la amistad y sobre todo alentarme. A **Sergio Patiño**, gracias por su paciencia y comprensión a través de los años, por el apoyo ilimitado y mantenerme motivada para alcanzar mis metas.

A mis amigas incondicionales **Angélica Chavarro**, **Ingrid Rincón** y **Laura Díaz**, por ser las mejores compañeras y amigas, por la compañía durante toda la carrera, en las largas horas de estudio, madrugadas y triunfos. A **Jesús Oñate**, por la compañía y ayuda desinteresada en el laboratorio.

A **Daniel Romero** por su amor, sus consejos cuando los días eran difíciles, por confiar en mi y por su linda compañía durante estos años.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	17
1 OBJETIVOS	18
1.1 OBJETIVO GENERAL	18
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2 MARCO REFERENCIAL	19
2.1 MARCO TEÓRICO	19
2.1.1 Porfirina	19
2.1.2 Clorofila	19
2.1.3 Estructura y tipos de clorofila	19
2.1.4 Biosíntesis de la clorofila	21
2.1.5 Derivados de clorofila	23
2.1.6 Propiedades de los derivados de clorofila	24
2.2 ANTECEDENTES	26
3 DISEÑO METODOLÓGICO	35
3.1 EXTRACCIÓN DE CLOROFILA	36
3.2 SÍNTESIS DE METILFEOFORBIDA <i>a</i>	36
3.3 SÍNTESIS DERIVADOS DE METILFEOFORBIDA <i>a</i>	38
3.3.1 Preparación de amidas	38
3.3.2 Preparación de complejos metálicos	41
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
5 CONCLUSIONES	76
6 DIVULGACIÓN DE RESULTADOS	77
7 CITAS BIBLIOGRÁFICAS	78
BIBLIOGRAFÍA	83
ANEXOS	86

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Rendimiento fotovoltaico de las celdas solares sensibilizadas por las clorinas de Zinc.	33
Tabla 2. Condiciones para la extracción de clorofila.	47
Tabla 3. Señales observadas en el espectro IR para los compuestos 15, 46-48 .	53
Tabla 4. Señales de aductos moleculares de los derivados de MPP 46-48 .	55
Tabla 5. Desplazamientos químicos δ [ppm], multiplicidad J [Hz] y constantes de acoplamiento de los protones en el espectro de ^1H RMN de los derivados de MPP (15 46-48)	57
Tabla 6. Desplazamientos químicos δ [ppm] de los carbonos en el espectro de ^{13}C RMN de los derivados de MPP (15, 46-49).	63
Tabla 7. Señales de aductos moleculares de los derivados metalados de MPP 49-54 .	71
Tabla 8. UV-Vis de absorción de la MPP y sus correspondientes derivados de amidas.	73
Tabla 9. Máximos de absorción UV-Vis para los compuestos 46-54	74

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructuras de compuestos que contienen el núcleo tetrapirrólico.	19
Figura 2. Estructura de la clorofila <i>a</i> .	20
Figura 3. Tipos de clorofilas.	21
Figura 4. Centros reactivos de la clorofila <i>a</i> .	23
Figura 5. Diagrama de Jablonski con el mecanismo de acción de los fotosensibilizadores derivados de clorofila.	25
Figura 6. Diagrama de orbitales moleculares para el $n=2$ del oxígeno en estado fundamental y los siguientes estados excitados.	26
Figura 7. Estructuras químicas de feoforbidas- <i>a</i> conjugadas Pheo <i>a</i> -SS-GC y Pheo <i>a</i> -GC.	29
Figura 8. Estructuras químicas de análogos del G2.	30
Figura 9. Metilfeofobida- <i>a</i> .	37
Figura 10. 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	38
Figura 11. 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	39
Figura 12. 13(1),17(3)-di(N-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	40
Figura 13. Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	41
Figura 14. Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6	42
Figura 15. Zn-13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	43
Figura 16. Cu-13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	43
Figura 17. Zn-13(1),17(3)-di(N-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	44
Figura 18. Cu-13(1),17(3)-di(N-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	45
Figura 19. Biomasa inicial y final de las hojas de espinaca.	46
Figura 20. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción y el pico aislado del compuesto 46 .	49
Figura 21. Espectro de IR del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 46 .	52
Figura 22. Patrón isotópico del pico $[M+H]^+$ para 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 46 .	54
Figura 23. Patrón isotópico calculado del pico $[M+H]^+$ para 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 46 .	54
Figura 24. 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	55
Figura 25. Espectro de RMN 1H del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	56
Figura 26. Espectro de RMN COSY del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	59
Figura 27. Espectro de RMN COSY δ : 9,0-5,6 [ppm] del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	60
Figura 28. Espectro de RMN 1H del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	61
Figura 29. Espectro de 1HRMN del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	62

Figura 30. Espectro de ^{13}C RMN del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	63
Figura 31. Espectro DEPT 90 del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	65
Figura 32. Espectro DEPT 135 del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	66
Figura 33. Espectro HSQC del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	67
Figura 34. Espectro HMBC del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	68
Figura 35. Espectros de IR para el Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y el Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	69
Figura 36. Patrón isotópico para los derivados metálicos del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 49-50 . a) Obtenido; b) Calculado.	70
Figura 37. Transiciones electrónicas para las porfirinas según el modelo de Gouterman.	72
Figura 38. Espectro de absorción UV-Vis para la MPP y sus derivados.	73
Figura 39. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.	74
Figura 40. Perfil cromatográfico para 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos Zn (II) y Cu (II).	75

LISTA DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1. Biosíntesis de la clorofila <i>a</i> .	22
Esquema 2. Principales derivados de clorofila <i>a</i> .	24
Esquema 3. Síntesis de derivados de feoforbida glicoconjugados.	27
Esquema 4. Síntesis derivados de clorofila <i>a</i> con fármacos.	28
Esquema 5. Síntesis de amidas de clorina e ₆ .	31
Esquema 6. Síntesis de clorinas de zinc.	32
Esquema 7. Síntesis del complejo ester metílico 3-devinil-3-(1-(benciloxi)etil) feoforbida- <i>a</i> de níquel.	34
Esquema 8. Síntesis de tetrahydroquinolinas mediante catálisis fotorredox.	34
Esquema 9. Síntesis de metilfeoforbida- <i>a</i> a partir de feofitina- <i>a</i> .	47
Esquema 10. Síntesis de 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e ₆ a partir de metilfeoforbida- <i>a</i> .	48
Esquema 11. Síntesis de posibles productos de amidas de clorina e ₆ a partir de metilfeoforbida- <i>a</i> .	50
Esquema 12. Mecanismo de sustitución nucleofílica sobre el grupo acilo.	50
Esquema 13. Síntesis de Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e ₆ (49)	51

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Espectro de RMN ¹ H de la metilfeoforbida- <i>a</i> .	86
Anexo 2. Espectro de RMN ¹³ C de la metilfeoforbida- <i>a</i> .	86
Anexo 3. Espectro IR de la metilfeoforbida- <i>a</i> .	87
Anexo 4. Espectro de masas de la metilfeoforbida- <i>a</i> .	87
Anexo 5. Perfil cromatográfico de alta eficiencia de la metilfeoforbida - <i>a</i> .	88
Anexo 6. Espectro de RMN ¹³ C, DEPT 90 y DEPT 135 del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	88
Anexo 7. Espectro de RMN COSY del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	89
Anexo 8. Espectro IR del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	89
Anexo 9. Espectro de masas del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	90
Anexo 10. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	90
Anexo 11. Espectro IR del Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	91
Anexo 12. Espectro de masas del Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	91
Anexo 13. Espectro IR del Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	92
Anexo 14. Espectro de masas del Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	92
Anexo 15. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.	93
Anexo 16. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	93
Anexo 17. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	94
Anexo 18. Espectro de RMN ¹ H del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	94
Anexo 19. Espectro de RMN ¹³ C del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	95
Anexo 20. Espectro de RMN ¹³ C, DEPT 90 y DEPT 135 del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	95
Anexo 21. Espectro de RMN COSY del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	96
Anexo 22. Espectro de RMN HSQC del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	96
Anexo 23. Espectro de RMN HMBC del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	97

Anexo 24. Espectro IR del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	97
Anexo 25. Espectro de masas por ESI del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	98
Anexo 26. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	98
Anexo 27. Espectro IR del Zn-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	99
Anexo 28. Espectro de masas por ESI del Zn-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	99
Anexo 29. Espectro IR del Cu-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	100
Anexo 30. Espectro de masas por ESI del Cu-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	100
Anexo 31. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.	101
Anexo 32. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Zn-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	101
Anexo 33. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Cu-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	102
Anexo 34. Espectro de RMN ¹ H del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	102
Anexo 35. Espectro de RMN ¹³ C del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	103
Anexo 36. Espectro de RMN ¹³ C, DEPT 90 y DEPT 135 del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	103
Anexo 37. Espectro de RMN COSY del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	104
Anexo 38. Espectro de RMN HSQC del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	104
Anexo 39. Espectro de RMN HMBC del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	105
Anexo 40. Espectro IR del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	105
Anexo 41. Espectro de masas por ESI del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	106
Anexo 42. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	106
Anexo 43. Espectro IR del Zn-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	107
Anexo 44. Espectro de masas por ESI del Zn-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	107
Anexo 45. Espectro IR del Cu-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	108
Anexo 46. Espectro de masas por ESI del Cu-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	108

Anexo 47. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.	109
Anexo 48. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Zn-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	109
Anexo 49. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Cu-13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	110
Anexo 50. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción del MPP	110
Anexo 51. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para el pico aislado de MPP.	111
Anexo 52. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción del 13(1)(<i>N</i> -hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	111
Anexo 53. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para el pico aislado 13(1)(<i>N</i> -hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.	112
Anexo 54. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo dodecei reacción del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	112
Anexo 55. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para el pico aislado 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	113
Anexo 56. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción del 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	113
Anexo 57. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo el pico aislado 13(1),17(3)-di(<i>N</i> -bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.	114

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

δ	Desplazamiento químico en partes por millón
°C	Grados Centígrados
$\bar{\nu}$	Número de onda
2-D	Dos dimensiones
atm	Atmósfera
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano
CCF	Cromatografía de capa fina
Chl	Clorofila
<i>cm</i>	Centímetro
COSY	Experimento de RMN 2D de espectroscopía de correlación
DCM	Cloruro de metileno
EI	Ionización por impacto de electrones
et al.	Y otros
EROS	Especies reactivas de oxígeno
h	Horas
HMBC	Experimentos de RMN 2D de correlación heteronuclear a varios enlaces
HMQC	Experimentos de RMN 2D de correlación heteronuclear de múltiples cuantos
HSQC	Experimentos de RMN 2D de correlación heteronuclear de un único cuanto
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia
HOMO	Orbital molecular ocupado de mayor energía.
IR	Infrarrojo
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
LUMO	Orbital molecular no ocupado de menor energía.
MALDI	Ionización/Desorción láser asistida por matriz
min	Minutos
mg	miligramo
mL	Mililitro

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

MPP	Metilfeoforbida
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida
ng	Nanogramo
NHS	N-hidroxisuccinimida
<i>J</i>	Constante de acoplamiento a n enlaces
nm	Nanómetros
PDT	Terapia fotodinámica
pH	Potencial de Hidrógeno
Pheo	Feoforbida
Phy	Feofitina
PS	Fotosensibilizadores
RMN	Resonancia magnética nuclear
tR	Tiempo de retención
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
UV-VIS	Ultravioleta visible

RESUMEN

TÍTULO: SÍNTESIS DE COMPUESTOS FOTOSENSIBILIZADORES DERIVADOS DE CLOROFILA CON POTENCIAL ACTIVIDAD BIOLÓGICA*

AUTOR: Karen Ivonne Rodríguez Prada**

PALABRAS CLAVES: Clorofila, metilfeoforbida, fotosensibilizadores, terapia fotodinámica.

DESCRIPCIÓN:

La ciencia en los últimos años se ha centrado en desarrollar nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades con el fin de disminuir el uso de medicamentos y mitigar el impacto a la resistencia de los mismos. La síntesis de compuestos derivados de clorofila es de gran interés por sus productos que presentan propiedades fotosensibilizantes, lo que permite su aplicación en la terapia fotodinámica. Además, estos compuestos exhiben un amplio espectro de actividad biológica o presentan mejores propiedades fotoquímicas, dado que tienen en su estructura centros reactivos que facilita realizar numerosas modificaciones estructurales.

En este trabajo de investigación se realizó la síntesis de derivados de clorofila-*a*, partiendo de la hoja de *Spinacia oleracea*. Las metodologías de síntesis se enfocaron en reacciones clásicas y sencillas, el precursor principal metilfeoforbida-*a* se desarrolló con una reacción de transesterificación, y los siguientes intermediarios se realizaron a través de reacciones de sustitución nucleofílica con aminas alifáticas como la hexilamina, dodecilamina y bencilamina. Los compuestos finales se sintetizaron con una reacción directa entre el metal y el ligando empleando acetatos de Zinc (II) y Cobre (II). Los compuestos fueron caracterizados por las técnicas espectroscópicas de infrarrojo, resonancia magnética nuclear, ultravioleta visible y espectrometría de masas ESI, las cuales confirmaron su estructura. De igual manera, se destaca su aplicabilidad como fotosensibilizadores para la terapia fotodinámica, debido a su absorción en el rojo del espectro visible.

*Trabajo de grado

**Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Julio Roberto Pinzón, Doctor en Química.

ABSTRACT

TITLE: SYNTHESIS OF PHOTSENSIBILIZING COMPOUNDS DERIVED FROM CHLOROPHYLL WITH POTENTIAL BIOLOGICAL ACTIVITY*

AUTHOR: Karen Ivonne Rodríguez Prada**

KEYWORDS: Chlorophyll, methylfeoforbide, photosensitizers, photodynamic therapy.

DESCRIPTION:

Nowaday science has focused on developing new therapeutic agents for the treatment of diseases in order to reduce the use of drugs and mitigate the impact of their resistance. The synthesis of chlorophyll-derived compounds is of great interest because they have photosensitizing properties, which allows their application in photodynamic therapy. In addition, these compounds exhibit a broad spectrum of biological activity and have better photochemical properties, because they have reactive centers in their structure that facilitates numerous structural modifications.

In this research the synthesis of chlorophyll derivatives was carried out, starting from spinach leaves. The synthetic methodologies focused on classic and simple reactions; the main precursor methylfeoforbide, was prepared through a transesterification reaction, and the following intermediates were prepared through nucleophilic substitution reactions with aliphatic amines such as hexylamine, dodecylamine, benzylamine and cyclohexylamine. The final compounds were synthesized with a direct reaction between the Zn (II) and Copper (II) acetates and the chlorophyll derivatives. The compounds were characterized by infrared spectroscopic, nuclear magnetic resonance, visible ultraviolet and ESI mass spectrometry. Likewise, its applicability as photosensitizers for photodynamic therapy is highlighted, due to its absorption in the red region of the visible spectrum.

*Bachelor Thesis

**Industrial University of Santander. Science Faculty. School of Chemistry Director: Julio Roberto Pinzón, Doctor in Chemistry.

INTRODUCCIÓN

Las clorofilas son pigmentos fotosintéticos también llamados "pigmentos de la vida o pigmentos verdes" los cuales se encuentran presentes en las plantas y microalgas. Dichos pigmentos son fundamentales en los procesos fotosintéticos pues son los encargados de absorber la energía solar y transformarla en energía bioquímica a través de reacciones enzimáticas.¹

Las clorofilas además de ser quelantes de metales, son compuestos de carácter aromático formados por un macrociclo de clorina fusionado con una ciclopentanona y sustituyentes periféricos. Este tipo de compuestos han atraído gran atención por su versatilidad sintética que proporciona múltiples derivados con nuevas propiedades físicas y químicas, por ello son empleados en diversos campos de la ciencia principalmente en terapia fotodinámica², materiales para celdas solares³ y catalizadores verdes⁴.

Los derivados de clorofila se caracterizan por presentar propiedades fotosensibilizantes que les permite ser buenos candidatos de estudio para la terapia fotodinámica.⁵ Estos compuestos se acumulan principalmente en tejidos tumorales y la irradiación con luz visible produce la formación de especies reactivas de oxígeno con alta citotoxicidad logrando la muerte de células malignas.⁶ También se destaca que son efectivos a bajas concentraciones, poseen una rápida degradación, evitando la acumulación de cualquier intermediario tóxico para el medio ambiente y el ser humano. Además, su producción es económica debido a la facilidad de extracción de diversas plantas y microalgas.^{7,8}

La importancia de preparar estos compuestos radica en abordar la problemática que en los últimos años ha venido presentando el campo de la salud por el aumento de la resistencia a los medicamentos comunes, consecuencia de un proceso natural e intensificado por el uso excesivo de antibióticos y la propagación de bacterias patógenas;⁹ de igual forma, por medicamentos de baja calidad, prescripciones erróneas y un control deficiente de las infecciones, incluso el poco compromiso gubernamental para la prevención y tratamiento de las mismas, y poca vigilancia para la comercialización de fármacos.¹⁰ Por ello, la ciencia se ha centrado en encontrar una solución donde las bacterias difícilmente tengan la capacidad de desarrollar resistencia. De este modo nace una nueva terapia antibacteriana mejor conocida como terapia fotodinámica, empleando fotosensibilizadores no tóxicos derivados de fenotiazinio, porfirina y ftalocianina.¹¹⁻¹³

Por tal razón, en esta investigación se preparó una serie de derivados de clorofila *a*, empleando recursos naturales como material de partida y desarrollándola con rutas sintéticas sencillas. La clorofila se extrajo de las hojas de espinacas, para su posterior modificación estructural con aminas primarias y la coordinación con un metal.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

✓ Sintetizar y caracterizar una serie de derivados de clorofila-*a* a partir de la hoja de *Spinacia oleracea*, con posible actividad fotodinámica.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

✓ Sintetizar metilfeoforbida-*a* a partir de la clorofila-*a* extraída de la hoja de espinaca.

✓ Sintetizar 5 derivados de metilfeoforbida-*a* con aminas alifáticas (hexilamina, dodecilamina y bencilamina), y la coordinación de un metal (cobre y zinc).

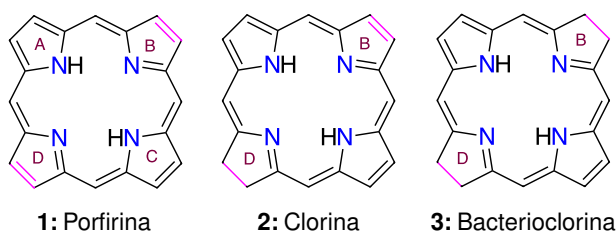
✓ Caracterizar los compuestos preparados por métodos instrumentales como infrarrojo (IR), resonancia magnética (RMN mono y bidimensional), ultravioleta visible (UV-Vis) y espectrometría de masas (ESI-MS).

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Porfirina. La porfirina es un macro ciclo orgánico, cuyo núcleo principal lo constituye un tetrapirrol. Estos compuestos se encuentran en múltiples estructuras biológicas como el grupo *hemo* de la hemoglobina, la vitamina B12, la clorofila, los citocromos y los pigmentos biliares. Los compuestos más conocidos que contienen el núcleo del tetrapirrol son las porfirinas, las clorinas y las bacterioclorinas. En las primeras el macrociclo tetrapirrónico está completamente conjugado, mientras que las clorinas y las bacterioclorinas son hidroporfirinas ya que poseen hidrógenos en las posiciones periféricas; las clorinas en el anillo D y las bacterioclorinas en los anillos B y D (Figura 1). Estructuralmente, este grupo de compuestos pueden presentar derivados por sustitución de las posiciones periféricas con diversos grupos funcionales, donde los más comunes son los grupos vinilo, metilo, etilo, propionato y acetato.^{14,15}

Figura 1. Estructuras de compuestos que contienen el núcleo tetrapirrónico.



FUENTE: Adaptado de la referencia SCHEER, Hugo. Encyclopedia of Biological Chemistry: Chlorophylls and Carotenoids. Acad. Press. 2013, p.498-505.

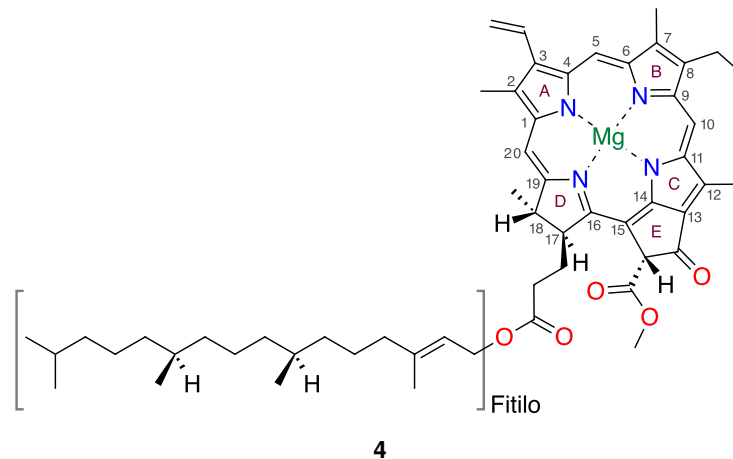
2.1.2. Clorofila. Las clorofilas son los principales pigmentos responsables del proceso de la fotosíntesis, en donde se transforma energía lumínica en energía química (ATP), esta última es la responsable de la biosíntesis de carbohidratos y otros compuestos en los organismos fotosintéticos como las plantas, algas y bacterias fotosintéticas.^{16,17}

La fórmula molecular de la clorofila es $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ y su estructura presenta dobles enlaces conjugados, responsables de la captación de luz.¹⁸ Las clorofilas tienen sus máximos de absorción alrededor de 430 y 662 nm, correspondiente a los colores que comprenden desde el violeta al azul y desde el naranja hasta el rojo, y reflejan los colores en el rango desde el amarillo al verde.¹⁹ En las plantas, la clorofila *a* es el pigmento más abundante y se encuentra relacionado directamente con el proceso de fotosíntesis; sin embargo, la mayoría de células fotosintéticas también contienen un segundo tipo de clorofila denominado clorofila *b*.²⁰

2.1.3. Estructura y tipos de clorofila. La estructura básica de las clorofilas es un macrociclo de clorina coordinado a un ion magnesio Mg^{2+} y fusionada con un anillo de ciclopenteno (Figura 2).²¹ La presencia de los cuatro nitrógenos coplanares en el interior del tetrapirrol

genera un ambiente cuadrado planar que permite la coordinación de iones metálicos.¹⁶ Adicionalmente, algunas clorofilas contienen una cadena lateral derivada del fitol, producto de una reacción de esterificación entre el ácido propiónico y el alcohol terpenoide.²¹ El fitol es un alcohol acíclico que le confiere afinidad con la membrana fotosintética.²²

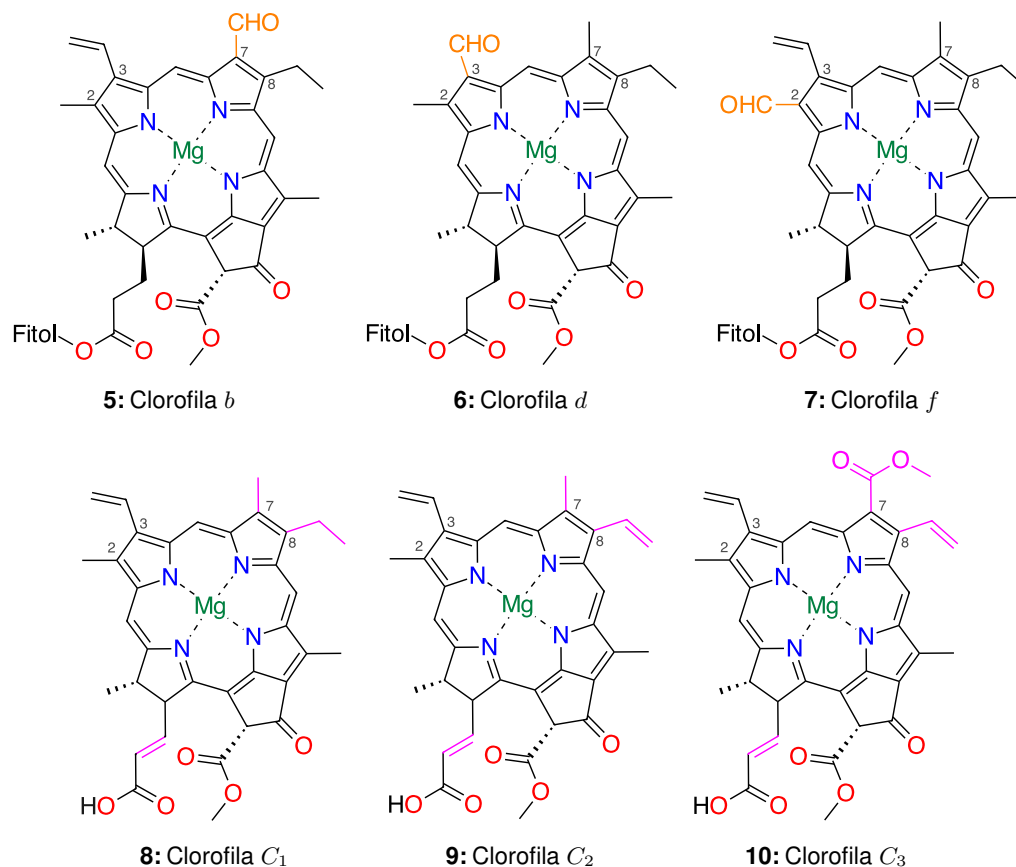
Figura 2. Estructura de la clorofila *a*.



FUENTE: Adaptado de la referencia FERRUZZI, Mario G. y BLAKESLEE, Joshua. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutr. Res.* 2007, vol.27 no.1., P.1-12.

Las clorofilas (*Chl*) se pueden clasificar de acuerdo a la variación estructural de los sustituyentes periféricos, de su sistema conjugado y la cadena de alcohol esterificado. La clorofila *b* se deriva de la *Chl a* por la oxidación del grupo metilo en el 7-C, con formación del grupo formilo. Estas dos clorofilas están presentes en gran cantidad de plantas con sistemas fotosintéticos. En la *Chl a*, respecto a la *Chl d*, el grupo vinilo cambia por un grupo formilo en 3-C, y en la *Chl f* se sustituye el grupo metilo por un grupo formilo en 2-C. En las clorofilas *Chl C₁*, *Chl C₂* y *Chl C₃* llamadas clorinas, la cadena de fitilo éster es reemplazada por un grupo acrilato en 17-C; la *Chl C₂* difiere de la *Chl C₁* porque el grupo etilo del 8-C es reemplazado por un grupo vinilo, la *Chl C₃* tiene un sustituyente metoxycarbonilo en 7-C y un grupo vinilo en el 8-C; estas clorofilas se encuentran en algunas algas como las diatomeas y las dinoflageladas (Figura 3).¹⁸

Figura 3. Tipos de clorofilas.

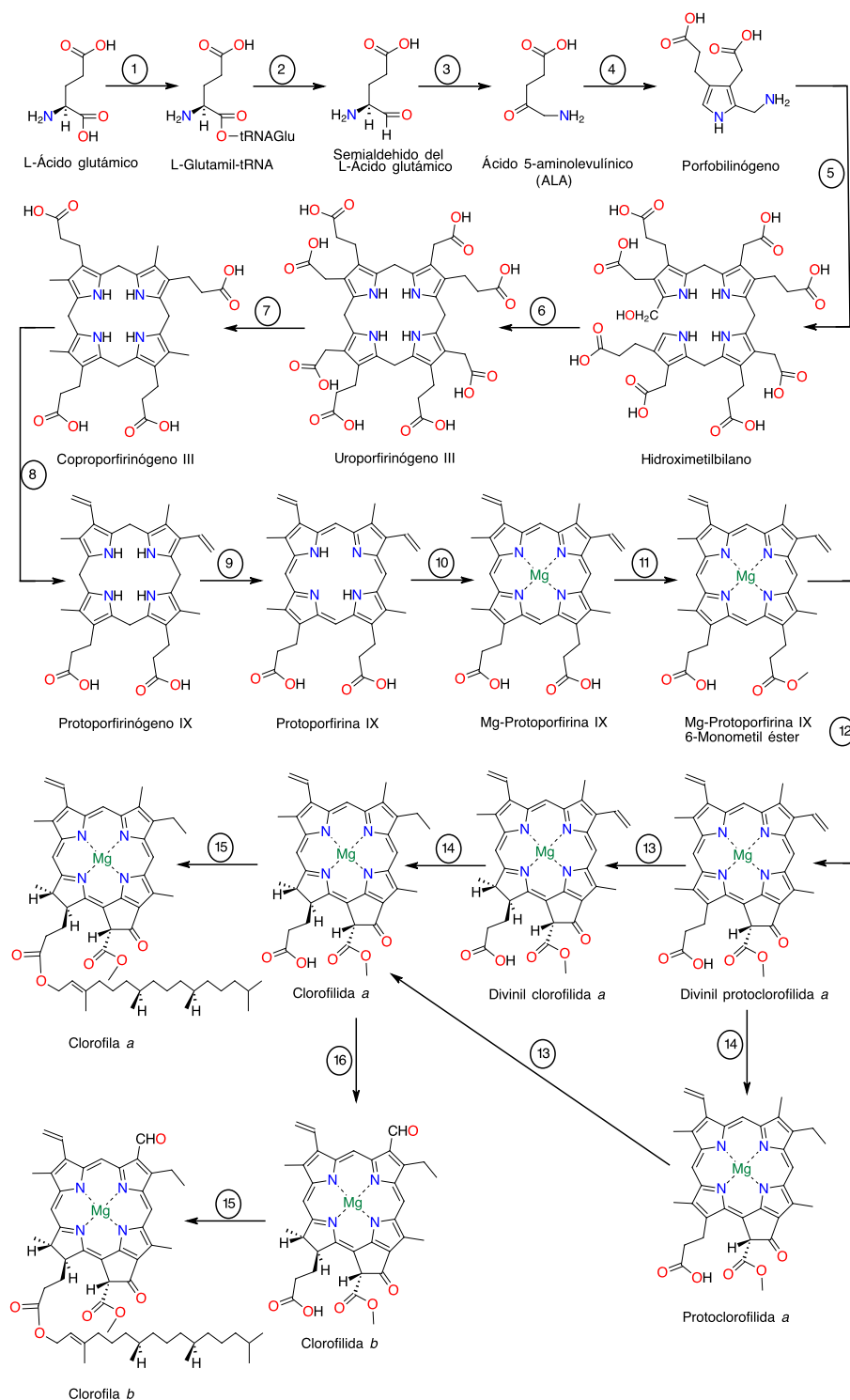


FUENTE: Adaptado de la referencia TANAKA, Ryouichi y TANAKA, Ayumi. Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the light-harvesting complexes. BBA- Bioenergetics. 2011, vol.1807 no.8., p.968-976.

2.1.4. Biosíntesis de la clorofila. La biosíntesis de clorofila (Chl) resulta de 17 reacciones enzimáticas, desarrolladas en etapas (Esquema 1). La primera es la síntesis del ácido 5-aminolevulínico (ALA), precursor de los tetrapirroles naturales; la segunda etapa es la formación de un anillo de pirrol porfobilinógeno (PBG) a través de una reacción entre dos moléculas de ALA. Posteriormente, cuatro de estos pirroles se condensan a un tetrapirrol cíclico resultando el uroporfirinógeno III. Una tercera etapa, es la síntesis de la protoporfirina IX que consiste en una descarboxilación y oxidación. Por último, la cuarta etapa, donde se inserta al centro del tetrapirrol, el magnesio para la síntesis de clorofila o el hierro para la producción del grupo hemo.²³⁻²⁵

Con la formación del Mg-protoporfirina IX de la última etapa, se construye el quinto anillo E (Figura 2) presente en todas las clorofilas, seguido de una reducción del grupo vinilo a un grupo etilo en una posición periférica del tetrapirrol (paso 14). Finalmente se condensa con un alcohol derivado del isopreno, conocido como fitol.²⁶

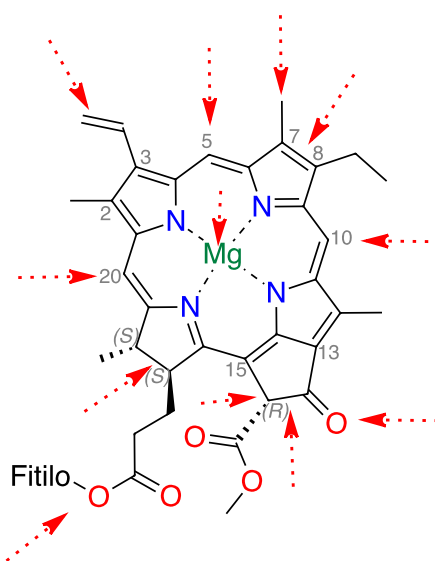
Esquema 1. Biosíntesis de la clorofila a.



FUENTE: Adaptado de la referencia BEALE, Samuel I. The Chlamydomonas Sourcebook (Second Edition): Chapter 20 - Biosynthesis of Chlorophylls and Hemes. London: Academic Press. 2009, p.731-798.

2.1.5. Derivados de clorofila. En la Figura 4 se presentan los diferentes centros reactivos que posee la clorofila y de los cuales se pueden acceder a nuevas estructuras químicas. Las posiciones *meso* son susceptibles a reacciones electrofílicas, siendo más reactiva la posición meso 20-C al encontrarse cerca al anillo de pirrol reducido. Por otra parte, el doble enlace entre el carbono 7-C y el carbono 8-C, es propenso a reacciones de oxidación y adición. Las cadenas laterales pueden someterse a reacciones de oxidación, reducción, adición, sustitución y eliminación. Los grupos éster 17(3)-C y 13(2)-C se pueden hidrolizar bajo condiciones alcalinas, ácidas o enzimáticas y transesterificarse. Igualmente, el anillo exocíclico E, exhibe una alta reactividad por la activación del hidrógeno en la posición 13(2)-C por estar cerca de dos grupos carbonilos, por lo que con facilidad se da una enolización. Finalmente, el sistema aromático extendido, permite coordinar cualquier metal con sus átomos de nitrógeno centrales.^{1,27,28}

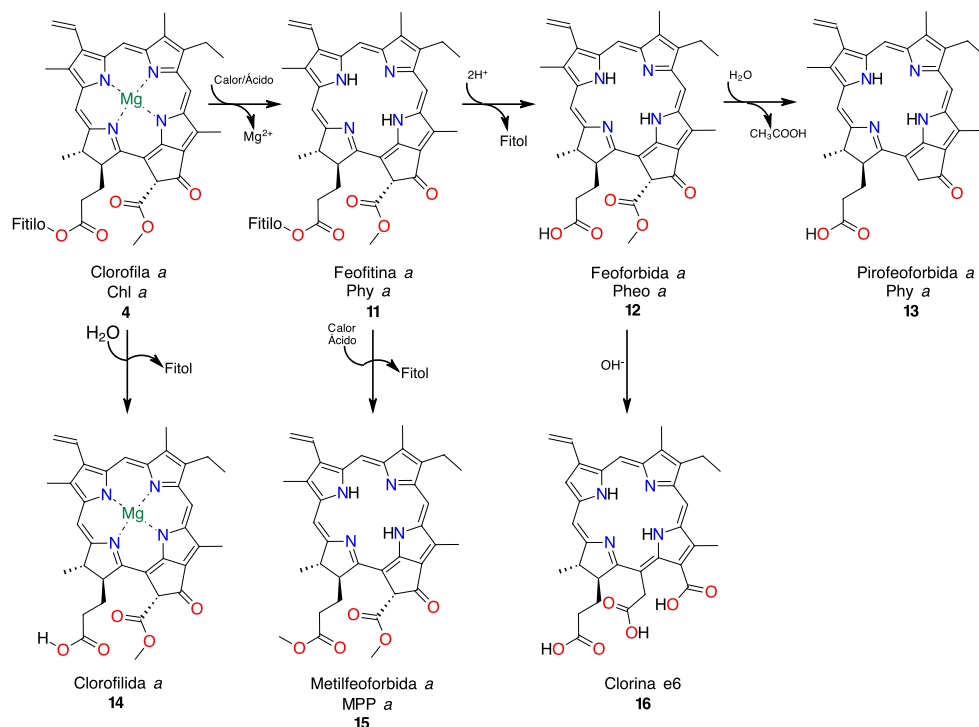
Figura 4. Centros reactivos de la clorofila *a*.



FUENTE: Adaptado de la referencia RYAN, Aoife y SENGE, Mathias. How green is green chemistry? Chlorophylls as a bioresource from biorefineries and their commercial potential in medicine and photovoltaics. Photochem. Photobiol. Sci. 2015, vol.14., p.638-660.

Los principales derivados de la clorofila se muestran en el Esquema 2, en condiciones ácidas la clorofila *a* produce dos derivados. El primero es la clorofilida *a*, producto de la hidrólisis que produce la pérdida de la cadena de fitol. El segundo derivado es la feofitina *a*, que se produce por la pérdida del ión Mg^{2+} ; a su vez, este compuesto por hidrólisis produce feoforbida *a* y productos de transesterificación como la metilfeoforbida *a*. Al utilizar este compuesto como material de partida, es posible modificar el anillo exocíclico según al medio que se someta, que puede ser: en medio ácido produce pirofeoforbida *a*, donde se hidroliza el enlace éster metílico del anillo y en medio básico se da la ruptura del mismo formando la clorina e_6 .²⁹⁻³¹

Esquema 2. Principales derivados de clorofila *a*.



FUENTE: Adaptado de la referencia BARRY, Cornelius S. The stay-green revolution: Recent progress in deciphering the mechanisms of chlorophyll degradation in higher plants. *Plant Science*. 2009, vol.176 no.3., p.325-333.

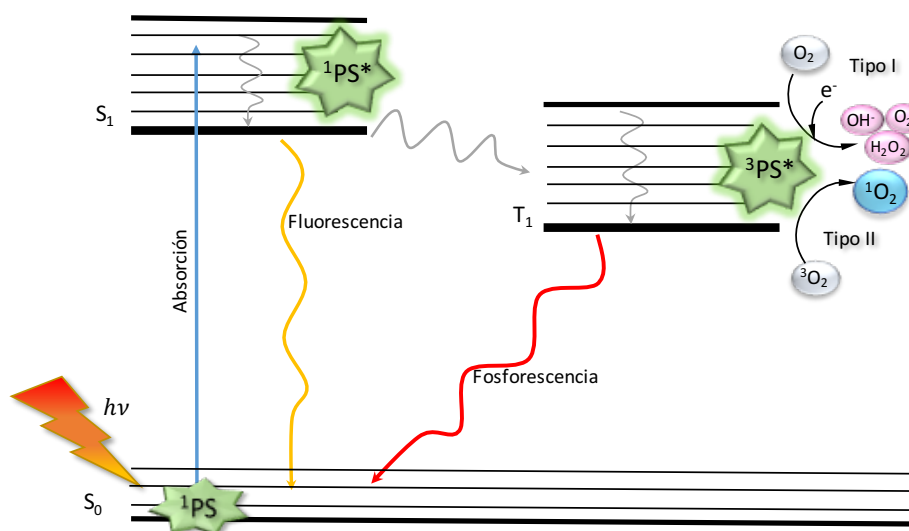
Los compuestos **13**, **15** y **16**, son más estables que la clorofila y por tanto son precursores idóneos para la síntesis de numerosos derivados, los cuales han sido probados en terapia fotodinámica para tratar tumores; también han sido utilizados como insecticidas, fungicidas⁵ y descontaminantes del agua¹³, colorantes textiles³². Los derivados de Cu-clorofilina se usan como colorantes en la industria cosmética¹⁶ y alimentaria.³³

2.1.6. Propiedades de los derivados de clorofila. Los derivados de clorofila, al ser moléculas altamente conjugadas presentan propiedades fotosensibilizadoras propias de moléculas aromáticas orgánicas que tienen un sistema deslocalizado de electrones π . La deslocalización de electrones π en estas moléculas requiere de una energía mínima para excitar los electrones del HOMO al LUMO respecto a las moléculas con electrones π menos deslocalizados y por tanto, las bandas de absorción se encuentran en la región espectral de longitud de onda más larga reflejando una alta probabilidad de excitación.³⁴ Los fotosensibilizadores (PS) son compuestos que al entrar en contacto con luz visible generan especies reactivas de oxígeno (EROS), como los radicales libres y oxígeno singlete (1O_2). Las EROS incluyen no sólo especies altamente reactivas como el radical hidroxilo HO^* y el oxígeno singlete 1O_2 , sino también especies de oxígeno parcialmente reducidos (H_2O_2 y HO_2^*).³⁵

En la Figura 5 se muestra el diagrama de Jablonski de un fotosensibilizador; el sensibilizador

al interactuar con luz visible produce especies reactivas de oxígeno singlete por medio de dos reacciones (tipo I y tipo II). Las reacciones de tipo I consisten en una transferencia de electrones del estado triplete del PS con moléculas orgánicas en el microambiente celular y formar iones radicales que al mismo tiempo reaccionan con oxígeno para producir especies citotóxicas como los aniones superóxido y los radicales hidroxilo (HO^*). Por otro lado, las reacciones de tipo II involucran una transferencia de energía desde el estado triplete del PS hasta el oxígeno molecular del estado fundamental para generar oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$).³⁶⁻³⁸

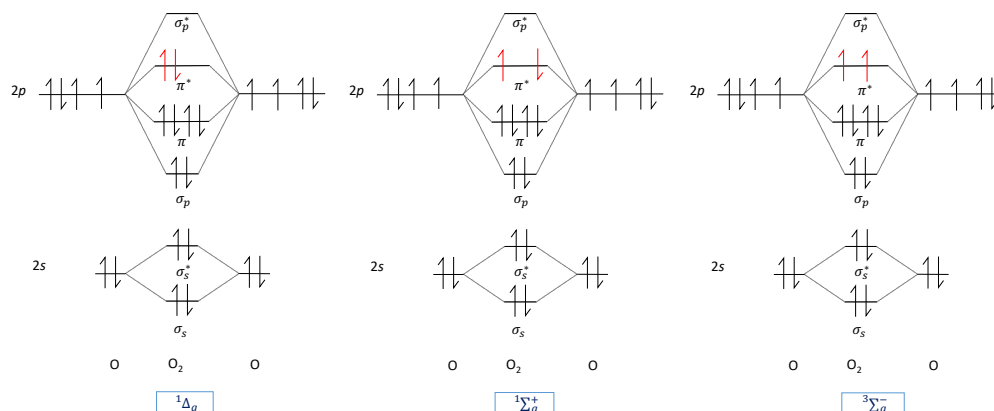
Figura 5. Diagrama de Jablonski con el mecanismo de acción de los fotosensibilizadores derivados de clorofila.



FUENTE: Adaptado de la referencia SU, Yujie; *et al.* Photodynamic antimicrobial activity of hypocrellin A. J. Photoch. Photobio. B. 2011, vol.103 no.1., p.29-34.

