

Nuevos Complejos Metálicos Derivados de Porfirinas Funcionalizadas e Híbridos
Porfirina-Ampicilina: Obtención, Caracterización y Evaluación de su Potencial Acción
Dual Antileishmania y Antibacteriana

Angie Paola Tamayo Carreño

Trabajo de Grado para Optar el Título de Doctora en Química

Director

José Antonio Henao Martínez

Doctor en Química Aplicada

Codirector

Arnold Rafael Romero Bohórquez

Doctor en Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Doctorado en Química

Bucaramanga

2026

Dedicatoria

A mis padres, por ser mi raíz y por sembrar en mí la fuerza y los valores que me sostienen;
a mis hermanos, por su compañía incondicional y por caminar a mi lado en cada etapa;
a mi novio, por su paciencia y su apoyo amoroso en los momentos de duda;
a mis gatitas, por regalarme calma y alegría en medio del cansancio;
y a mí, por atreverme a crecer y no dejar de creer en este sueño.

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander (UIS) y a la Escuela de Química, por permitirme ser parte de esta institución y brindarme el entorno académico y científico necesario para adelantar mis estudios de posgrado. Agradezco profundamente la disposición de sus docentes, directivos, personal administrativo y equipos de trabajo, quienes, desde sus distintas funciones, hicieron posible el desarrollo de esta tesis. Asimismo, agradezco el apoyo económico otorgado por la UIS para participar en eventos científicos en los que se presentó y discutió parte de los resultados de este trabajo de investigación.

Al profesor José Antonio Henao Martínez, mi director de tesis, por recibirme en su grupo de investigación GIQUE, permitirme el acceso a los equipos y materiales indispensables para la ejecución del trabajo experimental y acompañarme con su orientación, confianza y apoyo constante a lo largo de este proceso.

Al profesor Arnold Rafael Romero Bohórquez, mi codirector, por acogerme en el grupo de investigación CODEIM, por su guía académica y científica, por gestionar y conseguir los recursos necesarios para la realización y culminación de esta tesis, y por su disposición permanente para la discusión crítica de resultados y la construcción conjunta de este trabajo.

Al grupo de investigación CODEIM y a todos sus integrantes, por permitirme hacer uso de su infraestructura, equipos y materiales, así como por su apoyo oportuno cada vez que lo necesité. Sus aportes, sugerencias y ayuda práctica en el laboratorio fueron fundamentales para superar los retos experimentales que surgieron en el camino.

Al Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular, por permitirme desarrollar los complejos metálicos en sus instalaciones, poniendo a mi disposición el equipo de espectroscopía

UV-Vis y el material necesario para esta etapa del trabajo. A la profesora Ángela Montaña y a sus estudiantes, por su colaboración, acompañamiento y apoyo durante el desarrollo experimental.

Al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, por la adquisición de los espectros de RMN; al Laboratorio de Espectrometría de Masas, por la obtención de los datos mediante la técnica MALDI-TOF; al Laboratorio de Ciencia de Superficies SurfLAB, por el registro de los espectros de XPS; al Laboratorio de Rayos X, por la toma de los patrones de difracción de rayos X de polvo; y al Laboratorio de Análisis Instrumental de la Escuela de Química, por facilitar la obtención de los espectros FTIR. De igual manera, al Grupo de Investigación en Polímeros (GIP), por su colaboración en la adquisición de los termogramas DSC. El apoyo técnico y humano de cada uno de estos laboratorios fue esencial para la caracterización integral de los compuestos estudiados.

Al Centro de Investigación en Ciencias de la Vida de la Universidad Simón Bolívar (Barranquilla, Colombia), en especial a Fabián Espitia, por su valiosa colaboración en la realización de los ensayos con bacterias. Al Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP), particularmente a Diana Peña, por su apoyo en los ensayos antileishmania y por su disposición para adaptar los protocolos a las necesidades específicas de este proyecto.

A mis compañeros de estudio y colegas, quienes me ofrecieron su apoyo durante todo el proceso de formación doctoral; a quienes compartieron conmigo jornadas de laboratorio, discusiones académicas, dudas metodológicas y también momentos de ánimo cuando las cosas no salían como se esperaba.

Finalmente, a todas las personas que, de una u otra forma, estuvieron presentes en este arduo camino: quienes me apoyaron, creyeron en mí, me escucharon, me orientaron o me ayudaron a resolver algún inconveniente en las distintas etapas de este trabajo. A todos ustedes, muchas gracias.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	33
1. Introducción General.....	37
1.1 Contexto de enfermedades infecciosas: leishmaniasis y resistencia bacteriana	37
1.2 Limitaciones de los tratamientos actuales.....	40
1.3 Porphirinas como plataformas terapéuticas multifuncionales	41
1.4 Planteamiento del problema.....	43
1.5 Justificación	45
1.6 Objetivos	47
1.6.1 Objetivo general.....	47
1.6.2 Objetivos específicos	47
1.7 Hipótesis	48
2. Marco Referencial.....	49
2.1 Contexto histórico y situación nacional de la leishmaniasis y la resistencia bacteriana ..	50
2.2 Estado del arte.....	52
2.2.1 Avances en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea	53
2.2.2 Estrategias frente a la resistencia bacteriana y su impacto en la leishmaniasis cutánea.	59
2.2.3 Sistemas híbridos en terapias antimicrobianas	63
2.2.4 Porphirinas funcionalizadas y complejos metálicos en el control de infecciones.....	68
2.3 Marco teórico y conceptual.....	77
2.3.1 Estructura y propiedades de las porfirinas.....	78

2.3.2	Diseño y relevancia de híbridos de porfirina	97
2.3.3	Coordinación metálica en núcleos porfirínicos	101
2.3.4	Técnicas analíticas para síntesis y caracterización	111
2.4	Marco legal y normativo	120
2.4.1	Normativa nacional sobre enfermedades tropicales	120
2.4.2	Regulación ética y bioseguridad en investigaciones biomédicas	121
2.4.3	Directrices internacionales (OMS, OPS).....	122
3.	Diseño Experimental y Síntesis.....	123
3.1	Reactivos, condiciones experimentales y síntesis.....	123
3.1.1	Síntesis de TCPP.....	124
3.1.2	Obtención de derivados funcionalizados TCPP-Éster y TCPP-GABA.....	126
3.1.3	Híbrido Porphirina-Ampicilina	133
3.2	Formación de complejos metálicos.....	136
3.2.1	Serie TCPP-Éster (Zn, Ni, Sn).....	141
3.2.2	Serie TCPP-GABA (Zn, Ni, Sn).....	143
3.2.3	Serie TCPP-Amp (Zn, Ni, Sn)	145
3.3	Técnicas de caracterización	149
3.3.1	Espectroscopía FTIR.....	149
3.3.2	Espectroscopía UV-Vis.....	151
3.3.3	Resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C y técnicas 2D)	152
3.3.4	Espectrometría de masas MALDI-TOF	153
3.3.5	Espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS).....	155
3.3.6	Análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial (TGA-DSC)	157

3.3.7 Difracción de rayos X de polvo (DRX)	158
3.3.8 Ensayos de recristalización	160
3.4 Evaluación biológica.....	165
3.4.1 Protocolo antibacteriano (in vitro, PDT)	165
3.4.2 Protocolo antileishmania (in vitro, PDT).....	168
3.5 Estudios <i>in silico</i> de propiedades ADME y ADMET	170
4. Resultados y Discusión	175
4.1 Introducción general y observaciones experimentales	176
4.2 Análisis espectroscópico, difractométrico y térmico	190
4.2.1 Confirmación estructural de los compuestos (FTIR, RMN y MALDI-TOF).....	191
4.2.2 Comparación de patrones espectroscópicos entre derivados e híbrido (RMN).....	197
4.2.3 Evidencia de coordinación metálica (UV-Vis, FTIR, XPS, RMN, MALDI-TOF).....	204
4.2.4 Análisis por difracción de rayos X (DRX) y análisis térmico	233
4.3 Conclusiones del capítulo	239
5. Actividad Antileishmania y Antibacteriana	242
5.1 Actividad antileishmania	243
5.1.1 Ensayos en oscuridad: toxicidad intrínseca y ventana terapéutica	244
5.1.2 Actividad fotodinámica antileishmania: comparación con y sin irradiación.....	248
5.1.3 Relación estructura–actividad y mecanismos fotodinámicos en Leishmania.....	252
5.2 Actividad antibacteriana	255
5.2.1 Actividad antibacteriana en oscuridad	256
5.2.2 Actividad fotodinámica antibacteriana (aPDT)	258
5.2.3 Relación estructura–actividad en bacterias	265

5.3 Comparación entre actividad antileishmania y antibacteriana.....	267
5.3.1 Similitudes en susceptibilidad: efecto transversal de ROS y dependencia de biodisponibilidad.....	267
5.3.2 Diferencias en susceptibilidad: barreras estructurales y blancos celulares predominantes.....	268
5.3.3 Influencia de la metalación: ROS, permeabilidad y selectividad biológica	270
5.4 Predicción <i>in silico</i> del perfil farmacocinético y toxicológico	272
5.4.1 Propiedades fisicoquímicas y espacio de “drug-likeness”	273
5.4.2 Absorción gastrointestinal y distribución	275
5.4.3 Metabolismo y excreción.....	280
5.4.4 Perfil toxicológico <i>in silico</i>	282
5.4.5 Implicaciones para el desarrollo de los híbridos porfirina–ampicilina.....	283
5.5 Discusión integradora y perspectivas terapéuticas	284
5.5.1 Relación entre propiedades fisicoquímicas y actividad biológica: SAR global	285
5.5.2 Implicaciones para aplicaciones terapéuticas y perspectivas.....	287
5.6 Conclusiones del capítulo	288
6. Conclusiones y Perspectivas.....	290
6.1 Conclusiones generales	290
6.2 Limitaciones del estudio	293
6.3 Perspectivas futuras	295
Referencias Bibliográficas.....	298
Apéndices	326

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1	92
Comparativa de estrategias y reactivos de acoplamiento para enlaces peptídicos y ésteres.	92
Tabla 2	110
Comparación de propiedades entre complejos metálicos coordinados con porfirinas.	110
Tabla 3	139
Códigos de los complejos de zinc, níquel y estaño sintetizados a partir de los derivados de porfirinas e híbridos porfirina-ampicilina.	139
Tabla 4	139
Condiciones generales empleadas para la síntesis de los complejos metálicos derivados de TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.	139
Tabla 5	142
Rendimiento y caracterización de los complejos metálicos derivados de TCPP-Éster.	142
Tabla 6	144
Rendimiento y caracterización de los complejos metálicos derivados de TCPP-GABA.	144
Tabla 7	147
Rendimiento y caracterización de los complejos metálicos derivados de TCPP-Amp.	147
Tabla 8	164
Condiciones experimentales empleadas en los ensayos de recristalización.	164
Tabla 9	184

Rendimientos, condiciones de reacción y observaciones cualitativas en la obtención de los derivados de TCPP y sus complejos metálicos.....	184
Tabla 10	210
Desplazamientos experimentales de la banda Soret y evolución del patrón Q en los complejos metálicos derivados e híbrido de TCPP.....	210
Tabla 11	226
Resumen comparativo de parámetros DSC para las tres series (valores representativos; se muestran las componentes dominantes de alta resolución).....	226
Tabla 12	250
Valores de IC ₅₀ (μM) en ausencia de irradiación, bajo irradiación e Índice de fotoirritación (P.I.) de los derivados porfirínicos frente a <i>Leishmania amazonensis</i>	250
Tabla 13	260
Concentración mínima inhibitoria y factores de fotoactivación de derivados porfirínicos frente a <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i>	260
Tabla 14	264
Concentración mínima inhibitoria y factores de fotoactivación de derivados porfirínicos frente a <i>S. aureus</i> y <i>S. epidermidis</i>	264
Tabla 15	274
Propiedades fisicoquímicas y parámetros de drug-likeness predichos por SwissADME, ADMETlab 2.0 y Deep-PK para los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y el híbrido TCPP-Amp.	274
Tabla 16	278

Parámetros de absorción y distribución predichos por ADMETlab 2.0, Deep-PK y SwissADME para los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.	278
Tabla 17	279
Propiedades fisicoquímicas y parámetros farmacocinéticos predichos por SwissADME para los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). ...	279
Tabla 18	281
Predicciones de metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) por ADMETlab 2.0 y Deep-PK para los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.	281

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1	54
Estructuras moleculares de los fármacos utilizados actualmente para el tratamiento de la leishmaniasis.	54
Figura 2	55
Estructuras moleculares de a) antimicóticos azólicos derivados de 3-imidazoliiflavanonas y b) derivados de pirazolopiridinas junto con miltefosina.	55
Figura 3	56
Estructura molecular del alcaloide naloxonazina y del compuesto sintético T6	56
Figura 4	57
Estructura molecular de la ftalocianina de zinc utilizada como nanoemulsión.	57
Figura 5	58
Fotosensibilizador de aminoftalocianinas (PC1) con grupos hidrófilos (recuadro rojo).	58
Figura 6	61
Influencia cepa-dependiente de <i>Staphylococcus aureus</i> en la evolución de la leishmaniasis cutánea.	61
Figura 7	64
Representación esquemática de diferentes tipos de moléculas híbridas.	64
Figura 8	65
Estructura molecular del híbrido cefalosporina–sideróforo conocido como cefiderocol.	65
Figura 9	66

Estructuras representativas de híbridos quinolona – hidrazida	66
Figura 10	67
Estructura molecular del aducto de deuteroporfirina-lisina-metronidazol.	67
Figura 11	69
Porfirinas catiónicas de Zn(II) tipo TMePyP y derivados similares.	69
Figura 12	70
Estructura molecular del derivado porfirínico catiónico TMP ⁽⁺⁾	70
Figura 13	71
Estructura molecular de los híbridos derivados de triazina–porfirina a) y la benzoporfirina Verteporfin® b).	71
Figura 14	72
Estructura molecular de la TETPP, M representa los metalo-derivados.....	72
Figura 15	73
Porfirinas híbridas tipo (2–1–2–1) formadas por fragmentos porfirínicos y fenilénicos de forma alternante mediante enlaces covalentes (ensamblaje modular) tipo I y Tipo II.....	73
Figura 16	75
Estructura molecular de porfirinas sulfonadas 5,10,15,20-tetraquis(4-sulfonatofenil) porfirina (TPPS ₄)	75
Figura 17	77
Comparación conceptual entre tratamientos convencionales y terapia fotodinámica frente a <i>Leishmania spp.</i> y bacterias multirresistentes.....	77
Figura 18	78
Estructura de la porfirina enumerada del 1 al 24 de acuerdo con la nomenclatura IUPAC.	78