El oxígeno singlete es reactivo frente a los compuestos que contienen dobles enlaces y a los compuestos de coordinación, posee una corta vida y por tanto, regresa al estado de mínima energía. El oxígeno presenta estados electrónicos excitados de mayor energía y son denominados $^1\Delta_g$, $^1\Sigma_g^+$ (Figura 6); estas configuraciones tienen en el nivel (π^*) dos electrones apareados o con espines anti paralelos ($\uparrow\downarrow$). El oxígeno en estado fundamental tiene sus dos electrones más externos en el nivel (π^*) desapareados con espines paralelos ($\uparrow\uparrow$), por tanto, su carácter energético es de multiplicidad triplete conocido como $^3\Sigma_g^-$; este estado se caracteriza por no ser reactivo con la mayoría de moléculas.^{35,39} A nivel biológico la mayor fuente de producción de especies reactivas de oxígeno (EROS), como el oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) se genera en los cloroplastos, mitocondrias, peroxisomas y otros sitios de la célula vegetal, por procesos metabólicos como la fotosíntesis y la respiración.⁴⁰

Figura 6. Diagrama de orbitales moleculares para el n=2 del oxígeno en estado fundamental y los siguientes estados excitados.

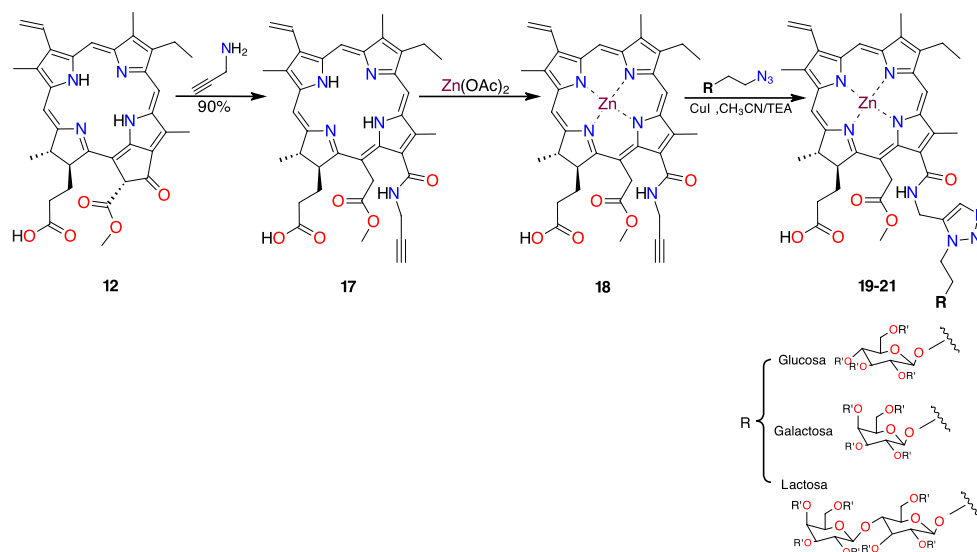


FUENTE: Adaptado de la referencia DEROSA, Maria C y CRUTCHLEY, Robert J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordin. Chem. Rev.* 2002, vol.233-234, p.351-371.

2.2. ANTECEDENTES

Mironov *et al.* diseñaron una metodología de síntesis (Esquema 3) para la obtención de porfirinas naturales derivadas de clorofila y bacterioclorofila *a*, con aplicación al diagnóstico y tratamiento de cáncer. El primer derivado fue una amida del clorina e₆ con un triple enlace terminal y un rendimiento del 90 %, producto de la reacción entre la feoforbida (**12**) y la propargilamina. El nuevo compuesto **17** se transformó en un complejo de zinc, posteriormente se realizó una condensación con azidas de glucosa, galactosa y lactosa. Los compuestos **19-21** resultantes presentaron rendimientos entre 80 a 84 %.⁴¹

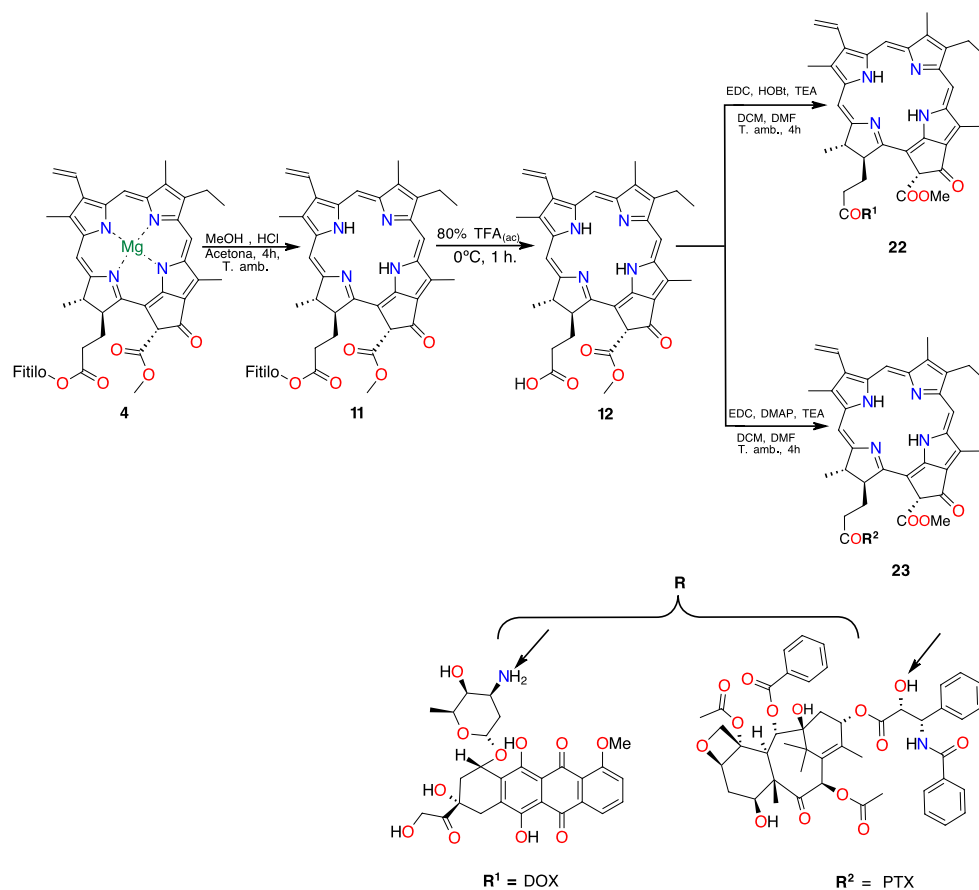
Esquema 3. Síntesis de derivados de feoforbida glicoconjugados.



FUENTE: Adaptado de la referencia MIRONOV, A. F. y GRIN, M.A. Synthesis of chlorin and bacteriochlorin conjugates for photodynamic and boron neutron capture therapy. J. Porphyr. Phthalocya. 2008, vol.12 no.11., p.1163-1172.

You *et al.* sintetizaron compuestos de feoforbida *a* con fármacos para el cáncer con resultados positivos para el uso de terapia selectiva y detección de fluorescencia contra el cáncer. Para ello, partieron de la clorofila (**4**) y en medio ácido eliminaron el ion Mg^{2+} obteniendo el compuesto **11** (rendimiento del 88 %); este último se hidrolizó por una reacción de TFA acuoso al 80 %, resultando la feoforbida (**12**) con rendimiento del 58 %. El compuesto **12** se conjugó directamente con el fármaco Doxorubicina (DOX, **22**) y Paclitaxel (PTX, **23**) del cual se obtienen rendimientos de 53 % y 54 % respectivamente, utilizando EDC (N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida) como reactivo de acoplamiento (Esquema 4).⁴²

Esquema 4. Síntesis derivados de clorofila a con fármacos.



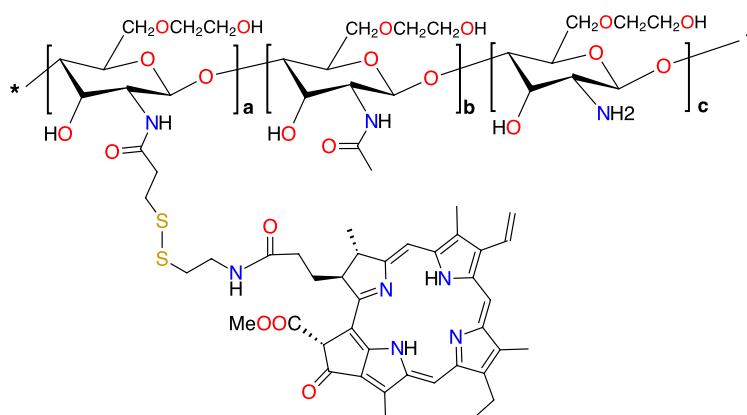
FUENTE: Adaptado de la referencia YOU, Hyun; *et al.* Synthesis of pheophorbide-a conjugates with anticancer drugs as potential cancer diagnostic and therapeutic agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2011, vol.19 no.18., p.5383-5391.

Erzinger *et al.* evaluaron el potencial de actividad larvicida de derivados de clorofila en larvas de mosquitos *Chaoborus sp.* aprovechando el proceso fotodinámico de las clorofilas. Los ensayos se realizaron teniendo en cuenta el tiempo de incubación y la exposición a la luz. Las larvas *Chaoborus sp.* que se incubaron por corto tiempo en ausencia de luz, presentaron mortalidad del 90 %, y las que se incubaron en periodo de tiempo más largo y en presencia de luz su mortalidad fue casi 100 %. La síntesis de estos derivados se centró en la sustitución del metal Mg²⁺ por Zn²⁺ o Cu²⁺; la clorofila se disolvió en 90 % de metanol con HCl y se adicionó ZnSO₄ o CuSO₄ a 30 °C durante 30 minutos. Finalmente, encontraron mayor toxicidad en derivados con complejos de cobre comparados con los de zinc.⁴³

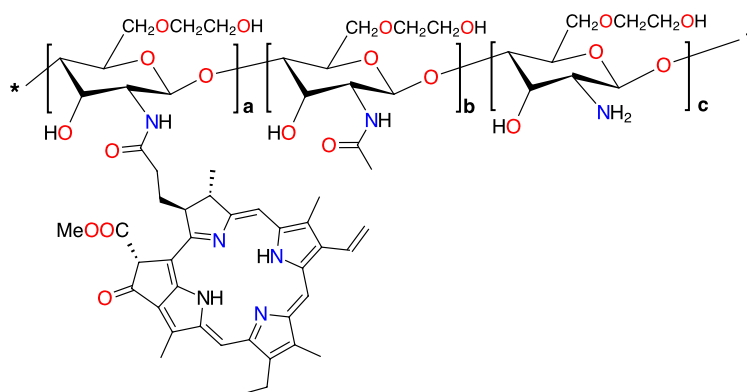
Oh *et al.* diseñaron dos nano-fotosensibilizadores selectivos para células de cáncer mediante la síntesis de feoforbida (12) conjugada con glicol quitosano (GC). La funcionalización se realizó mediante enlaces disulfuro reducibles (Pheoa-SS-GC) y enlaces de tipo amida, donde posteriormente fueron acoplados en condiciones ideales para crear nanopartículas con estructuras esféricas de (Pheoa-SS-CNP'S). La síntesis de cada conjugado de feoforbida-a consistió en dos etapas; la primera etapa la realizaron de igual manera para ambos conjuga-

dos de feoforbida-a, donde disolvieron **12** en dimetilsulfóxido (DMSO) con EDC en presencia de N-Hidroxisuccinimida por 12 horas (h). La segunda etapa fue un acoplamiento entre **12** y GC; a la mezcla de reacción le adicionaron diclorhidrato de cisteamina y la agitaron durante 12 h más, obteniendo como producto final un conjugado de feoforbida-a con enlaces bio-reducibles de disulfuro (PheoA-SS-GC, **24**). El conjugado de feoforbida-a (PheoA-GC, **25**) con enlace amida lo realizaron entre el grupo carboxilo de **12** y los grupos amino de GC donde mezclaron el producto de la primera etapa con GC en agitación constante por 48 h. Los resultados de eficacia terapéutica *in vivo* en los ratones portadores de tumores demostraron una disminución significativa en el volumen del tumor en terapia fotodinámica (PDT) con Pheoa-SS-CNP; en otras palabras, estos compuestos tienen un gran potencial en PDT para tratamiento de cáncer.⁴⁴

Figura 7. Estructuras químicas de feoforbidas-a conjugadas Pheoa-SS-GC y Pheoa-GC.



24: Pheoa-SS-GC conjugado



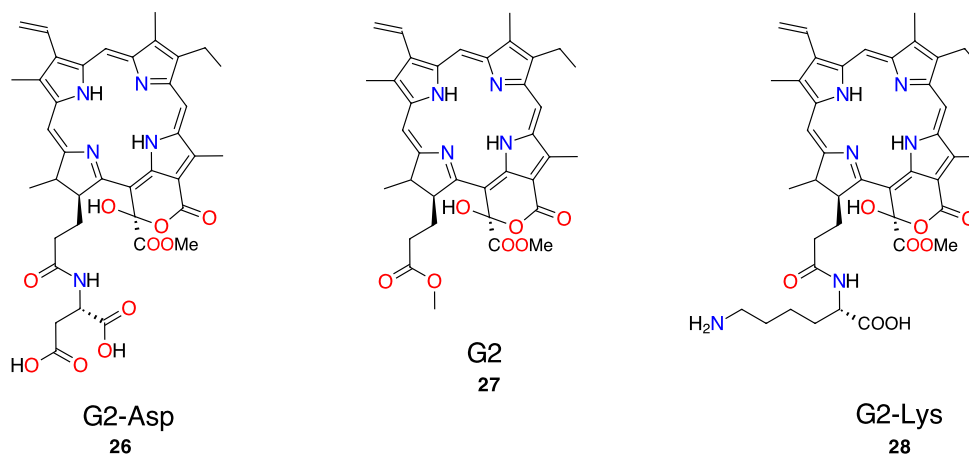
25: Pheoa-GC conjugado

FUENTE: Adaptado de la referencia OH, In-hyeok; *et al.* Cancer cell-specific photoactivity of pheophorbide a-glycol chitosan nanoparticles for photodynamic therapy in tumor-bearing mice. *Biomaterials*. 2013, vol.34 no.27., p.6454-6463.

Azizullah *et al.* reportaron que derivados de clorofila como feofitina y feoforbida han sido ampliamente estudiados y probados como fotosensibilizadores naturales contra las larvas de varios insectos, caracoles de agua dulce y ciertos parásitos de peces. Los fotosensibilizadores en contacto con luz originan especies reactivas de oxígeno, como oxígeno singlete (1O_2) que tiene la capacidad de eliminar las larvas de ciertos organismos en determinadas etapas del desarrollo. Los fotosensibilizadores derivados de clorofila son ecológicos y rentables para combatir vectores transmitidos por el agua. El compuesto clorofilida se obtiene eliminando el fitol en medio básico y la feoforbida por acidificación de la clorofilida. Los análisis mostraron que alrededor de 8 ng de feofitina por larva fueron suficiente para inducir el efecto fotodinámico, daño y la muerte de las larvas *Aedes aegypti*.⁷

Lim *et al.* mejoraron las propiedades fotodinámicas y biológicas del fotosensibilizador semi-sintético éster dimetilico 15¹-hidroxipurpurin-7-lactona (**27**:G2) y lo conjugaron con aminoácidos hidrófilos como el ácido aspártico y la lisina para el tratamiento de cáncer (Figura 8). Encontraron que los nuevos derivados se localizaban en orgánulos diferentes respecto al G2 efectuando un cambio en el mecanismos de toxicidad celular. Los compuestos **26** y **28** se caracterizaron por ser fotosensibilizadores de carácter hidrófilo, por lo cual se depositaron en los lisosomas. Por el contrario, el G2 al ser un fotosensibilizador lipofílico, se localizó en las mitocondrias y retículo endoplasmático, exhibiendo ventajas como eficacia en el desencadenamiento de la muerte celular después de la iluminación de la terapia fotodinámica. **26** presentó mayor eficacia antitumoral *in vivo* e *in vitro* respecto **27**; asimismo, mostró ventajas farmacéuticas gracias a la naturaleza hidrofílica.⁴⁵

Figura 8. Estructuras químicas de análogos del G2.

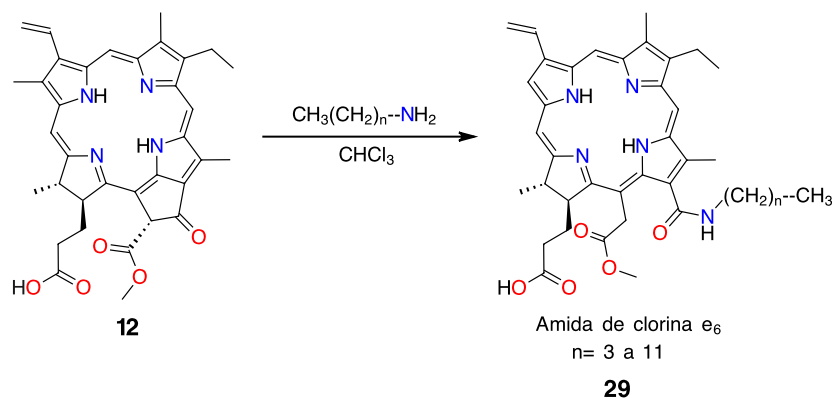


FUENTE: Adaptado de la referencia LIM, Siang Hui; *et al.* Photodynamic Characterization of Amino Acid Conjugated 15¹-Hydroxypurpurin-7-lactone for Cancer Treatment. *Mol. Pharmaceutics*. 2014, vol.11 no.9., p.3164-3173.

Gushchina *et al.* sintetizaron diversas amidas de clorina e_6 ; al derivado de feoforbida-a le añadieron una solución de aminas alifáticas primarias en cloroformo, la mezcla de reacción fue agitada durante dos horas bajo oscuridad en atmósfera inerte a una temperatura de 40 °C, una vez transcurrido el tiempo, adicionaron una solución de HCl (Esquema 5). Las

amidas de clorina e₆ presentaron porcentajes de rendimiento de 60-65 % con baja toxicidad en la oscuridad y alto efecto en la terapia fotodinámica.²

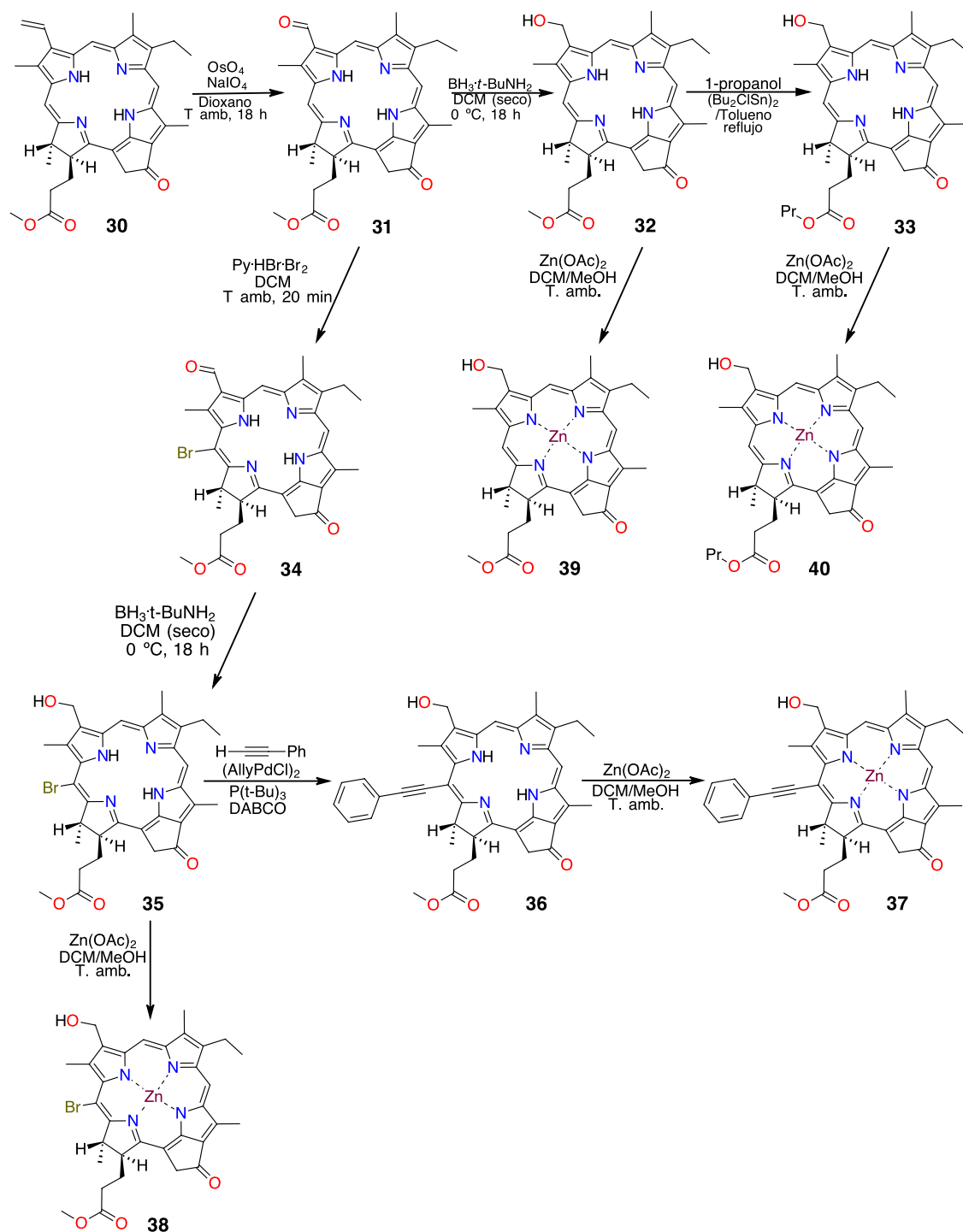
Esquema 5. Síntesis de amidas de clorina e₆.



FUENTE: Adaptado de la referencia GUSHCHINA Olga I; *et al.* Synthesis of amide derivatives of chlorin e₆ and investigation of their biological activity. J. Photoch. Photobio. B. 2015, vol.153., p.76-81.

Erten-Ela *et al.* sintetizaron una serie de clorinas de zinc con diferentes sustituyentes y les evaluaron sus rendimientos fotovoltaicos en celdas solares sensibilizadas con colorantes. Los compuestos **37** - **40** fueron preparados siguiendo la ruta sintética del Esquema 6. Inicialmente realizaron una modificación al grupo vinilo, el cual lo oxidaron a aldehído usando el catalizador de tetróxido de osmio OsO₄ con NaIO₄ en dioxano obteniendo así el compuesto **31**; posteriormente redujeron a un alcohol **32** por la acción del borano terc-butilamina BH₃.t-BuNH₂. Al compuesto **32** le adicionaron un exceso 1-propanol, en presencia de [(Bu₂ClSn)₂O] bajo tolueno a reflujo, resultando el derivado **33**. Nuevamente tomaron el precursor **31** y le realizaron una reacción de halogenación en una posición meso con perbromuro de bromhidrato de piridinio, formando el compuesto **34**, con un porcentaje de rendimiento del 77,2%. El compuesto **36** lo prepararon tomando al compuesto **35** como precursor y (AllylPdCl₂)₂, adicionaron CH₃CN (seco), tBu₃P, fenilacetileno y DABCO en atmósfera inerte de argón. La mezcla de reacción la agitaron durante 18 horas, presentando el producto un porcentaje de rendimiento del 18%. Finalmente realizaron la metalación de los compuestos **32**, **33**, **35** y **36**, con una solución saturada de acetato de zinc anhidro Zn(OAc)₂ en metanol, y cloruro de metileno a temperatura ambiente durante 3,5 horas, obteniendo los productos con porcentajes de rendimientos mayores al 80%.^{46,47}

Esquema 6. Síntesis de clorinas de zinc.



FUENTE: Adaptado de la referencia ERTEN-ELA, Sule; *et al.* Synthesis of zinc chlorophyll materials for dye-sensitized solar cell applications. Spectrochim. Acta A. 2015, vol.135, p.676-682.

Por último, determinaron los rendimientos fotovoltaicos, arrojando el siguiente orden: **38** >

37 > 39 > 40 (Tabla 1).

Tabla 1. Rendimiento fotovoltaico de las celdas solares sensibilizadas por las clorinas de Zinc.

Compuesto	V_{oc} (mV)	J_{sc} (mA/cm ²)	ff	η (%)
37	416	3.06	0.61	0.78
38	412	3.50	0.56	0.81
39	395	3.75	0.51	0.76
40	418	2.53	0.64	0.68

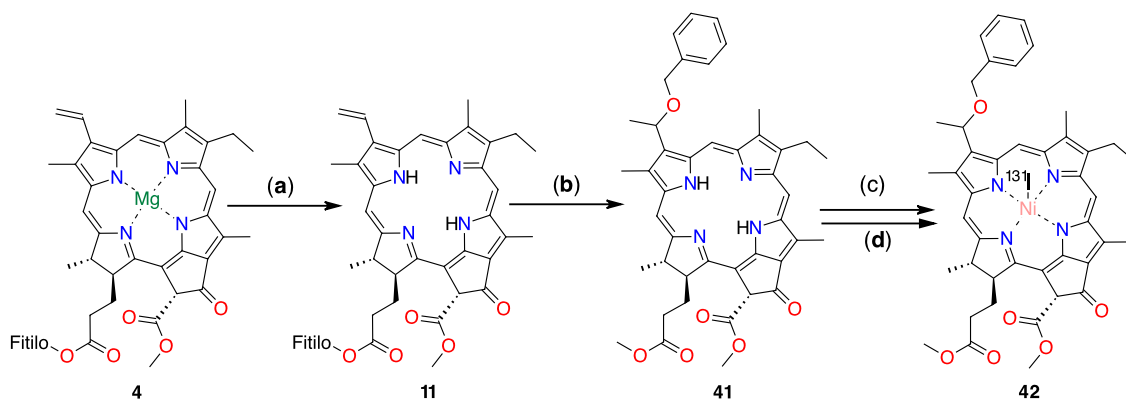
Fuente: Adaptado de la referencia ERTEN-ELA.

V_{oc} = Voltaje en circuito abierto, J_{sc} = Densidad de corriente en corto circuito, ff = Factor de relleno $\eta = V_{oc}J_{sc}ff$ se define como la eficiencia global de la celda bajo condiciones estándar.

El compuesto **38** presentó la mejor actividad con una J_{sc} de 3,5 mA/cm², V_{oc} de 412 mV, FF de 0,56 y una eficiencia de conversión global de 0,81 a pleno sol 1000 W/m².⁴⁶

Er *et al.* sintetizaron el 3-devinil-3-(1-(benciloxi)etil) feoforbida-a de níquel (Ni-Pheo-a) derivado de clorofila, lo marcaron con ¹³¹I y evaluaron su potencial biológico como agente multimodal para terapia fotodinámica y la formación de imágenes tumorales. La síntesis del derivado de clorofila-a la desarrollaron siguiendo el Esquema 7. La clorofila-a la transformaron en feoforbida-a y le adicionaron un exceso de alcohol bencílico, seguido de una solución saturada de acetato de níquel en metanol y la mezclaron con una solución de THF, a la mezcla de reacción la agitaron durante una noche a temperatura ambiente, la reacción terminó con la adición de agua y éter dietílico. El Ni-Pheo-a radiomarcado presentó máxima absorción en el ovario de ratas a los 30 minutos. Igualmente, en el hígado y pulmón la captación fue estable con el tiempo. La absorción intercelular y la eficacia de PDT de Ni-Pheo-a fueron mejores en MDAH-2774 (adenocarcinoma endometrioideo ovárico humano) que en células MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano).⁴⁸

Esquema 7. Síntesis del complejo ester metálico 3-devinil-3-(1-(benciloxi)etil) feoforbida-a de níquel.

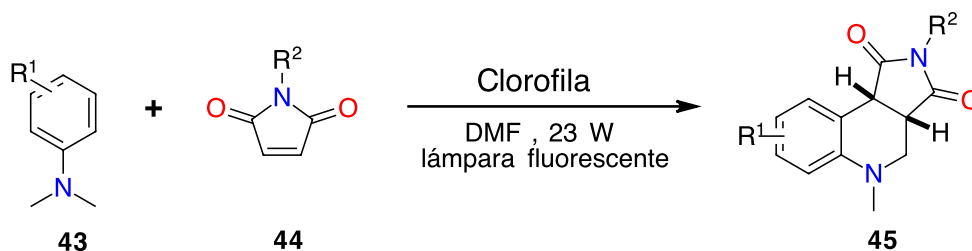


a) 20% H₂SO₄, MeOH, T amb, 12 h. **b)** 30% HBr en AcOH, T amb, 12 h, BnOH, CH₂Cl₂, K₂CO₃, Atm. inert, 45 min. **c)** Ni(OAc)₂, MeOH, THF, T amb, 18 h. **d)** EtOH, Na¹³¹I (ac), T. amb, 30 min.

FUENTE: Adaptado de la referencia ER, Ozge; *et al.* Primary evaluation of a nickel-chlorophyll derivative as a multimodality agent for tumor imaging and photodynamic therapy. J. Radioanal. Nucl. Ch. 2015, vol.306 no.1., p.155-163.

Guo *et al.* realizaron un estudio de la clorofila como fotosensibilizador verde en la catálisis fotoredox de luz visible para la síntesis de tetrahydroquinolinas, a partir de derivados de *N,N*-dimetilanilinas y maleimidias. En la síntesis variaron las concentraciones de clorofila y condiciones ambientales, para obtener productos con altos rendimientos. Finalmente encontraron que para síntesis de tetrahydroquinolinas era necesaria la presencia de clorofila, luz visible y oxígeno. La nueva ruta sintética (Esquema 8) es una síntesis verde, fácil y eficiente para la preparación de tetrahydroquinolinas con rendimientos altos (61-98%); tomaron 0,50 mmol de *N,N*-dimetilanilina, 0,25 mmol de maleimida y 2,0 mL de DMF, esta mezcla la agitaron bajo irradiación de una lámpara fluorescente de 23 W.⁴

Esquema 8. Síntesis de tetrahydroquinolinas mediante catálisis fotoredox.



FUENTE: Adaptado de la referencia GUO, Jun-Tao; *et al.* Chlorophyll-Catalyzed Visible-Light-Mediated Synthesis of Tetrahydroquinolines from *N,N*-Dimethylanilines and Maleimides. J. Org. Chem. 2017, vol.82 no.4., p.1888-1894.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

• Equipos

✓ **RMN:** Equipo Bruker Avance 400MHz ^1H RMN y 100 MHz ^{13}C RMN con patrón interno el tetrametilsilano TMS y como disolvente se empleó cloroformo deuterado CDCl_3 de Merck. Se reporta la multiplicidad de las señales: Singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuartete (q), doblete de dobletes (dd), doblete de dobletes de dobletes (ddd), doble de doblete de dobletes (dddd), triplete de dobletes (td), triplete de tripletes (tt) y multiplete (m); la constante de acoplamiento (J) y los desplazamientos químico (δ), se expresan en Hz y ppm respectivamente.

✓ **Masas ESI:** Espectrómetro de masas Bruker Daltonis (Amazon X) con nebulización por electrospray (ESI) y analizador de trampa iónica (IT). Los espectros de masas se adquirieron mediante inyección directa, Full Scan, modo positivo a 300 °C de temperatura, 5000 V en el capilar, nitrógeno como gas nebulizador con flujo 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ y presión 12 psi. Los compuestos fueron solubilizados en MeOH.

✓ **Infrarrojo FTIR:** Espectrómetro Bruker (Tensor 27 y celda ATR Platinum) con Transformada de Fourier. Se reporta señales: estiramiento (ν), tensión (δ) y flexión (γ), e intensidades relativas: muy débil (vw, 0-20 %), débil (w, 21-40 %), media (m, 41-60 %), fuerte (s, 61-80 %) y muy fuerte (vs, 81-100 %).

✓ **UV-Vis:** Espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis de doble haz, lámpara flash de Xenón, detector de fotodiodos duales de silicio, celda de cuarzo con paso óptico de 1 cm. Los compuestos fueron solubilizados en CH_2Cl_2 .

✓ **Cromatografía HPLC (Analítico):** Equipo Agilent serie 1100 con columnas (Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 y Agilent Zorbax Eclipse XDB-C8) 150x4,6 mm, 5,0 μm y detector de arreglo de fotodiodos (DAD).

✓ **Cromatografía HPLC (Preparativo):** Equipo Knauer serie 1100 con columna (Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 PrepHT) 250x21,2 mm, 7,0 μm , fase móvil: 100 % metanol, flujo 21,4 mL/min, 25,0 °C, detector UV 430 nm.

• Reactivos y Materiales

Todos los reactivos de partida fueron de la marca Merck, Aldrich, grado síntesis. Los solventes diclorometano, heptano, acetato de etilo y metanol utilizados como medio de reacción y en purificaciones cromatográficas de marca J.T. Baker fueron destilados previamente a su uso.

El control de cada una de las reacciones se realizó mediante cromatografía de capa fina (CCF) con placas cromatográficas de sílica gel Sorbetch con tamaño de partícula 200 μm .

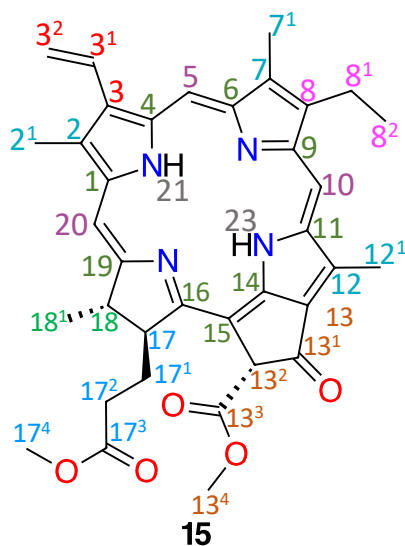
3.1. EXTRACCIÓN DE CLOROFILA

La clorofila fue extraída de hojas de espinaca *Spinacia oleracea L*, compradas en un mercado local. Las hojas de espinacas frescas se lavaron con abundante agua para eliminar cualquier resto de tierra y/o organismos no deseados. Las hojas fueron trituradas y la biomasa se congeló para su posterior liofilización. Por medio de una extracción sólido-líquido se pesó 28,4332 g de biomasa de espinaca y se depositó en tres dedales de celulosa, estos dedales se situaron en serie dentro de la cámara del extractor Soxhlet, en un balón de 1000 mL, se adicionó 600 mL de CH_2Cl_2 y se calentó a reflujo durante 8 h. El extracto final se concentró en un rotoevaporador y se obtuvo 1,9983 g de extracto y 26,3477 g de biomasa final. Se purificó por cromatografía de columna empleando como eluyente mezclas de heptano:diclorometano con un aumento gradual del gradiente de la polaridad (100:0 hasta 20:80). La clorofila obtenida fue protegida de la luz y almacenada a bajas temperaturas para su posterior uso en la obtención de metilfeoforbida.

3.2. SÍNTESIS DE METILFEOFORBIDA **a**

En un balón de Schlenk de 250 mL se disolvió 545,6 mg de feofitina (0,626 mmol) en una solución al 5 % de ácido sulfúrico en metanol (40 mL). El reactor se selló con un septum y se purgó con argón; el crudo de reacción se mantuvo con agitación constante a temperatura ambiente durante la noche (entre 12-14h). Transcurrido este tiempo, se adicionó 50 mL de CH_2Cl_2 y la fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 . Se secó sobre MgSO_4 , se filtró con papel franja negra y se concentró por rotoevaporación. Se obtuvo 310,7 mg (0,512 mmol; rendimiento 81,8 % **15**), como un sólido de color verde olivo.

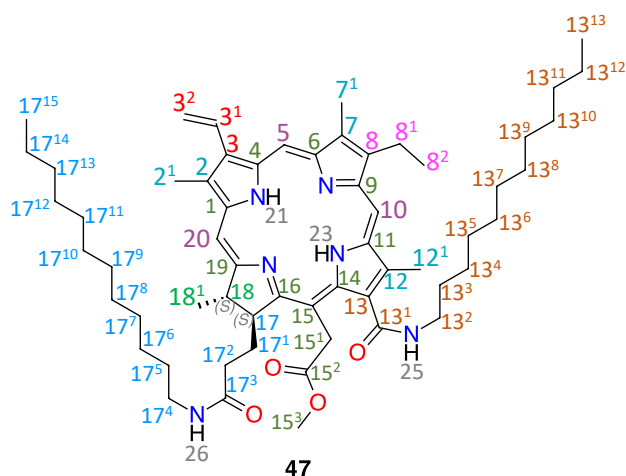
Figura 9. Metilfeofobida-a.



Metilfeofobida-a (**15**): **HPLC** tR 7,97 min (Columna Zorbax XDB-C18 150x 4,6 mm, 5,0 μm , fase móvil: 90 % acetonitrilo, 10 % agua, flujo 1,0 mL/min, 25,0 $^{\circ}\text{C}$, detector UV 254 nm). **^1H RMN [CDCl_3 con 1,0 % TMS, 400 MHz, δ (ppm)]**= 9,51 (s, 1H, 10-H); 9,36 (s, 1H, 5-H); 8,56 (s, 1H, 20-H); 7,98 (dd, 1H, $J = 17,80$ Hz, 11,58 Hz, 3(1)-H); 6,28 (dd, 1H, $J = 1,21$ Hz, 3(2)-H (trans)); 6,26 (s, 1H, 13(2)-H); 6,18 (dd, 1H, $J = 11,33$ Hz, 1,42 Hz, 3(2)-H (cis)); 4,46 (q, 1H, $J = 7,33$ Hz, 18-H); 4,21-4,19 (m, 1H, 17-H); 3,88 (s, 3H, 13(4)-H); 3,72 - 3,65 (m, 2H, (8(1)-H)); 3,69 (s, 3H, 17(4)-H); 3,57 (s, 3H, 12(1)-H); 3,40 (s, 3H, 2(1)-H); 3,22 (s, 3H, 7(1)-H); 2,68 - 2,60 (m, 1H, 17(1-a)-H); 2,55 - 2,48 (m, 1H, 17(2-a)-H); 2,35 - 2,29 (m, 1H, 17(1-b)-H); 2,26 - 2,20 (m, 1H, 17(2-b)-H); 1,81 (d, 3H, $J = 7,24$ Hz, 18(1)-H); 1,69 (t, 3H, $J = 7,54$ Hz, 8(2)-H); -1,64 (s, 2H, NH). **^{13}C RMN [CDCl_3 , 100 MHz, δ (ppm)]**= 189,65 (13(1)-C); 173,37 (17(3)-C); 172,20 (19-C); 169,59 (13(3)-C); 166,18 (16-C); 155,67 (6-C); 150,98 (9-C); 145,24 (14-C); 142,10 (8-C); 137,92 (1-C); 136,52 (11-C); 136,18 (3-C); 136,18 ((4, 7)-C); 131,87 (2-C); 129,06 ((12, 3(1))-C); 128,92 (13-C); 122,82 (3(2)-C); 128,47 (11-C); 105,15 (15-C); 104,45 (10-C); 97,54 (5-C); 93,13 (20-C); 64,70 (13(2)-C); 52,87 (17-C); 51,68 (18-C); 51,07 (13(4)-C); 50,08 (17(4)-C); 31,01 (17(2)-C); 29,84 (17(1)-C); 23,08 (18(1)-C); 19,45 (8(1)-C); 17,43 (8(2)-C); 12,11 ((12(1), 2(1))-C); 11,24 (7(1)-C). **MS [IE^+ , m/z]**= 607,25 ($\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_5$, $[\text{M}+\text{H}]^+$). **FTIR [ATR, $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1})]**= 3393 (δ N-H); 2961 (ν C-H); 1731 (ν 17(3)C=O, 13(2)C=O); 1967 (ν 13(1)C=O); 1620 (ν C=C, C-N); 1558 (γ N-H); 1259 - 1019 (ν 17(3)C-O, 13(2)C-O). **UV-vis [CH_2Cl_2 , λ_{max} (nm)]**= 413 ; 667

3H, 12(1)-H); 3,46 (s, 3H, 2(1)-H); 3,28 (s, 3H, 7(1)-H); 2,57 - 2,49 (m, 1H, 17(2-a)-H); 2,22 - 2,09 (m, 2H, (17(1-a), 17(2-b))-H); 1,79 - 1,67 (m, 9H, (17(1-b), 13(3), 18(1), 8(2))-H); 1,51 - 1,44 (m, 2H, 13(4)-H); 1,39 - 1,36 (m, 4H, (13(5), 13(6))-H); 0,93 (t, 3H, $J = 7,00$ Hz, 13(7)-H); -1,64 (s, 1H, 21-NH); -1,86 (s, 1H, 23-NH). ^{13}C RMN [CDCl_3 , 100 MHz, δ (ppm)]= 174,24 (15(2)-C); 173,58 (17(3)-C); 169,45 (13(1)-C); 168,77 (19-C); 166,67 (16-C); 154,18 (6-C); 149,11 (9-C); 144,74 (8-C); 138,86 (1-C); 136,12 (7-C); 135,00 (14-C); 134,84 (4-C); 134,78 (13-C); 134,52 (3-C); 130,15 (2-C); 129,96 (12-C); 129,48 (3(1)-C); 128,46 (11-C); 121,61 (3(2)-C); 102,15 (15-C); 101,37 (10-C); 98,86 (5-C); 93,69 (20-C); 53,12 (17-C); 52,15 (15(3)-C); 51,64 (17(4)-C); 49,27 (18-C); 40,74 (13(2)-C); 37,80 (15(1)-C); 31,60 (13(5)-C); 31,15 (17(2)-C); 29,69 (17(1)-C); 29,56 (13(3)-C); 26,90 (13(4)-C); 23,07 (18(1)-C); 22,67 (13(6)-C); 19,70 (8(1)-C); 17,75 (8(2)-C); 14,11 (13(7)-C); 12,18 (2(1)-C); 11,93 (12(1)-C); 11,36 (7(1)-C). MS [IE^+ , m/z]= 708,5 ($\text{C}_{42}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_5$, $[\text{M}+\text{H}]^+$). FTIR [ATR, $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1})]= 3310 (δ N-H); 2958 (ν C-H); 1731 (ν 17(3)C=O, 15(2)C=O); 1628 (ν 13(1)C=O); 1600 (ν C=C, C-N); 1558 (γ N-H); 1259 - 1019 (ν 17(3)C-O, 15(2)C-O). UV-vis [CH_2Cl_2 , λ_{max} (nm)]= 401 ; 664

Figura 11. 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

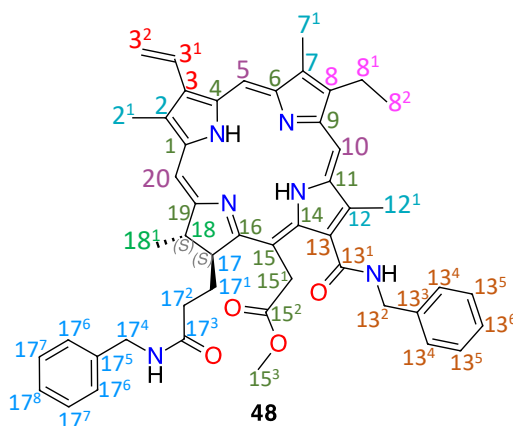


Compuesto preparado según la metodología general a partir de 345,7 mg de metilfeoforbida (0,5698 mmol), 93,95 mg NaI (0,6268 mmol), y dodecilamina (740 mg en 2 mL de THF). Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 33,7 mg (0,0357 mmol; rendimiento 6,3%).

13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (**47**): HPLC tR 13,12 min (Columna Zorbax XDB-C8 150x 4,6 mm, 5,0 μm , fase móvil: 100 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 $^\circ\text{C}$, detector UV 400 nm). ^1H RMN [CDCl_3 con 1,0 % TMS, 400 MHz, δ (ppm)]= 9,68 (s, 1H, 10-H); 9,63 (s, 1H, 5-H); 8,79 (s, 1H, 20-H); 8,08 (dd, 1H, $J = 17,88$ Hz, 11,58 Hz, 3(1)-H); 6,52 (t, 1H, $J = 5,50$ Hz, 25-NH); 6,35 (dd, 1H, $J = 17,85$ Hz, 1,13 Hz, 3(2)-H (trans)); 6,14 (dd, 1H, $J = 11,52$ Hz, 1,12 Hz, 3(2)-H (cis)); 5,40 (s, 2H, 15(1)-H); 4,65 (t, 1H, $J = 4,55$ Hz, 26-NH); 4,49 - 4,44 (m, 2H, (18,17)-H); 3,82 - 3,78 (m, 2H, 8(1)-H); 3,77 (s, 3H, 15(3)-H); 3,76 - 3,67 (m, 2H, 13(2)-H); 3,54 (s, 3H, 12(1)-H); 3,48 (s, 3H, 2(1)-H); 3,31 (s, 3H, 7(1)-H); 2,77 - 2,69 (m, 1H, 17(4-a)-H); 2,64 - 2,55 (m, 1H, 17(4-b)-H); 2,36 - 2,27 (m, 1H, 17(2-a)-H); 2,10 - 2,01

(m, 1H, 17(2-b)-H); 1,81-1,75 (m, 3H, (17(1-a), 13(3))-H); 1,73 -1,69 (m, 6H, (18(1), 8(2))-H); 1,53 -0,95 (m, 33H, (17(1-b), 17(5-12), 13(4-11))H); 0,90 -0,82 (m, 12H, (17(13-15), 13(12-13))-H); -1,61 (s, 1H, 21-NH); -1,81 (s, 1H, 23-NH). ^{13}C RMN [CDCl_3 , 100 MHz, δ (ppm)]= 174,52 (15(2)-C); 172,19 (17(3)-C); 169,51 (13(1)-C); 169,36 (19-C); 166,04 (16-C); 154,23 (6-C); 148,94 (9-C); 144,78 (8-C); 138,90 (1-C); 136,06 (7-C); 134,87 ((14, 4)-C); 134,81 (13-C); 134,57 (3-C); 130,29 (2-C); 129,77 (12-C); 129,40 (3(1)-C); 128,32 (11-C); 121,71 (13(2)-C); 102,38 (15-C); 101,43 (10-C); 98,73 (5-C); 93,36 (20-C); 52,98 (17-C); 52,17 (15(3)-C); 49,52 (18-C); 40,73 (13(2)-C); 39,12 (17(4)-C); 37,95 (15(1)-C); 32,22 (13(3)-C); 31,93 y 31,85 ((13(11), 17(13))-C); 30,95 (17(2)-C); 29,68-29,02 (17(1), 17(5-11), 13(3-9))-C); 27,24 y 26,59 ((13(10), 17(12))-C); 23,36 (18(1)-C); 22,69 y 22,64 ((13(12), 17(14))-C); 19,67 (8(1)-C); 17,74 (8(2)-C); 14,13 y 14,09 (13(13), 17(15)-C); 12,18 (2(1)-C); 11,95 (12(1)-C); 11,33 (7(1)-C). MS [IE⁺, m/z]= 945,75 (C₅₉H₈₈N₆O₄, [M+H]⁺). FTIR [ATR, $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹)]= 3300 (δ N-H); 2921 (ν C-H); 1740 (ν 15(2)C=O); 1631 (ν 17(3)C=O, 13(1)C=O); 1601 (ν C=C, C-N); 1552 (γ N-H); 1260 - 1023 (ν 15(2)C-O). UV-vis [CH_2Cl_2 , λ_{max} (nm)]= 401 ; 664

Figura 12. 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



Compuesto preparado según la metodología general a partir de 318,4 mg de metilfeoforbida (0,5248 mmol), 86,54 mg NaI (0,5773 mmol), y bencilamina (0,436 mL en 2 mL de THF). Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 35,43 mg (0,0449 mmol; rendimiento 8,6 %).

13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (**48**): HPLC tR 3,11 min (Columna Zorbax XDB-C18 150x 4,6 mm, 5,0 μm , fase móvil: 90 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 °C, detector UV 400 nm). ^1H RMN [CDCl_3 con 1,0 % TMS, 400 MHz, δ (ppm)]= 9,60 (s, 1H, 10-H); 9,57 (s, 1H, 5-H); 8,75 (s, 1H, 20-H); 8,02 (dd, 1H, $J = 17,85$ Hz, 11,54 Hz, 3(1)-H); 7,50-7,48 (m, 2H, (13(4)-H) ; 7,40-7,36 (m, 2H, (13(5)-H) ; 7,33-7,28 (m, 1H, 13(6)-H) 7,00 -6,98 (m, 3H, (17(7), 17(8))-H) ; 6,84 (t, 1H, $J = 5,71$ Hz, 26-H)); 6,74-6,72 (m, 2H, 17(6)-H); 6,30 (dd, 1H, $J = 17,84$ Hz, 1,39 Hz, 3(2)-H (trans)); 6,09 (dd, 1H, $J = 11,52$ Hz, 1,34 Hz, 3(2)-H (cis)); 5,41-5,27 (m, 2H, 15(1)-H); 5,13 (t, 1H, $J = 5,54$ Hz, 25-H); 4,87-4,77 (m, 2H, (17(4))); 4,46-4,37 (m, 2H, (18, 17)-H); 3,88-3,68 (m, 4H, (8(1), 13(2))-H) 3,52 (s, 3H, 15(3)-H); 3,44 (s, 6H, (12(1), 2(1))-H); 3,25 (s, 3H, 7(1)-H); 2,31-2,22 (m, 1H, 17(2-a)-H) ; 2,05-1,93

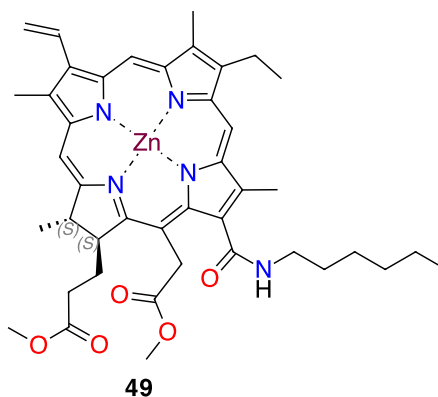
(m, 3H, 17(1-b), 17(1a), 17(2-b)-H); 1,84-1,74 (m, 1H, 13(3))-H); 1,68-1,66 (m, 6H, (18(1), 8(2))-H); 1,14 -1,08 (m, 1H, 17(5)-H); -1,61 (s, 1H, 21-NH); -1,80 (s, 1H, 23-NH). **¹³C RMN [CDCl₃, 100 MHz, δ (ppm)]**= 174,38 (15(2)-C); 172,14 (17(3)-C); 169,51 (13(1)-C); 169,15 (19-C); 165,98 (16-C); 154,29 (6-C); 148,87 (9-C); 144,78 (8-C); 138,94 (1-C); 137,83 (13(3), 17(5))-C); 136,00 (7-C); 134,93 (14-C); 134,88 (4-C); 134,83 (13-C); 134,57 (3-C); 130,25 (2-C); 129,64 (12-C); 129,32 (3(1)-C); 128,84 ((17(7), 17(9); 13(5),13(7))-C)); 128,55 (11-C); 128,26 ((17(8),13(6))-C); 127,39 ((17(6), 17(10), 13(4),13(8))-C); 121,70 (3(2)-C); 102,39 (15-C); 101,45 (10-C); 98,69 (5-C); 93,35 (20-C); 52,96 (17-C); 52,09 (15(3)-C); 49,49 (18-C); 44,71 ((17(4),13(2))-C); 38,04 (15(1)-C); 32,11 (17(2)-C); 30,95 (17(1)-C); 23,31 (18(1)-C); 19,59 (8(1)-C); 17,69 (8(2)-C); 12,13 (2(1)-C); 11,92 (12(1)-C); 11,28 (7(1)-C). **MS [IE⁺, m/z]**= 789,5 (C₄₉H₅₂N₆O₄, [M+H]⁺). **FTIR [ATR, ν_{max} (cm⁻¹)]**= 3333 (δ N-H); 2961 (ν C-H); 1741 (ν 15(2)C=O); 1645 (ν 17(3)C=O, 13(1)C=O); 1598 (ν C=C, C-N); 1550 (γ N-H); 1259 - 1016 (ν 15(2)C-O); 702 - 666 (γ =C-H) Ar. monosustitución. **UV-vis [CH₂Cl₂, λ_{max} (nm)]**= 401 ; 664.

3.3.2. Preparación de complejos metálicos

Metodología general

La síntesis de complejos metálicos se realizó a partir de los compuestos **46-48** preparados previamente. En un balón de 100 mL se adicionó uno de los compuestos **46-48** disuelto en diclorometano y una solución saturada de acetato hidratado zinc o cobre en 1 mL de metanol. Se selló el reactor con un septum y se purgó con argón, la reacción se dejó en agitación constante durante 3 h. Pasado el tiempo de reacción, se adicionó una solución acuosa de bicarbonato de sodio y se dejó en agitación constante durante 10 min. El producto se extrajo con CH₂Cl₂ (3x10 mL), la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y purificó por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC preparativo, columna C18), usando como eluyente metanol.

Figura 13. Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.

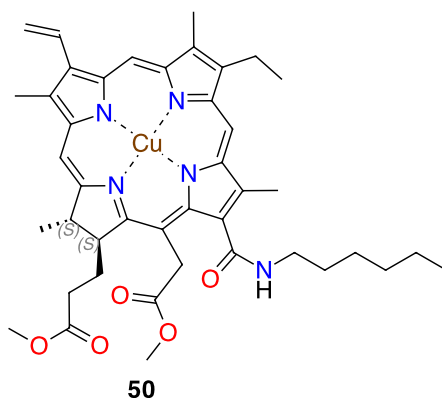


A partir de 2,4 mg de **46** (0,0034 mmol), en 5 mL de CH₂Cl₂ y una solución saturada de acetato de zinc en 1 mL de metanol. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y

se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 2,1 mg (0,002 72 mmol; rendimiento 80,77%).

Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 (**49**): **HPLC** tR 4,77 min (Columna Zorbax XDB-C18 150x 4,6 mm, 5,0 μ m, fase móvil: 90 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 °C, detector UV 254 nm). **MS** [**IE**⁺, **m/z**]= 770,38 (ZnC₄₂H₅₁N₅O₅, [M+H]⁺). **FTIR** [**ATR**, $\bar{\nu}_{max}$ (**cm**⁻¹)] = 2959 (ν C-H); 1726 (ν 17(3)C=O, 15(2)C=O); 1608 (ν 13(1)C=O); 1545 (ν C=C, C-N); 1259 - 1019 (ν 17(3)C-O, 15(2)C-O). **UV-vis** [**CH**₂**Cl**₂, λ_{max} (**nm**)] = 410 ; 637.

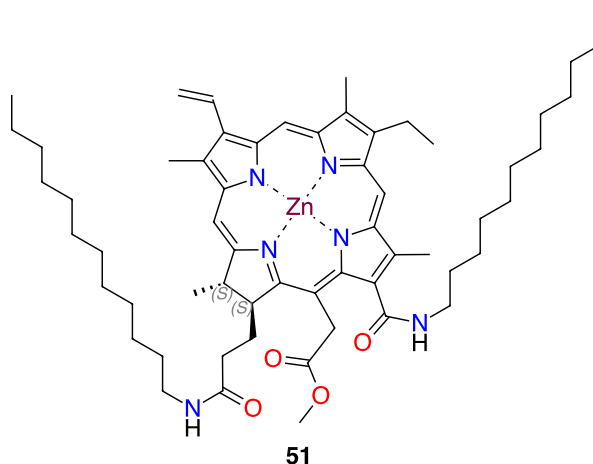
Figura 14. Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6



A partir de 2,4 mg de **46** (0,0034 mmol) en 5 mL de CH₂Cl₂ y una solución saturada de acetato de cobre en 1 mL de metanol. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 2,2 mg (0,002 86 mmol; rendimiento 84,29%).

Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 (**50**): **HPLC** tR 8,24 min (Columna Zorbax XDB-C18 150x 4,6 mm, 5,0 μ m, fase móvil: 90 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 °C, detector UV 254 nm). **MS** [**IE**⁺, **m/z**]= 769,38 (CuC₄₂H₅₁N₅O₅, [M+H]⁺). **FTIR** [**ATR**, $\bar{\nu}_{max}$ (**cm**⁻¹)] = 2915 (ν C-H); 1734 (ν 17(3)C=O, 15(2)C=O); 1633 (ν 13(1)C=O); 1558 (ν C=C, C-N); 1338 - 1196 (ν 17(3)C-O, 15(2)C-O). **UV-vis** [**CH**₂**Cl**₂, λ_{max} (**nm**)] = 410 ; 634.

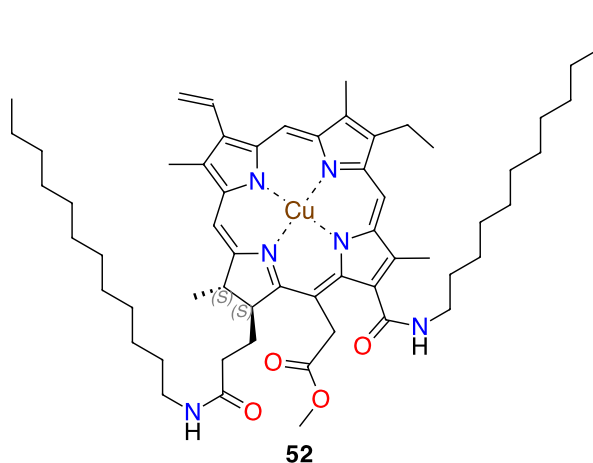
Figura 15. Zn-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



A partir de 2,8 mg de **47** (0,00296 mmol) en 5 mL de CH_2Cl_2 y una solución saturada de acetato de zinc en 1 mL de metanol. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 2,5 mg (0,00248 mmol; rendimiento 83,33%).

Zn-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (**51**): **HPLC** tR 11,04 min (Columna Zorbax XDB-C8 150x 4,6 mm, 5,0 μm , fase móvil: 100 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 °C, detector UV 400 nm). **MS** [IE^+ , m/z]= 1007,75 ($\text{ZnC}_{59}\text{H}_{85}\text{N}_6\text{O}_4$, $[\text{M}+\text{H}]^+$). **FTIR** [ATR, $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1})]= 2919 (ν C-H); 1737 (ν 15(2)C=O); 1625 (ν 17(3)C=O, 13(1)C=O); 1557 (ν C=C, C-N); 1259 - 1029 (ν 15(2)C-O). **UV-vis** [CH_2Cl_2 , λ_{max} (nm)]= 411 ; 637.

Figura 16. Cu-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

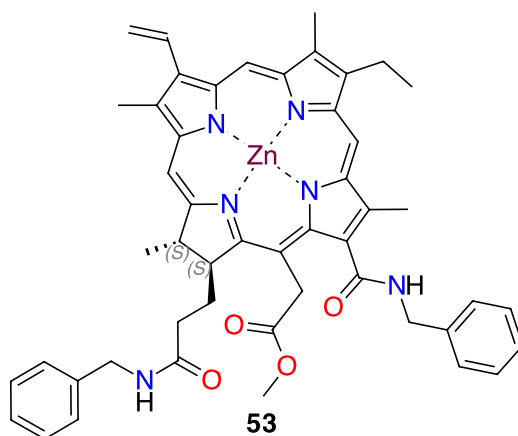


A partir de 2,7 mg de **47** (0,00286 mmol) en 5 mL de CH_2Cl_2 y una solución saturada de acetato de cobre en 1 mL de metanol. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 2,5 mg (0,00268 mmol;

rendimiento 86,6 %).

Cu-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (**52**): **HPLC** tR 14,00 min (Columna Zorbax XDB-C8 150x 4,6 mm, 5,0 μ m, fase móvil: 100 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 °C, detector UV 400 nm). **MS** [IE⁺, m/z]= 1006,75 (CuC₅₉H₈₅N₆O₄, [M+H]⁺). **FTIR** [ATR, $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹)]= 2915 (ν C-H); 1734 (ν 15(2)C=O); 1628 (ν 17(3)C=O, 13(1)C=O); 1558 (ν C=C, C-N); 1339 - 1195 (ν 15(2)C-O). **UV-vis** [CH₂Cl₂, λ_{max} (nm)]= 411 ; 635.

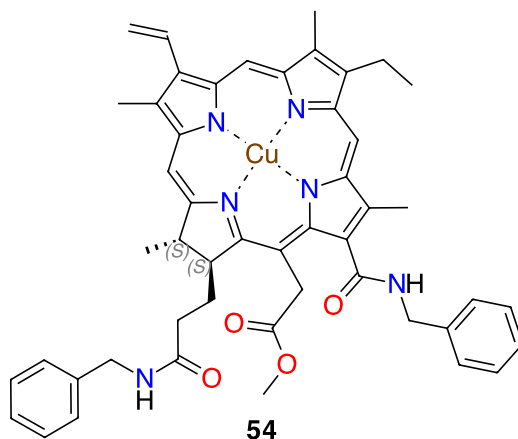
Figura 17. Zn-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



A partir de 2,4 mg de **48** (0,003 04 mmol) en 5 mL de CH₂Cl₂ y una solución saturada de acetato de zinc en 1 mL de metanol. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 2,2 mg (0,002 57 mmol; rendimiento 84,62 %).

Zn-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (**53**): **HPLC** tR 3,11 min (Columna Zorbax XDB-C18 150x 4,6 mm, 5,0 μ m, fase móvil: 90 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 °C, detector UV 400 nm). **MS** [IE⁺, m/z]= 851,38 (ZnC₄₉H₅₀N₆O₄, [M+H]⁺). **FTIR** [ATR, $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹)]= 2916 (ν C-H); 1731 (ν 15(2)C=O); 1607 (ν 17(3)C=O, 13(1)C=O); 1541 (ν C=C, C-N); 1336 - 1072 (ν 15(2)C-O). **UV-vis** [CH₂Cl₂, λ_{max} (nm)]= 411 ; 636.

Figura 18. Cu-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



A partir de 2,5 mg de **48** (0,003 17 mmol) en 5 mL de CH₂Cl₂ y una solución saturada de acetato de cobre en 1 mL de metanol. Finalizado el tiempo de reacción, se extrajo el crudo y se purificó por HPLC fase reversa, eluyendo con MeOH. Se obtuvo 2,2 mg (0,002 58 mmol; rendimiento 81,48 %).

Cu-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (**54**): **HPLC** tR 5,55 min (Columna Zorbax XDB-C18 150x 4,6 mm, 5,0 μm, fase móvil: 90 % acetonitrilo, flujo 1,0 mL/min, 25,0 °C, detector UV 400 nm). **MS** [IE⁺, m/z]= 850,38 (CuC₄₉H₅₀N₆O₄, [M+H]⁺). **FTIR** [ATR, $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹)]= 2916,88 (ν C-H); 1734,67 (ν 15(2)C=O); 1630,19 (ν 17(3)C=O, 13(1)C=O); 1541,45 (ν C=C, C-N); 1338,21 - 1030,5 (ν 15(2)C-O). **UV-vis** [CH₂Cl₂, λ_{max} (nm)]= 411 ; 635.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se reporta la síntesis y caracterización de compuestos derivados de clorofila, usando como materia prima la clorofila extraída de las hojas de espinacas.

La biomasa inicial (Figura 19-a) se llevó a un equipo de extracción Soxhlet (sólido-líquido) bajo las condiciones descritas en la Tabla 2, se obtuvo 1,9983 g de extracto. La biomasa final perdió por completo el color verde (Figura 19-b), encontrando en el extracto diversos analitos. El extracto obtenido se purificó por cromatografía de gravedad, inicialmente se eluyó con heptano para descartar las fracciones de color naranja, amarillo y rojo los cuales contenían carotenoides y xantófilas. Al final eluyendo con heptano:diclorometano (20:80) se obtuvo una fracción verde oscura, la cual se caracterizó por espectrometría de masas, arrojando una masa igual a 870,57 correspondiente al derivado de feofitina-a. La clorofila es un compuesto lábil y puede degradarse fácilmente, siendo susceptible a alteraciones químicas en el núcleo del macrociclo, ya sea por el ión metálico, posiciones más reactivas del macrociclo o por la cadena lateral de fitilo. Por este motivo, la clorofila sufre cambios estructurales desde su aislamiento o purificación cuando se emplea sílica como fase estacionaria. La sílica al ser ácida es capaz de romper el enlace covalente coordinado que se encuentra formando el ion metálico Mg(II) con el macrociclo de clorina. Los dos átomos de nitrógeno de la clorina presentan pares de electrones que son donados y aceptados por el metal; este enlace se ve afectado en medio ácido donde los pares de electrones del ligando se protonan y rompen el enlace covalente coordinado.

Figura 19. Biomasa inicial y final de las hojas de espinaca.

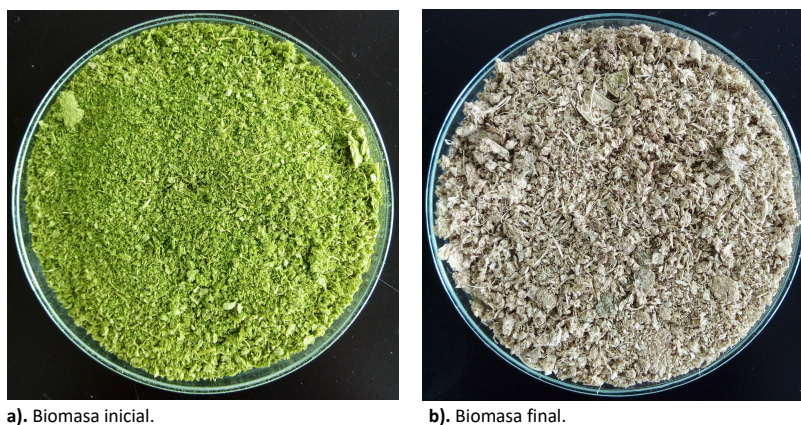
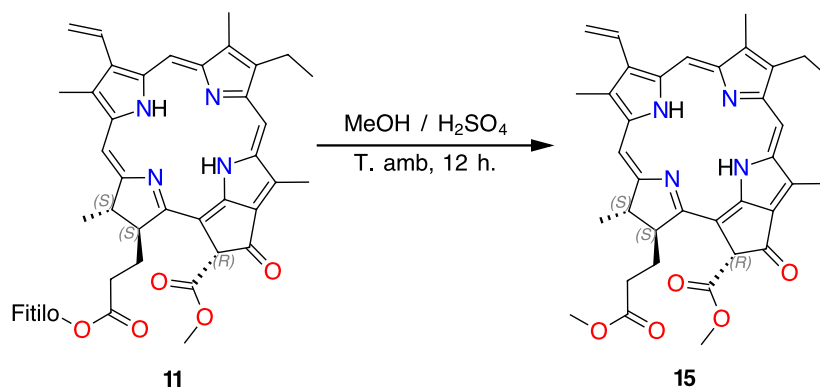


Tabla 2. Condiciones para la extracción de clorofila.

Peso biomasa inicial	28,4332 g
Volumen CH ₂ Cl ₂	600 mL
Temperatura chiller	10 °C
Tiempo	8 horas
Peso biomasa final	26,3477 g
Peso extracto	1,9983 g

El precursor principal 17(3)- metil éster de feoforbida conocido comúnmente como metilfeoforbida-a (MPP) se preparó por una reacción de transesterificación (Esquema 9) en metanol y catalizada por el ácido sulfúrico, siguiendo la metodología reportada por⁴⁹. La reacción fue protegida de la luz, el producto fue almacenado a bajas temperaturas y no fue purificado con el objeto de evitar posibles degradaciones.

Esquema 9. Síntesis de metilfeoforbida-a a partir de feofitina-a.

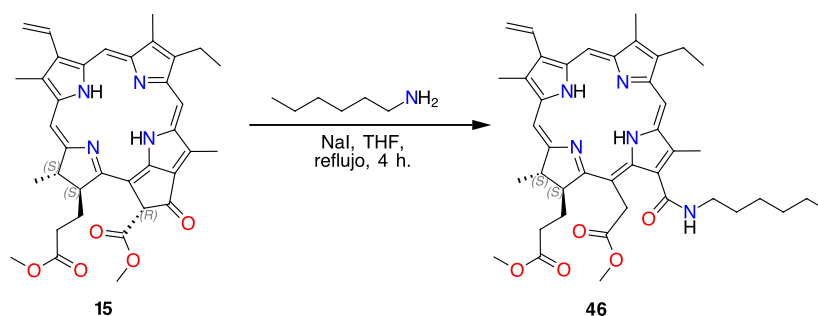


La transesterificación normalmente ocurre por el intercambio del grupo alcoxilo del alcohol y el alcoxilo del éster que se desea modificar. El catalizador más empleado es de carácter ácido, pero también puede llevarse a cabo con catalizadores de carácter básico. Cuando la reacción de transesterificación se realiza en presencia de un catalizador ácido como H₂SO₄ o HCl, se da en primer lugar la protonación del grupo carbonilo, seguida del ataque nucleofílico por parte del alcohol, originándose un intermediario tetraédrico.

La síntesis de derivados de MPP fue desarrollada en dos etapas, la primera etapa es la síntesis de amidas y una segunda etapa es la metalación. La síntesis con las distintas aminas primarias **46-48**, a través de una reacción de sustitución nucleofílica al acilo en el carbono 13(1)-C, usando como agentes nucleofílicos las aminas alifáticas primarias en presencia de yoduro de sodio (NaI), en THF como disolvente y con agitación constante durante 4 horas a reflujo. Luego de la respectiva purificación por HPLC fueron obtenidos los compuestos

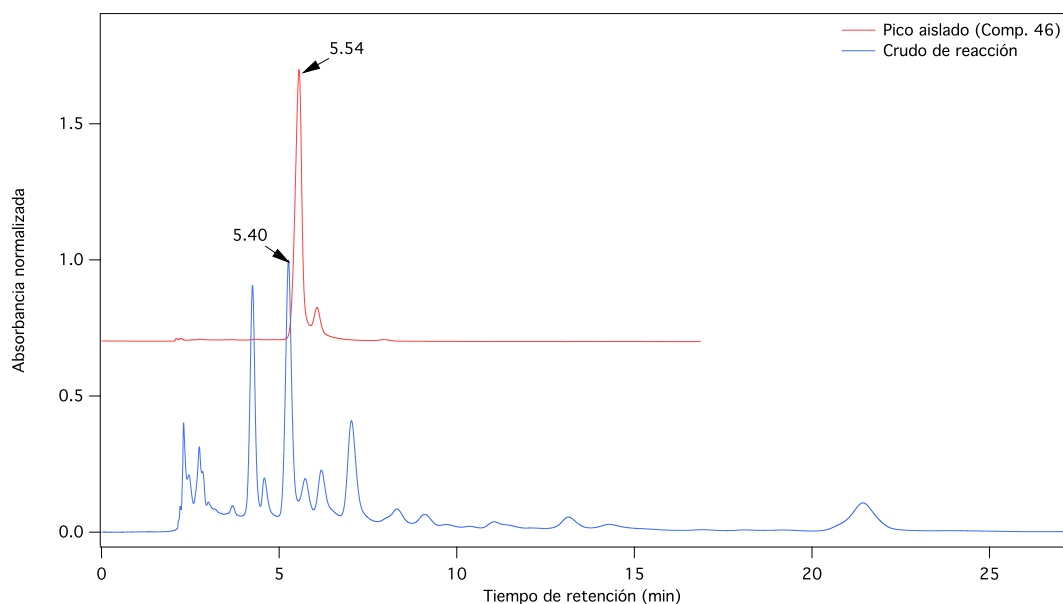
46-48 con porcentajes de rendimientos bajos (6-10%), por la presencia de varios centros reactivos en la molécula de MPP que puede generar más de un producto. En el Esquema 10 se puede observar la metodología general de la reacción.

Esquema 10. Síntesis de 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 a partir de metilfeoforbida-a.



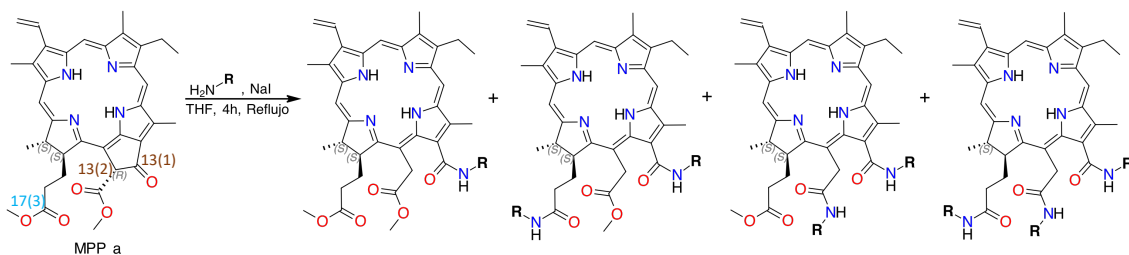
En un principio la síntesis del compuesto **46** se realizó entre el precursor **15** y un exceso de hexilamina en THF a 20 °C empleando la metodología reportada por Belykh, D. *et al.*⁵⁰; sin embargo, no se logró formar algún producto. Por esta razón, se optó por modificar la metodología empleando yoduro de sodio como catalizador y aumentado la temperatura de reacción, estos cambios fueron tomados de la metodología reportada por Nguyen, D. *et al.*⁵¹, dentro de la masa de reacción se encontró la formación de varios productos y el crudo de reacción fue purificado por HPLC; el cromatograma obtenido se muestra en la Figura 20. Se recogieron los picos de mayor absorción y sólo se caracterizó el compuesto mayoritario en relación masa de cada reacción. En la síntesis con hexilamina se caracterizó el pico con $t_R = 5,26$ min, compuesto **46**.

Figura 20. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción y el pico aislado del compuesto **46**.



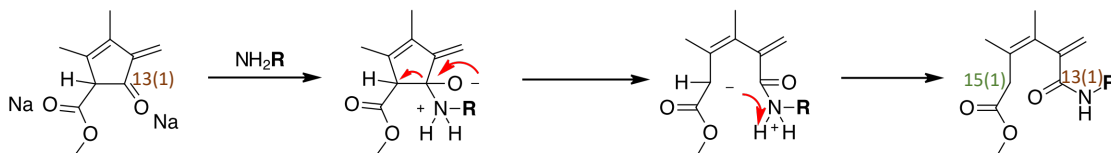
En el Esquema 11 se presentan los posibles productos de reacción, el precursor de MPP (**15**) presenta tres carbonos electro deficientes susceptibles a reacciones de sustitución nucleofílica, por tanto están compitiendo en la reacción y se pueden formar productos mono, di y tri sustituidos. Sin embargo, la velocidad de la reacción está dada por la basicidad de la amina y los efectos estéricos para la formación del intermediario tetraédrico, como la carga parcial negativa del par de electrones no compartidos del nitrógeno, tamaño, estructura y número de sustituyentes en el átomo de nitrógeno. Teniendo en cuenta lo anterior, se espera la sustitución sobre el carbono de la posición 13(1), un carbono electro deficiente estéricamente accesible, la reacción también puede continuar con la formación de una amida en la posición 17(3). Otro posible producto con amina podría ser sobre la posición 13(2), sin embargo este grupo éster está más impedido estéricamente. Adicionalmente el sodio que proviene del catalizador (NaI), se coordina al oxígeno de todos los grupos carbonilos, volviendo al carbono más electro deficiente para el ataque del nucleófilo (aminas).

Esquema 11. Síntesis de posibles productos de amidas de clorina e6 a partir de metilfeoforbida-a.



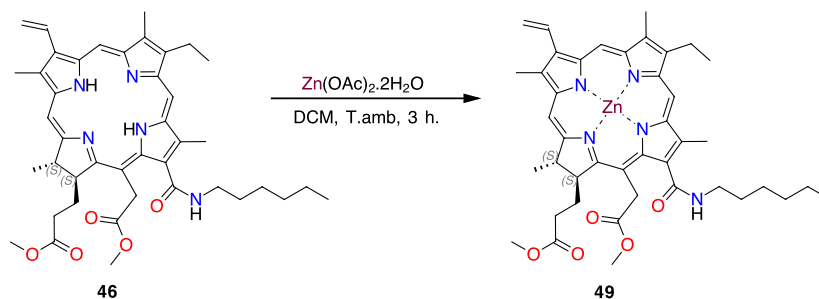
En el Esquema 12 se presenta un posible mecanismo de reacción para la síntesis de aminas, la reacción transcurre mediante una sustitución nucleofílica sobre el carbono de la posición 13(1). Primero un ataque nucleofílico sobre el carbono electrofílico, seguido de la formación de un intermediario tetraédrico y la ruptura del enlace carbono - carbono del anillo exocíclico (ciclopentanona) para formar un carbanión y la migración de un protón de la nueva amida al carbono de la posición 15(2).

Esquema 12. Mecanismo de sustitución nucleofílica sobre el grupo acilo.



Una vez sintetizados, purificados y caracterizados los respectivos derivados con amidas **46-48**, se continuó a realizar la síntesis de los derivados **49-54** con un centro metálico empleando como átomos centrales el zinc y cobre. La síntesis se realizó mediante la interacción directa de una clorina que sería el ligando y el metal proveniente de sales. La metalación de la clorina se da debido a los pares electrónicos que posee los átomos de nitrógeno del anillo, los cuales son aceptados por los iones metálicos que actúan como ácidos de Lewis y así formar la metaloclorina. Esta reacción transcurrió fácilmente a temperatura ambiente y en atmósfera de argón, bajo agitación durante 3 h, los productos obtenidos tuvieron rendimientos mayores al 80 %, empleando la metodología reportada por Miyakate, T. *et al.*⁵²

Esquema 13. Síntesis de Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 (**49**)



La caracterización estructural de los precursores MPP **46-48**, se realizó a través de las técnicas instrumentales como el IR y ESI. Las estructuras quedaron confirmadas por RMN y el conjunto de experimentos ^1H , ^{13}C , DEPT-90, DEPT-135 y los bidimensionales de correlación homonuclear COSY y de correlación heteronuclear HSQC y HMBC.

El análisis por espectroscopía de infrarrojo para los amino derivados de MPP **46-48**, proporcionó en un principio las características estructurales y la presencia de los grupos funcionales en los compuestos, a través de sus respectivas señales en el espectro. En el espectro del compuesto **46** (Figura 21), se observó una banda de intensidad débil a 3310 cm^{-1} de la vibración de tensión del enlace N-H. Las bandas de intensidad media a débil de la región $2958 - 2859\text{ cm}^{-1}$ se asoció a los modos de estiramiento C-H. Este compuesto presenta dos grupos funcionales éster y un grupo amida, a 1731 cm^{-1} se encontró la vibración de tensión del enlace C=O para los éster y a 1628 cm^{-1} la vibración de tensión C=O para el grupo amida, se evidenció un cambio en esta región respecto al precursor MPP (**15**) (Anexo 3); se encontró un corrimiento a frecuencia más alta a 1697 cm^{-1} para el enlace C=O de la cetona del anillo extra que posee la clorofila. Las vibraciones de estiramiento del enlace simple C-O de los grupos éster se observó a 1259 y 1019 cm^{-1} con un intensidad media. Los enlaces tipo C=C y C=N que hacen parte de la estructura del macrocilo (clorina) se asignaron a 1600 cm^{-1} . La banda a 1558 cm^{-1} se asignó a la vibración de flexión fuera del plano para el enlace N-H. Los espectros de IR para los demás compuestos se encuentran en los Anexos 3, 24 y 40. En la Tabla 3 se presentan resumidos los modos de vibración más importantes para el precursor principal MPP (**15**) y los compuestos preparados (**46-48**), los cuales son análogos al analizado anteriormente.

Figura 21. Espectro de IR del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 46.

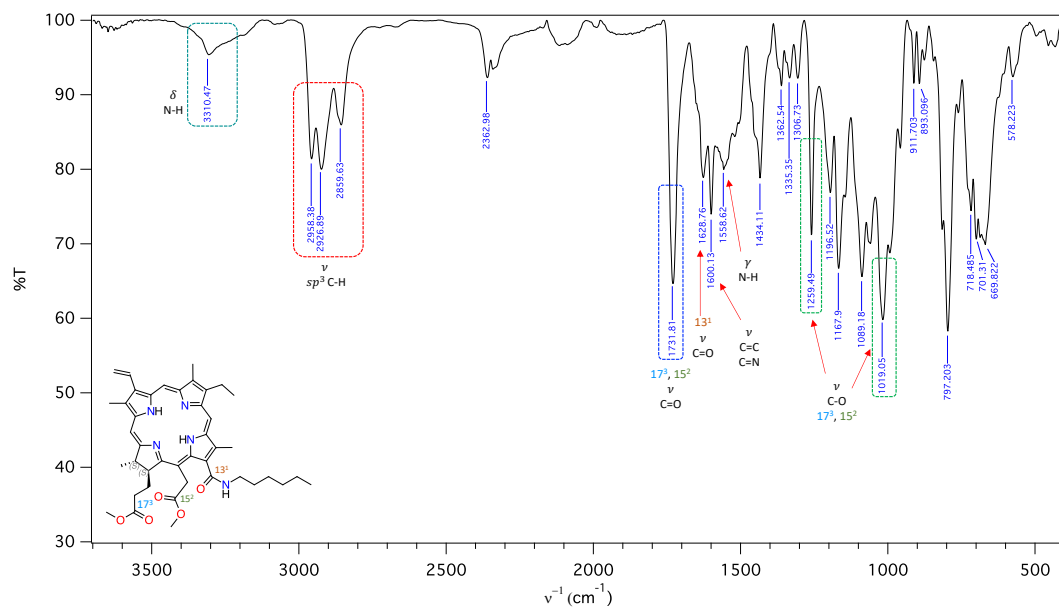


Tabla 3. Señales observadas en el espectro IR para los compuestos **15**, **46-48**.

Compuesto	Bandas de absorción del espectro IR						
	ν N-H	ν C-H	ν C=O	ν C=O	ν C=C ν C=N	γ N-H	ν C-O
15				Cetona			1259
	3393	2961	1731	1697	1620	-	1019
46				Amida			1259
	3310	2958	1731	1628	1600	1558	1019
47				Amida			1260
	3330	2921	1740	1631	1601	1552	1023
48				Amida			1259
	3333	2961	1723	1645	1598	1550	1016

Para determinar las masas nominales de los derivados de MPP **46-48**, se empleó la técnica de espectrometría de masas con nebulización por electrospray (ESI-MS) en modo positivo. Los cuatro compuestos analizados mostraron el aducto molecular $[M+H]^+$, cuya relación masa/carga (m/z) coincidió con el masa molecular de su fórmula condensada y su patrón isotópico. En la Figura 22 se muestra el espectro en una región expandida en el pico $[M+H]^+$ donde se observó el patrón isotópico del compuesto **46**, el cual es un conjunto de señales relacionadas a iones con las misma fórmula química pero que presentan diferentes isotópos. En la Figura 23 se puede ver el patrón isotópico calculado para los iones moleculares de acuerdo con la fórmula molecular condensada del compuesto, donde se puede destacar el alto grado de exactitud a los observados. El patrón isotópico calculado fue tomado del simulador Mmas versión 5.4.1.

Figura 22. Patrón isotópico del pico $[M+H]^+$ para 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 **46**.

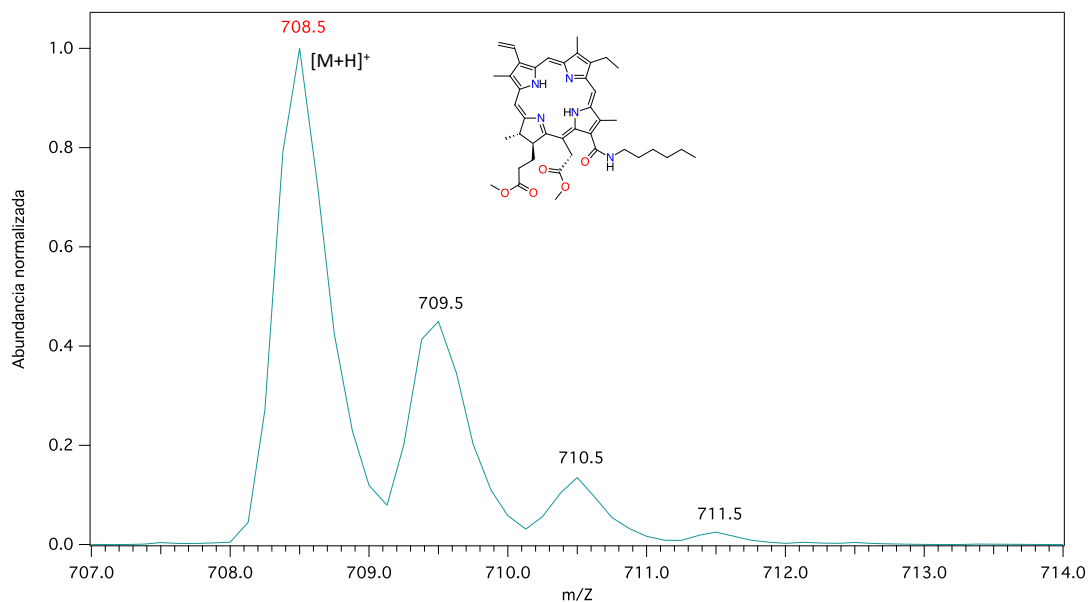
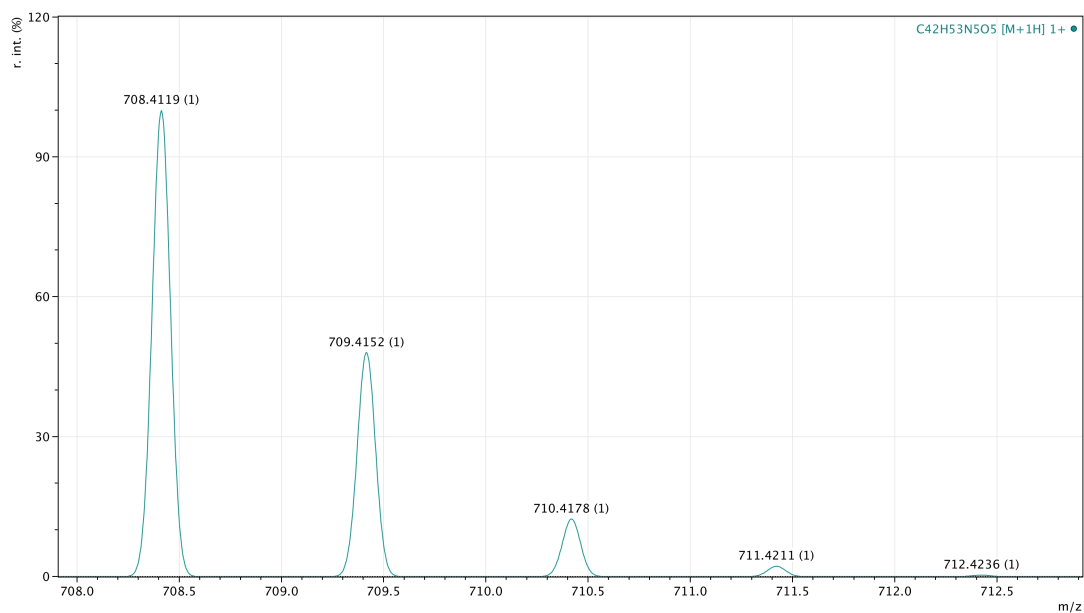


Figura 23. Patrón isotópico calculado del pico $[M+H]^+$ para 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 **46**.