Figura 19	80
Porfirinas presentes en la naturaleza que participan en procesos bioquímicos vitales.	80
Figura 20	81
Esquema general de los posibles sitios de funcionalización de la estructura porfirínica.	81
Figura 21	82
Esquema general de la síntesis de porfirinas por los métodos de Rothemund, Adler–Longo y Lindsey.....	82
Figura 22	83
Estructura molecular (izquierda) y estructura cristalina (derecha) de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP).....	83
Figura 23	85
Mecanismo de formación de enlace peptídico mediado por carbodiimidas.	85
Figura 24	86
Síntesis one pot de amidas a partir de ácidos carboxílicos utilizando SOCl_2 y Et_3N	86
Figura 25	87
Formación de enlace peptídico a partir de una reacción mediada por cloroformiato.	87
Figura 26	88
Mecanismo de formación de enlace peptídico usando CDI.....	88
Figura 27	89
Síntesis de sales de uronio a partir de tetrametilurea (TMU).	89
Figura 28	89
Mecanismo de acoplamiento peptídico mediado por BOP.....	89
Figura 29	90

Formación de ésteres mediante la reacción de Yamaguchi.	90
Figura 30	91
Formación de ésteres mediante la reacción de Mitsunobu.	91
Figura 31	94
Estructura molecular (izquierda) y estructura cristalina (derecha) de la ampicilina.	94
Figura 32	99
Estructura molecular de los híbridos porfirina-nitroindazol.	99
Figura 33	100
Estructura molecular del híbrido derivado de naftalimida unido a ampicilina.	100
Figura 34	103
Estructura molecular de meso-metilporfirinas coordinadas con metales como Zn, Pd, Cu y Ni.	103
Figura 35	104
Estructura molecular de porfirinas fluoradas con iones metálicos de Zn(II) y Pd(II).	104
Figura 36	105
Estructuras de los complejos coordinados cuatro, cinco y seis de porfirinas de níquel(II).	105
Figura 37	106
Estructura molecular (izquierda) y estructura cristalina de rayos X (derecha) que muestran la disposición en forma de cinta de los híbridos de porfirina Ni(II)-DAP.	106
Figura 38	107
Estructura molecular de la Sn(IV)-5,10,15,20-tetra(4-sulfofenil)porfirina con Rosa de Bengala SnP(RB) ₂	107
Figura 39	108

Esquema de la posible estructura de los complejos Sn-TAPP-Me (izquierda) y Sn-TCPP (derecha).

..... 108

Figura 40 187

(a) Polvo microcristalino de TCPP obtenido tras la síntesis. (b) Imagen microscópica del material recristalizado, donde se observan cristales laminares dispersos y zonas amorfas no difractantes.

..... 187

Figura 41 189

Variación cromática de los derivados porfirínicos durante la síntesis y la metalación: (a) TCPP libre (púrpura). (b) TCPP-Éster (vino oscuro). (c) TCPP-GABA (marrón-rojizo). (d) Complejo Zn(II)-TCPP-Éster (vino). (e) Complejo Ni(II)-TCPP-GABA (verde). (f) Complejo Sn(IV)-TCPP-Amp (marrón violáceo).

Figura 42 193

Espectros FTIR representativos de la TCPP y sus derivados funcionalizados (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp).

Figura 43 195

Espectros representativos de ^1H RMN de la TCPP y del híbrido TCPP-Amp en DMSO- d_6 195

Figura 44 196

Espectros MALDI-TOF de la TCPP y sus derivados e híbrido TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.

Figura 45 199

Espectros ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) de la TCPP, TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp (de abajo hacia arriba).

Figura 46 200

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) de la TCPP, se identifican los carbonos característicos del macrociclo tetrapirrólico y los grupos carboxilo terminales.....	200
Figura 47	201
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del TCPP-Éster, aparecen nuevas señales a δ 170–173 ppm asociadas a carbonilos de éster e imida.	201
Figura 48	202
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del TCPP-GABA, se evidencian los carbonos alifáticos (29–35 ppm) y tipo amida ($\approx$ 152 ppm) derivados de la incorporación del GABA.	202
Figura 49	203
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del TCPP-Amp, se observan carbonos del núcleo β -lactámico (59–69 ppm) y amídicos, confirmando la conjugación con la ampicilina.	203
Figura 50	206
Espectros comparativos UV–Vis de la TCPP, sus derivados porfirínicos funcionalizados y el híbrido porfirina-ampicilina.....	206
Figura 51	209
Espectros UV–Vis de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos registrados en metanol (1×10^{-5} M): (a) Serie TCPP-Éster y complejos Zn(II), Ni(II), Sn(IV); (b) Serie TCPP-GABA y complejos Zn(II), Ni(II), Sn(IV); (c) Serie TCPP-Amp y complejos Zn(II), Ni(II), Sn(IV).....	209
Figura 52	213
Espectros FTIR comparativos de los derivados porfirínicos funcionalizados y sus complejos metálicos. (a) Serie TCPP-Éster, (b) Serie TCPP-GABA y (c) Serie TCPP-Amp.....	213
Figura 53	217

Espectros XPS de barrido general del derivado TCPP-Éster (a) y de sus complejos metálicos de Zn(II) (b), Ni(II) (c) y Sn(IV) (d).....	217
Figura 54	218
Espectros XPS de barrido general del derivado TCPP-GABA (a) y de sus complejos metálicos de Zn(II) (b), Ni(II) (c) y Sn(IV) (d).....	218
Figura 55	219
Espectros XPS de barrido general del híbrido porfirina-ampicilina TCPP-Amp (a) y de sus complejos metálicos de Zn(II) (b), Ni(II) (c) y Sn(IV) (d).....	219
Figura 56	222
Espectros XPS de alta resolución N 1s para las series (a) TCPP-Éster, (b) TCPP-GABA y (c) TCPP-Amp, comparando los derivados libres y los complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV)(de arriba hacia abajo).....	222
Figura 57	225
Espectros XPS de alta resolución de los metales Zn 2p, Ni 2p y Sn 3d de los complejos derivados e híbrido de TCPP: TCPP-Éster (a), TCPP-GABA (b) y TCPP-Amp (c).....	225
Figura 58	230
Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) de los derivados TCPP-Éster (a), TCPP-GABA (b) y el híbrido TCPP-Amp (c) y sus respectivos complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).	230
Figura 59	234
Patrones de difracción de rayos X ($2\theta = 10\text{--}70^\circ$) de los derivados porfirínicos TCPP-Éster (a), TCPP-GABA (b) y el híbrido TCPP-Amp (c) con sus respectivos complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).	234

Figura 60	235
Patrón de difracción de rayos X ($2\theta = 4-70^\circ$) del TCPP-Éster recristalizado.	235
Figura 61	238
Curvas DSC de TCPP-Éster y de sus complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).	238
Figura 62	245
Inhibición del crecimiento de <i>Leishmania amazonensis</i> en ausencia de irradiación a 150 μ M para derivados TCPP funcionalizados y sus complejos metálicos.	245
Figura 63	249
Comparación de la inhibición del crecimiento de <i>Leishmania amazonensis</i> en ausencia y presencia de irradiación a 150 μ M para derivados TCPP funcionalizados y sus complejos metálicos.	249
Figura 64	259
Inhibición fotodinámica e intrínseca de derivados porfirínicos y metaloporfirínicos frente a bacterias gran-negativas <i>E. coli</i> (A) y <i>K. pneumoniae</i> (B).	259
Figura 65	263
Inhibición fotodinámica e intrínseca de derivados porfirínicos y metaloporfirínicos frente a bacterias gran-positivas <i>S. aureus</i> (A) y <i>S. epidermidis</i> (B).	263

Lista de Esquemas

	Pág.
Esquema 1	126
Mecanismo de condensación entre pirrol y ácido 4-formilbenzoico para la formación de la porfirina TCPP.	126
Esquema 2	129
Mecanismo de activación de la TCPP mediante EDC-HCl y NHS para la formación del TCPP-Éster.	129
Esquema 3	132
Mecanismo de acoplamiento nucleofílico entre el TCPP-Éster y el ácido γ -aminobutírico (GABA) en presencia de DIEA.	132
Esquema 4	135
Mecanismo de activación del TCPP-GABA y acoplamiento de la ampicilina para la formación del híbrido porfirina-ampicilina (TCPP-Amp).	135
Esquema 5	138
Reacción general para la formación de complejos metálicos a partir de los derivados porfirínicos TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).	138

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice 1	326
Espectro FTIR de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP.	326
Apéndice 2	327
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP.	327
.....	327
Apéndice 3	328
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP.	328
Apéndice 4	329
Espectro UV–Vis de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP, registrado en metanol (1×10^{-5} M).	329
Apéndice 5	330
Espectro FTIR del derivado porfirínico TCPP-Éster.	330
Apéndice 6	331
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	331
Apéndice 7	332
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	332
Apéndice 8	333
Espectro de masas del derivado porfirínico TCPP-Éster registrado en modo positivo en matriz de DHB.	333

Apéndice 9.....	334
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y O 1s del derivado porfirínico TCPP-Éster.	334
Apéndice 10.....	335
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del derivado porfirínico TCPP-Éster.	335
Apéndice 11.....	336
Espectro FTIR del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	336
Apéndice 12.....	337
Espectro ¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	337
Apéndice 13.....	338
Espectro ¹³ C RMN (101 MHz, DMSO-d ₆) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	338
Apéndice 14.....	339
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Zn 2p del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.....	339
Apéndice 15.....	340
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.....	340
Apéndice 16.....	341
Espectro FTIR del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.....	341
Apéndice 17.....	342

Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	342
Apéndice 18	343
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	343
Apéndice 19	344
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Ni 2p del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	344
Apéndice 20	345
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	345
Apéndice 21	346
Espectro FTIR del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	346
Apéndice 22	347
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	347
Apéndice 23	348
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	348
Apéndice 24	349
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s, Cl 2p y Sn 3d del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.....	349
Apéndice 25	350

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.	350
Apéndice 26	351
Espectros de masas del derivado porfirínico TCPP-Éster y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) registrados en modo positivo en matriz de CHCA y DHB.	351
Apéndice 27	352
Espectros UV-Vis del derivado porfirínico TCPP-Éster y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), registrados en metanol (1×10^{-5} M).	352
Apéndice 28	353
Curvas DSC del TCPP-Éster y el complejo metálico con Zn(II).....	353
Apéndice 29	354
Curvas DSC de los complejos metálicos con Ni(II) y Sn(IV) del derivado TCPP-Éster.	354
Apéndice 30	355
Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del derivado porfirínico TCPP-Éster y sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).	355
Apéndice 31	356
Espectro FTIR del derivado porfirínico TCPP-GABA.....	356
Apéndice 32	357
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	357
Apéndice 33	358
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	358
Apéndice 34	359

Espectro de masas del derivado porfirínico TCPP-GABA registrado en modo positivo en matriz de CHCA.....	359
Apéndice 35	360
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y O 1s del derivado porfirínico TCPP-GABA.	360
Apéndice 36	361
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del derivado porfirínico TCPP-GABA.....	361
Apéndice 37	362
Espectro FTIR del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	362
Apéndice 38	363
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	363
Apéndice 39	364
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	364
Apéndice 40	365
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Zn 2p del complejo Zn(II)-TCPP-GABA.	365
Apéndice 41	366
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	366
Apéndice 42	367

Espectro FTIR del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.....	367
Apéndice 43	368
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	368
Apéndice 44	369
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	369
Apéndice 45	370
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Ni 2p del complejo Ni(II)-TCPP-GABA.	370
Apéndice 46	371
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.....	371
Apéndice 47	372
Espectro FTIR del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-GABA.....	372
Apéndice 48	373
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	373
Apéndice 49	374
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Sn 3d del complejo Sn(IV)-TCPP-GABA.....	374
Apéndice 50	375

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-GABA.	375
Apéndice 51	376
Espectros de masas del derivado porfirínico TCPP-GABA y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) registrados en modo positivo en matriz de CHCA y DHB.	376
Apéndice 52	377
Espectros UV–Vis del derivado porfirínico TCPP-GABA y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), registrados en metanol (1×10^{-5} M).	377
Apéndice 53	378
Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del derivado porfirínico TCPP–GABA y sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).	378
Apéndice 54	379
Espectro FTIR del híbrido porfirina-ampicilina TCPP-Amp.	379
Apéndice 55	380
Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del híbrido TCPP-Amp.	380
Apéndice 56	381
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del híbrido TCPP-Amp.	381
Apéndice 57	382
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y O 1s del híbrido TCPP-Amp.	382
Apéndice 58	383
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del híbrido TCPP-Amp.	383

Apéndice 59	384
Espectro FTIR del complejo de Zn(II) del híbrido porfirina-ampicilina TCPP-Amp.	384
Apéndice 60	385
Espectro ¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) del complejo de Zn(II) del híbrido TCPP-Amp.....	385
Apéndice 61	386
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Zn 2p del complejo de Zn(II) del híbrido TCPP-Amp.	386
Apéndice 62	387
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Zn(II) del híbrido TCPP-Amp.	387
Apéndice 63	388
Espectro FTIR del complejo de Ni(II) del híbrido porfirina-ampicilina TCPP-Amp.	388
Apéndice 64	389
Espectro ¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) del complejo de Ni(II) del híbrido TCPP-Amp.	389
Apéndice 65	390
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Ni 2p del complejo de Ni(II) del híbrido TCPP-Amp.....	390
Apéndice 66	391
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Ni(II) del híbrido TCPP-Amp.....	391
Apéndice 67	392
Espectro FTIR del complejo de Sn(IV) del híbrido porfirina-ampicilina TCPP-Amp.....	392
Apéndice 68	393

Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Sn(IV) del híbrido TCPP-Amp.	393
Apéndice 69	394
Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s, Cl 2p y Sn 3d del complejo de Sn(IV) del híbrido TCPP-Amp.	394
Apéndice 70	395
Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Sn(IV) del híbrido TCPP-Amp.	395
Apéndice 71	396
Espectros de masas del híbrido porfirina-ampicilina TCPP-Amp y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) registrados en modo positivo en matriz de CHCA y DHB.....	396
Apéndice 72	397
Espectros UV–Vis del híbrido TCPP-Amp y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), registrados en metanol (1×10^{-5} M).....	397
Apéndice 73	398
Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del híbrido TCPP–Amp y sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).	398
Apéndice 74	399
Curvas dosis–respuesta en ausencia de irradiación para las series a)TCPP–Éster, b) TCPP-GABA y c) TCPP–Amp y sus complejos metálicos frente a <i>Leishmania amazonensis</i>	399
Apéndice 75	400
Comparación de la inhibición del crecimiento de <i>Leishmania amazonensis</i> en ausencia y presencia de irradiación ($\lambda = 597\text{--}752$ nm, $17 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$) a $75 \mu\text{M}$ a) y $300 \mu\text{M}$ b).	400
Apéndice 76	401

Curvas dosis–respuesta con irradiación de luz para las series a)TCPP-Éster, b) TCPP-GABA y c) TCPP–Amp y sus complejos metálicos frente a <i>Leishmania amazonensis</i>	401
Apéndice 77	402
Valores empleados para iniciar el tratamiento y ajuste de datos para las regiones de alta resolución de los espectros XPS.	402

Resumen

Título: Nuevos Complejos Metálicos Derivados de Porphirinas Funcionalizadas e Híbridos Porphirina-Ampicilina: Obtención, Caracterización y Evaluación de su Potencial Acción Dual Antileishmania y Antibacteriana*

Autor: Angie Paola Tamayo Carreño**

Palabras Clave: Porphirinas, metaloporphirinas, terapia fotodinámica, *Leishmania amazonensis*, actividad antibacteriana, relación estructura-actividad, especies reactivas de oxígeno.