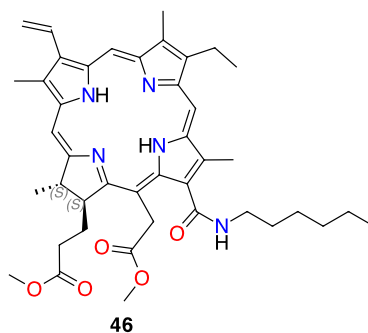
En la Tabla 4 se encuentran las masas de los correspondientes aductos moleculares para los derivados de MPP **46-48**. Se logró observar claramente con espectrometría de masas la sustitución de las respectivas aminas alifáticas, aumentando el valor en masa de dicha amina al valor del precursor MPP. (Ver Anexos 4, 25, 41)

Tabla 4. Señales de aductos moleculares de los derivados de MPP **46-48**.

Compuesto	Full scan [<i>m/z</i>]			
	[M+H] ⁺	[M+1] ⁺	[M+2] ⁺	[M+3] ⁺
15	607,25	608,25	609,25	610,50
46	708,5	709,50	710,50	711,50
47	945,75	946,75	947,75	948,75
48	789,50	790,50	791,50	792,38

Para confirmar las estructuras de los derivados de MPP **46-48**, se realizó un análisis detallado por resonancia magnética nuclear de sus espectros uni y bidimensionales. El análisis por resonancia magnética nuclear permitió asignar de forma acertada la totalidad de la estructura molecular de acuerdo a las señales de protones encontradas. Para realizar la caracterización se tomó como referencia el compuesto **46**. Adicionalmente en los Anexos se presentan los espectros de ¹H RMN, ¹³C RMN, COSY, HSQC y HMBC, para los compuestos **47-48** previamente preparados.

Figura 24. 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



En la Figura 25 se muestra el espectro de RMN ¹H para el compuesto 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 (**46**), se observó a campo bajo tres singletes correspondientes a los protones *meso* 10, 5 y 20 del anillo tetrapirrólico en 9,65; 9,60 y 8,80 ppm, respectivamente. Los protones generados por el fragmento vinílico presenta un sistema de espín característico con un doblete de doblete a 8,04 ppm para el protón 3(1) y en 6,31 y 6,09 ppm dos dobletes de doblete (dd) para los dos protones 3(2), en posición *trans* y *cis* respectivamente. Se observó a 6,44 ppm una señal de triplete para el protón 25-H de la amida secundaria. Las señales de doblete a 5,53 y 5,26 ppm, pertenecen a los dos protones de la apertura del anillo E (15(1)). El protón de 18 mostró una señal de cuartete (q) a 4,46 ppm, y se observó a 4,33 ppm como multiplete el protón 17. Por otro lado, los singletes

Tabla 5. Desplazamientos químicos δ [ppm], multiplicidad J [Hz] y constantes de acoplamiento de los protones en el espectro de ^1H RMN de los derivados de MPP (**15** **46-48**)

Protón	Compuesto			
	15 ^a	46	47	48
10	9,51, s	9,65, s	9,68, s	9,60, s
5	9,36, s	9,60, s	9,63, s	9,57, s
20	8,56, s	8,80, s	8,79, s	8,75, s
3 ¹	7,98, dd, $J =$ 17,80, 11,58	8,04, dd, $J =$ 17,89, 11,52	8,08, dd, $J =$ 17,88, 11,58	8,02, dd, $J =$ 17,85, 11,54
3 ^{2t}	6,28, dd, $J =$ 1,21	6,31, dd, $J =$ 17,84, 1,37	6,35, dd, $J =$ 17,85, 1,13	6,30, dd, $J =$ 17,84, 1,39
3 ^{2c}	6,18, dd, $J =$ 11,33, 1,42	6,09, dd, $J =$ 11,54, 1,39	6,14, dd, $J =$ 11,52, 1,12	6,09, dd, $J =$ 11,52, 1,34
15 ^{1a}	5,534, s, (13 ²)	5,54, d, $J =$ 19,08	5,40, s, (15 ¹)	5,41-5,27, m
15 ^{1b}	-	5,26, d, $J =$ 19,08	-	-
18	4,46, q, $J =$ 7,33	4,46, q, $J =$ 7,16	4,49 - 4,44, m	4,46 - 4,37, m
17	4,21 - 4,19, m	4,35 - 4,32, m	4,49 - 4,44, m	4,46 - 4,37, m
15 ³	3,88, s (13 ⁴)	3,78, s	3,77, s	3,52, s
8 ¹	3,72 - 3,65, m	3,77 - 3,72, m	3,82 - 3,78, m	3,88 - 3,68, m
17 ⁴	3,69, s	3,60, s	3,78, s	-
12 ¹	3,57, s	3,51, s	3,54, s	3,44, s
2 ¹	3,40, s	3,46, s	3,48, s	3,44, s
7 ¹	3,22, s	3,28, s	3,31, s	3,25, s
17 ^{1a}	2,68 - 2,60, m	2,22 - 2,09, m	1,81 - 1,75, m	2,31 - 2,22, m
17 ^{1b}	2,35 - 2,29, m	1,79 - 1,67, m	1,53 - 0,95, m	2,05 - 1,93, m
17 ^{2a}	2,55 - 2,48, m	2,57 - 2,49, m	2,36 - 2,27, m	1,84 - 1,74, m

... continua en la siguiente página

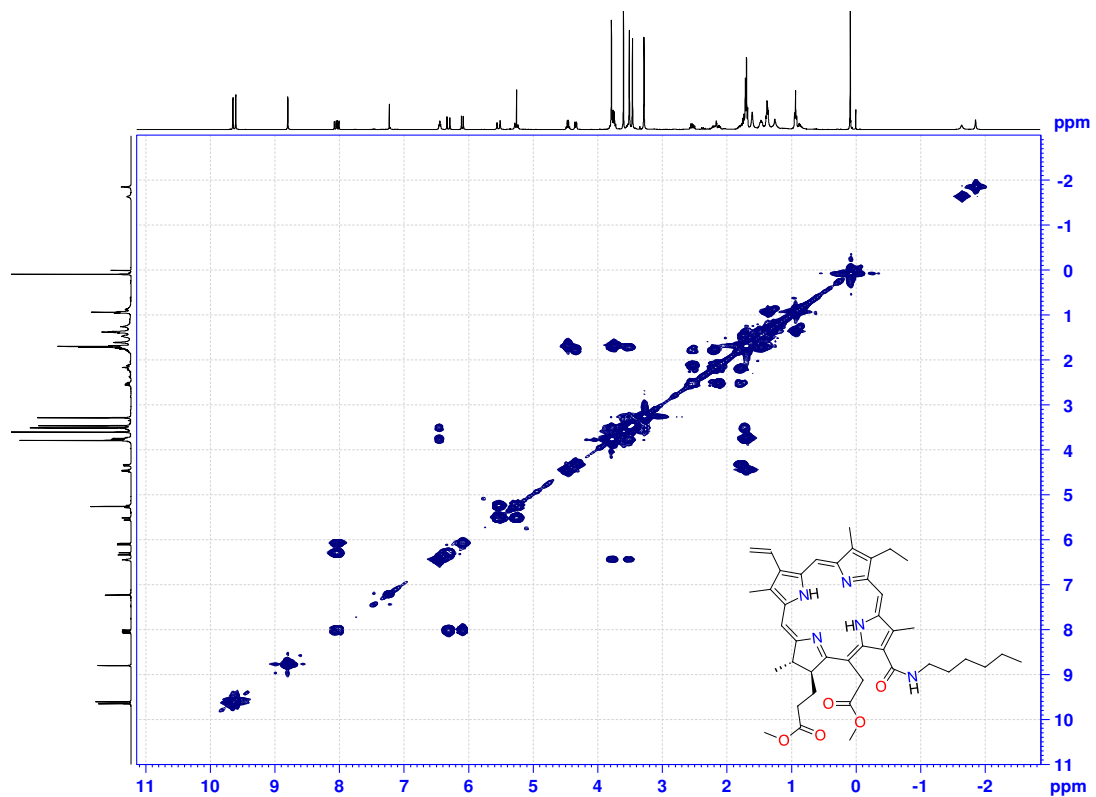
Tabla 5... continuación

Protón	Compuesto			
	15	46	47	48
17 ^{2b}	2,26 - 2,20, m	2,22 - 2,09, m	2,10 - 2,01, m	1,14 - 1,08, m
18 ¹	1,81, d, $J = 7.24$	1,79 - 1,67, m	1,73 - 1,69, m	1,68 - 1,66, m
8 ²	1,69, t, $J = 7.54$	1,79 - 1,67, m	1,73 - 1,69, m	1,68 - 1,66, m
21	-	-1,64, s	-1,61, s	-1,61, s
23	-1,64, s	-1,86, s	-1,81, s	-1,80, s
25	-	6,44, t, $J = 5,66$	6,52, t, $J = 5,50$	6,84, t, $J = 5,71$
26	-	-	4,65, t, $J = 4,55$	5,13, t, $J = 5,54$

^aLa asignación del precursor se hizo por comparación.^{53,54}

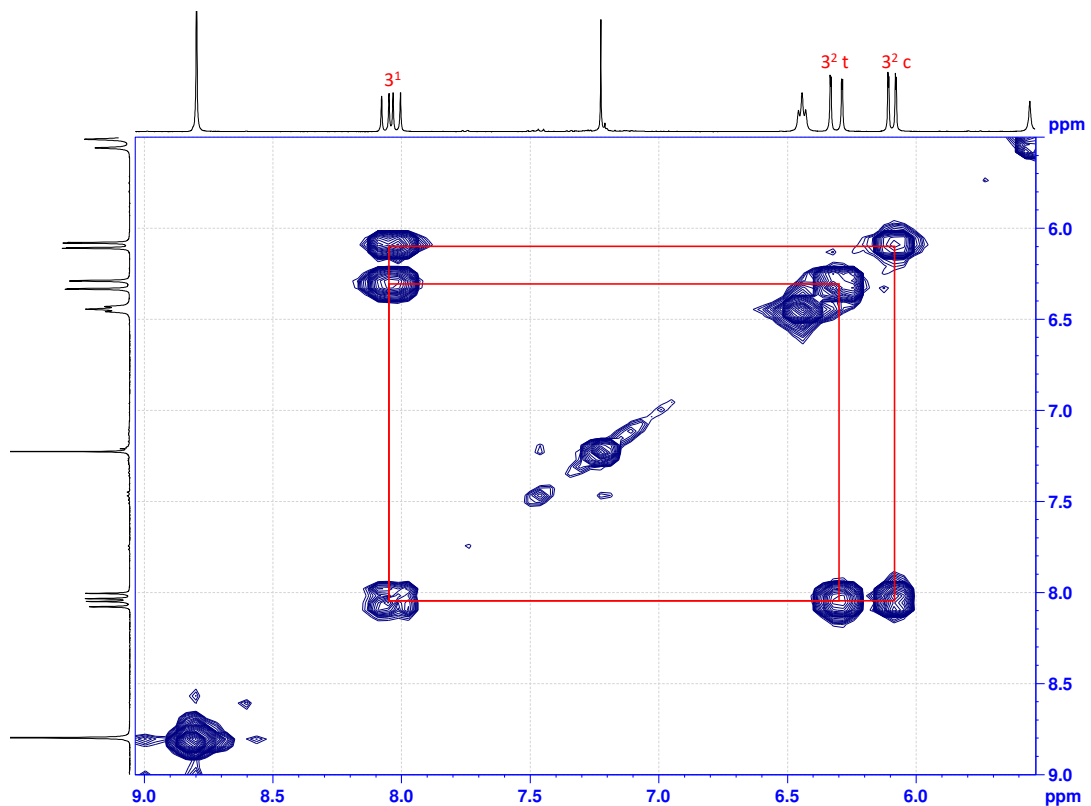
En la Figura 26 se presenta el espectro bidimensional COSY para el compuesto **46**; se observa la correlación entre los protones 8(1) y 13(2) que se hallaban en la región 3,77 - 3,72 ppm en forma de multiplete y los cuales estaban solapados. De igual manera, permitió la asignación de los protones metilénicos de la cadena de hexilamida que se solaparon con los protones metílicos 18(1) y 8(2).

Figura 26. Espectro de RMN COSY del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



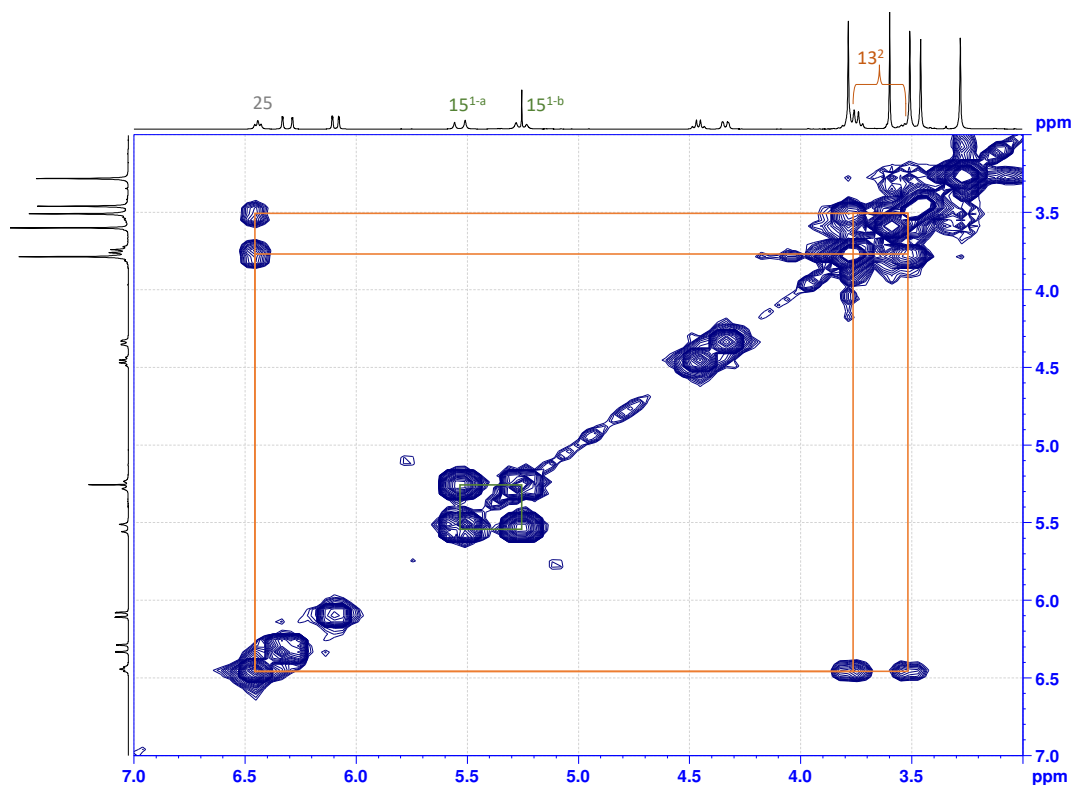
De manera detallada se expande el espectro bidimensional COSY (Figura 27) para la región 9,0 y 5,6 ppm, donde se puede observar el sistema de spín para los protones vinílicos, encontrando los acomplamientos 3(1) con los protones metilénicos 3(2)-*trans* y 3(2)-*cis*.

Figura 27. Espectro de RMN COSY δ : 9,0-5,6 [ppm] del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



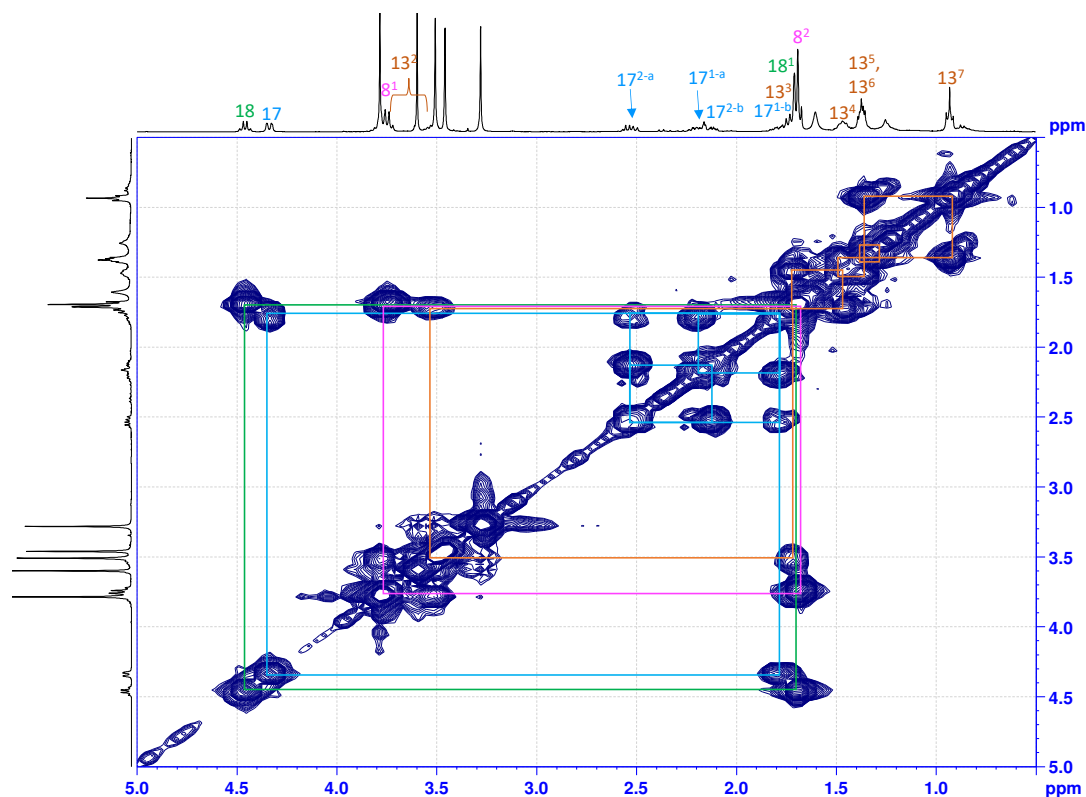
Siguiendo en orden el análisis de COSY, en la Figura 28 se muestra el espectro bidimensional en la región de 6,5 a 3,3 ppm, donde se observó que el protón de amida 25-H correlaciona con los protones no equivalentes 13(2a-b) de la cadena alifática que se encuentran en 3,76 y 3,54 ppm. Igualmente, se percibió el acoplamiento entre estos protones 13(2-a)-H y 13(2-b). Por otro lado, se observó el acoplamiento geminal entre los dos protones 15(1a-b) en 5,53 y 5,26 ppm, el singlete de 15(1-b) es la señal de diclorometano residual.

Figura 28. Espectro de RMN ^1H del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



Considerando ahora la región a campo alto del espectro COSY (29), se puede apreciar un acoplamiento vecinal del protón 18 con los protones metílicos 18(1) y el protón 17 con los protones 17(1-b). Otro acoplamiento que se observó fue el presentado por el fragmento etílico entre los protones 8(1) con los protones 8(2). El sistema de espín de la cadena alifática de la hexilamida se evidencia por la correlación de los protones 13(2) con los de 13(3), que a su vez acoplan con 13(4) y de los demás protones hasta finalizar la cadena con los protones de 13(7). Por otra parte, se encontró el acoplamiento de los protones diasterotópicos 17(2-a) y 17(1-a), con los protones 17(2-b) y 17(1-b) en la región que comprende 2,57 y 2,11 ppm.

Figura 29. Espectro de ^1H RMN del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



El análisis de los espectros ^{13}C RMN fueron esenciales para continuar con la correcta asignación estructural de los compuestos **46-48**. En la Figura 30 se presenta el espectro de ^{13}C RMN para el compuesto **46** con su correspondiente asignación. Se puede observar todas las señales asociadas a cada uno de los carbonos de la molécula, se resalta a campo bajo los carbonos carbonílicos 15(2), 17(3) y 13(1), en campo medio los carbonos *meso* 10, 5 y 20, finalmente a campo alto los carbonos metílicos. En la Tabla 30 se resumen las señales de carbono para el anillo de clorina para cada uno de los compuestos **46-48** y el precursor **15**. La ausencia de la señal desplazada a campo más bajo al rededor de 189,65 ppm, confirma un cambio en el entorno químico del carbono carbonílico 13(1)-C. Ver espectro del compuesto **15** en el Anexo 2.

Figura 30. Espectro de ^{13}C RMN del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.

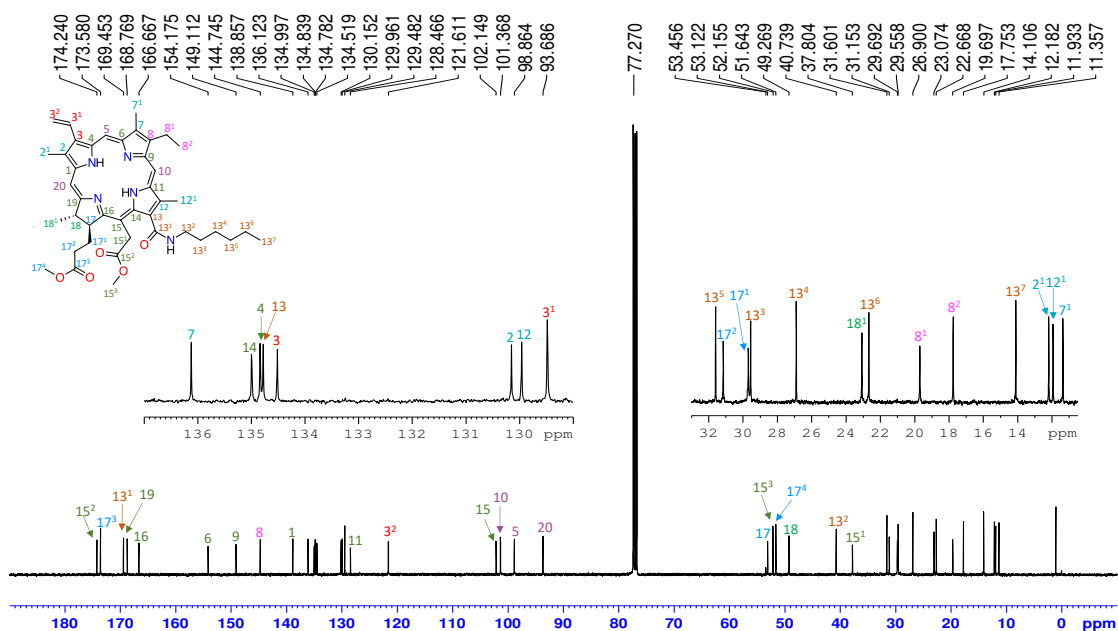


Tabla 6. Desplazamientos químicos δ [ppm] de los carbonos en el espectro de ^{13}C RMN de los derivados de MPP (15, 46-49).

Carbono	Compuesto			
	15	46	47	48
15 ²	169,59 (13 ³)	174,24	174,52	174,38
17 ³	173,37	173,58	172,19	172,14
13 ¹	189,65	169,45	169,51	169,51
19	172,20	168,77	169,36	169,15
16	166,18	166,67	166,04	165,98
6	155,67	154,18	154,23	154,29
9	150,98	149,11	148,94	148,87
8	142,10	144,74	144,78	144,78

... continua en la siguiente página

Tabla 6... continuación

Carbono	Compuesto			
	15	46	47	48
1	137,92	138,86	138,90	138,94
7	136,18	136,12	136,06	136,00
14	145,24	135,00	134,87	134,93
4	136,18	134,84	134,87	34,88
13	128,92	134,78	134,81	134,83
3	136,18	134,52	134,57	134,57
2	131,87	130,15	130,29	130,25
12	129,06	129,96	129,77	129,64
3 ¹	129,06	129,48	129,40	129,32
11	128,47	128,46	128,32	128,55
3 ²	122,82	121,61	121,71	121,70
15	105,15	102,15	102,38	102,39
10	104,45	101,37	101,43	101,45
5	97,54	98,86	98,73	98,69
20	93,13	93,69	93,36	93,35
17	52,87	53,12	52,98	52,96
15 ³	51,07(13 ⁴)	52,15	52,17	52,09
17 ⁴	50,08	51,64	39,12	44,71
18	51,68	49,27	49,52	49,49
15 ¹	64,70 (13 ²)	37,80	37,95	38,04
17 ²	31,01	31,15	30,95	32,11
17 ¹	29,84	29,69	29,68 - 29,02	30,95
18 ¹	23,08	23,07	23,36	23,31

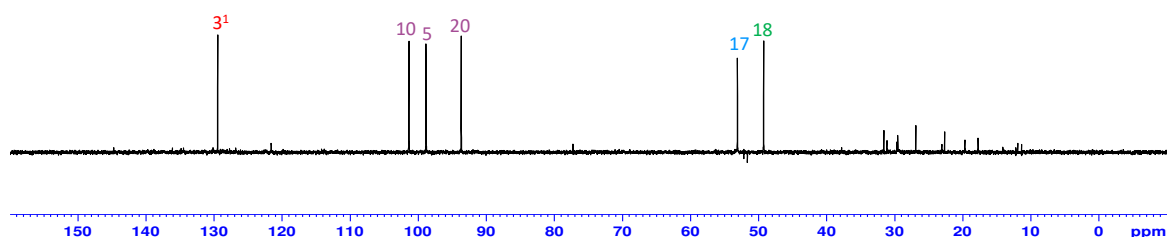
... continua en la siguiente página

Tabla 6... continuación

Carbono	Compuesto			
	15	46	47	48
8 ¹	19,45	19,70	19,67	19,59
8 ²	17,43	17,75	17,74	17,69
2 ¹	12,11	12,18	12,18	12,13
12 ¹	12,11	11,93	11,95	11,92
7 ¹	11,24	11,36	11,33	11,28

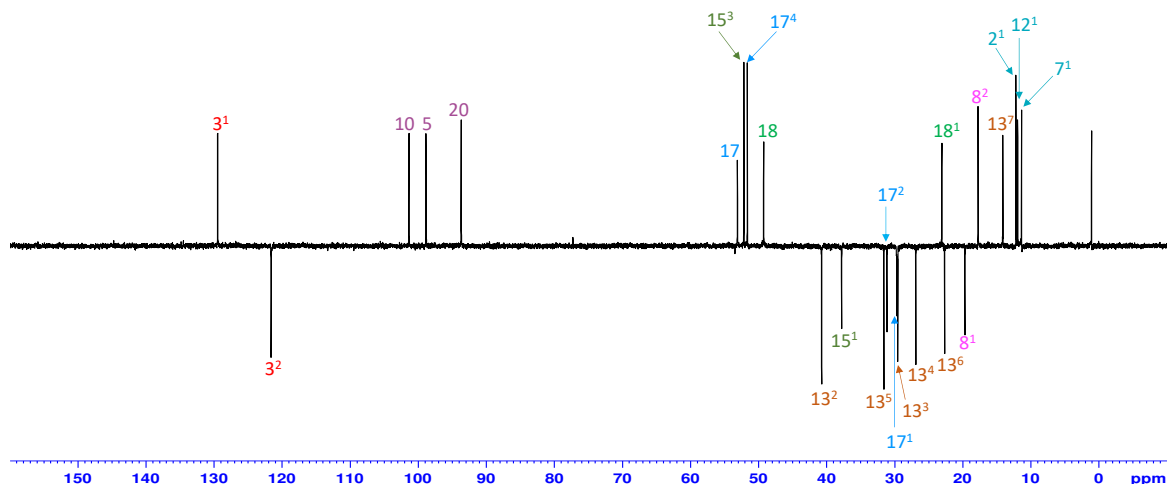
Parte importante en la elucidación estructural es el conjunto de experimentos DEPT 90 y DEPT 135. Se muestra en la Figura 31 el espectro DEPT 90 del compuesto **46**, con este espectro se identificó los seis carbonos metínicos (C-H) que presenta en su estructura el compuesto en análisis. Por lo tanto, se identificó los carbonos 3(1) a 129,48 ppm y los tres carbonos *meso* 10, 5 y 20 a 101,39; 98,86 y 93,69 ppm respectivamente. La señal de 53,12 ppm corresponde al carbono 17 y a 49,27 ppm se encontró el carbono 18.

Figura 31. Espectro DEPT 90 del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



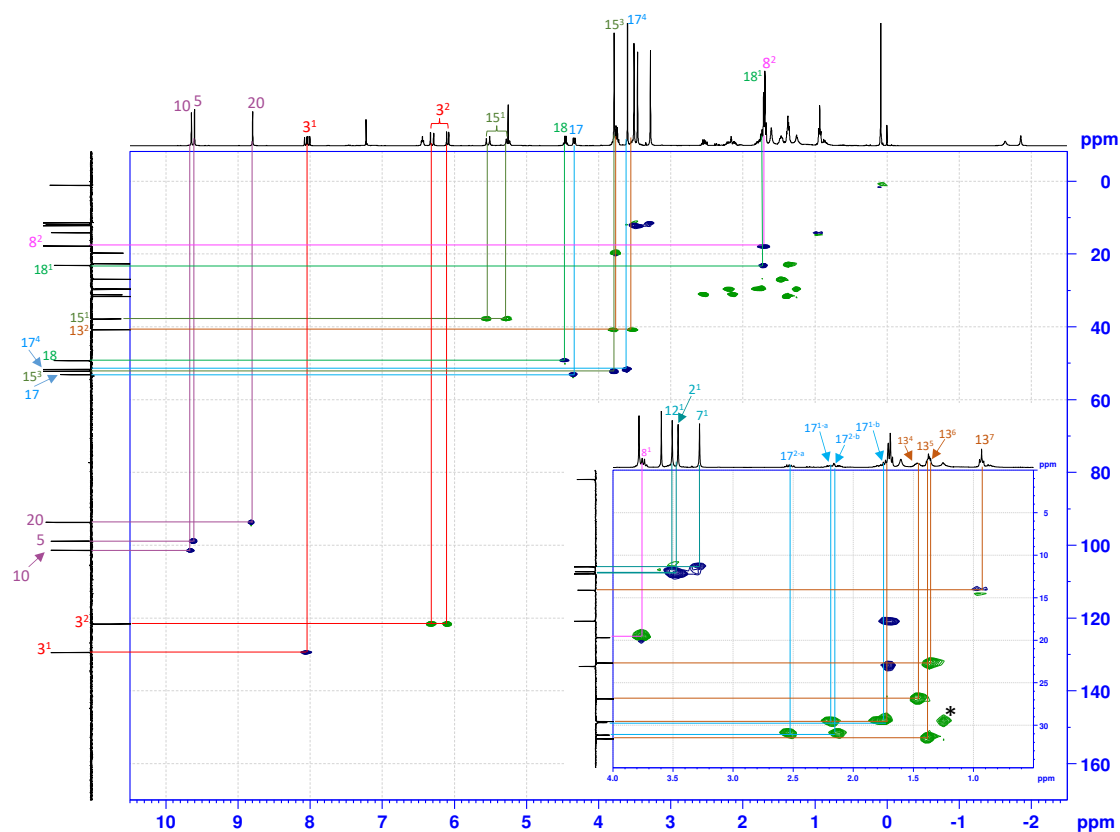
En la Figura 32 se presenta el espectro DEPT-135 para el compuesto **46**, donde se logró identificar los carbonos metilénicos y metílicos. A campo alto y con fase negativa se encontraron las señales de los carbonos metilénicos 13(2,3,4,5), 15(1), 17(1) y 17(2). Las señales correspondientes a los carbonos 13(6) y 8(1) se observan a 22,67 y 19,70 ppm respectivamente. Por último, con fase positiva se asignaron los carbonos metílicos 8(2)-C (17,75 ppm), 13(7)-C (14,11 ppm), 2(1)-C (12,18 ppm), (12(1)-C) (11,93 ppm) y (7(1)-C) (11,36 ppm).

Figura 32. Espectro DEPT 135 del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



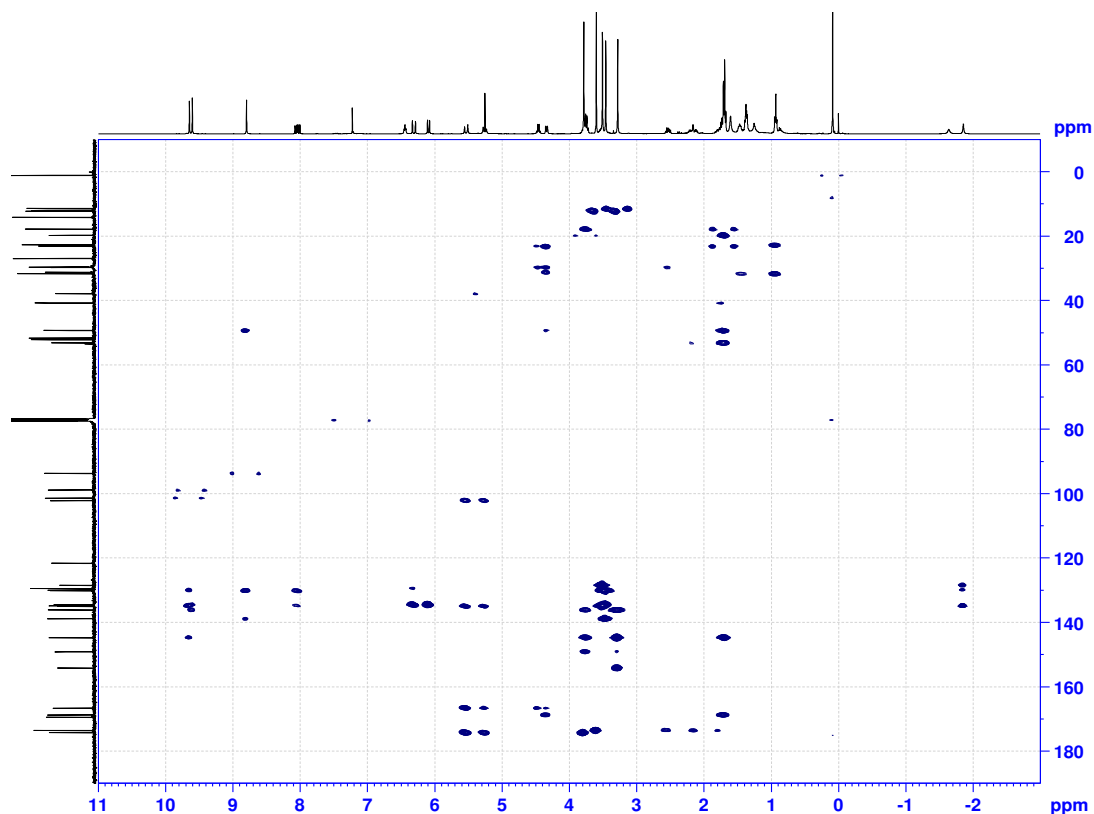
La asignación correcta de todos los carbonos junto con sus respectivos protones fue corroborada por el análisis del espectro HSQC. En la Figura 33 se exhibe el espectro HSQC para el compuesto **46**, se debe agregar que los contornos de color verde representan los carbonos metilénicos que tiene fase negativa, y las señales de color azul son de fase positiva para los carbonos metínicos y metílicos. Con el HSQC se logró aclarar el multiplete entre 1,79-1,67 ppm que integró para 9 protones que presentó el espectro de ^1H RMN, debido al diferente ambiente químico que tienen estos protones. En este multiplete se observó cuatro contornos, dos de color azul y dos verde solapados, los contornos de color verde presentaron correlación para la posición 13(3) y 17(1). Adicionalmente, uno de los contornos de color azul mostró una correlación para los protones 18(1)-H y el carbono 18(1)-C; también se apreció otro contorno de color azul donde se evidenció una correlación entre los protones 8(2)-H y su respectivo carbono 8(2)-C, de esta manera se obtiene un total de 9 protones para esta señal de multiplete. También, se observó las correlaciones de los protones diastereotópicos (3(2),15(1), 13(2) y 17(2) con su respectivo carbono. La señal marcada con (*) es de un contaminante.

Figura 33. Espectro HSQC del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



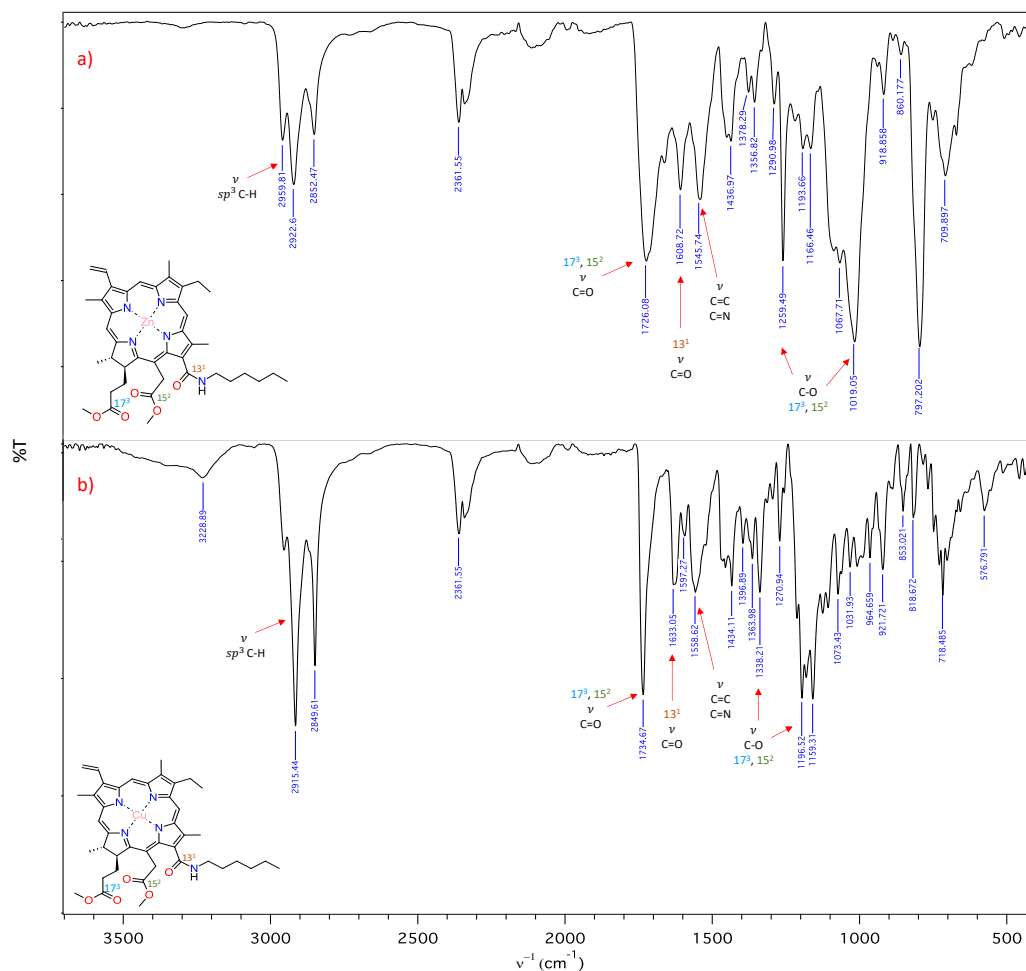
Por último el espectro bidimensional HMBC (Figura 34) permitió confirmar totalmente la estructura del compuesto analizado. El protón 10 presentó acoplamiento con los carbonos 8 y 12 a tres enlaces de distancia, igualmente el protón 5 acopló con los carbonos 4 y 7 a dos y tres enlaces de distancia respectivamente. El protón 20 mostró acoplamiento con los carbonos 1, 2 y 18. El protón metilénico 3(1) presentó acoplamiento con los carbonos 2 y 4 a tres enlaces de distancia; así mismo los protones diasterotópicos 3(2) acoplaron a tres enlaces de distancia con el carbono 3. Los protones 15(1) presentaron acoplamiento a tres enlaces de distancia con los carbonos 14 y 16, a su vez acoplaron con el carbono 15 a dos enlaces de distancia. El protón 18 acopló con los carbonos 16 y 17(1) a tres enlaces de distancia y con el carbono 18(1) a dos enlaces de distancia. El protón 17 presentó acoplamiento con los carbonos 18, 19 y 16. Por otra parte, los protones 15(3), 15(1) presentaron acoplamiento con el carbono 15(2) a tres y dos enlaces de distancia respectivamente. Los protones metílicos 12(1) presentaron acoplamiento con el carbono 11, y los protones metílicos 2(1) acoplaron con los carbonos 1, 2 y 3. Los protones metílicos 7(1) acoplaron con los carbonos 6 y 8 a tres enlaces de distancia, de igual manera acopló con el carbono 7 a dos enlaces de distancia. Los protones 18(1) acoplaron con los carbonos 18 y 19 a dos y tres enlaces de distancia respectivamente. Los protones 8(1) presentaron acoplamiento con los carbonos 7, 8 y 9. Por último, se observó el acoplamiento del protón 23 con los carbonos 11, 12 y 14.

Figura 34. Espectro HMBC del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



La caracterización de los derivados metálicos **49-54**, se realizó mediante espectroscopía de infrarrojo y espectrometría de masas. En la Figura 35 se muestra los espectros de IR para los derivados metálicos del compuesto **46**, en **a**) complejo metálico de Zn (**49**) y en **b**) complejo de Cu (**50**). Al comparar los dos espectros se observó un leve desplazamiento y un cambio en la forma de las bandas para los grupos funcionales éster y amida, debido a la coordinación de los iones metálicos. El complejo de Zn(II) Figura 35-**a**, presentó a 1726 cm^{-1} una vibración de tensión del enlace C=O para los éster y a 1608 cm^{-1} la vibración de tensión C=O para el grupo amida. Las vibraciones de estiramiento del enlace simple C-O de los grupos éster se observó a 1259 y 1019 cm^{-1} con un intensidad media. En el complejo de Cu(II) 35-**b**, se observó un desplazamiento en todas sus bandas a frecuencias más altas, respecto al complejo de Zn(II). La banda de vibración de tensión del enlace C=O para los grupos éster se encontró a 1734 cm^{-1} y a 1633 cm^{-1} la vibración de tensión C=O para el grupo amida. Las vibraciones de estiramiento del enlace simple C-O del grupo éster se observó a 1338 y 1196 cm^{-1} con un intensidad media. En la región de frecuencia más baja es posible observar los estiramientos y la deformación del metal.⁵⁵

Figura 35. Espectros de IR para el Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y el Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



En la Figura 36 se encuentra el patrón isotópico observado del pico M para los compuestos **49-50** (Figura 36 -a), y el calculado para estos mismos picos (Figura 36 -b), lo cual permite confirmar que los respectivos derivados metálicos de MPP fueron sintetizados.

El patrón isotópico calculado para los iones moleculares de acuerdo a la fórmula molecular condensada de los compuestos, coincide con los observados por los espectros tomados en ESI para los compuestos sintetizados.

Figura 36. Patrón isotópico para los derivados metálicos del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 **49-50**. a) Obtenido; b) Calculado.

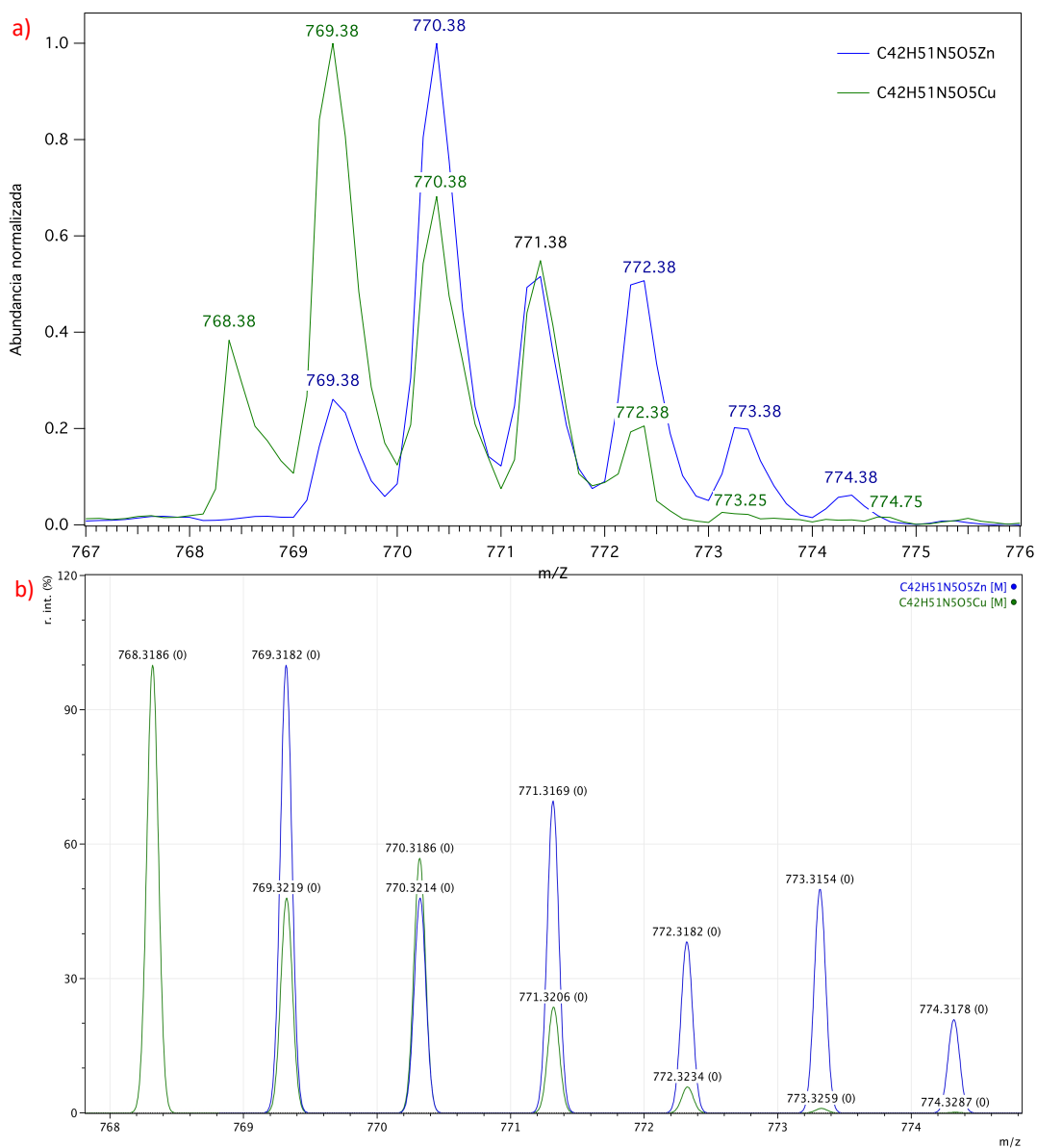


Tabla 7. Señales de aductos moleculares de los derivados metalados de MPP **49-54**.

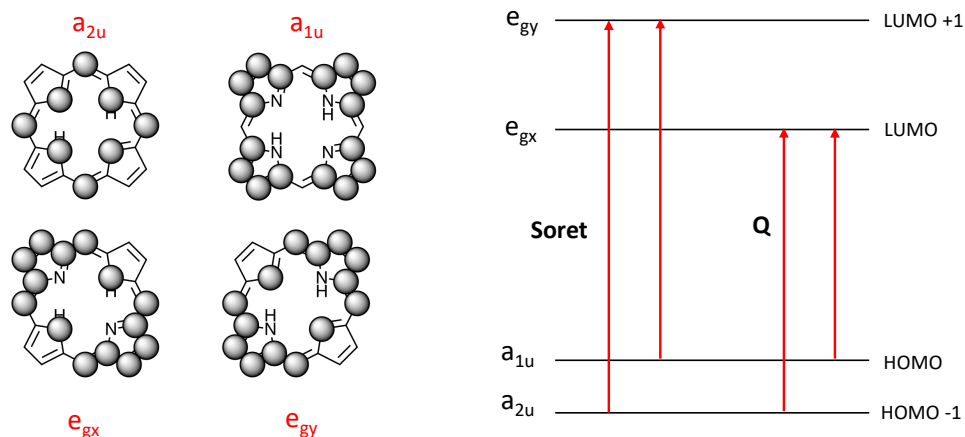
Comp.	Full scan [<i>m/z</i>]							
	[M]	[M+1] ⁺	[M+2] ⁺	[M+3] ⁺	[M+4] ⁺	[M+5] ⁺	[M+6] ⁺	[M+7] ⁺
46	-	708,5	709,5	710,5	711,5	-	-	-
49	769,38	770,38	771,38	772,38	773,38	774,38	-	-
50	768,38	769,38	770,38	771,38	772,38	773,25	774,75	-
47	-	945,75	946,75	947,75	948,75	-	-	-
51	1006,75	1007,75	1008,75	1009,75	1010,75	1011,75	1012,75	1013,75
52	1005,75	1006,75	1007,75	1008,63	1009,75	1010,63	-	-
48	-	789,5	790,5	791,5	792,38	-	-	-
53	850,38	851,38	852,38	853,38	854,38	855,38	856,38	857,38
54	-	850,38	851,38	852,38	853,38	854,38	-	-

Por medio de la espectroscopía ultravioleta visible, se evidenció las características electrónicas de los derivados de MPP **46-54**.

Las porfirinas al ser compuestos altamente conjugados y tener un flujo de electrones en el anillo tetrapirrólico son considerados como cromóforos aromáticos (contiene 22 electrones, pero 18 de ellos se encuentran deslocalizados cumpliendo la regla de Hückel). El espectro de absorción característico de las porfirinas se explica con el modelo de cuatro orbitales propuesto por Martin Gouterman (Figura 37). Según este modelo, las bandas que presenta el espectro son transiciones entre dos HOMO y dos LUMO ($\pi \rightarrow \pi^*$). Estas transiciones originaron dos estados excitados de mayor y menor energía, llamados bandas de Soret y Q respectivamente.⁵⁶⁻⁵⁸

Los orbitales moleculares ocupados más bajos HOMO y HOMO-1 corresponden a a_{1u} y a_{2u} respectivamente. El orbital a_{1u} presenta una densidad electrónica sobre los cuatro carbonos *meso* y los cuatro átomos de nitrógeno. El orbital a_{2u} con densidad electrónica sobre los carbonos de los anillos pirrólicos. Por otro lado, los orbitales moleculares desocupados más bajo (LUMO) pertenecen a e_{gx} y e_{gy} donde la densidad electrónica se encuentra sobre los átomos de carbono *meso*, dos nitrógenos pirrólicos (posiciones opuestas) y sus anillos pirrólicos.⁵⁶⁻⁵⁹

Figura 37. Transiciones electrónicas para las porfirinas según el modelo de Gouterman.



FUENTE: Adaptado de la referencia GIOVANNETTI, R. Macro To Nano Spectroscopy: The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins. InTech. 2012, p.87-108.

Debido a la similitud estructural de las porfirinas con las clorinas, resultó pertinente emplear el modelo de Gouterman para el análisis de los compuestos sintetizados. Estos compuestos absorben en la región comprendida entre el azul y rojo del espectro visible, y presentan en dos regiones características llamadas banda de Soret y bandas Q. La banda de Soret es la más intensa y se encuentra alrededor de los 480 nm, corresponde a la transición del estado fundamental a su segundo estado excitado ($S_0 \rightarrow S_2$). La segunda región, esta compuesta por cuatro bandas Q, intensidad débil localizadas al rededor de los 577-618 nm, correspondientes a la transición del estado fundamental al primer estado excitado ($S_0 \rightarrow S_1$).

En la Figura 38 se muestra el espectro de Uv-Vis en un rango de 280-800 nm del precursor MPP (**15**) y los compuestos (**46-48**). La MPP mostró máximos de absorción a 413 nm debido a la banda de Soret, y 507, 538, 610 y 667 nm que pertenecen a las bandas Q. Los compuestos (**46-48**), presentaron máximos de absorción a 401 nm (banda de Soret) y el conjunto de bandas Q alrededor de 499-672 nm. Al comparar los compuestos **46-48** con el precursor MPP, se observó un desplazamiento hipsocrómico tanto de la banda de Soret como las bandas Q. En la Tabla 8 se resumen los máximos de absorción para la MPP y sus derivados.

Figura 38. Espectro de absorción UV-Vis para la MPP y sus derivados.

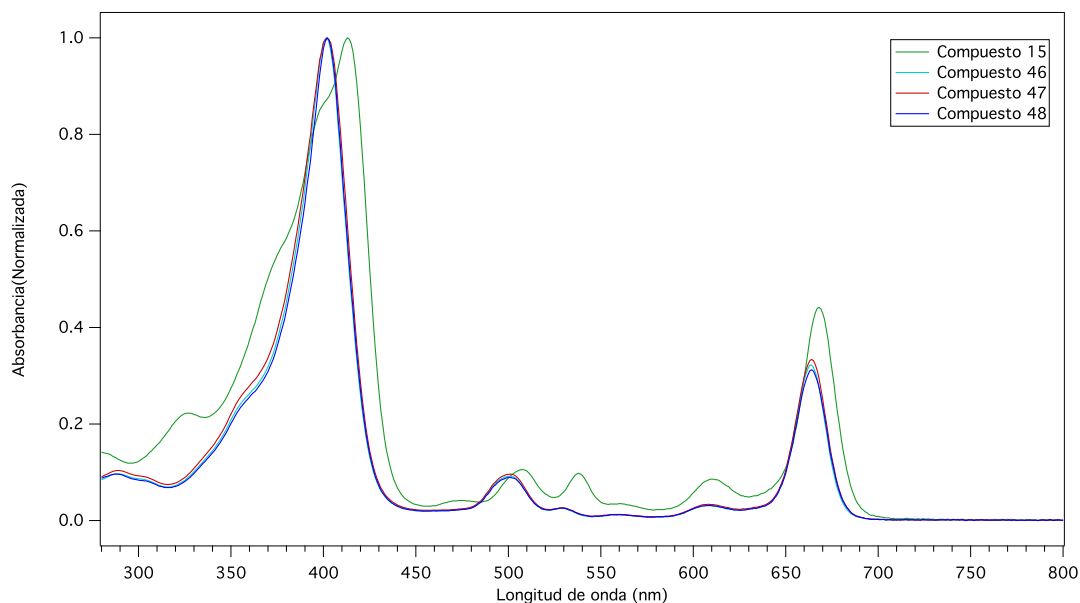


Tabla 8. UV-Vis de absorción de la MPP y sus correspondientes derivados de amidas.

Compuesto	λ_{max} (nm)				
	Banda de Soret	Bandas Q			
		λ_1	λ_2	λ_3	λ_4
15	413	507	538	610	667
46	401	499	530	607	664
47	401	500	530	608	664
48	401	500	529	608	664

En la Figura 39 se presenta el espectro de absorción UV-Vis para el 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos Zn (II) y Cu (II). Al comparar los espectros de las metaloclorinas con el compuesto **46** se observó un cambio de longitud de onda más larga (desplazamiento batocrómico) de la banda de Soret y un desplazamiento hipsocrómico de las bandas Q. Este último desplazamiento es causado por la sustitución de cationes divalentes, los cuales modificaron la geometría de la molécula y por tanto, varió las propiedades de los cromóforos. Por otra parte, se evidenció una disminución en la intensidad y el número de las bandas Q para los compuestos metálicos, debido al aumento de simetría de la molécula causado por la coordinación de los átomos de nitrógeno del macrociclo con el ion metálico. En la Tabla 9 se resumen los máximos de absorción para los compuestos

46-54 y sus respectivos complejos metálicos.

Figura 39. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.

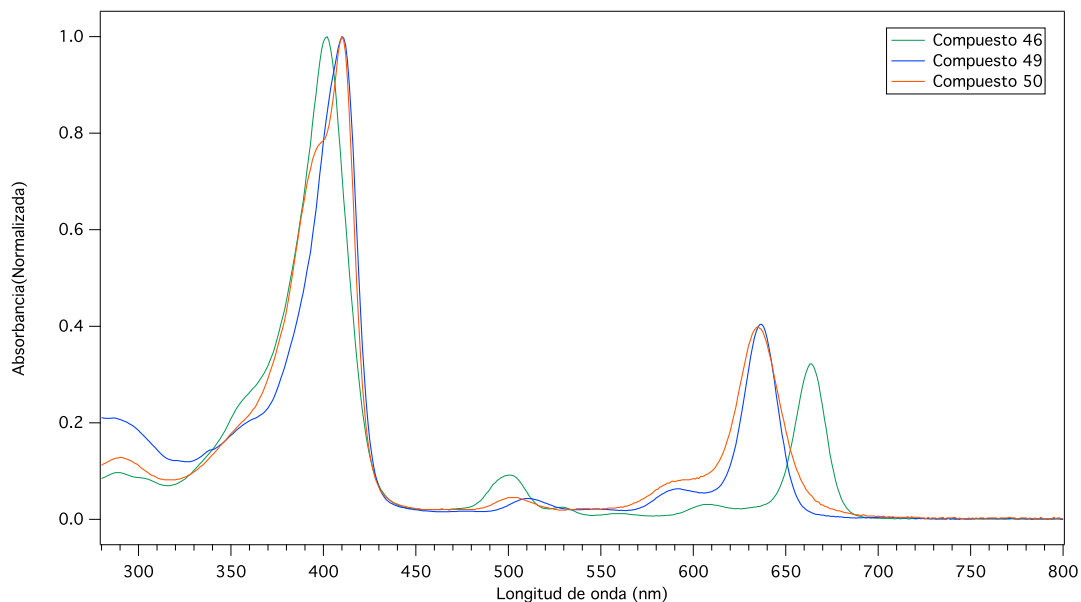
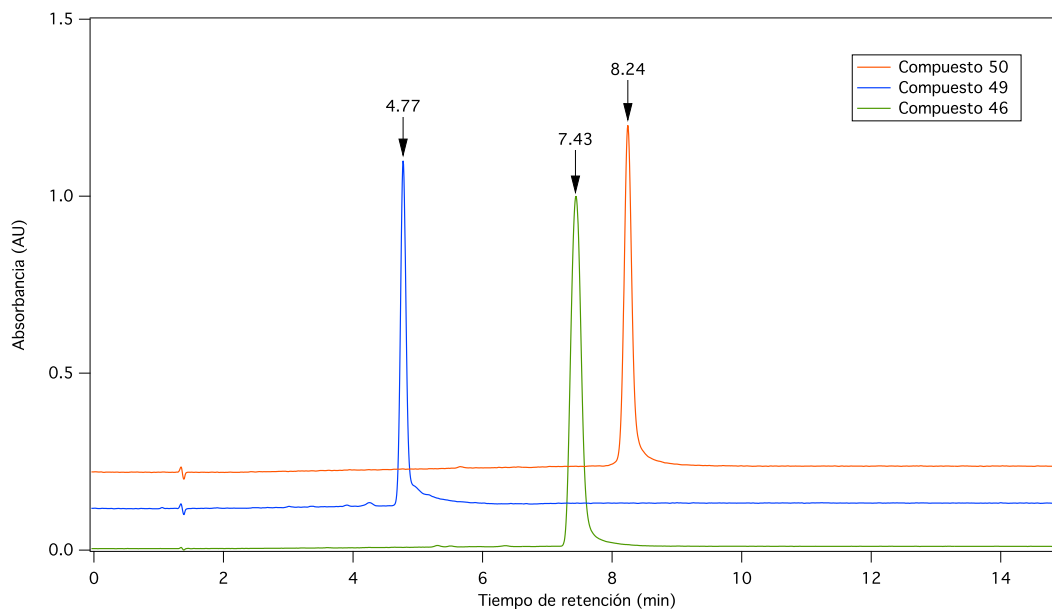


Tabla 9. Máximos de absorción UV-Vis para los compuestos **46-54**

Compuesto	λ_{max} (nm)				
	Banda de Soret	Bandas Q			
		λ_1	λ_2	λ_3	λ_4
46	401	499	530	607	664
49	410	509	-	589	637
50	410	503	-	587	634
47	401	500	530	608	664
51	411	504	-	589	637
52	411	501	-	589	635
48	401	500	529	608	664
53	411	511	-	590	636
54	411	501	-	588	635

La purificación de los compuestos se evidenció por cromatografía de alta eficacia (HPLC) analítica a diferentes longitudes de onda. En la Figura 40 se presenta el perfil cromatográfico del compuesto 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 (**46**) y sus complejos metálicos Zn (II) y Cu (II), con longitud de onda en el detector a 360 nm. Se observó para los tres compuestos un sólo pico cromatográfico, donde el complejo metálico de Zn (II) eluyó a un tiempo de retención menor al precursor (**46**) por la poca interacción con la fase estacionaria, debido a la estructura tetraédrica del complejo (configuración electrónica d^{10}). Los complejos de cobre (II) presenta una configuración electrónica d^9 con una conformación cuadrado planar lo que permite una mayor interacción con la fase estacionaria y por lo tanto, la retención es mayor.⁶⁰ En los Anexos se encuentran los perfiles cromatográficos para los compuestos (**47-54**), los cuales también registraron un sólo pico cromatográfico de manera que indicaron su grado de pureza.

Figura 40. Perfil cromatográfico para 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos Zn (II) y Cu (II).



5. CONCLUSIONES

Se prepararon derivados de metilfeoforbida-*a*, a través de síntesis sencillas basadas en reacciones clásicas como la transesterificación y la sustitución nucleofílica. Las metaloclorinas se sintetizaron de forma sencilla, económica y con buenos porcentajes de rendimiento, por medio de una reacción directa entre el ligando y el metal.

Se encontró que la metilfeoforbida-*a*, es más estable que la clorofila, lo que llevo a una fácil construcción de derivados con sustituyentes de aminas. La MPP resulta ser un precursor idóneo para realizar numerosos de derivados de clorinas.

Se evidenció que la sustitución nucleofílica favoreció el rompimiento del anillo exocíclico para la sustitución de las aminas alifáticas, debido a la presencia de un centro nucleófilo estéricamente accesible. Cabe recalcar que la sustitución también es posible en los posibles grupo éster, obteniendo una di o tri sustitución.

Se logró caracterizar exitosamente los derivados de MPP sintetizados mediante las técnicas espectroscópicas planteadas (IR, ESI, RMN, UV-Vis). Por medio de espectroscopia de absorción UV-Vis se observó el patrón característico de este tipo de moléculas, con una banda intensa de Soret en la región azul y cuatro bandas Q menos intensas en la región roja para los compuestos (**46-48**). Por otro lado, las metaloclorinas (**49-54**) presentaron una disminución en las bandas Q debido a la simetría que causa al coordinarse con un metal.

Se obtuvo muestras significativas para la posterior evaluación en terapia fotodinámica para células cancerígenas. Candidato prometedor para desarrollarse como un fotosensibilizador, gracias a sus propiedades fotofísicas tales como los máximos de absorción en la longitud de onda del rojo (675 nm).

Con el objeto de llevar un control de la reacción con aminas, se recomienda caracterizar los demás compuestos aislados de cada crudo de reacción para confirmar todas las sustituciones posibles.

6. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

Resultados parciales fueron expuestos mediante la modalidad de póster en el XVII Congreso Colombiano de Química, realizado los días 25 al 27 de octubre de 2017 en la ciudad de Bucaramanga, Colombia.

The certificate features a header with a red and blue geometric design. On the left, a yellow circle contains the logo for the XVII Congreso Colombiano de Química Bucaramanga 2017. To the right, text specifies the congress dates (October 22-23-24) and the theme: "Aportes de la química a los desafíos del siglo XXI".

CERTIFICADO
OTORGADO A: *Rodríguez, K. D. ; Ramírez, J. S. ; Pinzón, J. R.*

Por su participación como ponente del trabajo
SÍNTESIS DE COMPUESTOS FOTSENSIBILIZADORES DERIVADOS DE CLOROFILA CON POTENCIAL ACTIVIDAD BIOLÓGICA

en el
XVII Congreso Colombiano de Química
"Aportes de la Química a los desafíos del siglo XXI"
realizado en Bucaramanga, Colombia del 25 al 27 de Octubre 2017

Two signatures are present: Dr. Miguel Rafael Tobar Carrizosa, Presidente Asociación Química Colombiana, and Dr. José Antonio Henao Martínez, Presidente Comité Organizador Presidente Asociación Química Colombiana Seccional Oriente.

Logos at the bottom include: ASOCIACIÓN QUÍMICA COLOMBIANA; Universidad Industrial de Santander (Facultad de Ciencias, Escuela de Química); UNIVERSIDAD SANTO TOMAS (Primera Facultad Universitaria de Colombia); and Consejo Profesional de Química Colombia (CPQCOL).

7. CITAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Eliana; *et al.* Potential applications of porphyrins in photodynamic inactivation beyond the medical scope. *J. Photoch. Photobio. C.* 2015, vol.22., p.34-57.

AMAO, Yutaka; YAMADA, Yuriko y AOKI, Keiko. Preparation and properties of dye-sensitized solar cell using chlorophyll derivative immobilized TiO₂ film electrode. *J. Photoc. Photobio. A.* 2004, vol.164 no.1., p.47-51.

AMOR, Thameur Ben y JORI, Giulio. Sunlight-activated insecticides: historical background and mechanisms of phototoxic activity. *Insect. Biochem. Molec.* 2000, vol.30 no.10., p.915-925.

AZIZULLAH, Azizullah; *et al.* Chlorophyll derivatives can be an efficient weapon in the fight against dengue. *Parasitol. Res.* 2014, vol.113 no.12., p.4321-4326.

BARRY, Cornelius S. The stay-green revolution: Recent progress in deciphering the mechanisms of chlorophyll degradation in higher plants. *Plant Science.* 2009, vol.176 no.3., p.325-333.

BEACK, Songeun; *et al.* Photodynamic therapy of melanoma skin cancer using carbon dot – chlorin e6 – hyaluronate conjugate. *Acta Biomater.* 2015, vol.26., p.295-305.

BEALE, Samuel I. *The Chlamydomonas Sourcebook (Second Edition): Chapter 20 - Biosynthesis of Chlorophylls and Hemes.* London: Academic Press. 2009, p.731-798. ISBN 978-0-12-370873-1

BELYKH, D. V.; *et al.* Opening of the extra ring in pheophorbide a methyl ester by the action of amines as a one-step method for introduction of additional fragments at the periphery of chlorin macroring. *Russ. J. Org. Chem.* 2010, vol.46 no.4., p.577-585.

BEREZIN, B. D. y BEREZIN, M. B. y ZVEZDINA, S. V. Synthesis and use of ecologically pure metal-containing dyes based on chlorophyll derivatives. *Russ. J. Coord. Chem.* 2006, vol.32 no.3., p.226-230.

CASTELFRANCO, Paul A. Studies on chlorophyll biosynthesis and other things. *Photosynth. Res.* 2007, vol.91 no.1., p.25-36.

DABROWSKI, Janusz M.; *et al.* Engineering of relevant photodynamic processes through structural modifications of metallotetrapyrrolic photosensitizers. *Coordin. Chem. Rev.* 2016, vol.325, p.67-101.

DEROSA, Maria C y CRUTCHLEY, Robert J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordin. Chem. Rev.* 2002, vol.233-234, p.351-371.

DONNELLY. R; MC CARRON, P. y Tunney, M. Antifungal photodynamic therapy. *Microbiol.*

Res. 2008, vol.163 no.1., p.1-12.

ER, Ozge; *et al.* Primary evaluation of a nickel-chlorophyll derivative as a multimodality agent for tumor imaging and photodynamic therapy. *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 2015, vol.306 no.1., p.155-163.

ERTEN-ELA, Sule; *et al.* Synthesis of zinc chlorophyll materials for dye-sensitized solar cell applications. *Spectrochim. Acta A.* 2015, vol.135, p.676-682.

ERZINGER, Gilmar Sidnei; *et al.* Optimizing conditions for the use of chlorophyll derivatives for photodynamic control of parasites in aquatic ecosystems. *Parasitol. Res.* 2011, vol.109 no.3., p.781-786.

ERZINGER, Gilmar Sidnei; *et al.* Assessment of the impact of chlorophyll derivatives to control parasites in aquatic ecosystems. *J. Ecotoxicology.* 2015, vol.24 no.4., p.949-958.

FERRUZZI, Mario G. y BLAKESLEE, Joshua. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutr. Res.* 2007, vol.27 no.1., P.1-12.

GEISSMAN. T. A. *Principios de Química Orgánica.* Reverté. 1973. ISBN 978-8-42-917180-8

GIOVANNETTI, R. *Macro To Nano Spectroscopy: The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins.* InTech. 2012, p.87-108.

GUSHCHINA, Olga I; *et al.* Synthesis of amide derivatives of chlorin e6 and investigation of their biological activity. *J. Photoch. Photobio. B.* 2015, vol.153., p.76-81.

GUO, Jun-Tao; *et al.* Chlorophyll-Catalyzed Visible-Light-Mediated Synthesis of Tetrahydroquinolines from N,N-Dimethylanilines and Maleimides. *J. Org. Chem.* 2017, vol.82 no.4., p.1888-1894.

GUO, Xiuhan; *et al.* Syntheses of new chlorin derivatives containing maleimide functional group and their photodynamic activity evaluation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015, vol.25 no.19., p.4078-4081.

HAMBLIN, Michael R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr. Opin. Microbiol.* 2016, vol.33., p.67-73.

HELAJA, Juho. *Structural Analysis of Natural Chlorin Derivatives Utilizing NMR Spectroscopy and Molecular Modelling.* Ph. D. thesis, University of Helsinki, Faculty of Science, Department of Chemistry. 2000

HORTENSTEINER, Stefan y KRAUTLER, Bernhard. Chlorophyll breakdown in higher plants. *BBA-Bioenergetics.* 2011, vol. 1807 no. 8., p.977 - 988.

KANEKO, Jerry J. *Clin. Biochem. of Domestic Animals, Chapter 8 - Porphyrins and the Porphyrins.* San Diego: Academic Press, Sixth Edition. 2008, p.241-258. ISBN 978-0-12-

370491-7

KANG, Yu-Ra Kang; *et al.* Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins. *Food Chem.* 2018, vol.245, p. 943 - 950.

KITAGAWA, Teizo y OZAKI, Yukihiro. *Infrared and Raman spectra of metalloporphyrins.* Springer Berlin Heidelberg. 1987, p.71-114.

KOZYREV, Andrei N; *et al.* Characterization of Porphyrins, Chlorins, and Bacteriochlorins Formed via Allomerization of Bacteriochlorophyll a. Synthesis of Highly Stable Bacteriopurpurinimides and Their Metal Complexes. *J. Org. Chem.* 2006, vol.71 no.5., p.1949-1960.

LAHA, Joydev K; *et al.* A New Route for Installing the Isocyclic Ring on Chlorins Yielding 131-Oxophorbines. *J. Org. Chem.* 2006, vol.71 no.18., p.7049-7052.

LIM, Siang Hui; *et al.* Photodynamic Characterization of Amino Acid Conjugated 151-Hydroxypurpurin-7-lactone for Cancer Treatment. *Mol. Pharmaceutics.* 2014, vol.11 no.9., p.3164-3173.

LODISH, Harvey. *Biología Celular y Molecular. Médica Paramericana.* 2005, p.331-347. ISBN 978-9-50-061374-3

MIRONOV, A. F. y GRIN, M.A. Synthesis of chlorin and bacteriochlorin conjugates for photodynamic and boron neutron capture therapy. *J. Porphyr. Phthalocya.* 2008, vol.12 no.11., p.1163-1172.

NGUYEN, D. Thao; LENSTRA, Danny C. y MECINOVIC, Jasmin. Chemoselective calcium-catalysed direct amidation of carboxylic esters. *RSC Adv.* 2015, vol. 5, p.77658-77661.

OH, In-hyeok; *et al.* Cancer cell-specific photoactivity of pheophorbide a-glycol chitosan nanoparticles for photodynamic therapy in tumor-bearing mice. *Biomaterials.* 2013, vol.34 no.27., p.6454-6463.

PAVLOV V. Yu. y PONOMAREV, G. V. Modification of the Peripheral Substituents in Chlorophylls a and b and Their Derivatives (Review). *Chem. Heterocyc. Com.* 2004, vol.40 no.4., p.393-425.

RAJORA, M. A.; LOU, J. W. H. y ZHENG, G. Advancing porphyrin's biomedical utility via supramolecular chemistry. *Chem. Soc. Rev.* 2017, vol.46, p.6433-6469.

RAPOZZI, Valentina; *et al.* The PDT activity of free and pegylated pheophorbide a against an amelanotic melanoma transplanted in C57/BL6 mice. *Investigational New Drugs.* 2013, vol.31 no.1., p.192-199.

REBEIZ, Constantin A. *Chlorophyll Biosynthesis and Technological Applications.* Springer Netherlands. 2014, p.359-453.

RYAN, Aoife y SENGE, Mathias. How green is green chemistry? Chlorophylls as a biore-source from biorefineries and their commercial potential in medicine and photovoltaics. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2015, vol.14., p.638-660.

SCHEER, Hugo. *Encyclopedia of Biological Chemistry: Chlorophylls and Carotenoids*. Acad. Press. 2013, p.498-505.

SCHENK, Martijn F. y DE Visser, J. Predicting the evolution of antibiotic resistance. *J. BMC Biology*. 2013, vol.11 no.1., p.14.

SHOJI, Sunao; HASHISHIN, Takeshi y TAMIYAKI, Hitoshi. Construction of Chlorosomal Rod Self-Aggregates in the Solid State on Any Substrates from Synthetic Chlorophyll Derivatives Possessing an Oligomethylene Chain at the 17-Propionate Residue. *Chem. Eur. J.* 2012, vol.18 no.42., p.13331-13341.

SMITH, K.; GOFF, D. y SIMPSON, D. Meso Substitution of Chlorophyll Derivatives: Direct Route for Transformation of Bacteriopheophorbides d into Bacteriopheophorbides c. *J. Am. Chem. Soc.* 1985, vol.107, p.4946-4954.

SMITH, K.; GOFF, D. y ABRAMHAM, R. The NMR spectra of porphyrins. 27—proton NMR spectra of chlorophyll-a and pheophytin-a. *Org.Magn. Resonance*. 1984, vol.22 no.12., p.779-783.

SU, Yujie; *et al.* Photodynamic antimicrobial activity of hypocrellin A. *J. Photoch. Photobio. B.* 2011, vol.103 no.1., p.29-34.

TANAKA, Ryouichi y TANAKA, Ayumi. Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the light-harvesting complexes. *BBA- Bioenergetics*. 2011, vol.1807 no.8., p.968-976.

TANAKA, Ayumi y TANAKA, Ryouichi. Chlorophyll metabolism. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 2006, vol.9 no.3., p.248-255.

TEGOS, George; *et al.* Concepts and Principles of Photodynamic Therapy as an Alternative Antifungal Discovery Platform. *Front. Microbiol.* 2012, vol.3 no.120., p.1-16.

TRIPATHY, Baishnab C. y PATTANAYAK, Gopal K. *The Chloroplast: Basics and Applications*. Springer. 2009, vol.31.

TYYSTJARVI, Esa. *Plant Cell Death Processes: 18 - Phototoxicity*. San Diego: Academic Press. 2004, p.271-283. ISBN 978-0-12-520915-1

UVAROVA, M. I.; BRYKINA, G. D. y SHPIGUN, O. A. Porphyrins and Phthalocyanines in High-Performance Liquid Chromatography. *J. Anal. Chem.* 2000, vol.55 no.10., p.910-925.

WOOLLEY, Paul; *et al.* A comparative study of the allomerization reaction of chlorophyll a

and bacteriochlorophyll a. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 1998, p.1833-1840.

World Health Organization. Tuberculosis Factsheet, Online. [En línea] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>. (Recuperado el 7 junio 2017)

YOU, Hyun; *et al.* Synthesis of pheophorbide-a conjugates with anticancer drugs as potential cancer diagnostic and therapeutic agents. Bioorg. Med. Chem. 2011, vol.19 no.18., p.5383-5391.

ZHENG, W.; *et al.* UV-visible, fluorescence and EPR properties of porphyrins and metallo-porphyrins. Dyes Pigments. 2008, vol.77, p.153-157.

ZVEZDINA, S. V.; BEREZIN, M. B. y BEREZIN, B. D. Natural dyes based on chlorophyll and protoporphyrin derivatives. Russ. J. Coord. Chem. 2010, vol.36 no.9., p.711-714.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ryan, A.; Senge, M. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2015**, *14*, 638–660.
- [2] Gushchina, O. I.; Larkina, E.; Nikolskaya, T.; Mironov, A. *J. Photoch. Photobio. B* **2015**, *153*, 76–81.
- [3] Amao, Y.; Yamada, Y.; Aoki, K. *J. Photoc. Photobio. A* **2004**, *164*, 47 – 51.
- [4] Guo, J.-T.; Yang, D.-C.; Guan, Z.; He, Y.-H. **2017**, *82*, 1888–1894.
- [5] Rebeiz, C. *Chlorophyll Biosynthesis and Technological Applications*; Springer Netherlands, 2014; pp 359–453.
- [6] Beack, S.; Kong, W. H.; Jung, H. S.; Do, I. H.; Han, S.; Kim, H.; Kim, K. S.; Yun, S. H.; Hahn, S. K. *Acta Biomater.* **2015**, *26*, 295 – 305.
- [7] Azizullah, A.; Rehman, Z. U.; Ali, I.; Murad, W.; Muhammad, N.; Ullah, W.; Häder, D.-P. *Parasitol. Res.* **2014**, *113*, 4321–4326.
- [8] Erzinger, G. S.; Souza, S. C.; Pinto, L. H.; Hoppe, R.; Del Ciampo, L. F.; Souza, O.; Correia, C. H. G.; Häder, D.-P. *Ecotoxicology* **2015**, *24*, 949–958.
- [9] Schenk, M. F.; de Visser, J. A. G. *BMC Biology* **2013**, *11*, 14.
- [10] Tuberculosis Factsheet, Online, Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>.
- [11] Donnelly, R.; McCarron, P.; Tunney, M. *Microbiol. Res.* **2008**, *163*, 1–12.
- [12] Hamblin, M. R. *Curr. Opin. Microbiol.* **2016**, *33*, 67–73.
- [13] Alves, E.; Faustino, M. A.; Neves, M. G.; Cunha, Â.; Nadais, H.; Almeida, A. *J. Photoch. Photobio. C* **2015**, *22*, 34 – 57.
- [14] Kaneko, J. J. In *Clin. Biochem. of Domestic Animals*, sixth edition ed.; Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L., Eds.; Academic Press: San Diego, 2008; pp 241–258.
- [15] Kozyrev, A. N.; Chen, Y.; Goswami, L. N.; Tabaczynski, W. A.; Pandey, R. K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1949–1960.
- [16] Scheer, H. In *Encyclopedia of Biological Chemistry*; Lennarz, W. J., Lane, M. D., Eds.; Acad. Press: Waltham, 2013; pp 498–505.
- [17] Hortensteiner, S.; Krautler, B. *BBA-Bioenergetics* **2011**, *1807*, 977 – 988.
- [18] Tanaka, R.; Tanaka, A. *BBA- Bioenergetics* **2011**, *1807*, 968–976.
- [19] Laha, J. K.; Muthiah, C.; Taniguchi, M.; Lindsey, J. S. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7049–7052.
- [20] Lodish, H. *Biología Celular y Molecular*; Médica Paramericana, 2005.

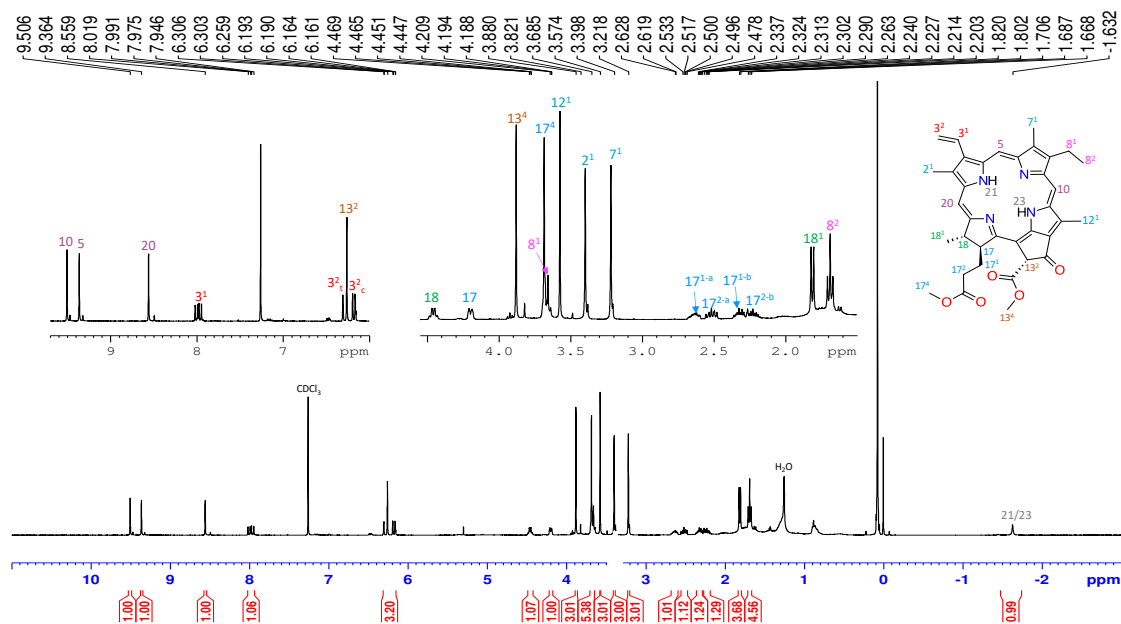
- [21] Ferruzzi, M. G.; Blakeslee, J. *Nutr. Res.* **2007**, *27*, 1–12.
- [22] Geissman, T. *Principios de Química Orgánica*; Reverté, 1973.
- [23] Castelfranco, P. A. *Photosynth. Res.* **2007**, *91*, 25–36.
- [24] Tanaka, A.; Tanaka, R. *Curr. Opin. Plant. Biol* **2006**, *9*, 248–255.
- [25] Tripathy, B. C.; Pattanayak, G. K. *Photosynthesis: Plastid Biology, Energy Conversion and Carbon Assimilation*; Springer Netherlands: Dordrecht, 2012; pp 63–94.
- [26] Beale, S. I. In *The Chlamydomonas Sourcebook (Second Edition)*; Harris, E. H., Stern, D. B., Witman, G. B., Eds.; Academic Press: London, 2009; pp 731 – 798.
- [27] Pavlov, V. Y.; Ponomarev, G. V. *Chem. Heterocyc. Com.* **2004**, *40*, 393–425.
- [28] S. Woolley, P.; J. Moir, A.; E. Hester, R.; J. Keely, B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1998**, 1833–1840.
- [29] Guo, X.; Wang, L.; Wang, S.; Li, Y.; Zhang, F.; Song, B.; Zhao, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 4078–4081.
- [30] Berezin, B. D.; Berezin, M. B.; Zvezdina, S. V. *Russ. J. Coord. Chem.* **2006**, *32*, 226–230.
- [31] Barry, C. S. *Plant Science* **2009**, *176*, 325 – 333.
- [32] Zvezdina, S. V.; Berezin, M. B.; Berezin, B. D. *Russ. J. Coord. Chem.* **2010**, *36*, 711–714.
- [33] Amor, T. B.; Jori, G. *Insect. Biochem. Molec.* **2000**, *30*, 915–925.
- [34] Tegos, G.; Dai, T.; Fuchs, B.; Coleman, J.; Prates, R.; Astrakas, C.; St Denis, T.; Ribeiro, M.; Mylonakis, E.; Hamblin, M. *Front. Microbiol.* **2012**, *3*, 1–16.
- [35] Tyystjärvi, E. In *Plant Cell Death Processes*; Noodén, L. D., Ed.; Academic Press: San Diego, 2004; pp 271–283.
- [36] Rapozzi, V.; Zorzet, S.; Zacchigna, M.; Drioli, S.; Xodo, L. E. *Investigational New Drugs* **2013**, *31*, 192–199.
- [37] Rajora, M. A.; Lou, J. W. H.; Zheng, G. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 6433–6469.
- [38] Su, Y.; Sun, J.; Rao, S.; Cai, Y.; Yang, Y. *J. Photoch. Photobio. B.* **2011**, *103*, 29–34.
- [39] DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coordin. Chem. Rev.* **2002**, *233-234*, 351–371.
- [40] Tripathy, B. C.; Pattanayak, G. K. In *The Chloroplast: Basics and Applications*; iz, C. A., Benning, C., Bohnert, H. J., Daniell, H., Hooper, J. K., Lichtenthaler, H. K., Portis, A. R., Tripathy, B. C., Eds.
- [41] Mironov, A.; Grin, M. *J. Porphyr. Phthalocya* **2008**, *12*, 1163–1172.