Descripción: El presente trabajo aborda el diseño, síntesis, caracterización y evaluación biológica de una nueva serie de derivados porfirínicos funcionalizados y sus complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), orientados a su aplicación como fotosensibilizadores en terapias fotodinámicas (PDT) frente a *Leishmania amazonensis* y bacterias de relevancia clínica. Se sintetizaron los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y el híbrido porfirina-ampicilina (TCPP-Amp), así como sus correspondientes metaloporphirinas, cuya estructura e integridad fueron confirmadas mediante técnicas espectroscópicas y analíticas.

La actividad biológica se evaluó en condiciones de oscuridad y bajo irradiación visible, permitiendo diferenciar la toxicidad intrínseca de la actividad fotodinámica inducida por luz. Los resultados antileishmania evidencian que la eficacia fotodinámica depende de manera crítica de la funcionalización periférica y del metal central, destacándose Zn(II)-TCPP-GABA como el derivado más prometedor al combinar baja toxicidad en oscuridad con una potenciación significativa bajo irradiación. En el ámbito antibacteriano, se observó una mayor susceptibilidad frente a la PDT, especialmente en bacterias Gram-positivas, sobresaliendo los híbridos TCPP-Amp y, de forma consistente, Zn(II)-TCPP-Amp por presentar reducciones relevantes en las concentraciones mínimas inhibitorias bajo irradiación.

El análisis integrado permitió establecer relaciones estructura-actividad, evidenciando que la metalación con Zn(II) favorece la generación de especies reactivas de oxígeno y la eficacia fotodinámica, mientras que Ni(II) tiende a atenuarla y Sn(IV) presenta un comportamiento intermedio dependiente del sistema biológico. Finalmente, los estudios *in silico* sugieren que estos sistemas poseen un perfil compatible con aplicaciones tópicas o locales. En conjunto, este trabajo contribuye al desarrollo de fotosensibilizadores con potencial terapéutico dual y aporta criterios racionales para su optimización futura.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: José Antonio Henao Martínez. Doctor en Química Aplicada. Codirector: Arnold Rafael Romero Bohórquez. Doctor en Química.

Abstract

Title: New Metal Complexes Derived from Functionalized Porphyrins and Porphyrin–Ampicillin Hybrids: Synthesis, Characterization and Evaluation of Their Potential Dual Antileishmanial and Antibacterial Activity*

Author: Angie Paola Tamayo Carreño**

Key Words: Porphyrins, metalloporphyrins, photodynamic therapy, *Leishmania amazonensis*, antibacterial activity, structure–activity relationships, reactive oxygen species.

Description: This work focuses on the design, synthesis, characterization, and biological evaluation of a new series of functionalized porphyrin derivatives and their metal complexes with Zn(II), Ni(II), and Sn(IV), aimed at their application as photosensitizers in photodynamic therapy (PDT) against *Leishmania amazonensis* and clinically relevant bacteria. The ligands TCPP–Ester, TCPP–GABA, and the porphyrin–ampicillin hybrid (TCPP–Amp), as well as their corresponding metalloporphyrins, were successfully synthesized and structurally confirmed by spectroscopic and analytical techniques.

Biological activity was assessed under dark conditions and upon visible light irradiation, allowing discrimination between intrinsic toxicity and light-induced photodynamic effects. Antileishmanial assays revealed that photodynamic efficacy is strongly dependent on peripheral functionalization and the nature of the central metal ion, with Zn(II)–TCPP–GABA emerging as the most promising derivative due to its low dark toxicity and significant IC₅₀ reduction under irradiation. In contrast, antibacterial studies showed a higher overall susceptibility to PDT, particularly in Gram-positive bacteria, with TCPP–Amp hybrids and especially Zn(II)–TCPP–Amp exhibiting the most favorable profiles, characterized by marked reductions in minimum inhibitory concentrations upon irradiation.

Structure–activity relationship analysis demonstrated that Zn(II) metalation enhances photodynamic efficiency through improved triplet-state population and reactive oxygen species generation, whereas Ni(II) tends to attenuate photodynamic responses and Sn(IV) displays an intermediate, system-dependent behavior. *In silico* pharmacokinetic and toxicological predictions suggest that, although these compounds may not meet criteria for systemic drugs, they are suitable for topical or localized PDT applications. Overall, this study provides valuable insights for the rational design of dual-action photosensitizers and contributes to the advancement of photodynamic strategies against parasitic and bacterial infections.

* Degree Work

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: José Antonio Henao Martínez. Doctor en Química Aplicada. Codirector: Arnold Rafael Romero Bohórquez. Doctor en Química.

Introducción

Las enfermedades infecciosas continúan representando uno de los principales desafíos para la salud pública a nivel mundial, particularmente en regiones tropicales y subtropicales donde convergen factores socioeconómicos, ambientales y biológicos que favorecen su persistencia y expansión. Dentro de este contexto, la leishmaniasis y las infecciones bacterianas asociadas a procesos cutáneos y sistémicos constituyen problemáticas de alto impacto clínico y social, caracterizadas por limitadas opciones terapéuticas, aparición de resistencia a fármacos convencionales y efectos adversos significativos derivados de los tratamientos actuales.

La leishmaniasis, causada por protozoos del género *Leishmania*, es considerada una enfermedad tropical desatendida que afecta principalmente a poblaciones vulnerables. Los tratamientos disponibles se basan en compuestos antimoniales, anfotericina B y algunos fármacos de segunda línea, los cuales presentan elevada toxicidad, esquemas terapéuticos prolongados y eficacia variable según la especie del parásito. De manera paralela, el aumento sostenido de infecciones bacterianas resistentes a antibióticos tradicionales ha intensificado la necesidad de estrategias terapéuticas alternativas o complementarias, especialmente en infecciones cutáneas y coinfecciones donde bacterias y parásitos pueden coexistir.

En este escenario, la terapia fotodinámica (PDT) ha emergido como una alternativa prometedora debido a su mecanismo de acción no específico, basado en la generación localizada de especies reactivas de oxígeno (ROS) tras la activación lumínica de un fotosensibilizador. Esta estrategia ofrece ventajas significativas frente a terapias convencionales, tales como la reducción del riesgo de resistencia, la posibilidad de aplicaciones locales o tópicas y la selectividad espacial controlada por la irradiación. Sin embargo, el éxito de la PDT depende críticamente del diseño racional de fotosensibilizadores que combinen propiedades fotofísicas adecuadas,

biodisponibilidad, baja toxicidad en oscuridad y capacidad de interactuar eficientemente con el blanco biológico.

Las porfirinas y sus complejos metálicos han sido ampliamente estudiados como fotosensibilizadores debido a su intensa absorción en la región visible, elevada estabilidad química y capacidad para generar oxígeno singlete. Estudios previos han demostrado que la funcionalización periférica del macrociclo porfirínico y la incorporación de diferentes metales centrales pueden modular de manera significativa su comportamiento fotodinámico y biológico. No obstante, persisten limitaciones asociadas a la agregación en medios acuosos, la escasa selectividad biológica y la necesidad de concentraciones relativamente altas para observar efectos terapéuticos relevantes, especialmente en modelos parasitarios.

Adicionalmente, en los últimos años se ha propuesto el desarrollo de sistemas híbridos que integren en una misma entidad molecular un fotosensibilizador y un fármaco convencional, con el objetivo de potenciar la eficacia terapéutica mediante mecanismos combinados. En este contexto, los híbridos porfirina-antibiótico representan una estrategia innovadora para abordar simultáneamente infecciones bacterianas y parasitarias, particularmente en escenarios de coinfección o infecciones cutáneas complejas.

A partir de estas consideraciones, surge la pregunta de investigación que orienta el presente trabajo: ¿es posible diseñar porfirinas funcionalizadas y sus complejos metálicos que actúen como fotosensibilizadores eficientes con acción dual antileishmania y antibacteriana, modulando su actividad mediante la funcionalización periférica y la naturaleza del metal central? Se plantea como hipótesis que la combinación racional de funcionalización periférica (éster, GABA y ampicilina) y metalación selectiva (Zn(II), Ni(II) y Sn(IV)) permitirá obtener sistemas con perfiles

diferenciados de toxicidad intrínseca y actividad fotodinámica, optimizando la ventana terapéutica frente a *Leishmania amazonensis* y bacterias de relevancia clínica.

El objetivo general de este trabajo fue diseñar, sintetizar, caracterizar y evaluar biológicamente una nueva serie de derivados porfirínicos funcionalizados e híbridos porfirina–ampicilina y sus complejos metálicos, con el fin de analizar su potencial aplicación como fotosensibilizadores en terapias fotodinámicas con acción dual antileishmania y antibacteriana. Para ello, se estableció como objeto de estudio la relación entre estructura molecular, propiedades fotofísicas y respuesta biológica en dos sistemas con arquitecturas celulares contrastantes: bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, y el protozoo *Leishmania amazonensis*.

La justificación de esta investigación radica, en primer lugar, en su aporte al campo de la química bioinorgánica aplicada, al generar conocimiento sobre cómo la metalación y la funcionalización periférica influyen en el comportamiento fotodinámico de porfirinas funcionalizadas. En segundo lugar, el trabajo contribuye al desarrollo de enfoques terapéuticos alternativos frente a enfermedades infecciosas de alta relevancia social, particularmente aquellas que afectan a poblaciones con acceso limitado a tratamientos convencionales. Desde una perspectiva aplicada, los resultados obtenidos permiten identificar sistemas con potencial para aplicaciones locales o tópicas, reduciendo la necesidad de tratamientos sistémicos altamente tóxicos.

El enfoque metodológico empleado integra estrategias sintéticas, técnicas avanzadas de caracterización espectroscópica y analítica, ensayos biológicos *in vitro* en condiciones irradiadas y no irradiadas, análisis estadístico de los resultados y predicciones *in silico* del perfil farmacocinético y toxicológico. Este enfoque multidisciplinario permitió abordar el problema de

investigación de manera integral, correlacionando propiedades químicas y fotofísicas con la respuesta biológica observada.

En esta tesis se propone no solo evaluar la viabilidad de nuevos fotosensibilizadores porfirínicos, sino también establecer criterios racionales de diseño que orienten futuras investigaciones en el desarrollo de terapias fotodinámicas aplicadas a infecciones parasitarias y bacterianas. Aunque los resultados no pretenden establecer aplicaciones clínicas inmediatas, sí proporcionan una base sólida para el diseño y optimización de sistemas con potencial terapéutico dual, contribuyendo al avance del conocimiento científico en un área de creciente interés a nivel local, regional e internacional.

1. Introducción General

La persistencia de las enfermedades infecciosas como problema global de salud pública refleja profundas desigualdades socioeconómicas, deficiencias en el acceso a servicios de atención oportuna y limitaciones en el desarrollo de terapias innovadoras. Entre estas, la leishmaniasis cutánea destaca por su carga epidemiológica en regiones tropicales y subtropicales, donde la pobreza, la ruralidad y la inestabilidad social favorecen su transmisión. A su vez, la resistencia bacteriana ha emergido como una amenaza silenciosa que complica el manejo de infecciones oportunistas, amplificando la morbilidad asociada a lesiones crónicas. Este capítulo presenta el contexto y las bases conceptuales que fundamentan la necesidad de explorar alternativas terapéuticas más eficaces, seguras y adaptadas a las realidades locales, resaltando el potencial de las porfirinas funcionalizadas y sus complejos metálicos como plataformas multifuncionales en la búsqueda de soluciones frente a la coinfección parasitaria y bacteriana.

1.1 Contexto de enfermedades infecciosas: leishmaniasis y resistencia bacteriana

Las enfermedades constituyen uno de los desafíos persistentes más significativos para la salud pública mundial, a pesar de los avances significativos en vacunas, terapias antimicrobianas y sistemas de vigilancia epidemiológica. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de 17 millones de personas mueren anualmente por enfermedades infecciosas, lo que equivale a casi un tercio de todas las muertes globales (WHO, 2024b). Esta carga es especialmente grave en regiones de ingresos bajos y medianos, donde las condiciones de saneamiento, acceso limitado a servicios de salud y factores socioeconómicos favorecen la propagación de infecciones.

Entre las infecciones que siguen causando un gran impacto están las enfermedades tropicales desatendidas (ETD), un grupo de 20 patologías que afectan a más de 1.700 millones de

personas en todo el mundo. Dentro de este grupo, se destaca la leishmaniasis por su impacto clínico, epidemiológico y terapéutico que afecta principalmente a poblaciones empobrecidas y rurales con acceso limitado a servicios médicos (PAHO/WHO, 2024).

La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria causada por protozoos del género *Leishmania*, transmitidos al ser humano por la picadura de hembras infectadas de flebótomos del género *Lutzomyia spp.* Se cree que cerca de mil millones de personas viven en zonas de riesgo lo que genera una incidencia anual de entre 700.000 y un millón de casos, y más de 50.000 muertes asociadas, principalmente en África, Asia y América Latina (Alvar et al., 2012; WHO, 2024b). Existen tres formas clínicas principales: cutánea, mucocutánea y visceral (también conocida como kala-azar), siendo la última la más grave y potencialmente letal si no se trata.

A pesar de los tratamientos disponibles, como los antimoniales pentavalentes, la anfotericina B liposomal, la miltefosina y la paromomicina, las terapias actuales presentan importantes limitaciones: alta toxicidad, duración prolongada, necesidad de administración parenteral y la emergencia de cepas resistentes (Singh et al., 2023). Esto hace urgente el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas más eficaces, menos invasivas y con menor perfil de toxicidad.