- [42] You, H.; Yoon, H.-E.; Yoon, J.-H.; Ko, H.; Kim, Y.-C. *Bioorgan. Med. Chem.* **2011**, *19*, 5383–5391.
- [43] Erzinger, G. S.; Wohllebe, S.; Vollrath, F.; Souza, S. C.; Richter, P.; Lebert, M.; Häder, D.-P. *Parasitol. Res.* **2011**, *109*, 781–786.
- [44] Oh, I.-h.; Min, H. S.; Li, L.; Tran, T. H.; Lee, Y.-k.; Kwon, I. C.; Choi, K.; Kim, K.; Huh, K. M. *Biomaterials* **2013**, *34*, 6454–6463.
- [45] Lim, S. H.; Yam, M. L.; Lam, M. L.; Kamarulzaman, F. A.; Samat, N.; Kiew, L. V.; Chung, L. Y.; Lee, H. B. *Molecular Pharmaceutics* **2014**, *11*, 3164–3173.
- [46] Erten-Ela, S.; Vakuliuk, O.; Tarnowska, A.; Ocakoglu, K.; Gryko, D. T. *Spectrochim. Acta A.* **2015**, *135*, 676–682.
- [47] Shoji, S.; Hashishin, T.; Tamiaki, H. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 13331–13341.
- [48] Er, O.; Lambrecht, F. Y.; Ocakoglu, K.; Kayabasi, C.; Gunduz, C. *J. Radioanal. Nucl. Ch.* **2015**, *306*, 155–163.
- [49] Smith, K.; Goff, D.; Simpson, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4946–4954.
- [50] Belykh, D. V.; Kopylov, E. A.; Gruzdev, I. V.; Kuchin, A. V. *Russ. J. Org. Chem.* **2010**, *46*, 577–585.
- [51] Nguyen, D. T.; Lenstra, D. C.; Mecinovic, J. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 77658–77661.
- [52] Miyatake, T.; Hasunuma, Y.; Mukai, Y.; Oki, H.; Watanabe, M.; Yamazaki, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 1155 – 1161.
- [53] Helaja, J. Structural Analysis of Natural Chlorin Derivatives Utilizing NMR Spectroscopy and Molecular Modelling. Ph.D. thesis, University of Helsinki, Faculty of Science, Department of Chemistry, 2000.
- [54] Smith, K. M.; Goff, D. A.; Abraham, R. J. *Org. Magn. Resonance* **1984**, *22*, 779–783.
- [55] Kitagawa, T.; Ozaki, Y. Infrared and Raman spectra of metalloporphyrins. Metal Complexes with Tetrapyrrole Ligands I. Berlin, Heidelberg, 1987; pp 71–114.
- [56] Dabrowski, J. M.; Pucelik, B.; Regiel-Futyr, A.; Brindell, M.; Mazuryk, O.; Kyziol, A.; Stochel, G.; Macyk, W.; Arnaut, L. G. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *325*, 67–101.
- [57] Kang, Y.-R.; Park, J.; Jung, S. K.; Chang, Y. H. *Food Chem.* **2018**, *245*, 943 – 950.
- [58] Zheng, W.; Shan, N.; Yu, L.; Wang, X. *Dyes Pigments* **2008**, *77*, 153–157.
- [59] Giovannetti, R. In *Macro To Nano Spectroscopy*; Uddin, D. J., Ed.; InTech, 2012; Chapter The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins., pp 87–108.
- [60] Uvarova, M. I.; Brykina, G. D.; Shpigun, O. A. *J. Anal. Chem.* **2000**, *55*, 910–925.

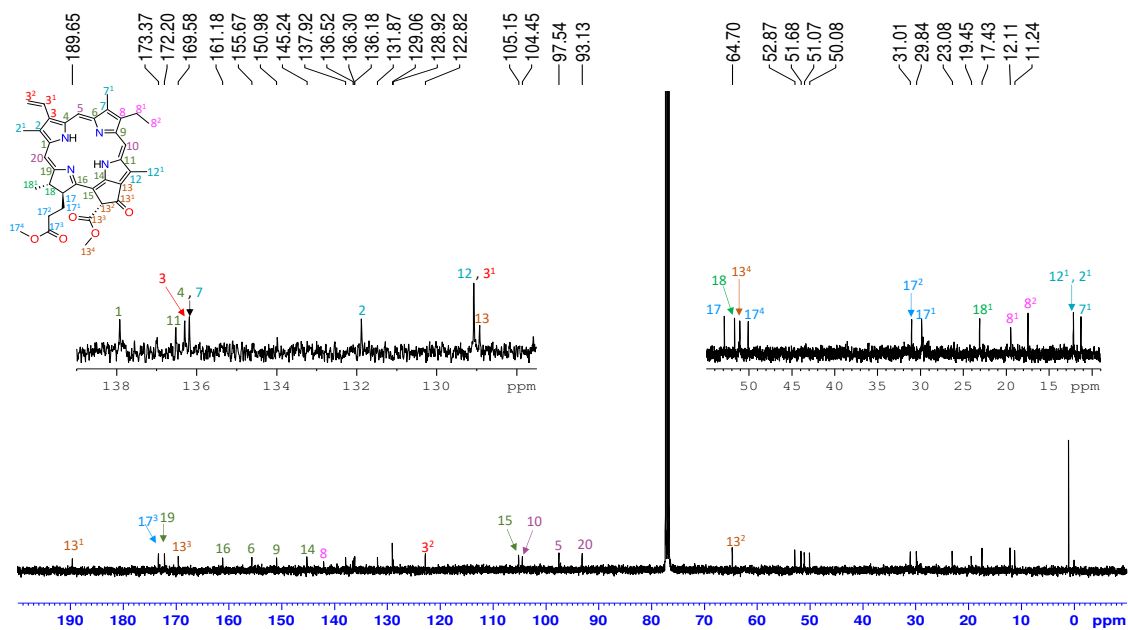
ANEXOS

1. Espectros RMN ^1H , RMN ^{13}C , IR, ESI-MS y perfil cromatográfico de la metilfeorbida-a (15).

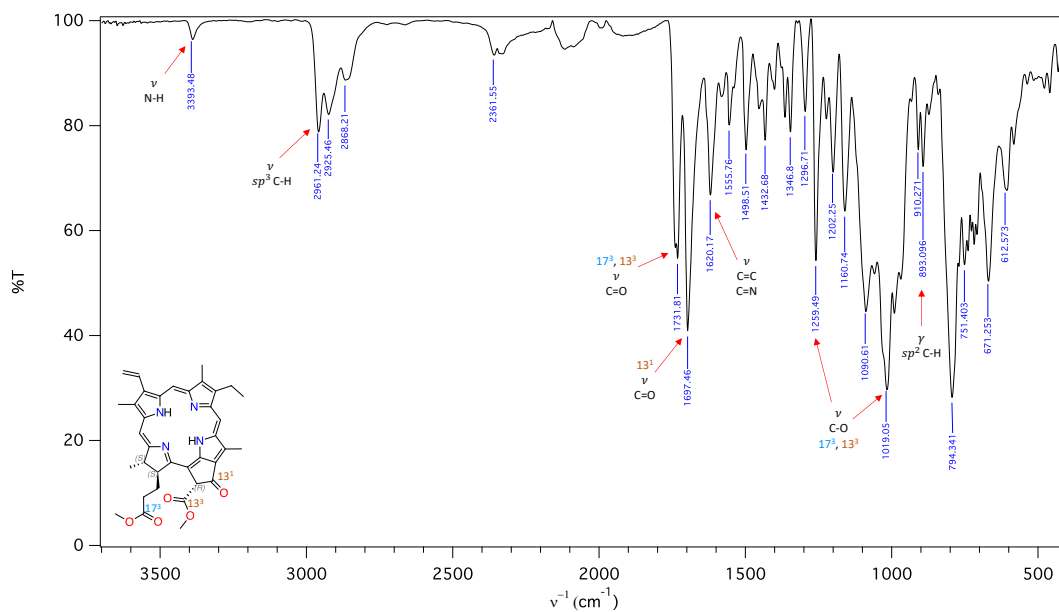
Anexo 1. Espectro de RMN ^1H de la metilfeorbida-a.



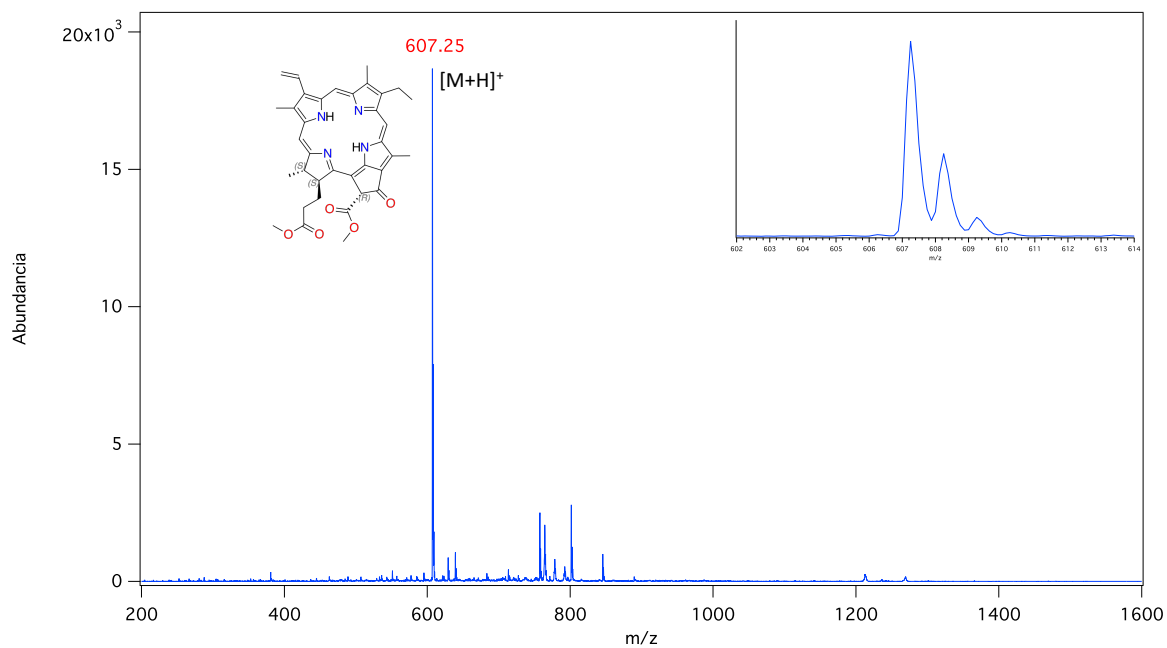
Anexo 2. Espectro de RMN ^{13}C de la metilfeorbida-a.



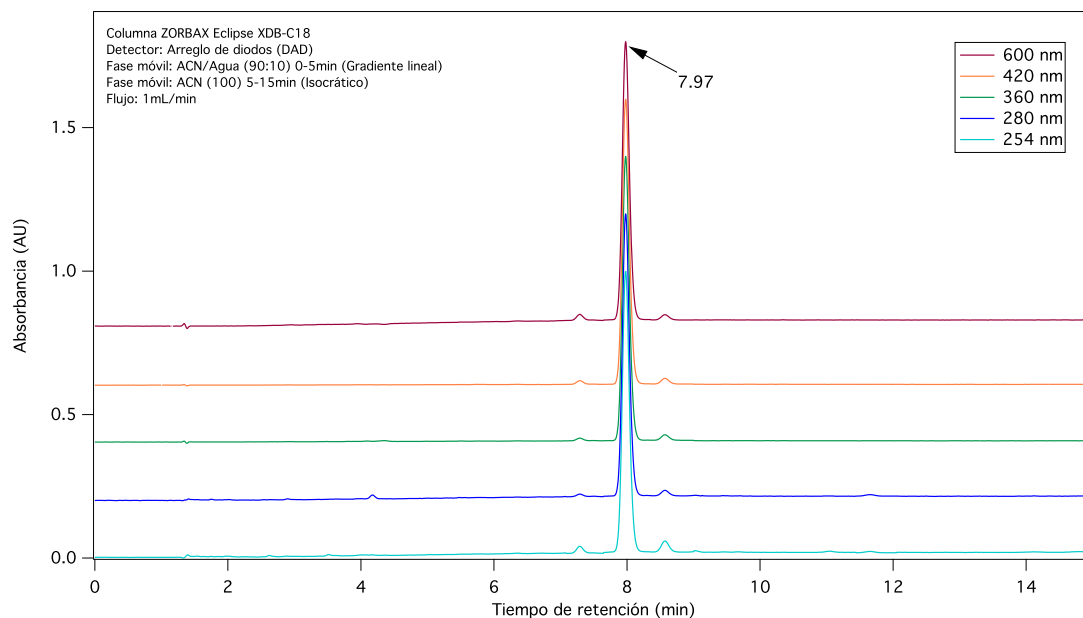
Anexo 3. Espectro IR de la metilfeoforbida-a.



Anexo 4. Espectro de masas de la metilfeoforbida-a.



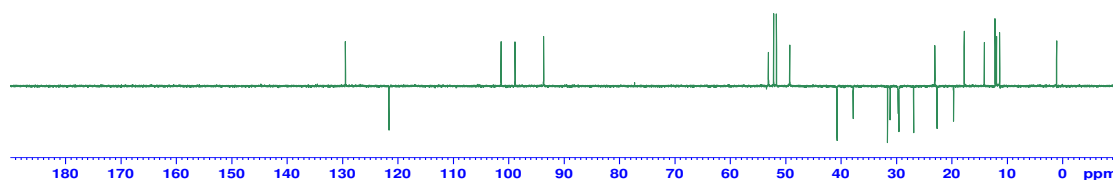
Anexo 5. Perfil cromatográfico de alta eficiencia de la metilfeoforbida -a.



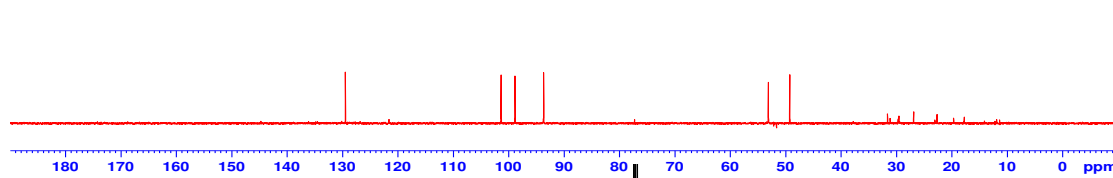
2. Espectros RMN DEPT 90, DEPT 135, COSY ^1H - ^1H , HSQC, HMBC, IR, ESI-MS y perfil cromatográfico del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 (46).

Anexo 6. Espectro de RMN ^{13}C , DEPT 90 y DEPT 135 del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.

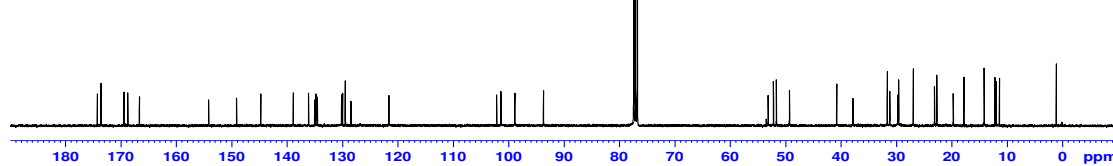
DEPT 135



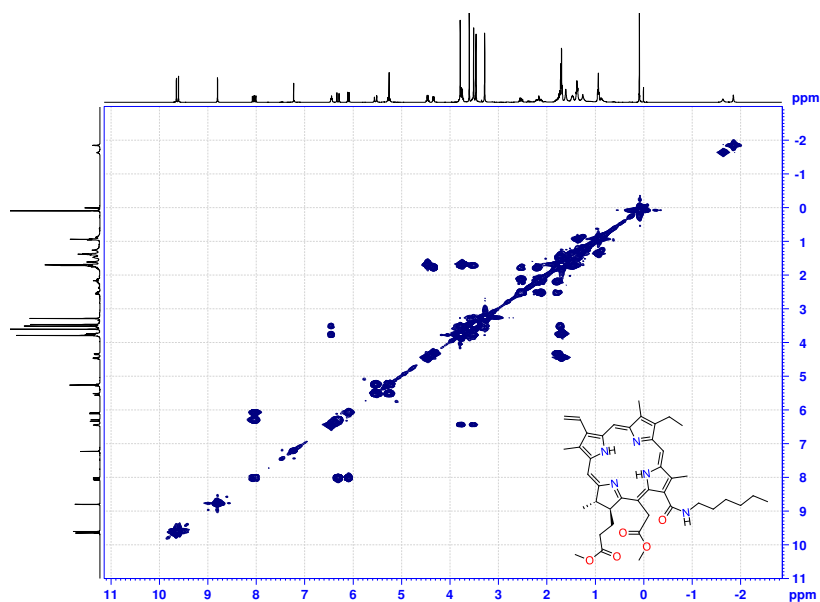
DEPT 90



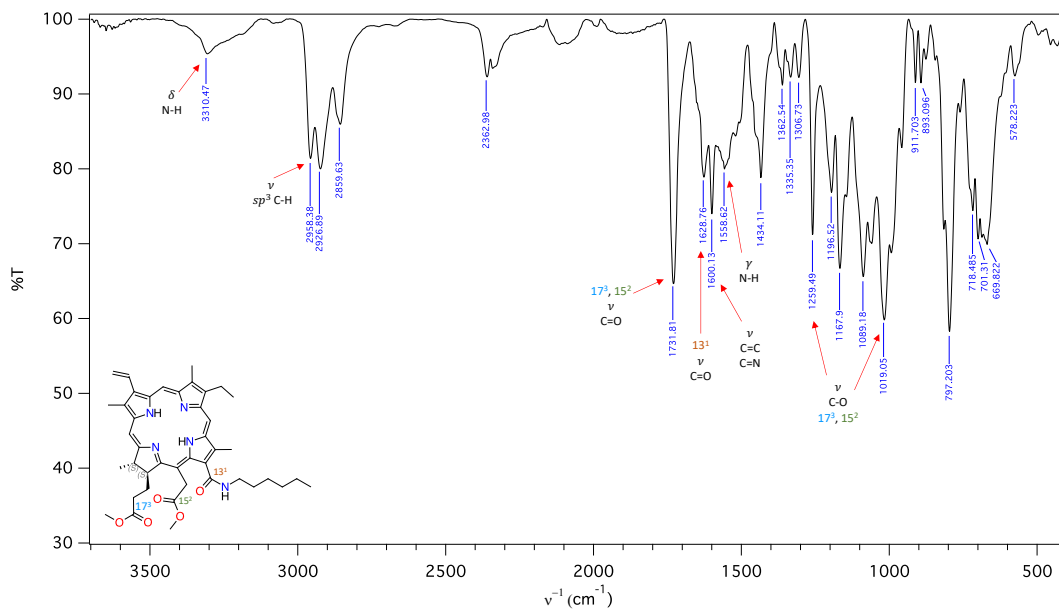
^{13}C



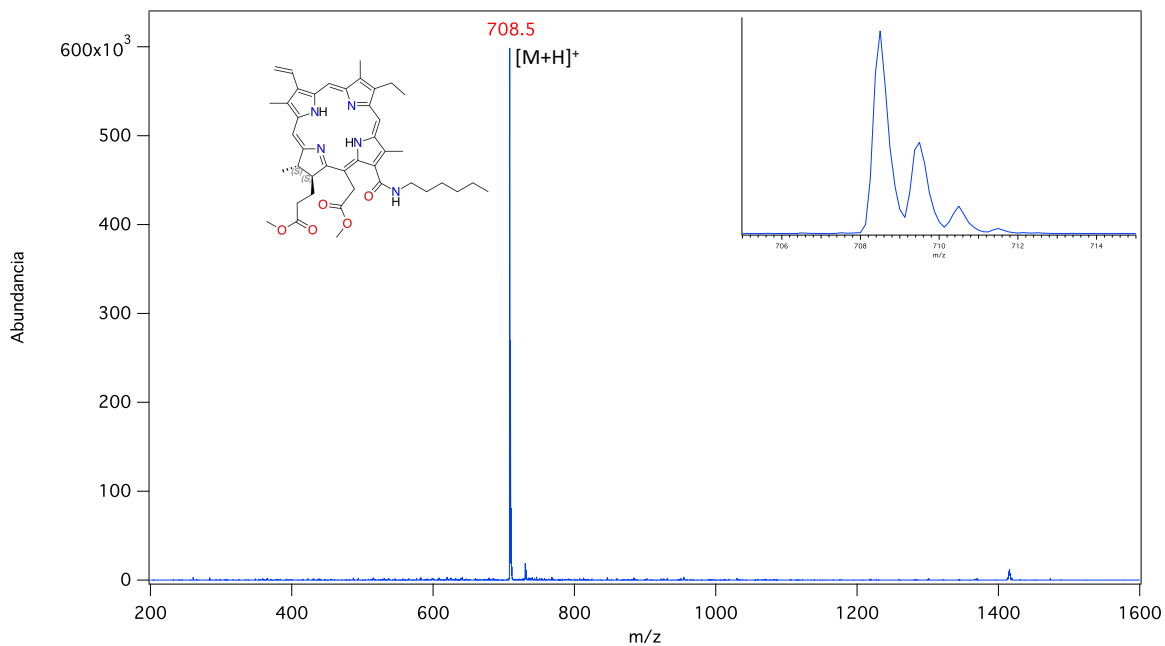
Anexo 7. Espectro de RMN COSY del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



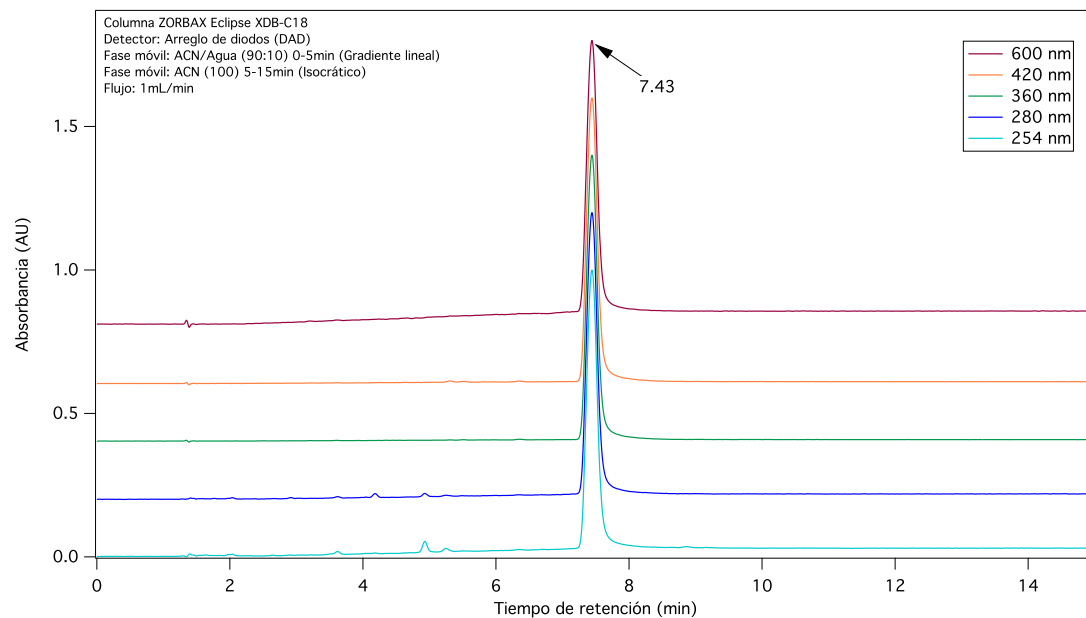
Anexo 8. Espectro IR del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



Anexo 9. Espectro de masas del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.

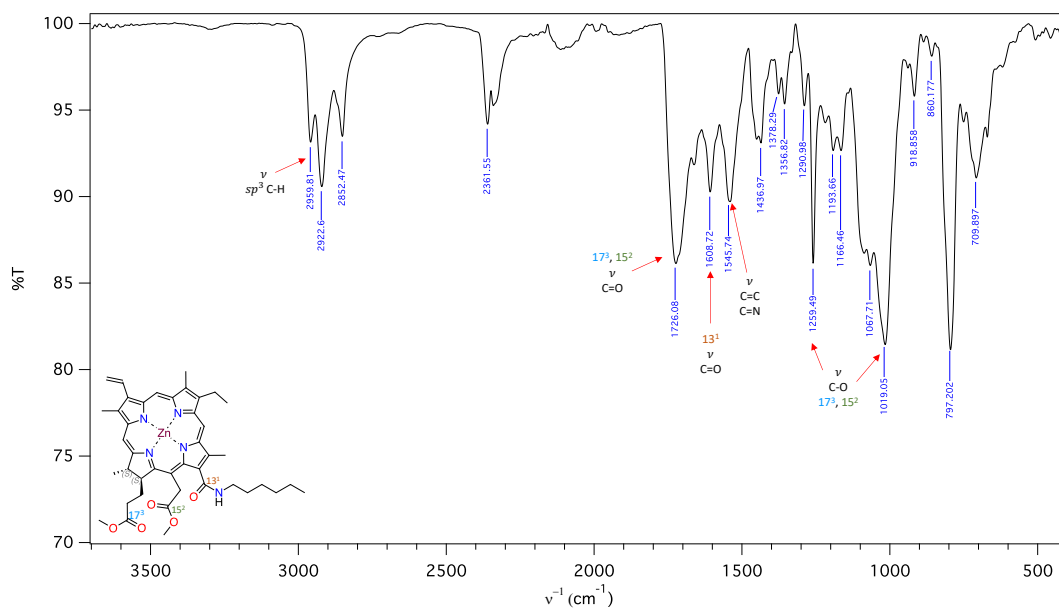


Anexo 10. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.

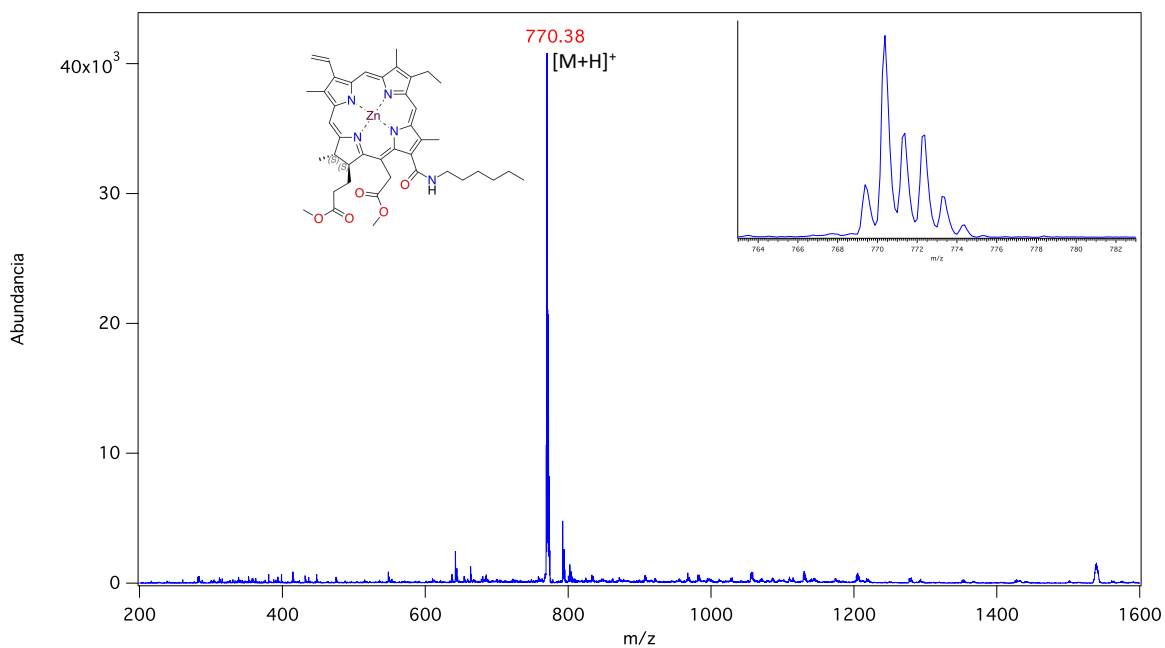


3. Espectros IR, ESI-MS, Uv-Vis y perfil cromatográfico de los derivados metálicos 50-51.

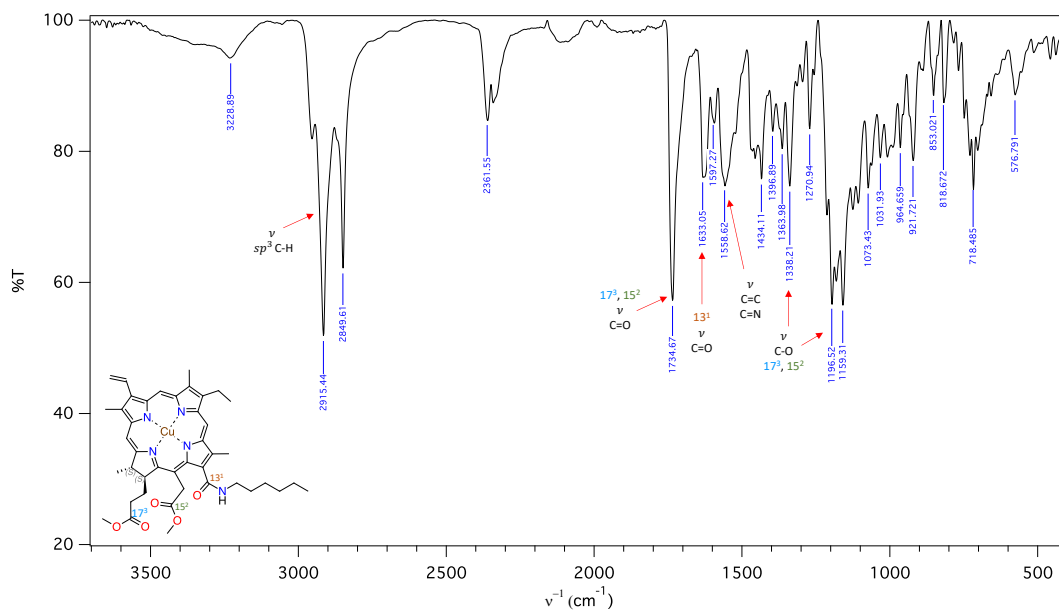
Anexo 11. Espectro IR del Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



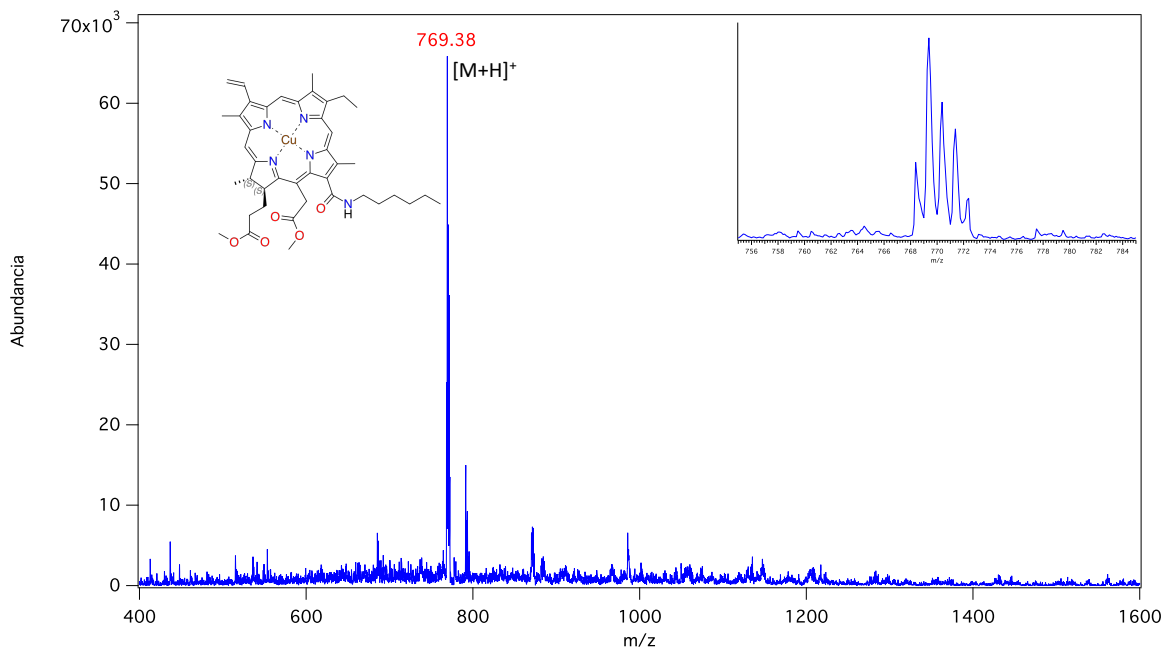
Anexo 12. Espectro de masas del Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



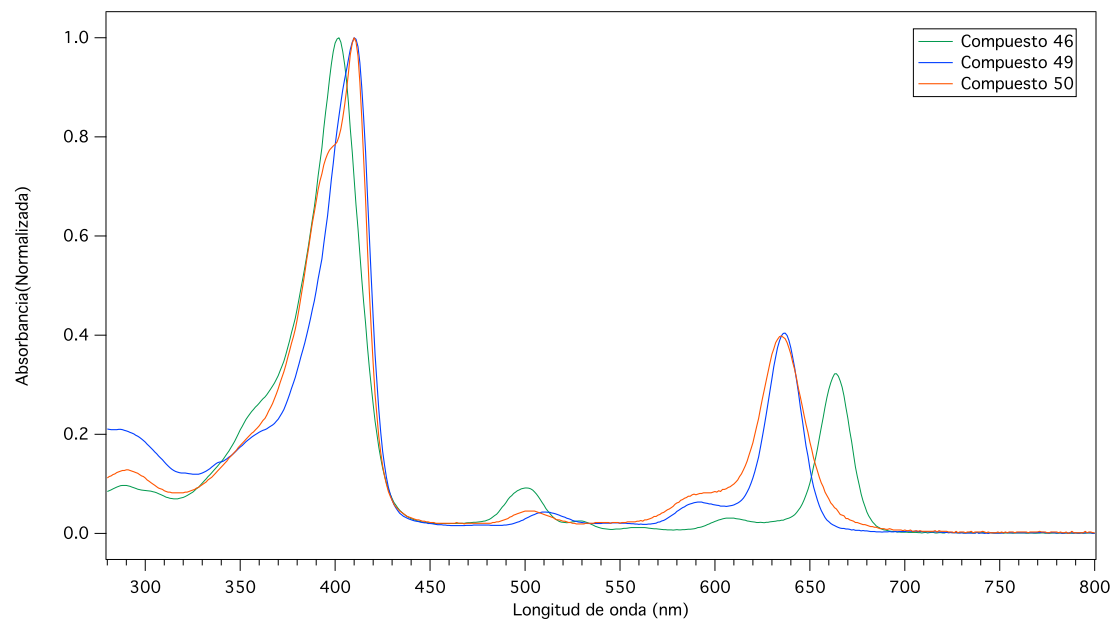
Anexo 13. Espectro IR del Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



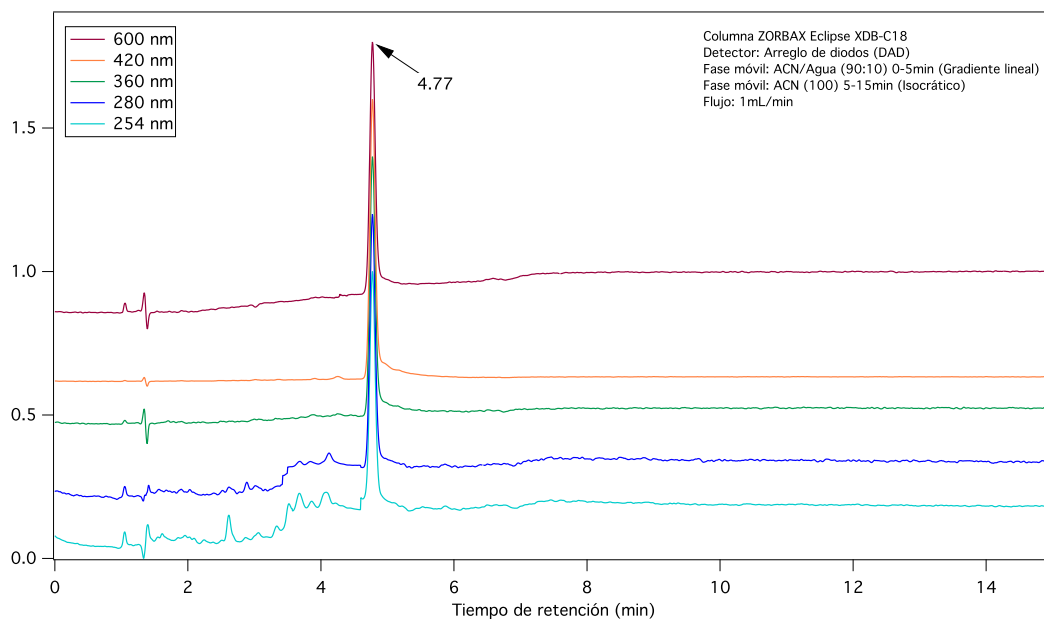
Anexo 14. Espectro de masas del Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



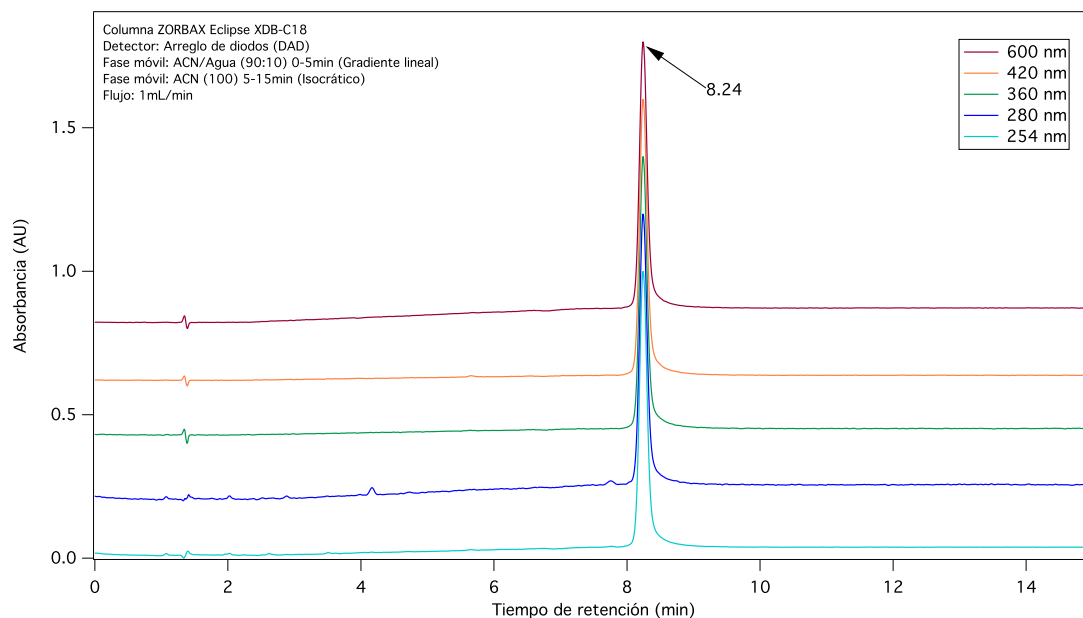
Anexo 15. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.



Anexo 16. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Zn-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.

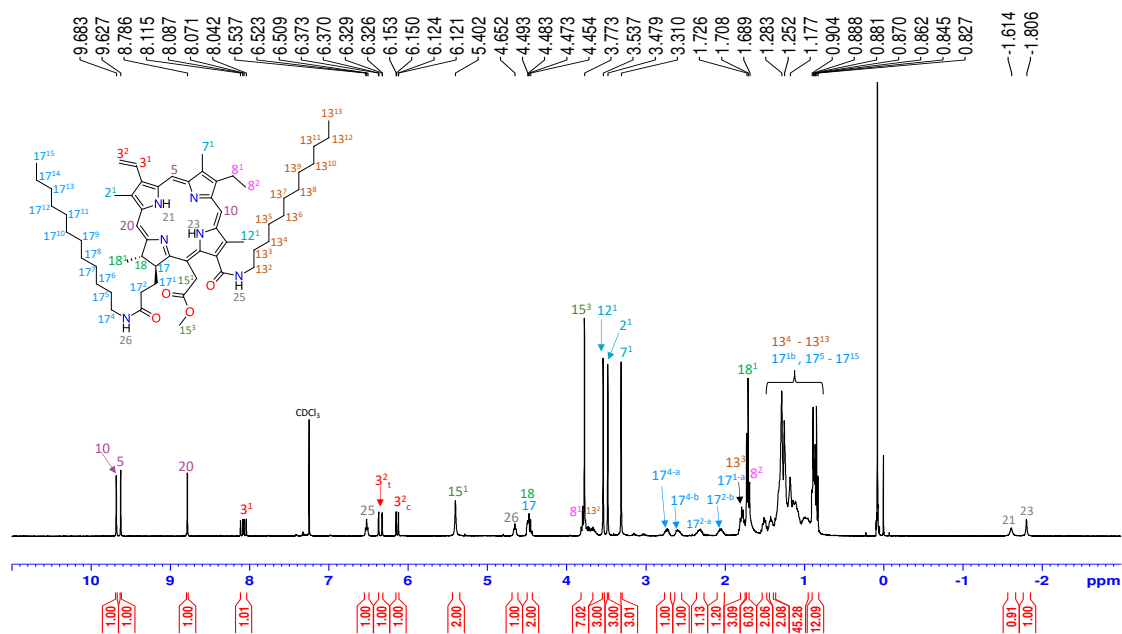


Anexo 17. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Cu-13(1)-(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.

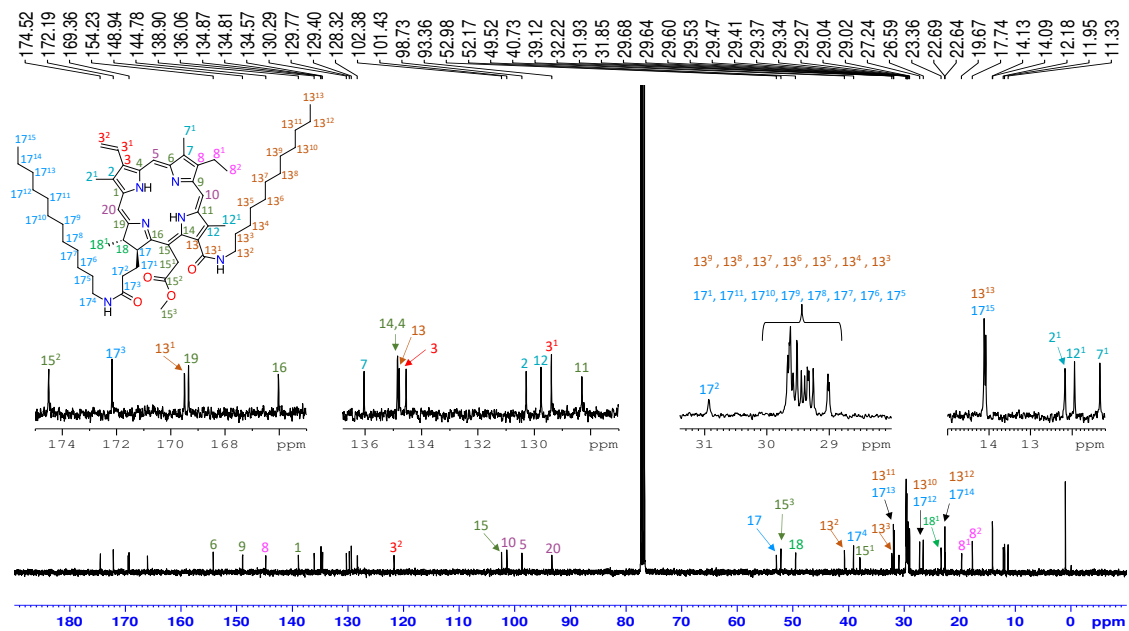


4. Espectros RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT 90, DEPT 135, COSY ^1H - ^1H , HSQC, HMBC, IR, ESI-MS y perfil cromatográfico del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (47).

Anexo 18. Espectro de RMN ^1H del 13(1),17(3)-di(N-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

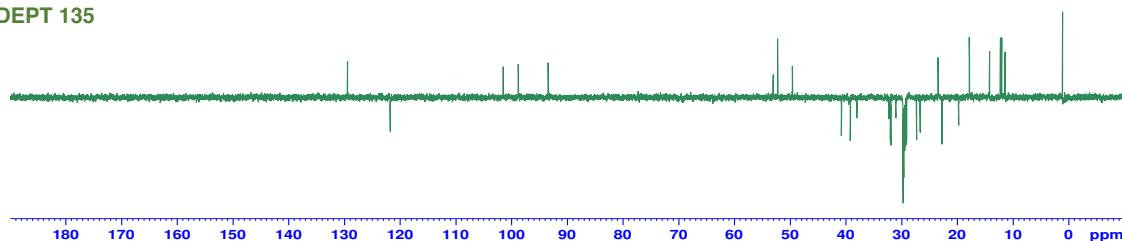


Anexo 19. Espectro de RMN ^{13}C del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

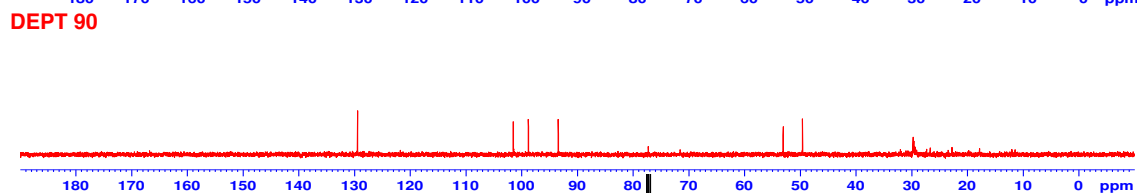


Anexo 20. Espectro de RMN ^{13}C , DEPT 90 y DEPT 135 del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

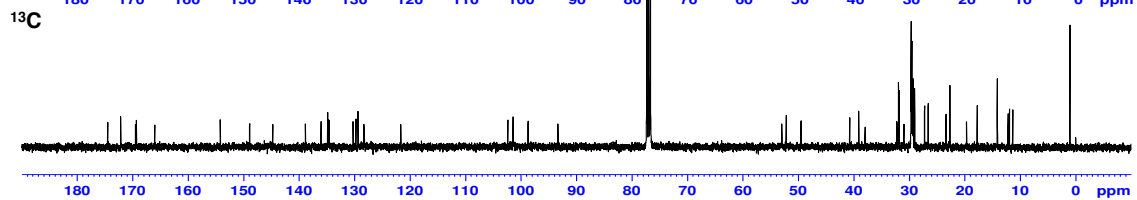
DEPT 135



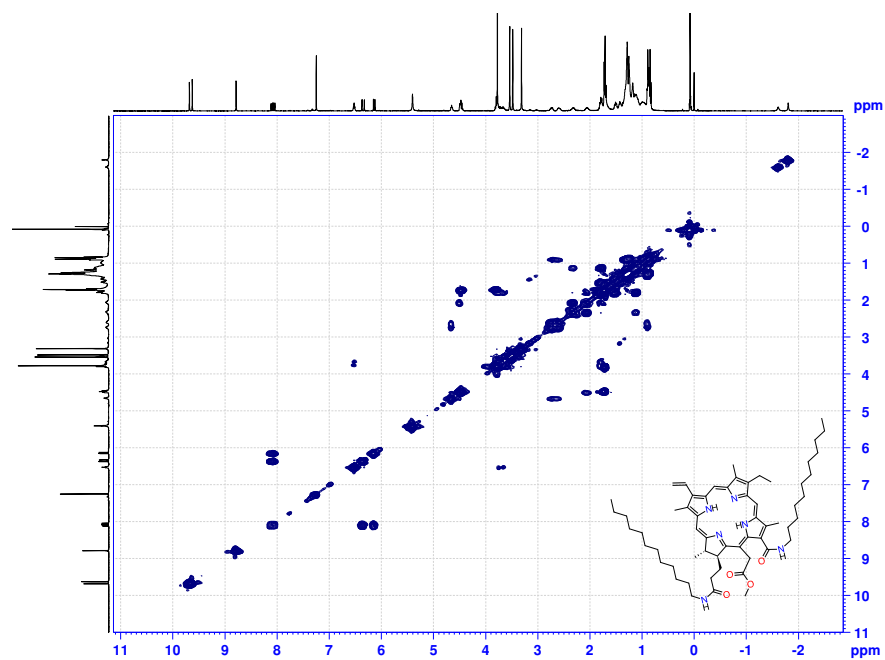
DEPT 90



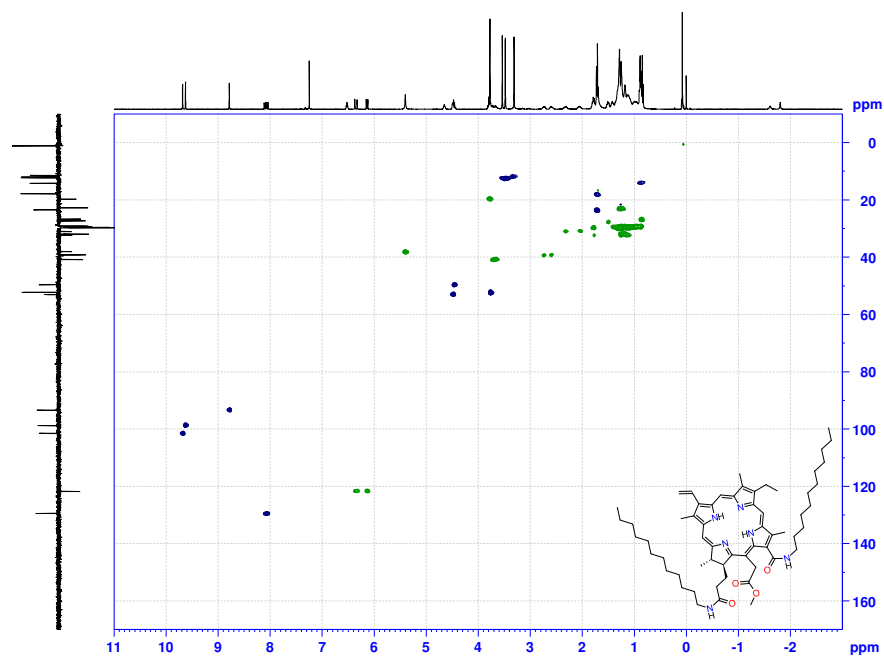
^{13}C



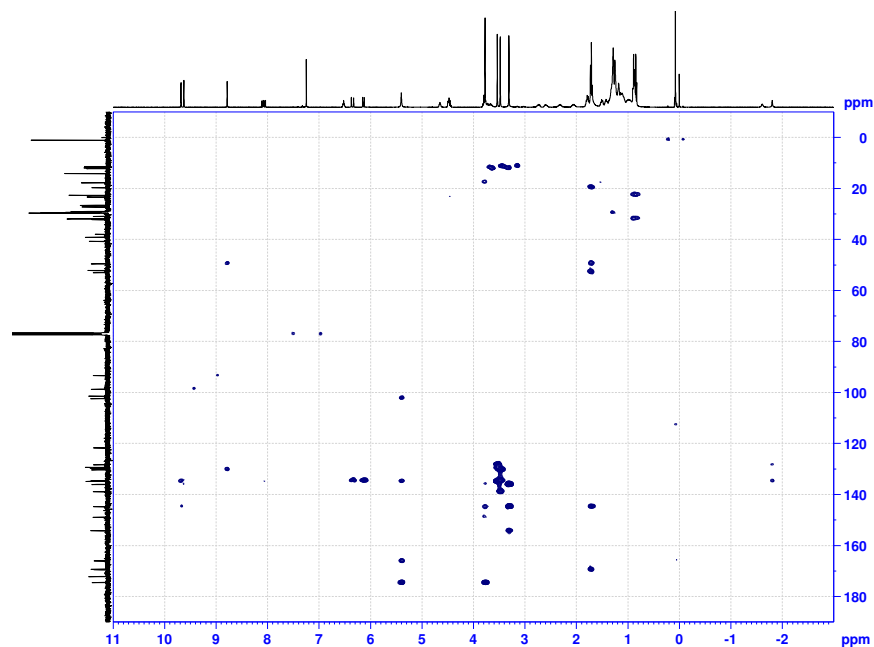
Anexo 21. Espectro de RMN COSY del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



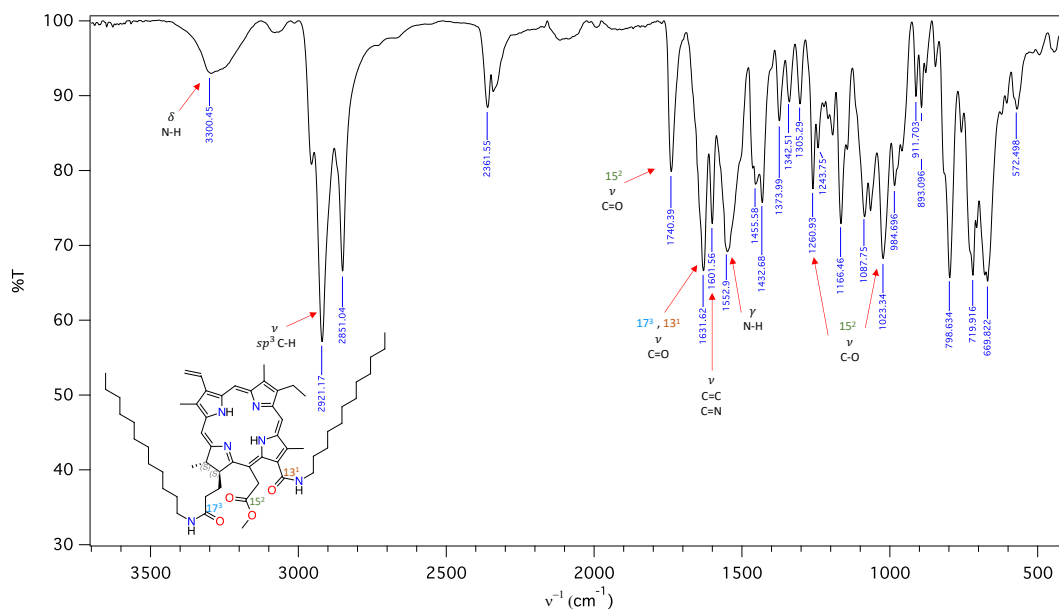
Anexo 22. Espectro de RMN HSQC del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



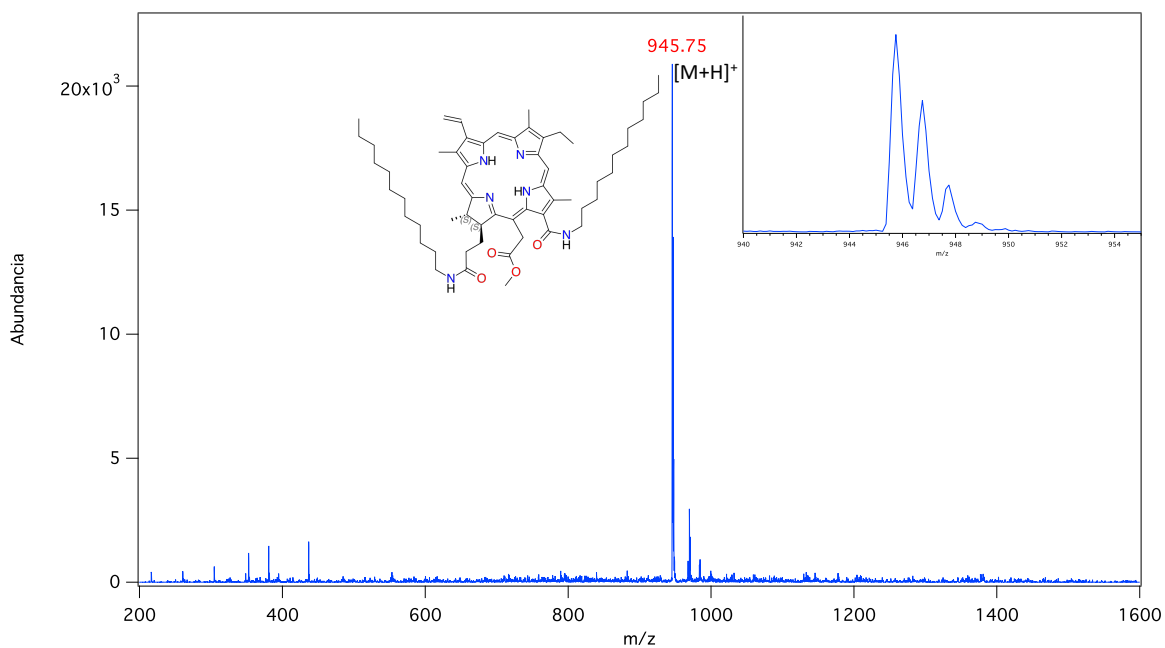
Anexo 23. Espectro de RMN HMBC del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



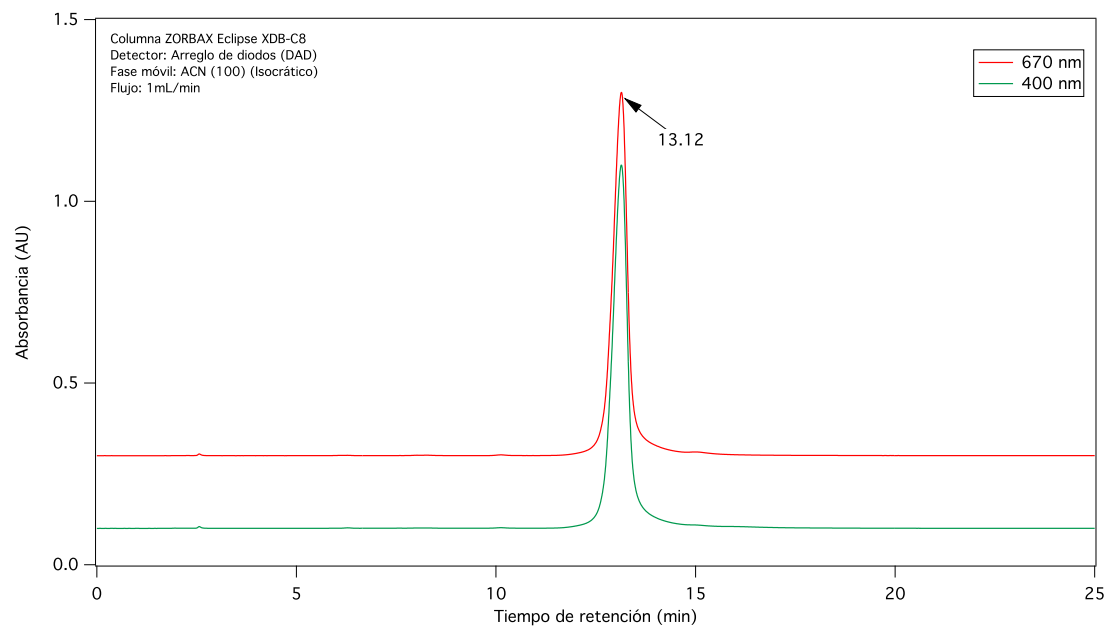
Anexo 24. Espectro IR del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



Anexo 25. Espectro de masas por ESI del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

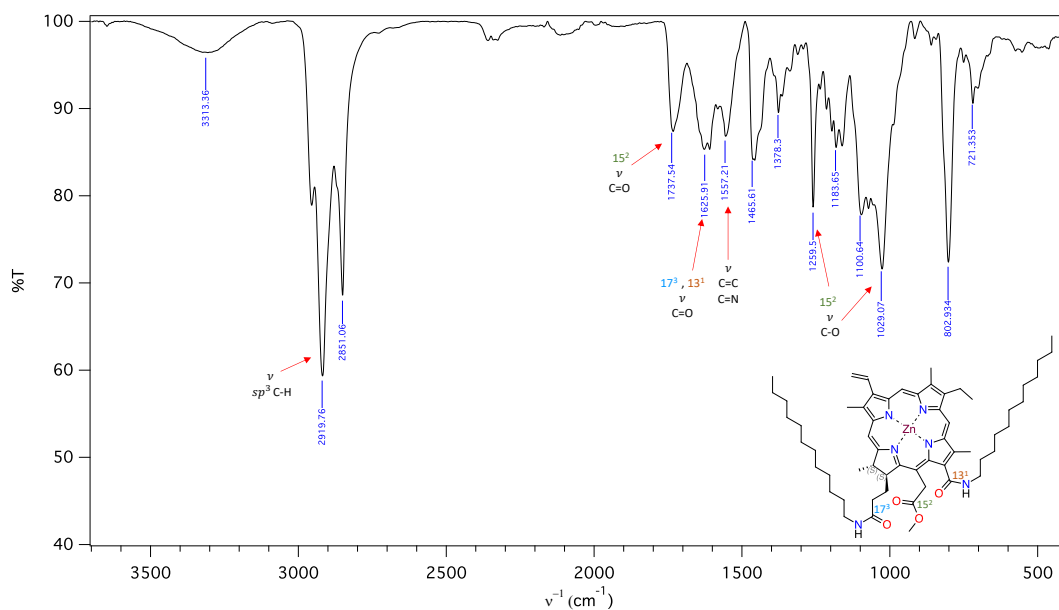


Anexo 26. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

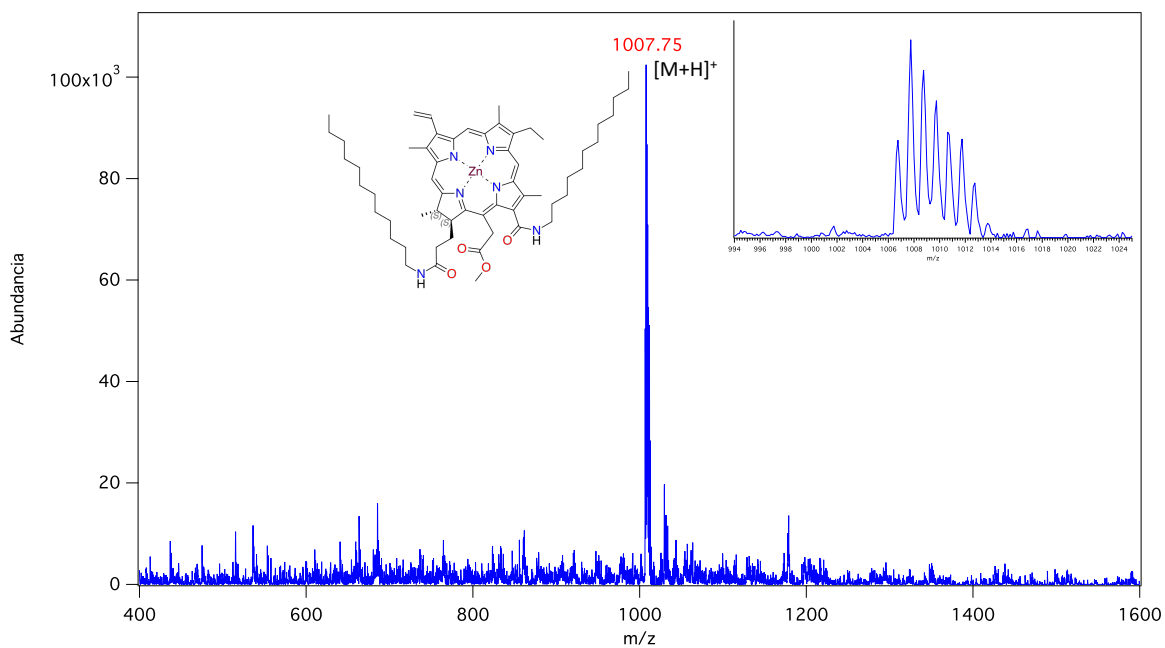


5. Espectros IR, ESI-MS, Uv-Vis y perfil cromatográfico de los derivados metálicos 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (51-52).

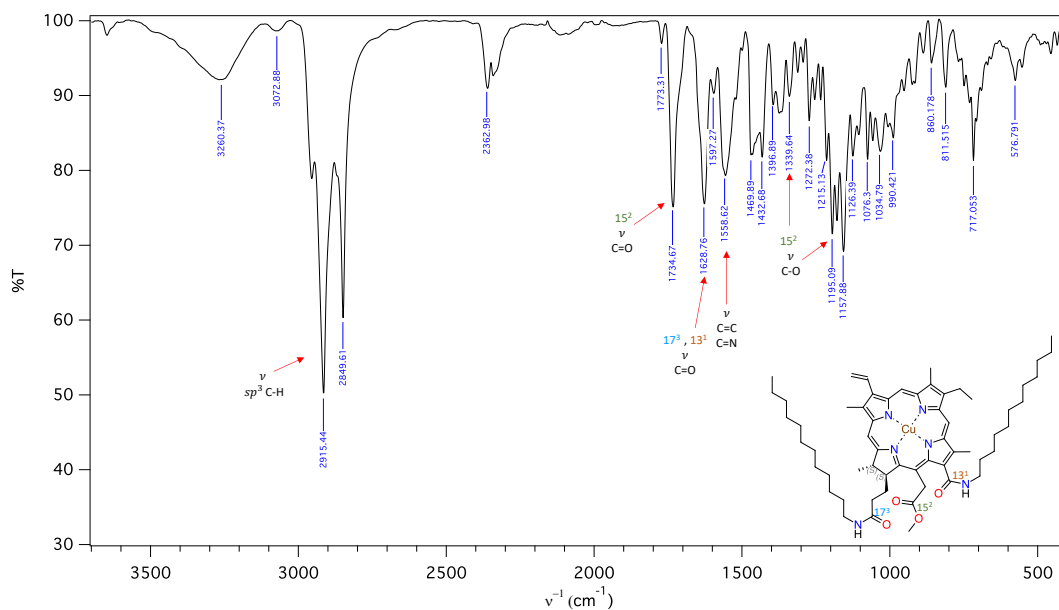
Anexo 27. Espectro IR del Zn-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



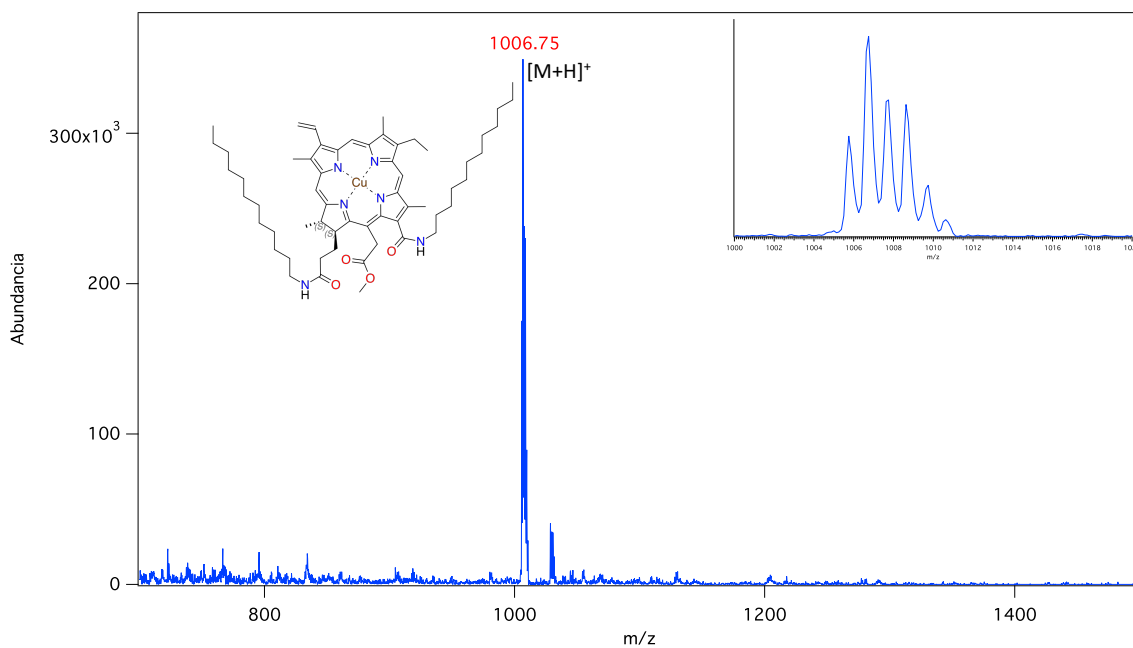
Anexo 28. Espectro de masas por ESI del Zn-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



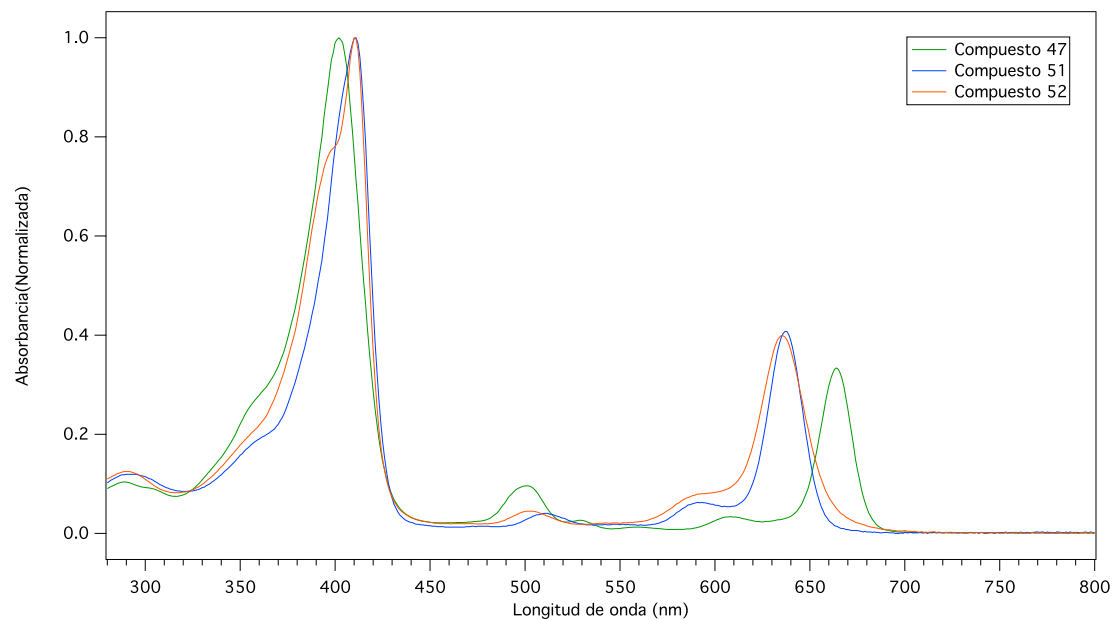
Anexo 29. Espectro IR del Cu-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



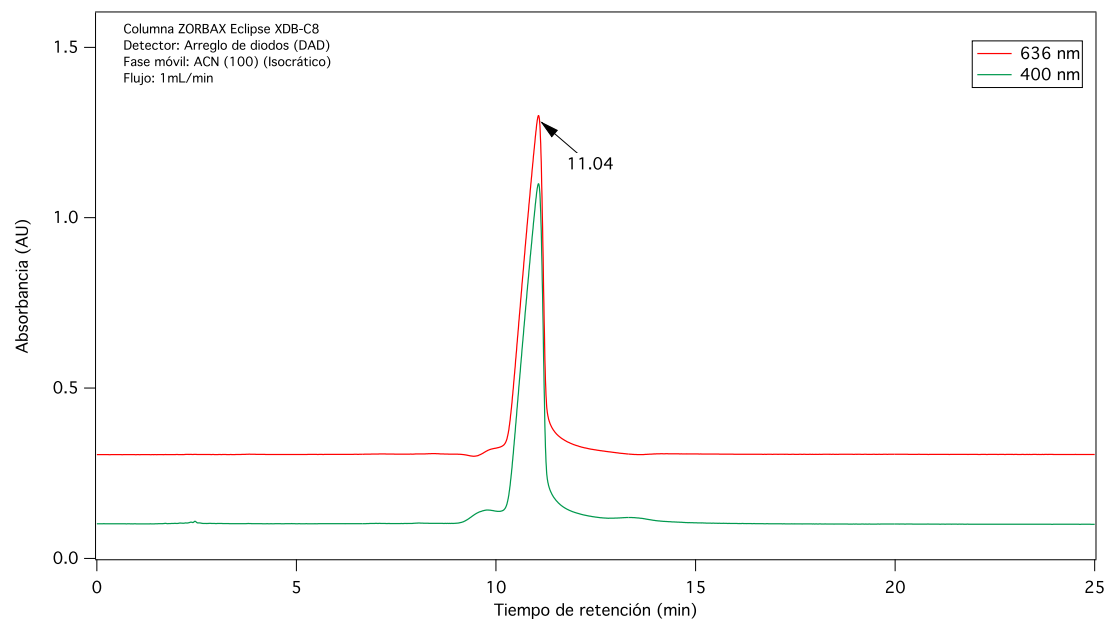
Anexo 30. Espectro de masas por ESI del Cu-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



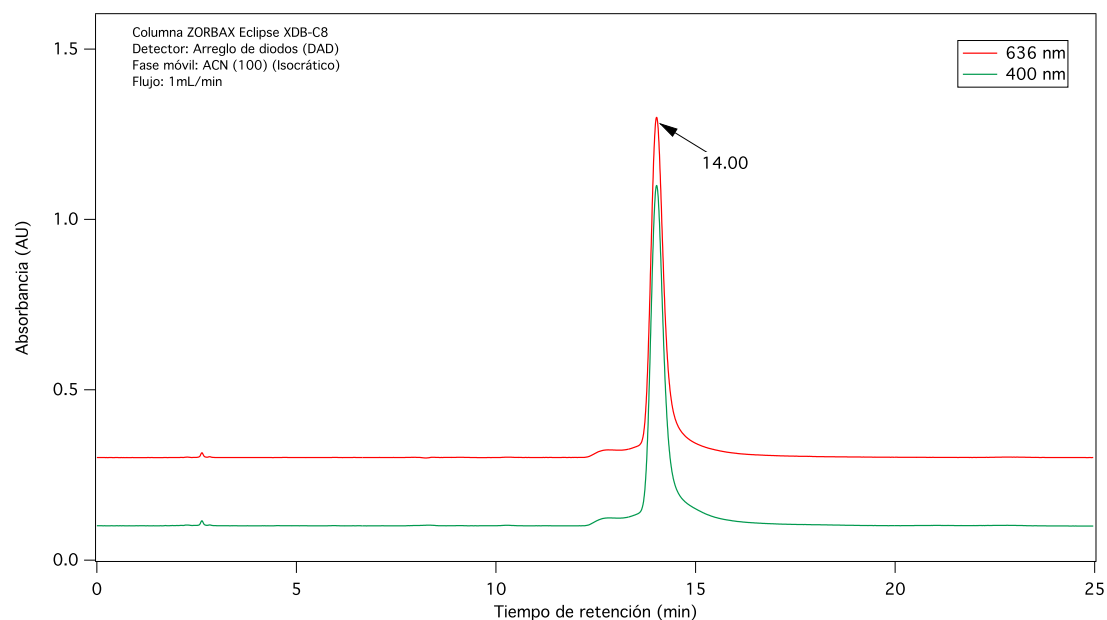
Anexo 31. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.



Anexo 32. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Zn-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

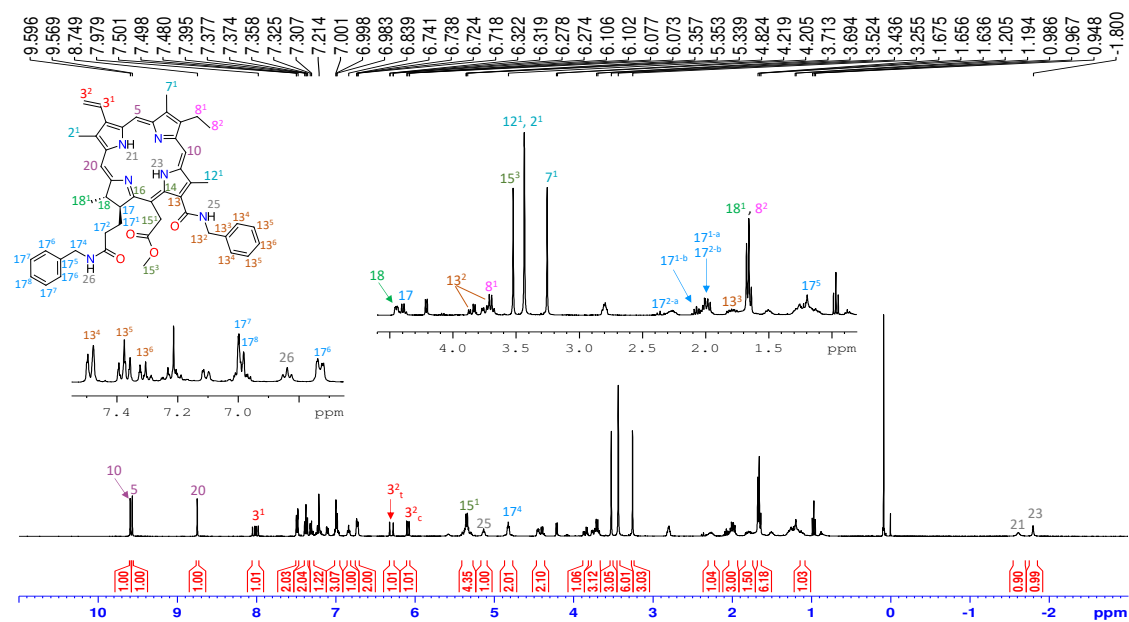


Anexo 33. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Cu-13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

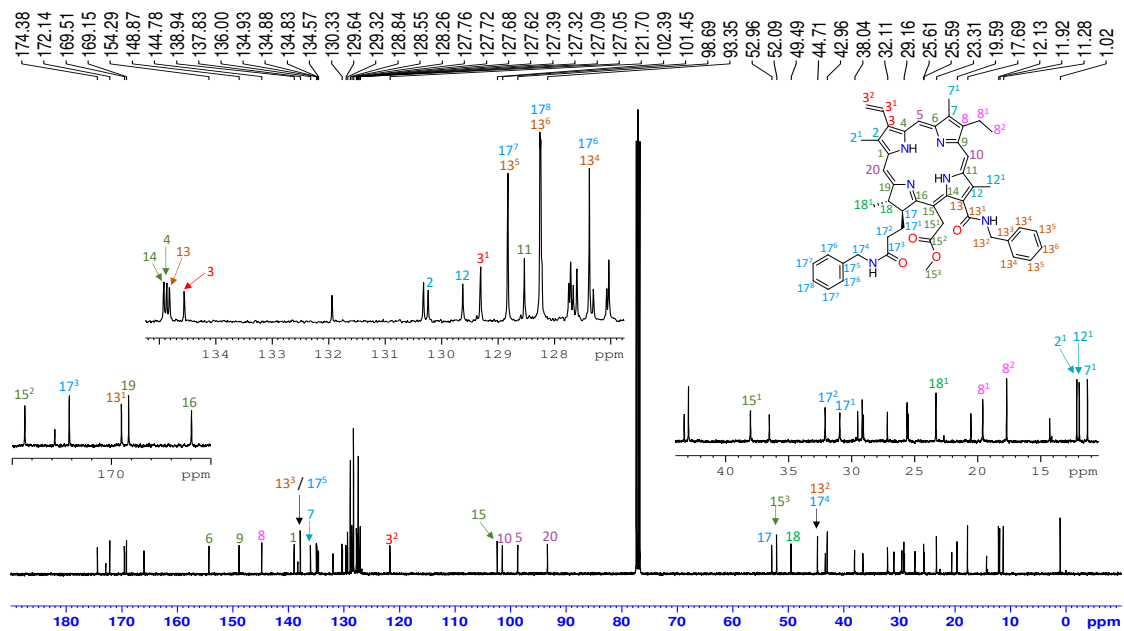


6. Espectros RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT 90, DEPT 135, COSY ^1H - ^1H , HSQC, HMBC, IR, ESI-MS y perfil cromatográfico del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (48).