Al mismo tiempo, la humanidad enfrenta una crisis creciente de resistencia bacteriana a los antibióticos. Esta resistencia ocurre cuando las bacterias desarrollan mecanismos para evadir la acción de antibióticos convencionales, lo que reduce drásticamente las opciones terapéuticas. La OMS reconoce la resistencia antimicrobiana como una de las diez principales amenazas para la salud global, y se proyecta que, de no actuar, para 2050 podrían morir hasta 10 millones de personas al año por infecciones bacterianas resistentes (WHO, 2024a).

La resistencia bacteriana tiene causas multifactoriales, incluyendo el uso indebido de antibióticos en humanos, animales y agricultura, así como deficiencias en el control de infecciones en los sistemas hospitalarios.

En América Latina, y particularmente en Colombia, ambos problemas tienen un fuerte impacto. Según el Instituto Nacional de Salud (INS), Colombia reporta anualmente más de 7.000 casos de leishmaniasis, la mayoría de ellos en zonas rurales y selváticas donde la atención médica es limitada (Instituto Nacional de Salud, 2024). El departamento de Santander, situado en la región nororiental del país, ha sido históricamente una zona endémica para la leishmaniasis cutánea, debido a sus condiciones ecológicas y climáticas que favorecen la proliferación del vector *Lutzomyia spp.*

Además, el sistema de salud colombiano enfrenta un aumento en las infecciones por bacterias multirresistentes, especialmente en entornos hospitalarios. La resistencia a betalactámicos, fluoroquinolonas y carbapenémicos en bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter baumannii* ha sido documentada con preocupación creciente por las autoridades sanitarias (Ministerio de Salud y Protección Social, 2022b).

Este panorama resalta la urgencia de explorar nuevas estrategias terapéuticas que sean capaces de enfrentar ambas problemáticas de manera sinérgica o complementaria. La investigación en compuestos bioactivos con propiedades duales, como es el caso de los sistemas híbridos basados en porfirinas funcionalizadas y coordinadas con metales, representa una vía prometedora en la búsqueda de tratamientos eficaces, innovadores y multifuncionales para el tratamiento de estas enfermedades infecciosas de alta complejidad.

1.2 Limitaciones de los tratamientos actuales

Los tratamientos convencionales para la leishmaniasis incluyen compuestos antimoniales pentavalentes, anfotericina B liposomal, miltefosina y paromomicina. Sin embargo, estos fármacos presentan serias limitaciones, se ha documentado toxicidad sistémica, rutas de administración invasivas y períodos de tratamiento prolongados. A pesar del uso extendido de antimoniales como primera línea terapéutica en muchos países endémicos, su eficacia se ha visto comprometida por la resistencia adquirida en cepas de *Leishmania spp.*, especialmente en regiones con tratamiento prolongado y sin supervisión adecuada (Gonçalves et al., 2021; Pijpers et al., 2019; Sundar et al., 2024). Además, se ha documentado que la miltefosina, aunque eficaz por vía oral, presenta efectos adversos gastrointestinales severos, los cuales hacen que solo el 65 % de los pacientes completen adecuadamente el tratamiento (Astman et al., 2024).

De igual manera, la resistencia bacteriana a los antibióticos se ha convertido en una amenaza global para la salud pública. La Organización Mundial de la Salud ha advertido que, de no tomarse acciones efectivas, muchas infecciones comunes podrían tornarse intratables en las próximas décadas (WHO, 2024a). El uso excesivo e inadecuado de antibióticos en medicina humana, veterinaria y agricultura, obstaculiza esfuerzos por controlar las infecciones y evita el avance hacia sectores de atención primaria en salud (Rice, 2012; WHO, 2024b).

Esta convergencia de resistencia parasitaria y bacteriana ha generado coinfecciones frecuentes en pacientes con leishmaniasis cutánea. Aunque se han utilizado terapias combinadas y antibióticos de amplio espectro para prevenir infecciones secundarias, tales prácticas pueden exacerbar la toxicidad sistémica y aumentar la presión selectiva por resistencia (Suárez & Gudiol, 2009). Este contexto ha motivado la búsqueda de enfoques terapéuticos alternativos que no solo

enfrenten la infección parasitaria, sino también las coinfecciones bacterianas que agravan la leishmaniasis cutánea.

Ante estos retos terapéuticos, se ha propuesto diseñar moléculas híbridas con propiedades antimicrobianas mejoradas y mecanismos de acción duales o sinérgicos que combinen propiedades antileishmaniales y antibacterianas en una sola entidad. Estas moléculas permitirían mejorar la eficacia clínica, reducir la toxicidad, facilitar la administración y potencialmente superar mecanismos de resistencia bacteriana (Meunier, 2008; Pokrovskaya & Baasov, 2010; Shaveta et al., 2016).

1.3 Porfirinas como plataformas terapéuticas multifuncionales

Las porfirinas constituyen una familia de compuestos heterocíclicos aromáticos ampliamente reconocidos por su relevancia biológica y su versatilidad como base estructural para el diseño de sistemas terapéuticos avanzados. Su estructura tetrapirrólica, altamente conjugada, les permite absorber radiación visible y formar complejos estables con diversos iones metálicos, modificando de forma controlada propiedades ópticas, electrónicas y fisicoquímicas (Imran et al., 2018; Luo et al., 2022).

En biomedicina, las porfirinas se destacan principalmente por su aplicación como fotosensibilizadores en terapia fotodinámica (PDT). Bajo irradiación con luz visible, las porfirinas transfieren energía a moléculas de oxígeno para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de inducir daño selectivo en células tumorales, bacterias u otros patógenos (Han et al., 2023). Esta capacidad de generar ROS ha abierto la puerta a la aplicación de porfirinas en infecciones parasitarias como la leishmaniasis y en infecciones bacterianas multirresistentes, combinando fototerapia y actividad directa.

Su gran potencial radica, además, en la posibilidad de funcionalización química, mediante la adición de grupos carboxilo, amino o alquilo en posiciones periféricas del macrociclo. Esta modificación permite controlar parámetros como solubilidad, selectividad por blancos celulares y afinidad por estructuras subcelulares, optimizando su rendimiento como agentes terapéuticos (Imran et al., 2018; Ouyang et al., 2024). Gracias a esta versatilidad, las porfirinas pueden actuar como plataformas para sistemas híbridos, incorporando fragmentos bioactivos adicionales, como aminoácidos o fármacos antibióticos.

En este campo, se han investigado sistemas híbridos porfirina-antibiótico, en los que la unión covalente de un fragmento antimicrobiano a la estructura de la porfirina incrementa la eficacia antimicrobiana y amplía la gama de acción. Gao et al. (2018) describieron un aducto de deuteroporfirina y metronidazol diseñado para aprovechar sistemas de captación de porfirinas en bacterias anaerobias como *Porphyromonas gingivalis*, demostrando una entrada dirigida y un efecto inhibitor significativo (Gao et al., 2018). De manera similar, estudios con híbridos porfirina-antibiótico han explorado la mejora en la penetración de antibióticos frente a bacterias Gram-negativas al explotar rutas activas de transporte (Pokrovskaya & Baasov, 2010).

Por otro lado, la coordinación de metales como Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), contribuye a optimizar las propiedades fotoquímicas y electrónicas de las porfirinas, incrementando la eficiencia en la generación de oxígeno singlete y otros ROS, y reforzando su estabilidad estructural en medios biológicos (Giannoudis et al., 2020; Rafiee et al., 2024). Esto ha impulsado su exploración como componentes clave en estrategias combinadas de terapia fotodinámica y acción antimicrobiana dirigida.

Asimismo, la incorporación de porfirinas en sistemas de liberación controlada, como nanopartículas, marcos organometálicos o conjugados sensibles a pH, permite diseñar plataformas

con liberación específica en el microambiente de la infección o del tumor, maximizando la biodisponibilidad y minimizando la toxicidad sistémica (Han et al., 2023).

De este modo, la flexibilidad estructural de las porfirinas, sumada a su capacidad de formar híbridos funcionalizados y complejos metálicos, las posiciona como plataformas terapéuticas multifuncionales, con un potencial considerable para el desarrollo de estrategias innovadoras dirigidas a enfermedades infecciosas complejas como la leishmaniasis y a la creciente amenaza de resistencia bacteriana.

1.4 Planteamiento del problema

La leishmaniasis se mantiene como una de las enfermedades tropicales desatendidas (ETD) de mayor carga a nivel mundial, afectando a más de 700.000 personas cada año, con focos críticos en África, Asia y América Latina (WHO, 2024b). En países como Colombia, esta enfermedad constituye un desafío persistente para la salud pública, con más de 7.000 casos anuales reportados, principalmente en regiones rurales y selváticas donde la pobreza, el acceso limitado a servicios médicos y las barreras geográficas favorecen su propagación (Instituto Nacional de Salud, 2024a; Maia-Elkhoury et al., 2020). Departamentos como Santander representan focos endémicos históricos, exacerbados por factores ambientales, ocupacionales y socioeconómicos que dificultan la interrupción del ciclo de transmisión.

Aunque existen opciones terapéuticas convencionales—entre ellas los compuestos antimoniales pentavalentes, la anfotericina B liposomal, la miltefosina y la paromomicina—estos medicamentos presentan limitaciones que restringen su efectividad en el control integral de la enfermedad. La toxicidad sistémica, la vía de administración invasiva y la duración prolongada de los esquemas terapéuticos, sumados a la emergencia de cepas resistentes, reducen drásticamente

las tasas de curación, especialmente en contextos de difícil acceso a servicios de salud (Gonçalves et al., 2021; Sundar et al., 2024).

Simultáneamente, la expansión de la resistencia bacteriana agrava el escenario clínico, ya que infecciones bacterianas oportunistas pueden complicar y prolongar la evolución de lesiones cutáneas por leishmaniasis, especialmente en zonas rurales sin condiciones óptimas de saneamiento y atención médica oportuna. La OMS advierte que patógenos oportunistas como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* muestran mecanismos de evasión múltiple que dificultan la efectividad de las terapias, generando coinfecciones bacterianas recurrentes en pacientes con lesiones cutáneas por leishmaniasis y agravando la evolución clínica de la enfermedad (Rice, 2012; WHO, 2024b).

Frente a esta realidad, la búsqueda de estrategias terapéuticas innovadoras, eficaces y de menor toxicidad, capaces de abordar de forma sinérgica la infección parasitaria y la coinfección bacteriana, constituye una prioridad científica y de salud pública. Los sistemas híbridos basados en porfirinas funcionalizadas y coordinadas con metales de transición emergen como una alternativa prometedora, dado su potencial para actuar como plataformas multifuncionales que integran actividad fotodinámica, capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y efectos antimicrobianos combinados (Han et al., 2023; Imran et al., 2018).

No obstante, la carencia de alternativas terapéuticas innovadoras, capaces de abordar de forma conjunta la infección parasitaria y la coinfección bacteriana, plantea un desafío científico y social que requiere enfoques interdisciplinarios. Aunque se han investigado moléculas híbridas como estrategia para enfrentar la resistencia, aún existe un vacío de conocimiento sobre la eficacia real de sistemas basados en porfirinas funcionalizadas y su potencial como plataformas terapéuticas multifuncionales.

En este escenario, surge la necesidad de diseñar y evaluar nuevos derivados híbridos porfirínicos, capaces de integrar acción fotodinámica, coordinación con metales de transición y enlaces covalentes con principios antibacterianos, para explorar su actividad dual antileishmania y antibacteriana. Este proyecto plantea resolver este vacío científico mediante la síntesis, caracterización estructural y evaluación experimental de nuevos complejos metálicos derivados de porfirinas y de un híbrido porfirina-ampicilina, con miras a aportar evidencia sólida sobre su potencial acción dual antileishmania y antibacteriana. Con ello, se busca fortalecer la base científica para desarrollar estrategias terapéuticas viables, con menor toxicidad y mayor efectividad frente a los desafíos de la resistencia parasitaria y bacteriana.

1.5 Justificación

A pesar de los avances en la comprensión de la biología de *Leishmania spp.* y en la optimización de terapias convencionales, la respuesta terapéutica para la leishmaniasis cutánea sigue estancada en esquemas que no se ajustan a las realidades de poblaciones rurales y dispersas, donde los factores geográficos, la pobreza y la falta de infraestructura limitan la continuidad y éxito de los tratamientos. Esta brecha tecnológica refleja no solo una necesidad insatisfecha de nuevos fármacos, sino la urgencia de estrategias integrales que combinen eficacia, seguridad y adaptabilidad a contextos locales.

En este escenario, la persistencia de coinfecciones bacterianas asociadas a lesiones cutáneas no tratadas adecuadamente o con cuidados limitados, suma una dimensión de complejidad clínica que eleva la duración de los cuadros, aumenta la carga de antibióticos de amplio espectro y amplifica el riesgo de generar cepas resistentes. Estos factores acentúan el

círculo vicioso de la resistencia microbiana, agravando los desafíos que enfrentan los sistemas de salud locales.

Frente a esta realidad, la presente investigación propone una línea innovadora de obtención de sistemas híbridos basados en porfirinas funcionalizadas y complejos metálicos, diseñados no solo como fotosensibilizadores para terapia fotodinámica, sino como plataformas terapéuticas con potencial acción dual antileishmania y antibacteriana, ajustadas a la complejidad de lesiones cutáneas crónicas. Este enfoque se fundamenta en evidencia emergente sobre la capacidad de las porfirinas para generar especies reactivas de oxígeno, modular la respuesta frente a parásitos intracelulares y, mediante hibridación molecular, optimizar la penetración de principios antibacterianos (Han et al., 2023; Imran et al., 2018; Pokrovskaya & Baasov, 2010; Sundar et al., 2024).

Este aporte no solo busca reforzar la base experimental para futuros desarrollos clínicos, sino abrir la posibilidad de terapias más seguras, menos invasivas y compatibles con escenarios de limitada infraestructura hospitalaria.

De esta manera se contribuye a superar la barrera entre la investigación básica y la transferencia tecnológica, al demostrar la viabilidad de nuevas arquitecturas moleculares orientadas a resolver simultáneamente dos problemáticas críticas: el control efectivo de la leishmaniasis cutánea y la mitigación de las infecciones bacterianas secundarias que prolongan la morbilidad y favorecen la resistencia microbiana.

1.6 Objetivos

1.6.1 *Objetivo general*

Explorar la relación entre la estructura molecular, las propiedades fisicoquímicas y la actividad biológica dual (antileishmania y antibacteriana) de una serie de derivados porfirínicos funcionalizados y del híbrido porfirina–ampicilina, así como de sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), mediante su caracterización estructural y la evaluación *in vitro* de su comportamiento en ausencia y presencia de terapia fotodinámica.

1.6.2 *Objetivos específicos*

- Sintetizar la porfirina base 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP), sus derivados funcionalizados y el híbrido porfirina-ampicilina, a partir de precursores accesibles comercialmente.
- Obtener los correspondientes complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) a partir de los derivados porfirínicos funcionalizados y del híbrido porfirina-ampicilina, bajo condiciones que garanticen su estabilidad para estudios estructurales y biológicos posteriores.
- Caracterizar estructuralmente los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos mediante técnicas espectroscópicas (FTIR, UV-Vis, RMN), de masas (MALDI-TOF), de análisis superficial (XPS), difractométricas (DRX) y térmicas (TGA-DSC), con el fin de establecer sus modos de coordinación y principales características estructurales.
- Analizar la influencia del tipo de metal y de la naturaleza del derivado porfirínico en las propiedades electrónicas y estructurales de los complejos, a partir de los datos

espectroscópicos y térmicos, discutiendo su posible impacto en procesos de generación de especies reactivas de oxígeno relevantes para terapia fotodinámica.

- Evaluar la actividad biológica dual (antileishmania y antibacteriana) de los derivados porfirínicos funcionalizados, del híbrido porfirina-ampicilina y de sus complejos metálicos, mediante ensayos *in vitro* en oscuridad y bajo condiciones de terapia fotodinámica, estableciendo relaciones estructura–actividad.

1.7 Hipótesis

Considerando la persistente necesidad de alternativas terapéuticas más eficaces y seguras para el manejo de la leishmaniasis cutánea y sus coinfecciones bacterianas, esta investigación plantea la síntesis, caracterización y evaluación de derivados funcionalizados de porfirinas y de un híbrido porfirina-ampicilina, junto con sus correspondientes complejos metálicos, como posibles plataformas terapéuticas complementarias. Bajo esta premisa, se formula la siguiente hipótesis:

- Los complejos metálicos derivados de porfirinas funcionalizadas y del híbrido porfirina-ampicilina presentarán propiedades estructurales y fisicoquímicas favorables que se reflejarán en actividad biológica dual frente a *Leishmania spp.* y bacterias, respaldando su potencial como alternativa terapéutica complementaria para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea y sus coinfecciones.

2. Marco Referencial

El diseño racional de nuevas entidades bioactivas ha evolucionado hacia enfoques que integran múltiples funciones terapéuticas en una sola plataforma molecular. En este contexto, la química supramolecular, la funcionalización de macrociclos y la incorporación de fragmentos bioactivos se consolidan como estrategias clave para abordar problemas de salud global como la resistencia bacteriana y las infecciones parasitarias. La búsqueda de tratamientos efectivos contra enfermedades tropicales desatendidas, como la leishmaniasis, se enfrenta a obstáculos significativos debido a la limitada eficacia, toxicidad y aparición de cepas resistentes a los fármacos convencionales. A su vez, el uso indiscriminado de antibióticos ha contribuido a una crisis creciente de resistencia bacteriana, exacerbando la carga de enfermedad en regiones vulnerables.

Ante este panorama, el desarrollo de sistemas híbridos que combinen moléculas reconocidas por su actividad biológica, como las porfirinas y los antibióticos β -lactámicos, representa una estrategia prometedora para generar compuestos con acción dual, capaces de actuar simultáneamente sobre blancos parasitarios y bacterianos. Las porfirinas, macrociclos aromáticos altamente versátiles, destacan por su capacidad para formar complejos metálicos estables, participar en procesos fotodinámicos y ser funcionalizadas covalentemente en múltiples posiciones del anillo tetrapirrólico. Estas propiedades las posicionan como plataformas idóneas para el diseño de fotosensibilizadores terapéuticos, sistemas de liberación controlada y moléculas híbridas multifuncionales.

Por su parte, la ampicilina, antibiótico del grupo de las penicilinas semisintéticas, posee grupos funcionales clave —el anillo β -lactámico, el grupo amino y el grupo carboxilo— que permiten su acoplamiento a otras entidades químicas sin perder necesariamente su actividad

antibacteriana. La posibilidad de integrar la ampicilina en arquitecturas híbridas con porfirinas abre oportunidades para explorar mecanismos sinérgicos, mejorar la biodisponibilidad y direccionar la acción terapéutica de los compuestos resultantes.

Este capítulo presenta una revisión detallada de los fundamentos conceptuales y químicos que sustentan el desarrollo de complejos metálicos derivados de híbridos porfirina-ampicilina. Se abordan aspectos históricos, estructurales y funcionales de la leishmaniasis y la resistencia bacteriana, así como los principios de diseño, síntesis y funcionalización de porfirinas. También se discuten las estrategias para la formación de sistemas híbridos y su aplicación en terapias antimicrobianas avanzadas, contextualizando el potencial innovador de los compuestos estudiados en este trabajo de investigación.

2.1 Contexto histórico y situación nacional de la leishmaniasis y la resistencia bacteriana

La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria reconocida como una de las más antiguas en registros médicos, con evidencia arqueológica de lesiones cutáneas compatibles halladas en momias preincaicas de Perú y en restos humanos del antiguo Egipto (Singh et al., 2023). La descripción científica moderna se atribuye a William Leishman en 1903, quien identificó las formas amastigotes del parásito en muestras de bazo de soldados británicos infectados en India; poco después, Charles Donovan confirmó la naturaleza parasitaria de estos cuerpos, estableciendo la base para la denominación del género *Leishmania* (Herwaldt, 1999).

Desde entonces, la comprensión de su ciclo biológico, su transmisión vectorial a través de flebotomos del género *Phlebotomus* en el Viejo Mundo y *Lutzomyia* en América, y su distribución geográfica ha permitido definirla como una de las enfermedades tropicales desatendidas (ETD) más persistentes (WHO, 2024b). En la actualidad, se estima que más de mil millones de personas

viven en zonas de riesgo de transmisión en 98 países, especialmente en contextos de pobreza, conflictos armados y migración forzada (Alvar et al., 2012; PAHO/WHO, 2024).

En el continente americano, la leishmaniasis cutánea es la forma clínica más prevalente, con transmisión endémica en 18 países. Colombia se ubica entre los cinco países con mayor número de casos anuales reportados junto con Brasil y Perú (PAHO/WHO, 2024). Desde la década de 1950 se implementaron políticas de vigilancia epidemiológica que han evolucionado hasta la notificación obligatoria, regulada por normas como la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud. Sin embargo, factores como la deforestación, la expansión agrícola y extractiva, la urbanización no planificada y la permanencia de vectores en áreas rurales de difícil acceso mantienen activa la transmisión de la enfermedad (Instituto Nacional de Salud, 2024a).

A este escenario se suma la resistencia bacteriana, reconocida como una de las principales amenazas para la salud pública global, que ha emergido como un desafío complementario, pues las lesiones cutáneas de la leishmaniasis suelen complicarse con infecciones bacterianas secundarias, favorecidas por prácticas de automedicación y el uso inadecuado de antibióticos en contextos de atención primaria limitada (Maia-Elkhoury et al., 2020; Rice, 2012). La persistencia de la leishmaniasis como problema de salud pública refleja limitaciones históricas en la disponibilidad de terapias innovadoras y adaptadas a contextos de difícil acceso. Los desafíos actuales exigen el desarrollo de alternativas terapéuticas que incorporen enfoques integrales, incluyan nuevas plataformas bioactivas y respondan a la complejidad de la coinfección bacteriana, aspecto cada vez más documentado en lesiones cutáneas prolongadas (Gonçalves et al., 2021; WHO, 2024a).

2.2 Estado del arte

En el abordaje terapéutico de la leishmaniasis cutánea y de las infecciones bacterianas asociadas, el estado del arte refleja la coexistencia de dos grandes enfoques. Por un lado, los tratamientos convencionales, basados en fármacos como los antimoniales pentavalentes, la anfotericina B, la miltefosina y los antibióticos β -lactámicos, han constituido históricamente la primera línea de intervención, aunque presentan limitaciones significativas relacionadas con toxicidad, baja biodisponibilidad, resistencia adquirida y dificultades logísticas en contextos endémicos (Alvar et al., 2006; WHO, 2024b). Por otro lado, se han consolidado estrategias innovadoras, entre las que destaca la terapia fotodinámica (PDT) con fotosensibilizadores porfirínicos y sus complejos metálicos, que permiten generar especies reactivas de oxígeno bajo irradiación controlada, ofreciendo un mecanismo de acción localizado, con baja probabilidad de inducir resistencia y potencial efecto dual frente a parásitos y bacterias multirresistentes. En este marco los sistemas híbridos que integren moléculas bioactivas como porfirinas y antibióticos emergen como una estrategia prometedora para el desarrollo de terapias antimicrobianas avanzadas.

En este contexto, la investigación en leishmaniasis cutánea ha evolucionado desde enfoques centrados únicamente en la quimioterapia convencional hacia la búsqueda de estrategias multidimensionales que integren nuevas moléculas, sistemas de liberación controlada y terapias complementarias. Entre ellas destacan la optimización de esquemas combinados, el uso de terapias fotodinámicas y el diseño de compuestos híbridos y complejos metálicos derivados de porfirinas, que ofrecen alternativas innovadoras para contrarrestar tanto la parasitosis como las coinfecciones bacterianas asociadas a lesiones cutáneas crónicas. Este apartado revisa los avances más recientes, las limitaciones persistentes y las perspectivas que orientan la investigación hacia soluciones

terapéuticas más seguras, eficaces y accesibles, especialmente para comunidades rurales y regiones endémicas (Torres-Guerrero & Arenas, 2018).

2.2.1 Avances en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea

El tratamiento de la leishmaniasis cutánea se basa tradicionalmente en el uso de antimoniales pentavalentes como el estibogluconato de sodio o antimoniato de meglumina (Figura 1), que aún se mantienen como primera línea en muchos países endémicos. Sin embargo, su administración parenteral prolongada, la alta frecuencia de efectos adversos graves —como cardiotoxicidad, hepatotoxicidad y pancreatitis— y la necesidad de hospitalización limitan su efectividad, especialmente en comunidades rurales sin infraestructura adecuada para monitoreo clínico (Alvar et al., 2006; Astman et al., 2024; L. F. Oliveira et al., 2011). Estudios recientes confirman que hasta un 55 % de los pacientes tratados con antimoniales presentan alteraciones bioquímicas severas, lo que obliga a suspender o ajustar dosis para prevenir complicaciones mayores (Lyra et al., 2016).

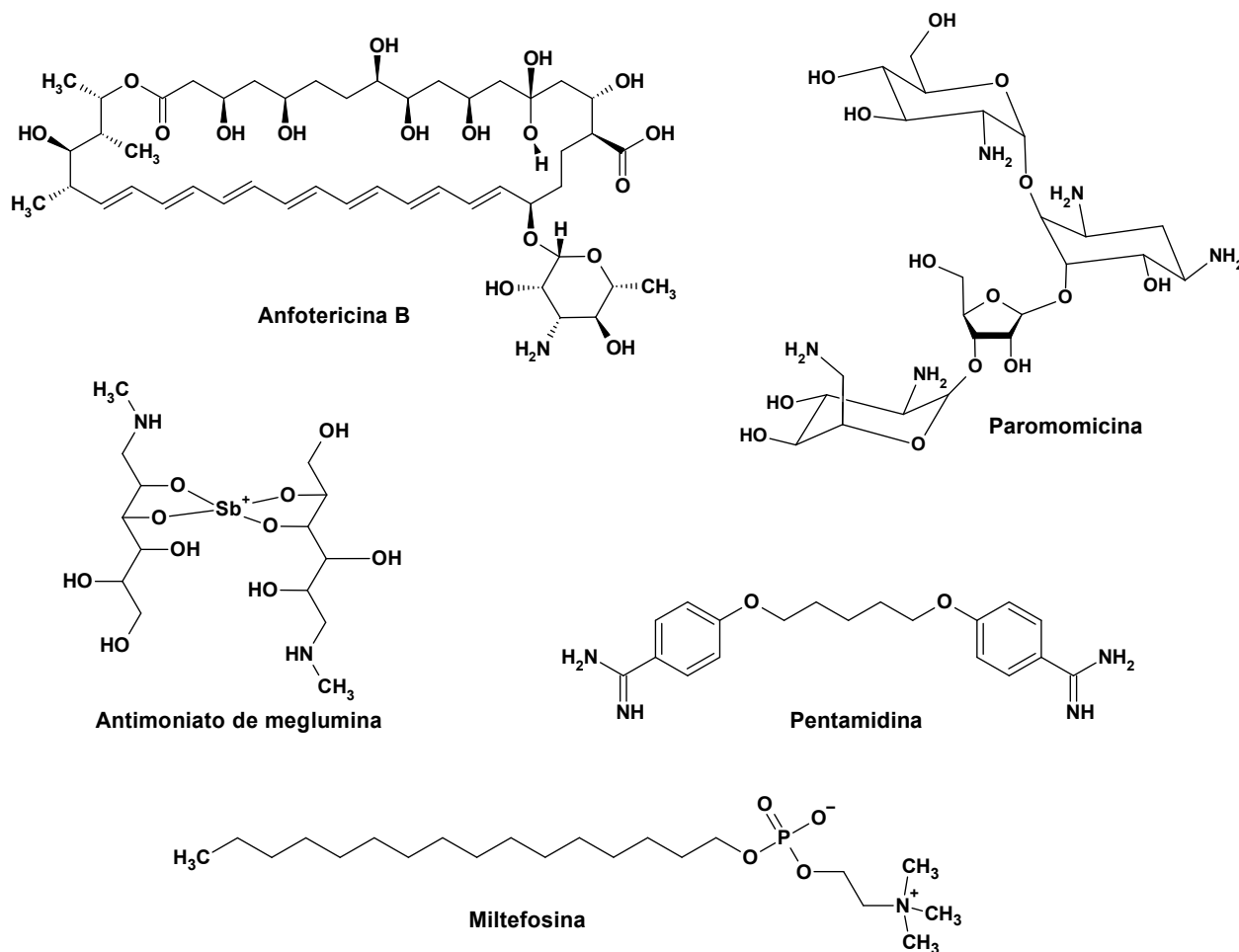
Como alternativa, la anfotericina B (Figura 1) —especialmente en su formulación liposomal (AmBisome®)— ha mostrado alta efectividad, pero su elevado costo y la necesidad de infusiones intravenosas prolongadas continúan siendo una barrera significativa para su uso masivo en zonas de difícil acceso (Uliana et al., 2018; WHO, 2024b). Además, persisten efectos secundarios como nefrotoxicidad y alteraciones electrolíticas, incluso con formulaciones lipídicas (Corman et al., 2023).