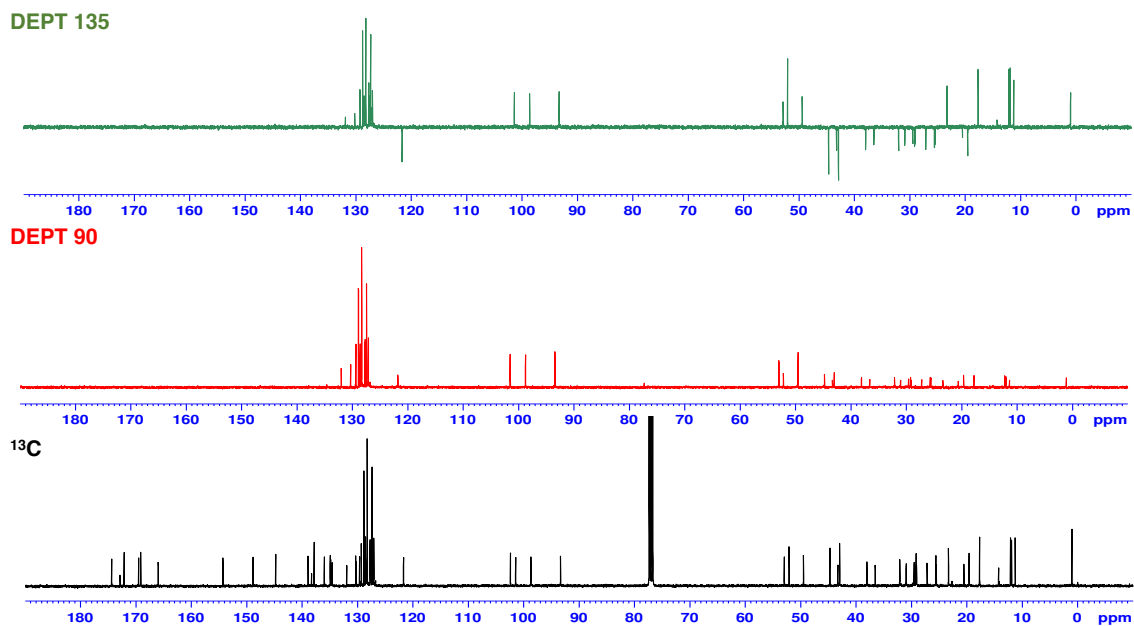
Anexo 34. Espectro de RMN ^1H del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



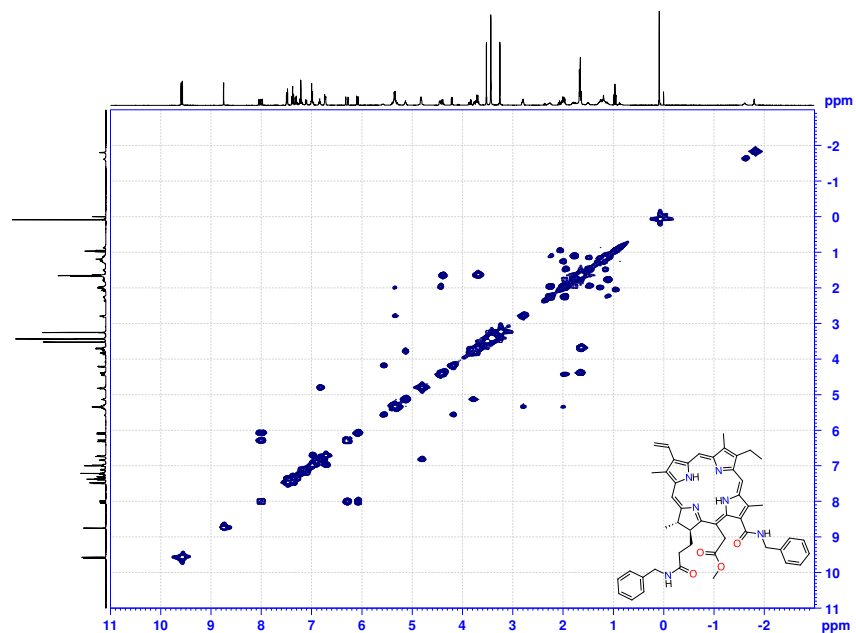
Anexo 35. Espectro de RMN ^{13}C del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



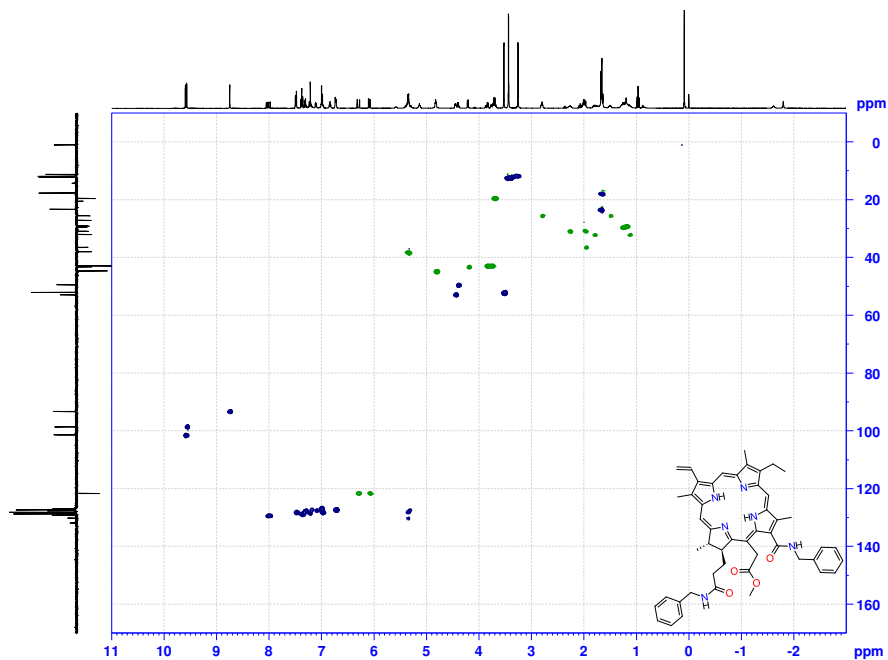
Anexo 36. Espectro de RMN ^{13}C , DEPT 90 y DEPT 135 del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



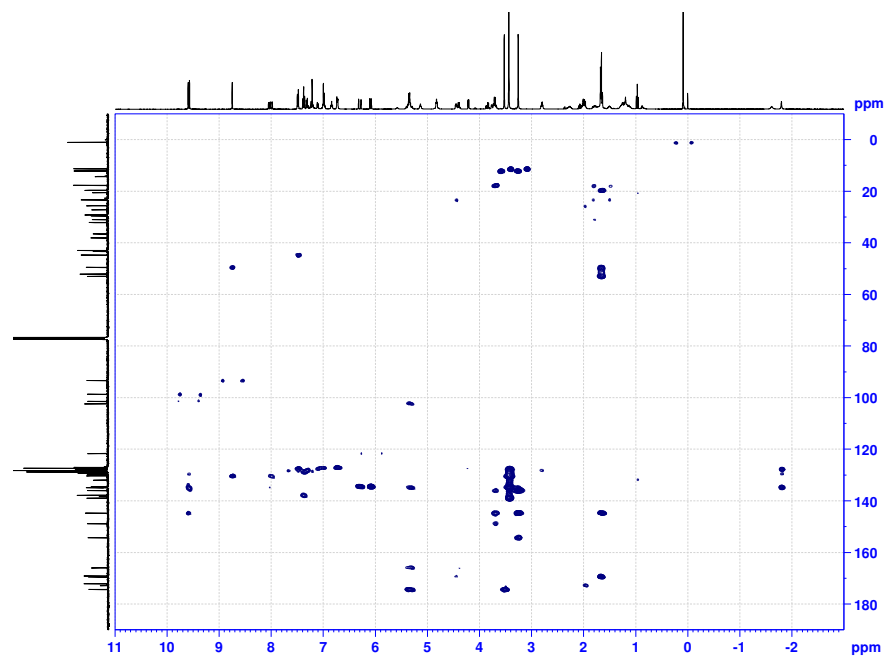
Anexo 37. Espectro de RMN COSY del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



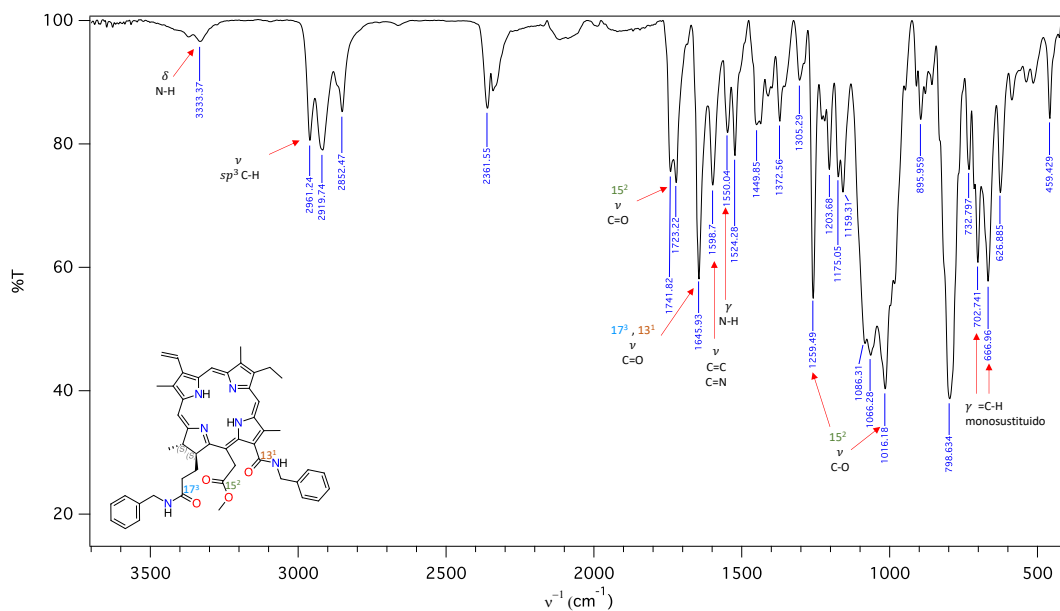
Anexo 38. Espectro de RMN HSQC del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



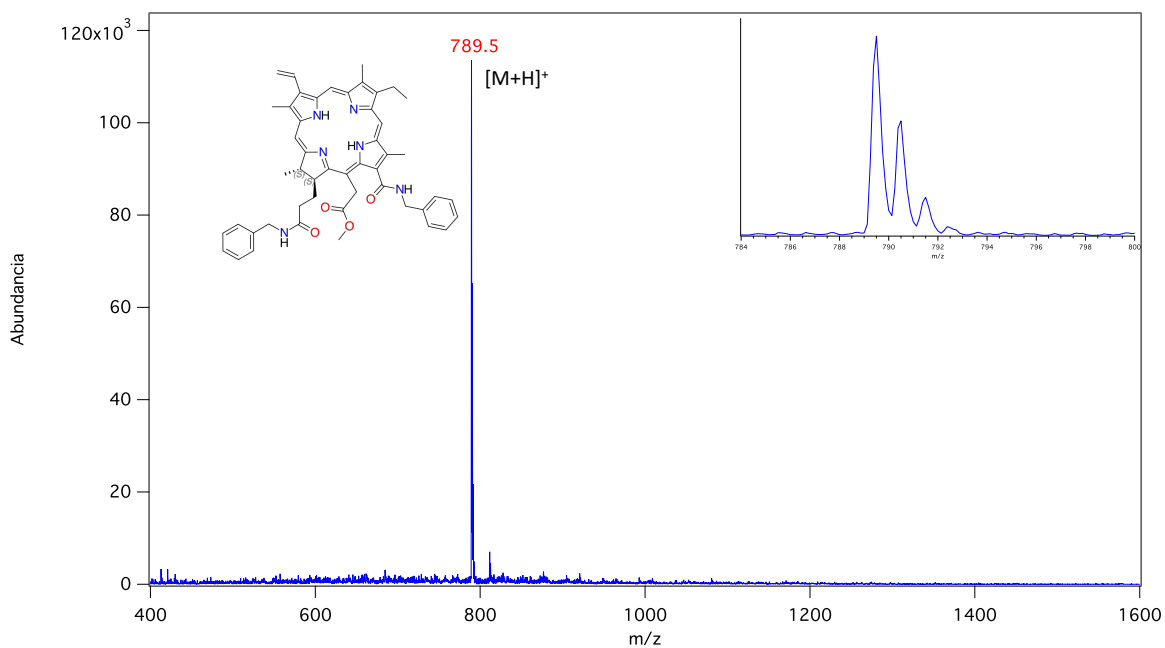
Anexo 39. Espectro de RMN HMBC del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



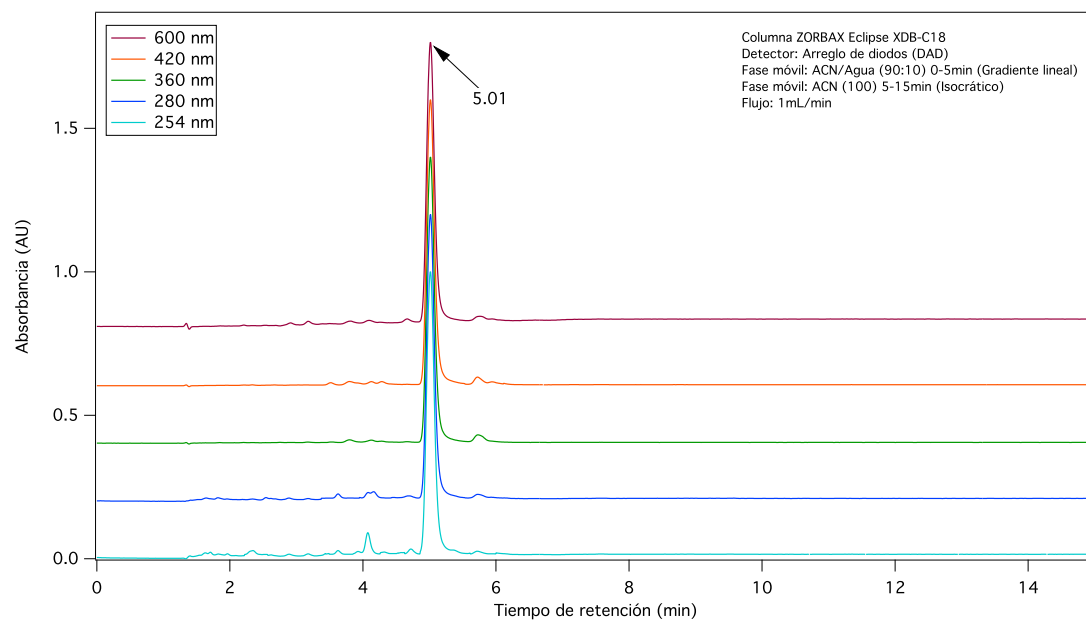
Anexo 40. Espectro IR del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



Anexo 41. Espectro de masas por ESI del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

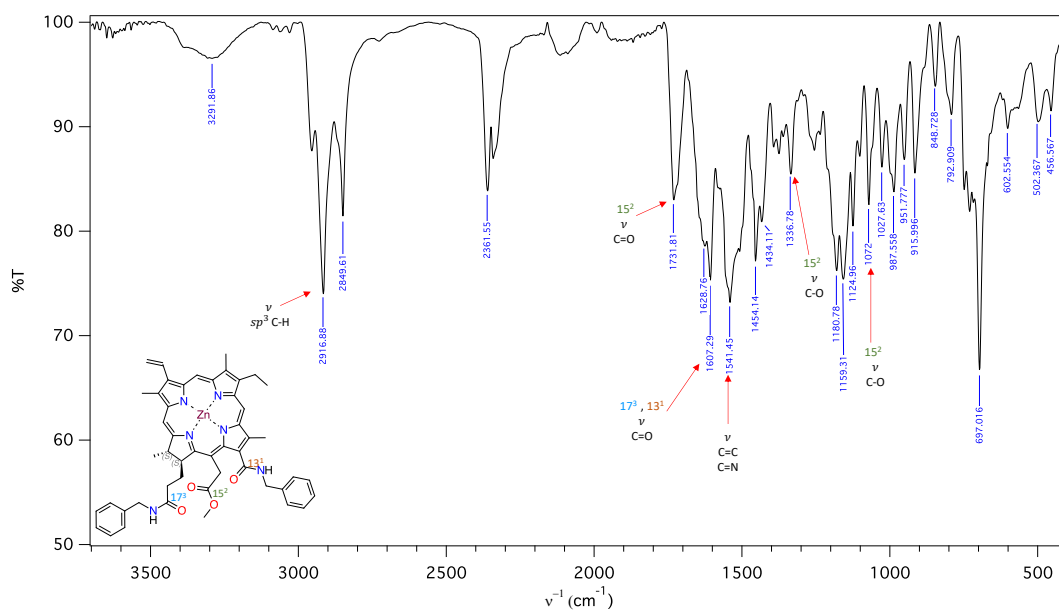


Anexo 42. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

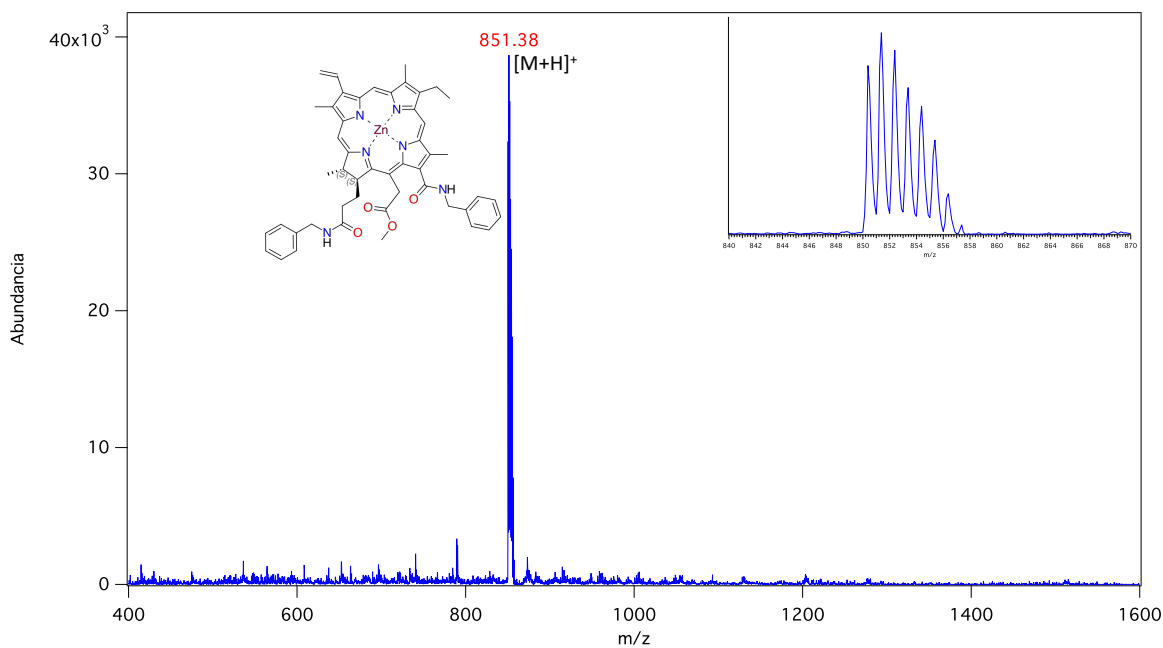


7. Espectros IR, ESI-MS y perfil cromatográfico de los derivados metálicos 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 (53-54).

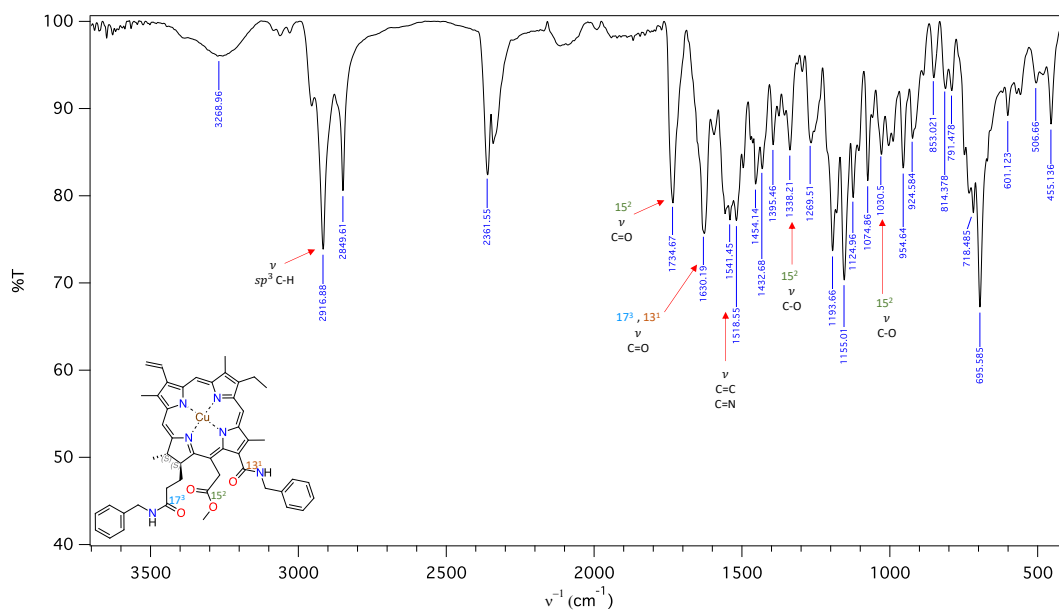
Anexo 43. Espectro IR del Zn-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



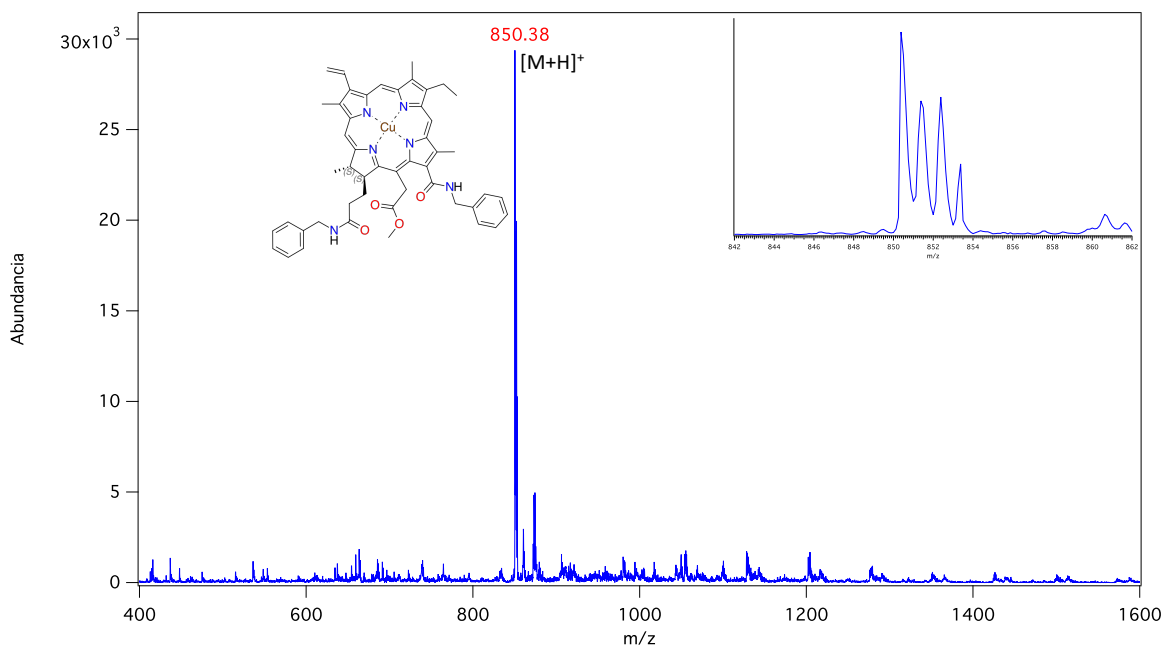
Anexo 44. Espectro de masas por ESI del Zn-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



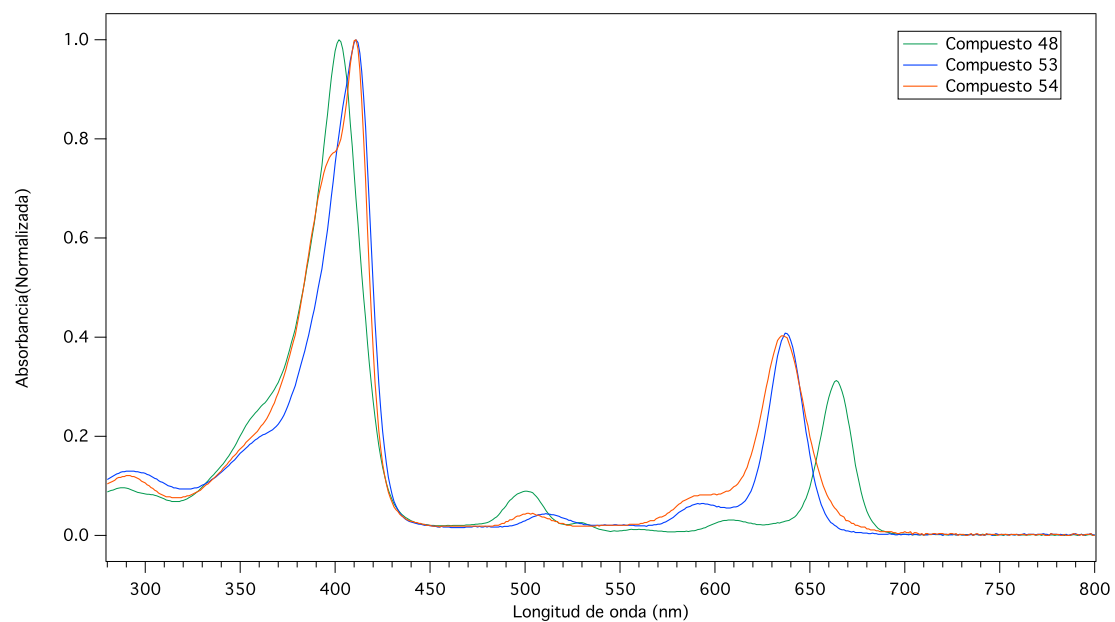
Anexo 45. Espectro IR del Cu-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



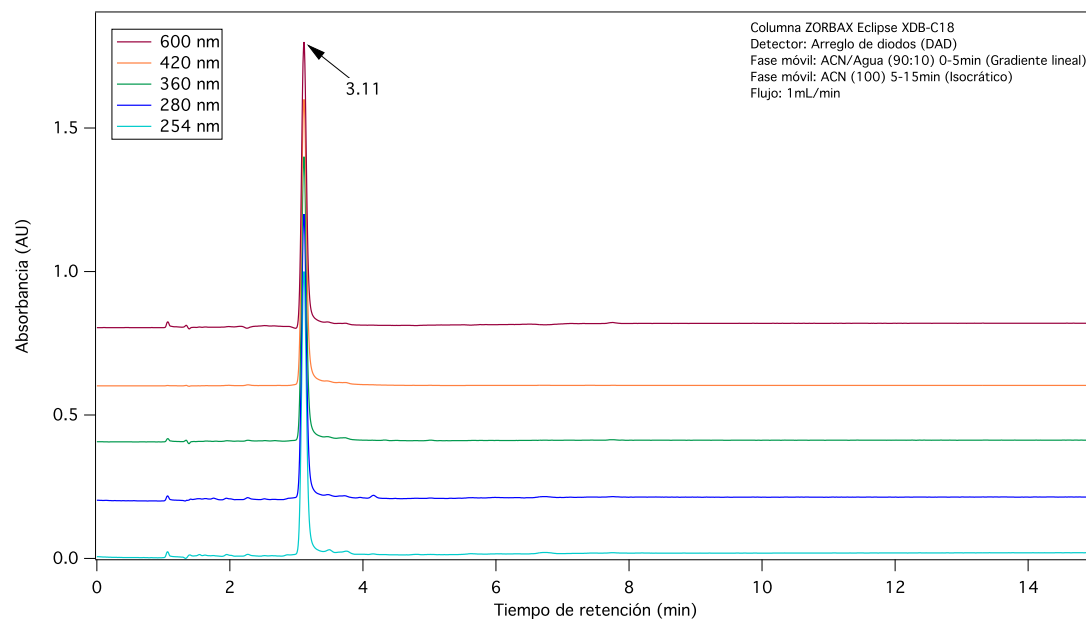
Anexo 46. Espectro de masas por ESI del Cu-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



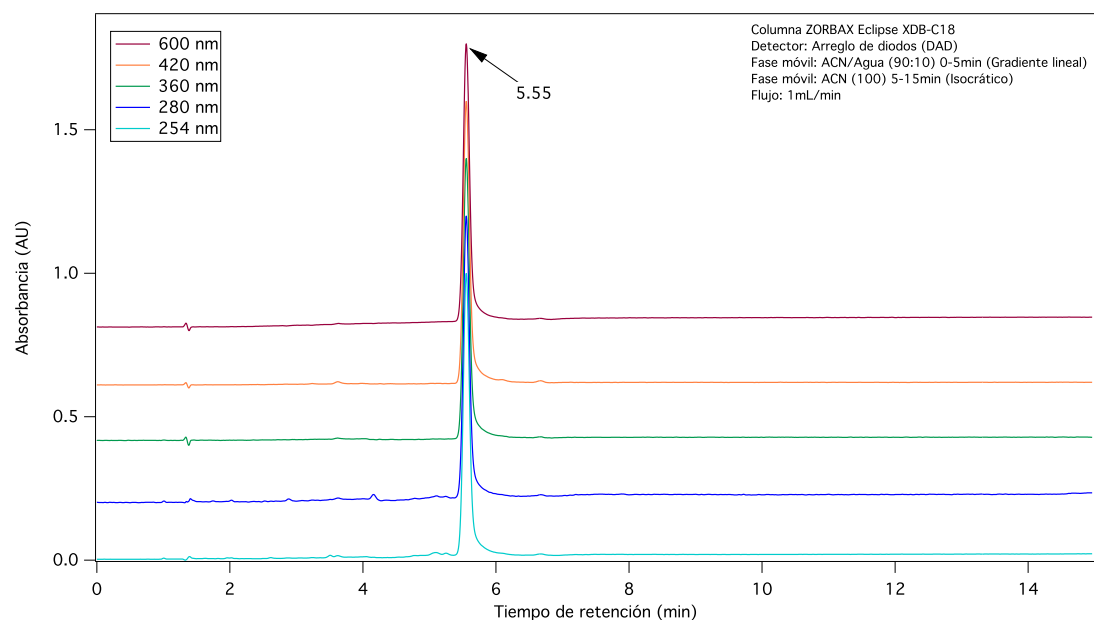
Anexo 47. Espectro de absorción UV-Vis para el 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6 y sus complejos metálicos.



Anexo 48. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Zn-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

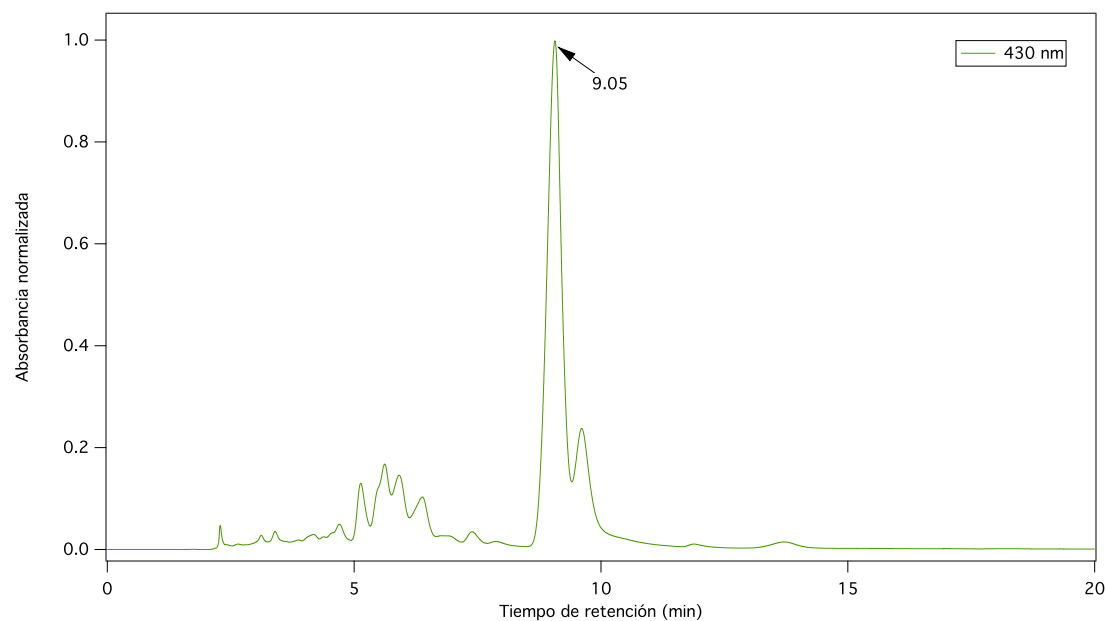


Anexo 49. Perfil cromatográfico de alta eficiencia del Cu-13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

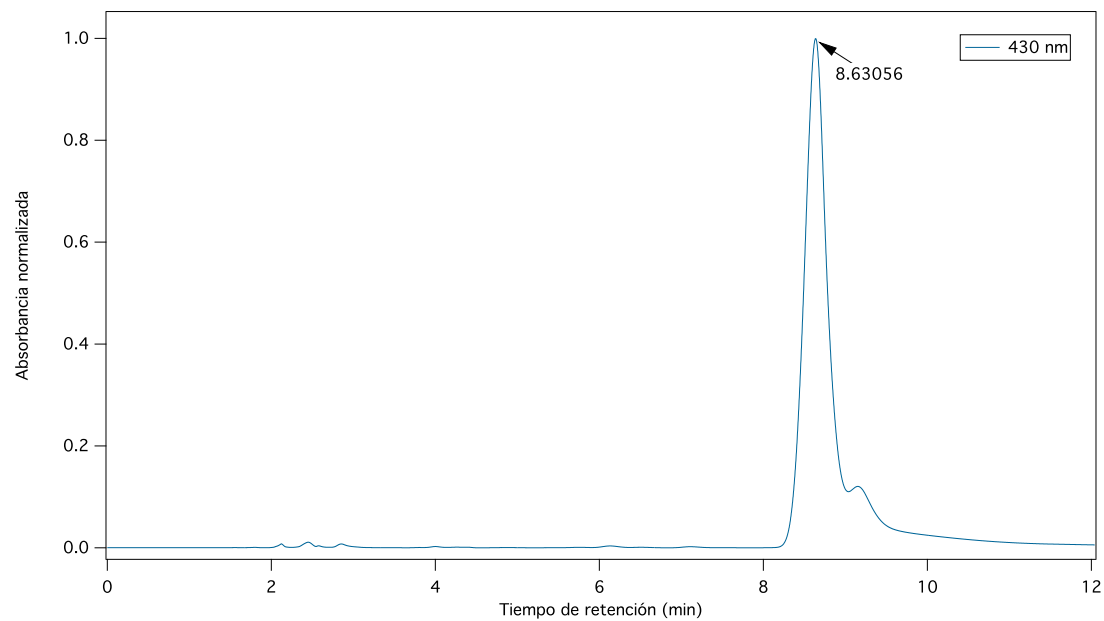


8. Purificación por cromatografía preparativa de la MPP y sus derivados 46-54.

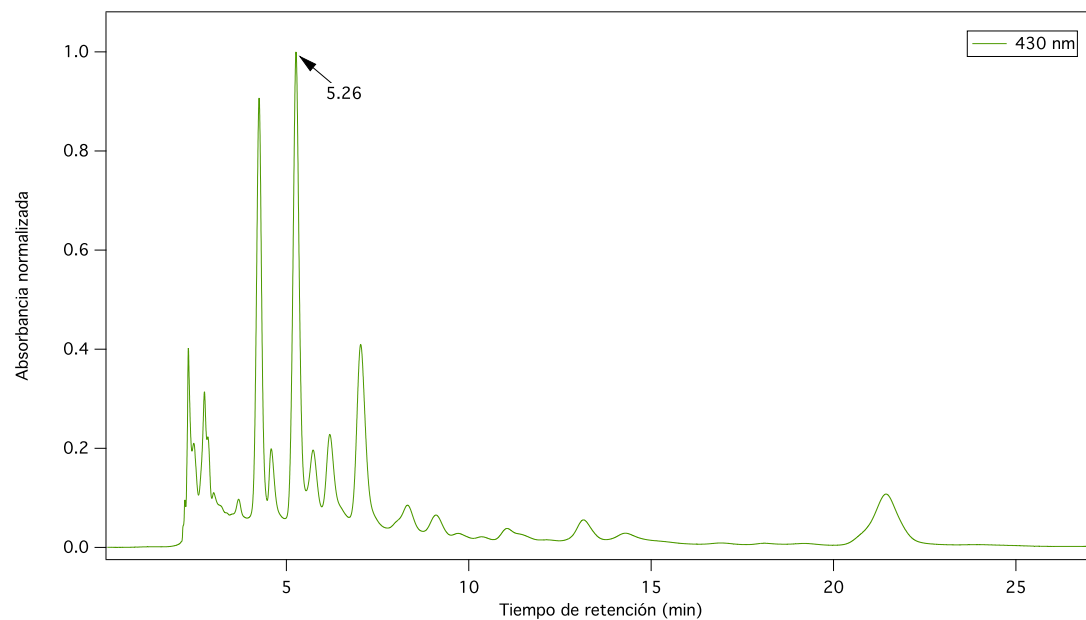
Anexo 50. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción del MPP



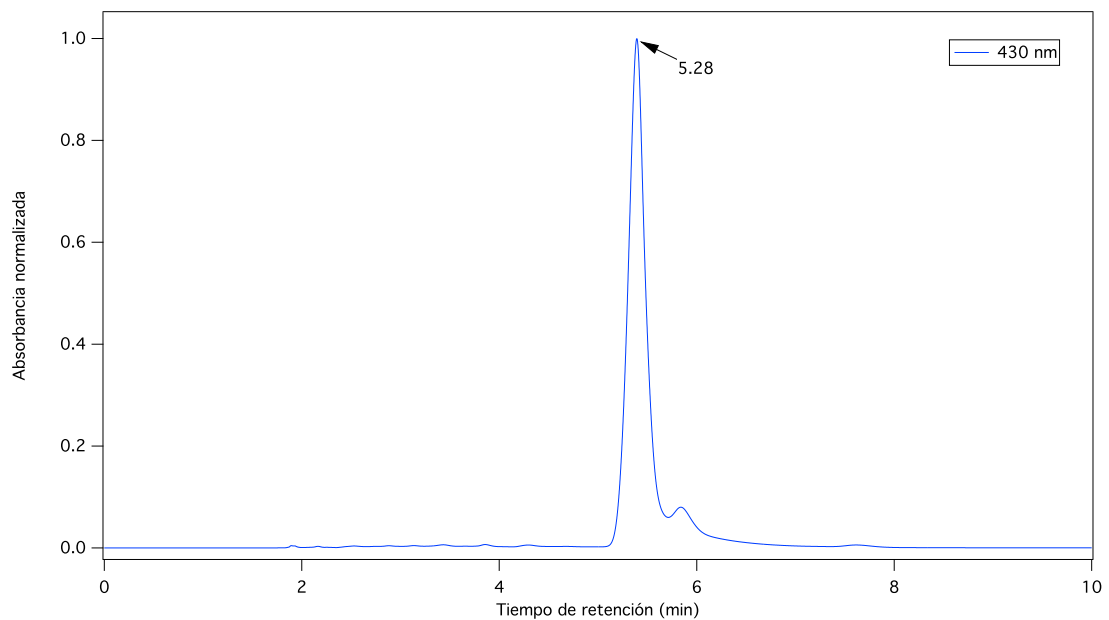
Anexo 51. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para el pico aislado de MPP.



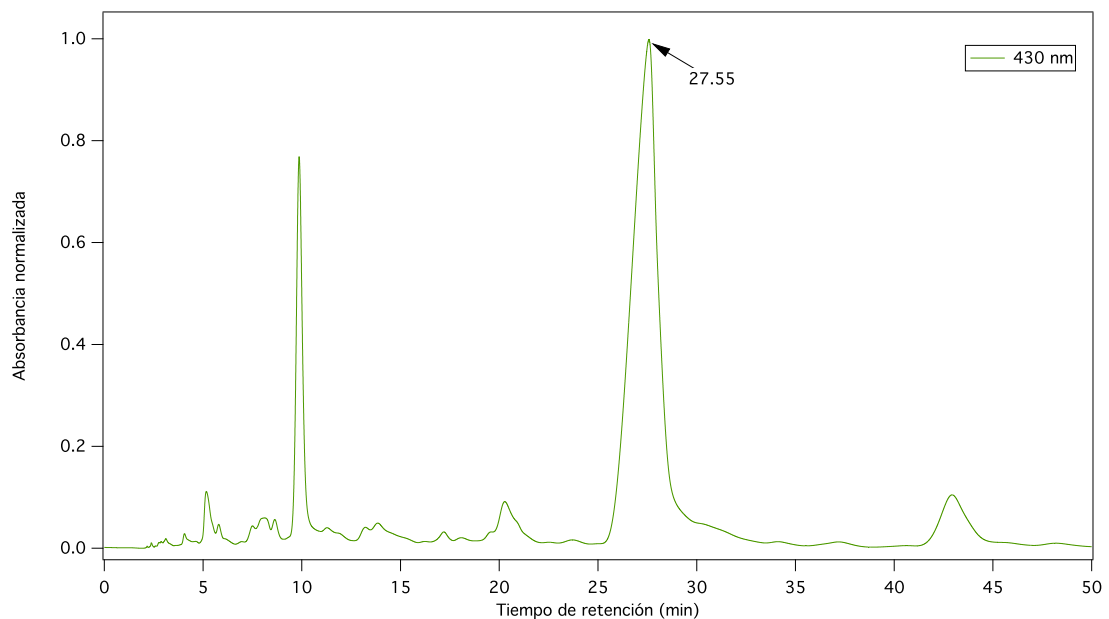
Anexo 52. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción del 13(1)(N-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



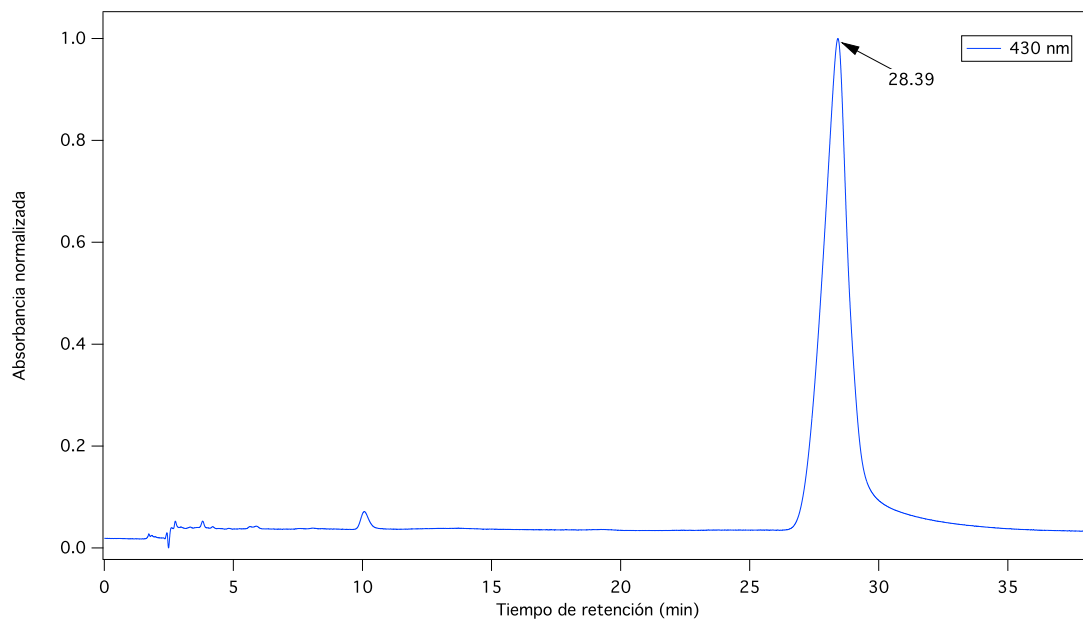
Anexo 53. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para el pico aislado 13(1)(*N*-hexilamida)-15(2),17(3)-dimetil éster de clorina e6.



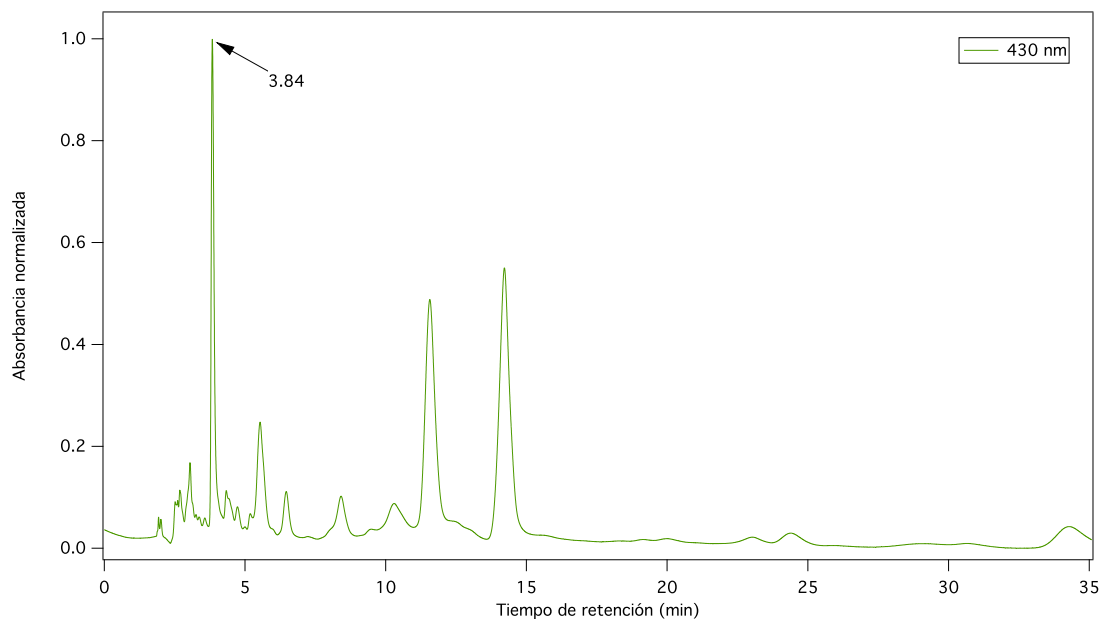
Anexo 54. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo dodecei reacción del 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



Anexo 55. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para el pico aislado 13(1),17(3)-di(*N*-dodecilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



Anexo 56. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo de reacción del 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.



Anexo 57. Perfil cromatográfico de alta eficiencia para crudo el pico aislado 13(1),17(3)-di(*N*-bencilamida)-15(2)-metil éster de clorina e6.