La miltefosina (Figura 1), único fármaco oral aprobado para la leishmaniasis cutánea, ofrece la ventaja de la administración ambulatoria. Sin embargo, su uso ha estado limitado por efectos adversos gastrointestinales severos (náuseas, vómito, diarrea) y su teratogenicidad, lo que

restringe su uso en mujeres en edad fértil sin control de planificación (Astman et al., 2024; L. F. Oliveira et al., 2011). Además, su empleo prolongado y sin supervisión ha favorecido la aparición de cepas resistentes en regiones como India y Brasil (de Vries & Schallig, 2022).

Figura 1

Estructuras moleculares de los fármacos utilizados actualmente para el tratamiento de la leishmaniasis.

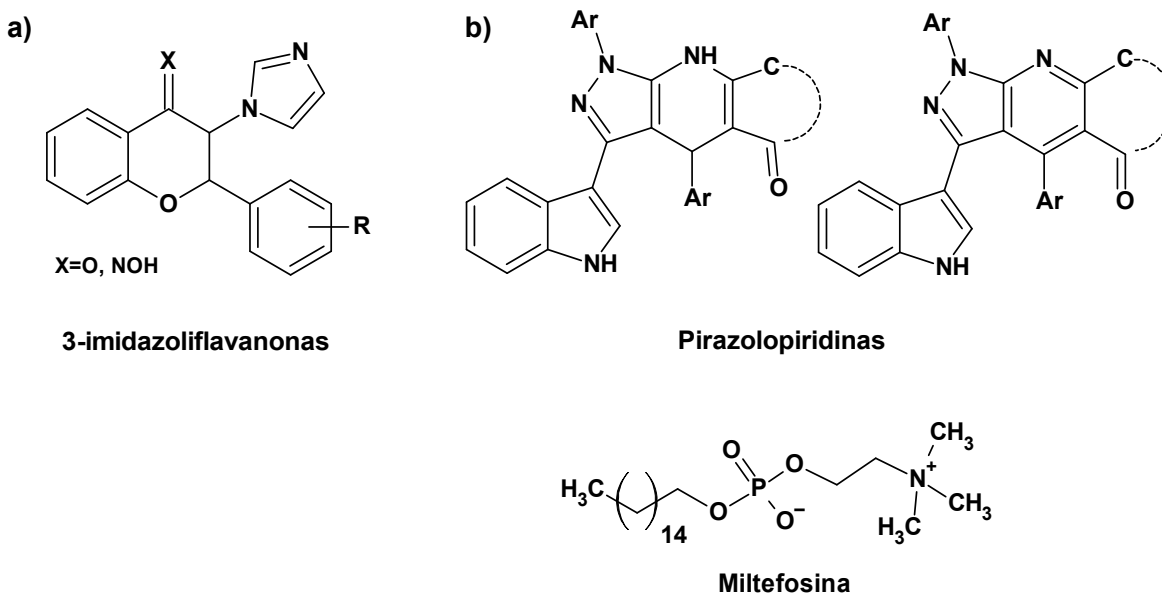


Para superar estas limitaciones, investigaciones recientes se han enfocado en diseñar y diversificar las opciones terapéuticas mediante estrategias complementarias y la integración de plataformas bioactivas innovadoras. Por un lado, destacan nuevos derivados sintéticos como las 3-imidazoliflavanonas y las pirazolopiridinas combinadas con miltefosina (Figura 2). Los derivados

de 3-imidazoliflavanonas, han demostrado actividad antileishmania notable, destruyendo promastigotes y amastigotes de *L. major* con concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) menores a 8,9 $\mu\text{g/mL}$ (Shokri et al., 2017). Por su parte, las pirazolopiridinas combinadas con miltefosina lograron sinergia terapéutica, reduciendo las dosis necesarias para eliminar amastigotes intracelulares de *L. donovani*, con tasas de inhibición superiores al 90% *in vitro* (Anand et al., 2017).

Figura 2

Estructuras moleculares de a) antimicóticos azólicos derivados de 3-imidazoliflavanonas y b) derivados de pirazolopiridinas junto con miltefosina.

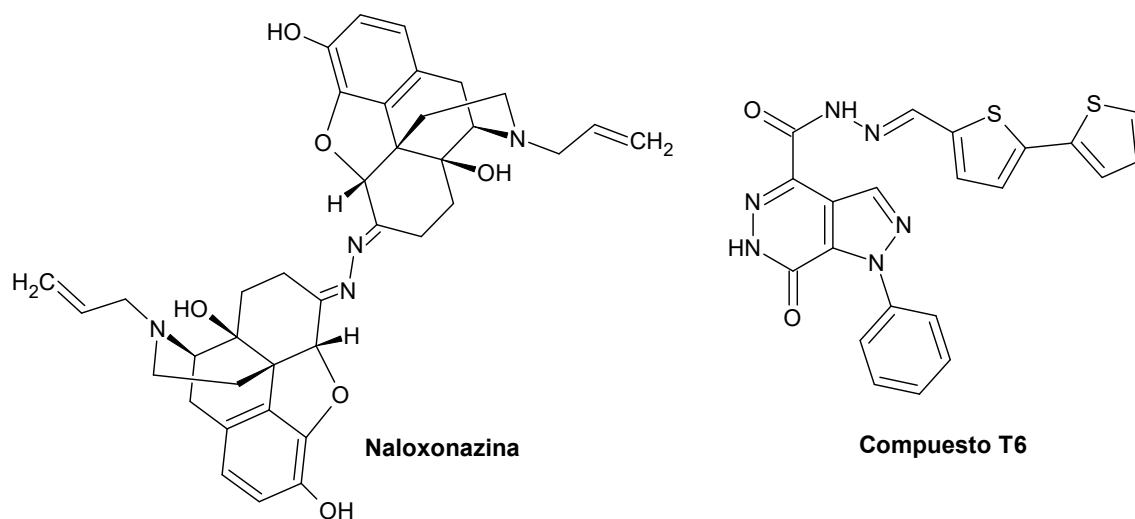


De forma similar, la naloxonazina (Figura 3), un alcaloide con efecto modulador del hospedero, demostró reducir significativamente la carga parasitaria intracelular mediante la activación de vías de señalización que inducen apoptosis o autólisis selectiva en macrófagos infectados, sin afectar directamente a promastigotes libres (De Muylder et al., 2016). Este hallazgo sugiere que la modulación del ambiente celular puede potenciar la eficacia de tratamientos combinados. Paralelamente, la formulación de sistemas de liberación dirigida —como

nanopartículas, nanoemulsiones y encapsulación en β -(1,3)-D-glucano— ha mostrado resultados prometedores. Volpato et al. (2018) evidenciaron que la encapsulación del compuesto sintético T6 (Figura 3) en micropartículas de β -(1,3)-D-glucano derivadas de *Saccharomyces cerevisiae* mejora la liberación continua y dirigida a macrófagos, manteniendo alta actividad antileishmania *in vitro* y bajo perfil citotóxico en células sanas, gracias a la afinidad natural de estos receptores (Volpato et al., 2018).

Figura 3

Estructura molecular del alcaloide naloxonazina y del compuesto sintético T6



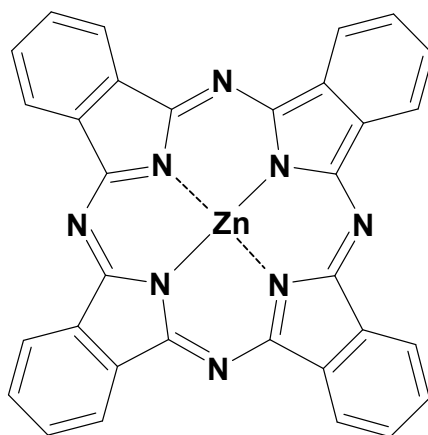
Asimismo, el uso de aceites esenciales y extractos vegetales como coadyuvantes ha ganado relevancia. Ensayos con aceite esencial de *Myracrodruon urundeuva* y otros fitocompuestos demostraron actividad leishmanicida significativa ($IC_{50} \sim 15.4 \mu\text{g/mL}$) contra promastigotes de *L. amazonensis*, con citotoxicidad moderada en líneas células de mamífero, lo que respalda su potencial en esquemas terapéuticos combinados (Carvalho et al., 2017).

Otra estrategia complementaria es la terapia fotodinámica (PDT), que emplea fotosensibilizadores —principalmente porfirinas, ftalocianinas y colorantes como el azul de

metileno— activados con luz visible para inducir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de interrumpir estructuras celulares críticas y eliminar parásitos *in situ*. En este contexto, de Oliveira de Siqueira et al. (2017) desarrollaron una nanoemulsión de ftalocianina de zinc (Figura 4) formulada con aceite de clavo y Pluronic® F-127 para aplicación tópica, estable y con pH adecuado para uso cutáneo. Bajo irradiación con láser (660 nm, 27.86 J/cm²), la nanoemulsión mostró una eficacia de 7.5 veces mayor para *L. amazonensis* y 12.8 veces para *L. infantum*, logrando IC₅₀ de 0.06–0.043 µg/ml y reduciendo hasta 91 % la carga de amastigotes en modelos intracelulares. Además, la citotoxicidad fue baja (CC₅₀ ~0.73 µg/ml) y los índices de selectividad superaron los valores de referencia de anfotericina B, respaldando su potencial como alternativa tópica eficaz y de bajo riesgo (De Oliveira De Siqueira et al., 2017).

Figura 4

Estructura molecular de la ftalocianina de zinc utilizada como nanoemulsión.

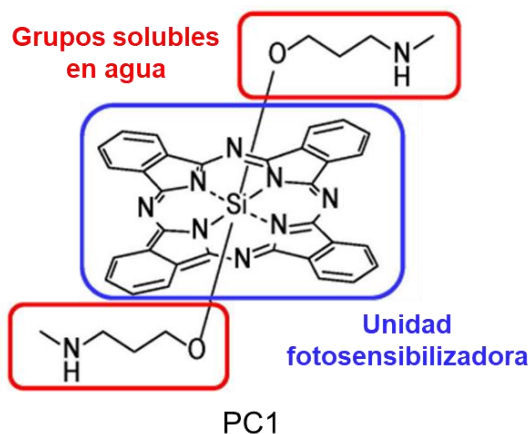


Estudios recientes fortalecen esta evidencia. Sheikh et al. (2024) subrayan en su revisión la seguridad clínica de la PDT, destacando la baja incidencia de efectos adversos (eritema leve, edema) y su eficacia en lesiones resistentes cuando se combina con agentes antiparasitarios (Sheikh et al., 2024). Chang et al. (2024) demostraron que la optimización molecular de

fotosensibilizadores porfirínicos y ftalocianinas, junto con estrategias de transgénesis, puede potenciar la generación intracelular de oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) en *Leishmania*, mejorando la destrucción de promastigotes con alta especificidad y sin generar resistencia. Su enfoque combinó el uso de porfirinas acumuladas citosólicamente y fotosensibilizadores aminoftalocianínicos (PC1, Figura 5) activados con luz roja, logrando inactivación eficaz con dosis letales medias menores a $1\ \mu\text{M}$ y potencial aplicación como vacunas vivas inactivadas, ampliando el potencial de la PDT para aplicaciones preventivas e inmunoterapéuticas (Chang et al., 2024).

Figura 5

Fotosensibilizador de aminoftalocianinas (PC1) con grupos hidrófilos (recuadro rojo).



Nota: Adaptado de Chang et al., (2024).

Liu et al. (2023) reportaron tasas de respuesta clínica superiores al 80 % con PDT sola o combinada con antimoniales intralesionales en lesiones refractarias, con bajo riesgo de recurrencia a seis meses (Liu et al., 2023). Por su parte, Ullah et al. (2024) resaltan la tendencia creciente de integrar PDT con sistemas lipídicos y nanopartículas para mejorar la biodisponibilidad y penetración dérmica del fotosensibilizador, aspecto clave para zonas endémicas de difícil acceso (Ullah et al., 2024).

En conjunto, estos avances evidencian que superar las limitaciones de la quimioterapia convencional requiere enfoques interdisciplinarios que combinen química medicinal, nanotecnología y estrategias biofotónicas. Masne et al. (2024) y Sheikh et al. (2024) coinciden en que la encapsulación de fármacos y el diseño de plataformas híbridas mejoran la biodisponibilidad, reducen la toxicidad sistémica y favorecen la acción dirigida en macrófagos infectados, elementos clave para enfrentar formas cutáneas persistentes y coinfecciones bacterianas. Esto refuerza la necesidad de desarrollar sistemas multifuncionales basados en porfirinas funcionalizadas y complejos metálicos con potencial acción dual antileishmania y antibacteriana.

2.2.2 Estrategias frente a la resistencia bacteriana y su impacto en la leishmaniasis cutánea

La resistencia bacteriana se reconoce hoy como una de las amenazas más críticas para la salud pública global, con proyecciones que advierten de hasta 10 millones de muertes anuales hacia 2050 si no se implementan medidas de control efectivas (WHO, 2024b). Esta problemática obedece a múltiples factores, entre ellos la prescripción inadecuada de antibióticos, la automedicación, la falta de vigilancia microbiológica y la persistencia de infecciones hospitalarias, que favorecen la propagación de cepas multirresistentes (O'Neill, 2016). Patógenos como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* figuran entre los organismos prioritarios debido a su capacidad de desarrollar resistencia frente a múltiples clases de antimicrobianos, limitando así la efectividad de los tratamientos convencionales (Tacconelli et al., 2018).

Tradicionalmente, los programas de uso racional de antibióticos (*antimicrobial stewardship*), la rotación de antimicrobianos y el monitoreo constante de la sensibilidad bacteriana han constituido la base de las estrategias de contención. Sin embargo, la rápida aparición de cepas

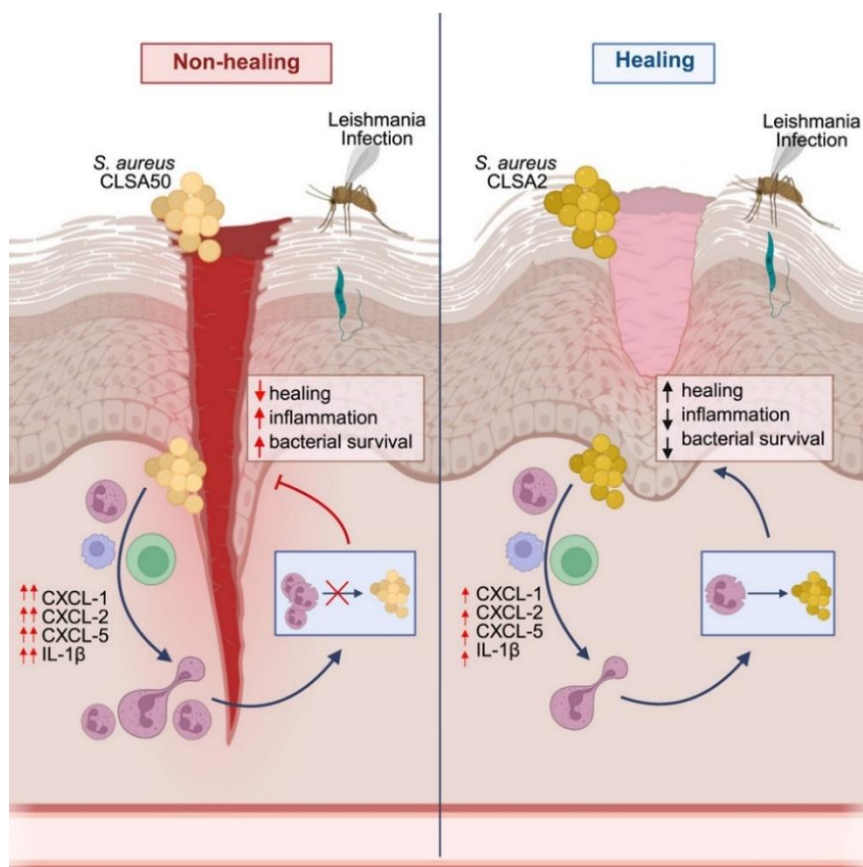
multirresistentes ha impulsado la búsqueda de alternativas innovadoras que refuercen estas medidas. Entre estas destacan las moléculas híbridas, diseñadas para combinar en una sola estructura dos o más mecanismos de acción complementarios. Un ejemplo relevante son los antibióticos híbridos que integran un núcleo β -lactámico con un sideróforo o una fluoroquinolona con un fragmento triazólico, lo que les permite evadir bombas de eflujo bacteriano y aprovechar rutas activas de captación de hierro, siguiendo el principio del “caballo de Troya” (Pokrovskaya & Baasov, 2010).

En el contexto de la leishmaniasis cutánea, la coinfección bacteriana es un factor agravante que intensifica la inflamación, prolonga la evolución clínica de las lesiones y compromete la eficacia de la quimioterapia antiparasitaria (Maia-Elkhoury et al., 2020). Estudios recientes confirman que más del 60 % de las úlceras por leishmaniasis cutánea albergan bacterias oportunistas como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, muchas de ellas con perfiles de multirresistencia a penicilinas, cefalosporinas y fluoroquinolonas (Al-Alousy & Al-Nasiri, 2025; Ayalew et al., 2025).

Modelos experimentales han demostrado que *S. aureus* puede agravar la inmunopatología de forma dependiente de la cepa (Figura 6), Lovins et al. (2025) demostraron que esta bacteria activa la vía inflamatoria mediada por interleucina-1 β (IL-1 β), intensificando el reclutamiento de neutrófilos y la necrosis tisular. El bloqueo experimental de esta citocina logro reducir significativamente la inflamación y acelerar la curación, lo que sugiere que la inmunomodulación dirigida podría ser una herramienta valiosa para controlar la coinfección bacteriana en lesiones de leishmaniasis cutánea (Lovins et al., 2025).

Figura 6

Influencia cepa-dependiente de Staphylococcus aureus en la evolución de la leishmaniasis cutánea.



Nota: La figura muestra cómo cepas distintas de *Staphylococcus aureus* modulan diferencialmente la respuesta inmune en lesiones de leishmaniasis cutánea. A la izquierda, una cepa virulenta (*S. aureus* CLSA50) induce una respuesta inflamatoria exacerbada mediada por interleucina-1 β (IL-1 β) y la sobreexpresión de quimiocinas (CXCL-1, CXCL-2, CXCL-5). Esto intensifica el reclutamiento de neutrófilos, genera necrosis tisular y favorece la persistencia bacteriana, retrasando la cicatrización. A la derecha, una cepa menos virulenta (*S. aureus* CLSA2) mantiene niveles controlados de IL-1 β y quimiocinas, permitiendo una inflamación moderada, reducción de la carga bacteriana y una adecuada regeneración tisular adecuada (Adaptado de Lovins et al., 2025).

Además, la formación de biofilms bacterianos representa una barrera física y bioquímica que dificulta la penetración de antibióticos y la acción del sistema inmune, prolongando la cronicidad de las lesiones (Borbón et al., 2019; Chakravarty & Sundar, 2010). Estos biofilms se generan cuando las bacterias adheridas a la superficie tisular de la lesión secretan una matriz extracelular compuesta por polisacáridos, proteínas y ADN extracelular, formando una estructura organizada que protege a la comunidad microbiana y facilita su persistencia frente a la respuesta inmune y a los tratamientos convencionales (Donlan & Costerton, 2002). Para contrarrestar este fenómeno, estrategias emergentes incluyen la aplicación de tecnologías biofotónicas como la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT). Makarani et al. (2025) destacan que la PDT, mediante la generación localizada de especies reactivas de oxígeno, actúa de forma sinérgica sobre parásitos intracelulares y estructuras bacterianas, desestructurando biofilms y potenciando la acción de antibióticos convencionales (Makarani et al., 2025).

Este panorama respalda la necesidad de adoptar enfoques integrales para enfrentar la resistencia bacteriana asociada a la leishmaniasis cutánea, que articulen vigilancia microbiológica y antibiogramas personalizados, diseño de moléculas híbridas, tecnologías biofotónicas, sistemas de liberación dirigida y estrategias inmunomoduladoras (Ayalew et al., 2025). Este enfoque interdisciplinario es clave para optimizar el control de las coinfecciones bacterianas, reducir la carga parasitaria de forma eficaz y limitar la dependencia de esquemas terapéuticos prolongados que perpetúan la presión selectiva de resistencia (WHO, 2024b).

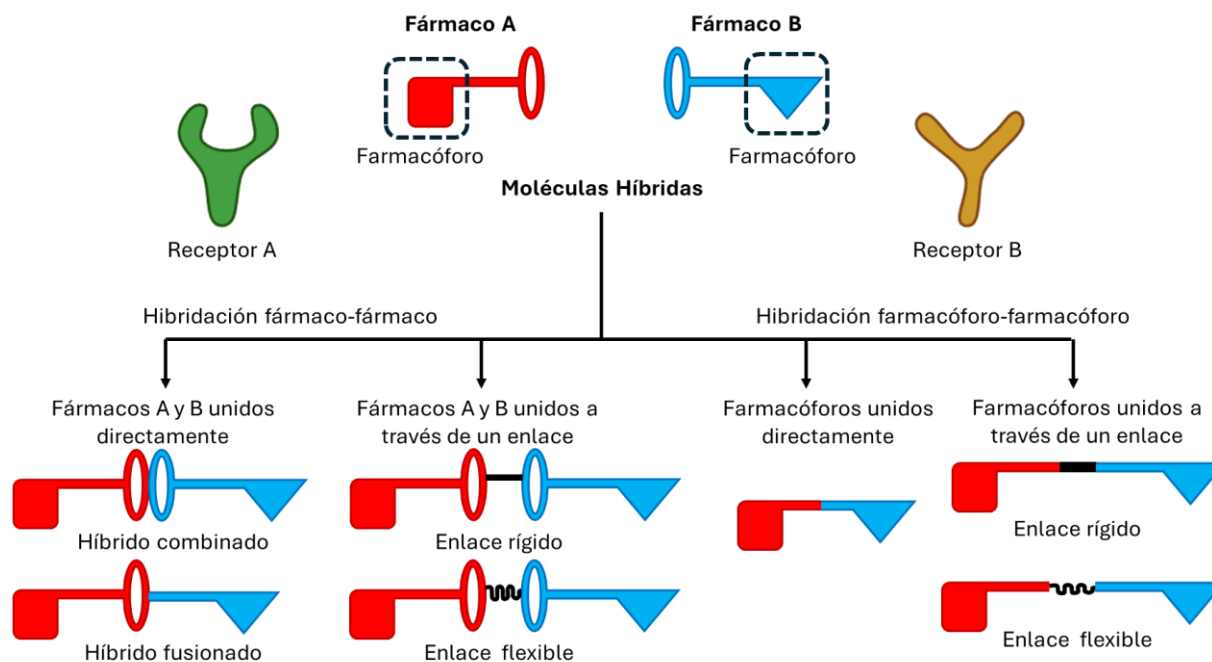
2.2.3 *Sistemas híbridos en terapias antimicrobianas*

La propagación acelerada de la resistencia bacteriana y fúngica a antibióticos convencionales plantea un desafío prioritario para la salud pública mundial. Ante este contexto, el desarrollo de sistemas híbridos surge como una estrategia prometedora, capaz de integrar en una misma plataforma diferentes mecanismos de acción para potenciar la eficacia y reducir la probabilidad de generar nuevas resistencias (Meunier, 2008; Pokrovskaya & Baasov, 2010).

Estos sistemas híbridos se caracterizan por combinar fragmentos farmacofóricos complementarios, unidos mediante enlaces covalentes estables o interacciones supramoleculares, con el fin de sincronizar efectos sinérgicos. La Figura 7 muestra un esquema general de moléculas híbridas. Ejemplos pioneros incluyen híbridos que enlazan antibióticos β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas —como el clásico amoxicilina-clavulanato—, así como conjugados de nueva generación que fusionan quinolonas con fragmentos dirigidos a enzimas específicas, ampliando el espectro bactericida (Bremner et al., 2007; Cherian et al., 2017; Nepali et al., 2014; Pokrovskaya & Baasov, 2010; Prati et al., 2016; Shaveta et al., 2016; Zhao & Huang, 2017).

Figura 7

Representación esquemática de diferentes tipos de moléculas híbridas.

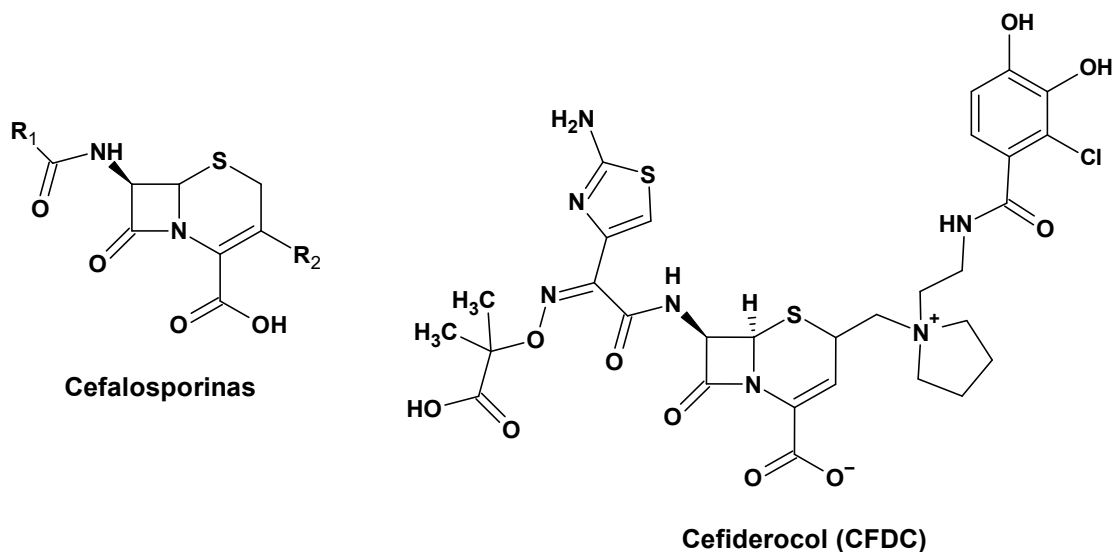


Nota. Adaptado de Nepali et al., (2014).

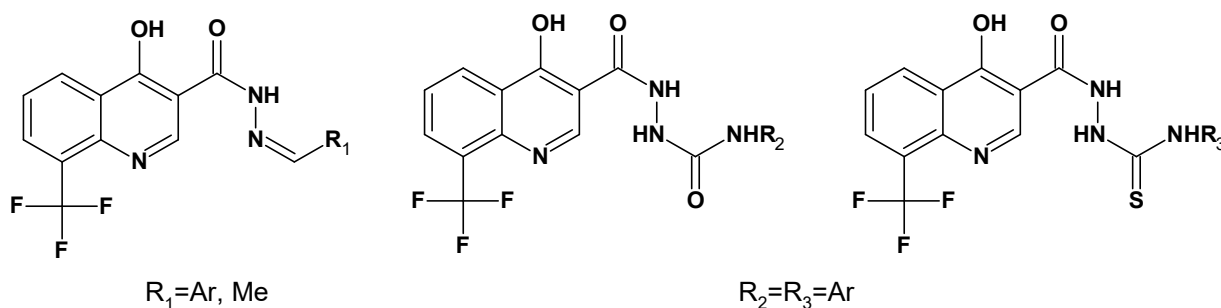
Breijyeh et al. (2023) describen múltiples diseños de moléculas híbridas como respuesta a la crisis de resistencia bacteriana. Además de los híbridos ciprofloxacino–sideróforo, que aprovechan transportadores de hierro para facilitar la entrada activa y superar bombas de eflujo en Gram-negativos, destacan conjugados cefalosporina–sideróforo, como cefiderocol (Figura 8), ya aprobado clínicamente. También analizan híbridos que combinan péptidos antimicrobianos con antibióticos tradicionales para atacar la pared celular y la membrana simultáneamente, así como conjugados que unen antibióticos a inhibidores de bombas de expulsión o fragmentos lipofílicos que optimizan la permeabilidad. Estos sistemas muestran mejoras experimentales en la reducción de la concentración mínima inhibitoria (MIC) frente a cepas multirresistentes, confirmando que el enfoque híbrido es modular y versátil (Breijyeh & Karaman, 2023).

Figura 8

Estructura molecular del híbrido cefalosporina–sideróforo conocido como cefiderocol.



Por su parte, Shaveta et al. (2016) describen diseños de híbridos basados en quinolonas, como combinaciones con fragmentos hidrazida, triazol u oxazolidinona, orientados a ampliar el espectro y reforzar la eficacia frente a bacterias multirresistentes. Estos híbridos combinan la capacidad de inhibir topoisomerasas bacterianas (propia de las quinolonas) con fragmentos que mejoran la permeabilidad y reducen la susceptibilidad a bombas de eflujo. Estudios comparativos indican que algunos híbridos quinolona–hidrazida (Figura 9) lograron valores MIC más bajos frente a cepas Gram-negativas resistentes, mientras que los híbridos quinolona–oxazolidinona ampliaron la potencia contra bacterias Gram-positivas, validando el enfoque de acción dual como vía para optimizar terapias frente a infecciones persistentes (Shaveta et al., 2016).

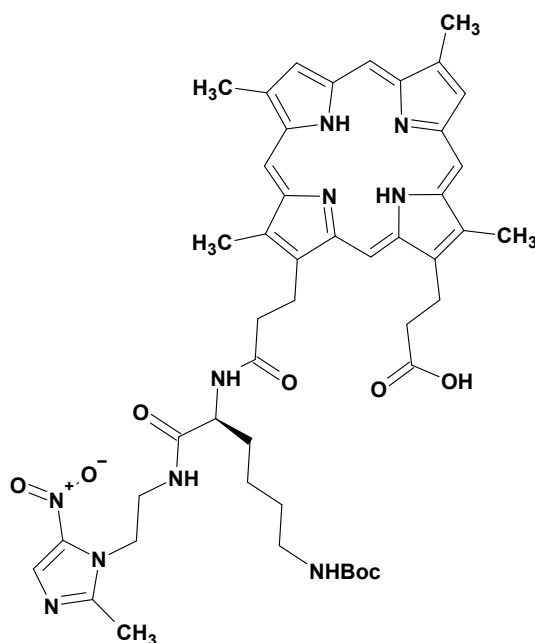
Figura 9*Estructuras representativas de híbridos quinolona – hidrazida.*

Otra vertiente combina estos principios con soporte nanotecnológico. Zou et al. (2024) describen nanosistemas *metal-organic frameworks* (nMOFs) basados en porfirinas, diseñados para integrar terapia fotodinámica y liberación controlada de iones metálicos como Fe^{3+} o Zn^{2+} . En estudios *in vitro* se observó una reducción de biomasa de biofilms de hasta un 70–80 % y una disminución significativa de la viabilidad bacteriana al combinar irradiación y liberación metálica, confirmando su capacidad para desestructurar biofilms maduros (Zou et al., 2024). De forma complementaria, Martínez-Carmona et al. (2019) reportan nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas con la lectina Concanavalina A, la cual reconoce específicamente carbohidratos presentes en la matriz extracelular de biofilms. Esta funcionalización incrementó la acumulación localizada de las nanopartículas dentro de biofilms de *E. coli*, demostrando una retención 1,5 a 2 veces mayor en comparación con nanopartículas sin funcionalizar. Además, el sistema facilitó la liberación localizada de antibióticos como levofloxacin, logrando una reducción de viabilidad bacteriana aproximadamente 40 % superior a la del antibiótico libre tras 24 horas de tratamiento (Martínez-Carmona et al., 2019). Estos resultados confirman su potencial para superar barreras físicas clave en infecciones crónicas.

Finalmente, Gao et al. (2018) aportan un diseño innovador basado en un híbrido deuteroporfirina–metronidazol (Figura 10), que utiliza la proteína del sistema de captación hemo A (HusA) de *Porphyromonas gingivalis* como vector para transporte intracelular selectivo. Este sistema aprovecha la vía natural de captación de porfirinas para ingresar a la bacteria, donde combina la acción antibiótica del metronidazol con la generación de especies reactivas de oxígeno mediante irradiación de la deuteroporfirina. En cultivos *in vitro*, el híbrido demostró una afinidad hasta 10 veces superior por HusA en comparación con la porfirina libre, logró una reducción significativa de la biomasa de biofilms y eliminó bacterias anaerobias persistentes con reducciones superiores a 4-log (equivalente a más del 99.99 % de eliminación bacteriana) bajo irradiación controlada. Además, mostró eficacia para limitar la recurrencia de la infección, evidenciando el potencial de los sistemas híbridos multifragmento para superar barreras de penetración y tratar microambientes infecciosos difíciles (Gao et al., 2018).

Figura 10

Estructura molecular del aducto de deuteroporfirina-lisina-metronidazol.



Nota: Adaptado de Gao et al., (2018).

Estos desarrollos ponen de relieve la importancia de las estrategias híbridas que integran múltiples mecanismos de acción en una sola plataforma, permitiendo abordar infecciones multirresistentes, biofilms complejos y microambientes de difícil acceso con terapias más potentes y específicas.

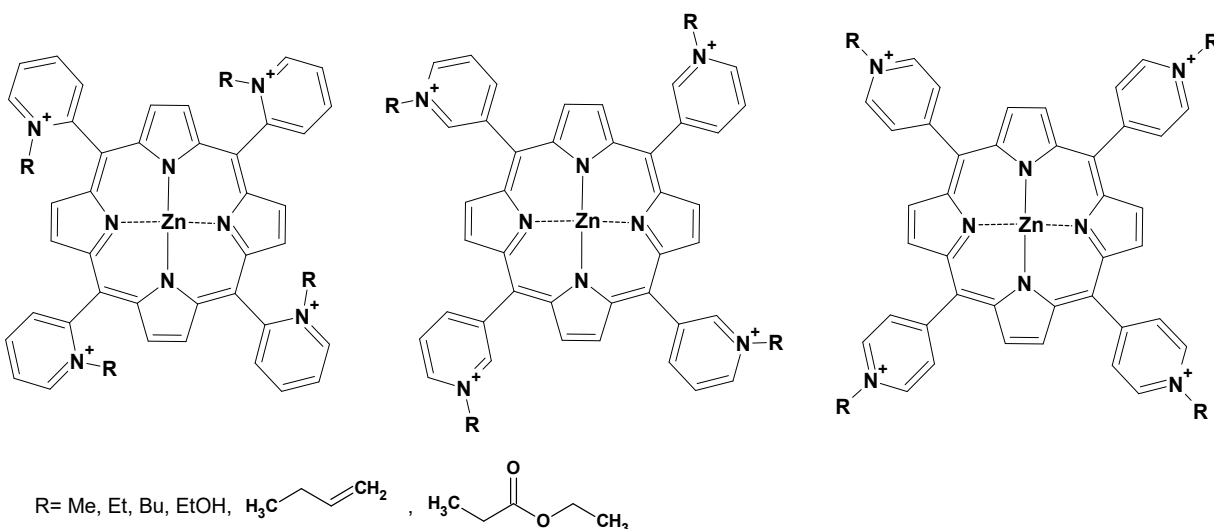
2.2.4 Porfirinas funcionalizadas y complejos metálicos en el control de infecciones

Las porfirinas funcionalizadas y sus complejos metálicos representan una de las estrategias más versátiles y avanzadas en el diseño de agentes antimicrobianos de nueva generación. Su capacidad de actuar como fotosensibilizadores altamente eficientes, junto con su flexibilidad estructural para ser modificadas químicamente, permite optimizar su interacción con estructuras celulares y aplicar estos sistemas en terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDI) y en el tratamiento de infecciones persistentes (Souza et al., 2021; Zhang et al., 2024).

Souza et al. (2021) destacan que, entre los derivados de porfirina de Zn(II) revisados, las porfirinas catiónicas como Zn(II)-TMePyP (Figura 11) se posicionan entre las más efectivas para la inactivación fotodinámica de bacterias, gracias a su elevada eficiencia cuántica para generar oxígeno singlete ($\Phi\Delta > 0.70$) y su estabilidad estructural. Estas características, junto con la posibilidad de modificar su carga periférica, favorecen la interacción electrostática con membranas bacterianas, especialmente en cepas Gram-negativas. Experimentos revisados muestran reducciones de carga bacteriana superiores a 5-log (eliminación de más del 99.999 % de bacterias viables) bajo irradiación controlada, consolidando su potencial para aplicaciones clínicas combinadas con sistemas de liberación regulada (Souza et al., 2021).

Figura 11

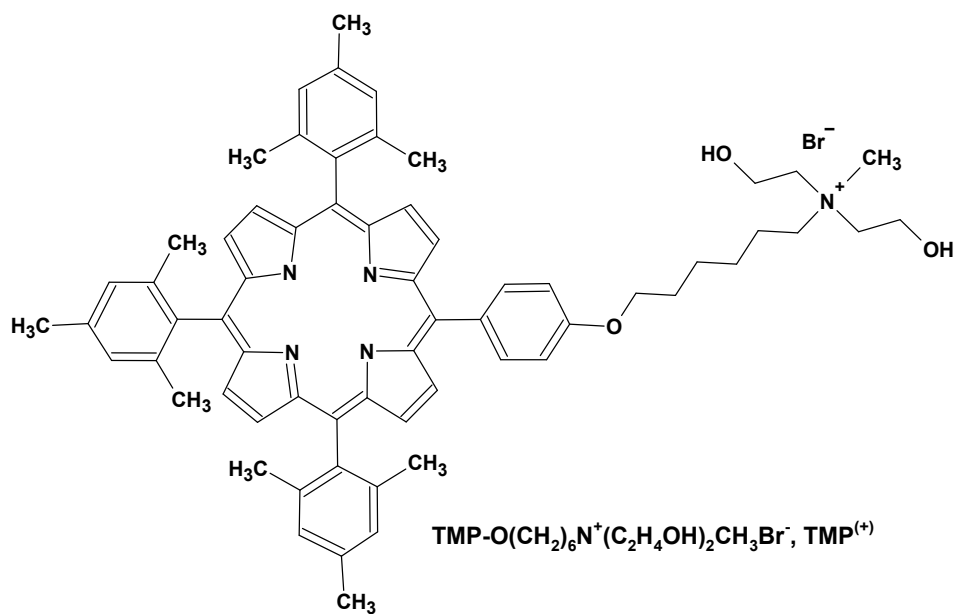
Porfirinas catiónicas de Zn(II) tipo TMePyP y derivados similares.



Dando continuidad a esta línea, Zhang et al. (2024) desarrollaron el derivado porfirínico catiónico $\text{TMP}^{(+)}$ (Figura 12), que combina una alta generación de oxígeno singlete con fragmentos de amonio cuaternario. Este diseño reduce la agregación π - π típica de los anillos porfirínicos, incrementa la dispersión del fotosensibilizador y potencia su fijación electrostática sobre membranas bacterianas. En ensayos *in vitro*, $\text{TMP}^{(+)}$ logró reducir más del 99 % de la carga bacteriana en cultivos de *S. aureus* y *E. coli*. Además, al ser integrado en nanofibras electrohiladas de policaprolactona y colágeno, se probó como apósito inteligente para heridas infectadas, acelerando la cicatrización y mostrando estabilidad fotodinámica tras múltiples ciclos de uso, lo que demuestra su potencial como material reutilizable y de liberación localizada (Zhang et al., 2024).

Figura 12

Estructura molecular del derivado porfirínico catiónico TMP⁽⁺⁾



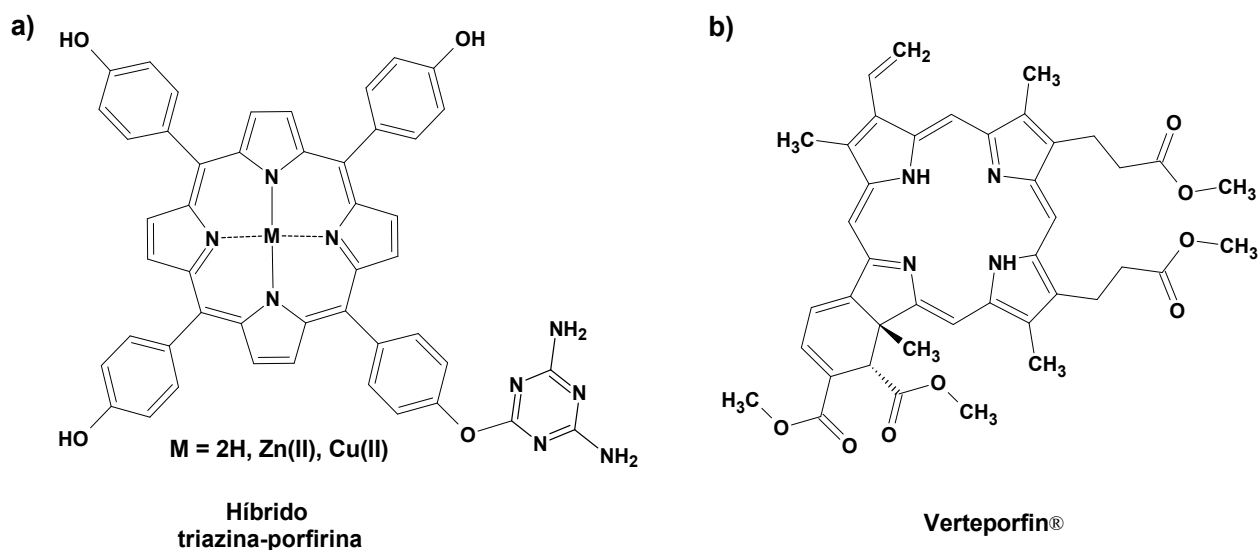
Este enfoque se complementa con los hallazgos de Manathanath et al. (2022), quienes describieron derivados triazina–porfina coordinados con metales como Zn(II) y Cu(II) (Figura 13a). Estos híbridos mostraron una alta eficiencia fotodinámica, con $\Phi\Delta \sim 0.69$ para Zn(II) y ~ 0.61 para Cu(II), bajo irradiación visible. Frente a *Leishmania donovani*, ambos sistemas lograron IC_{50} inferiores a 1 μM , destacando la capacidad de la coordinación metálica para modular la generación de $^1\text{O}_2$. La citotoxicidad en células sanas se mantuvo baja para Zn(II) (viabilidad $>85\%$) y algo mayor para Cu(II) (viabilidad $75\text{--}80\%$), evidenciando un buen perfil de selectividad. La inclusión de anillos triazina y metales de transición aportó estabilidad y mejoró la solubilidad, proyectando su uso en microambientes infecciosos y tumorales resistentes (Manathanath et al., 2022).

Asimismo, Glowacka-Sobotta et al. (2024) resaltan que Verteporfin® (Figura 13b)—un derivado benzoporfirínico formulado en liposomas— sirve como referencia clínica para validar la efectividad de porfirinas funcionalizadas encapsuladas para liberación dirigida. Aunque se usa

principalmente en la degeneración macular, su diseño con portadores lipídicos solventa limitaciones clave como la baja solubilidad en medios acuosos y la tendencia a la autoagregación, demostrando que la liberación controlada y la activación fotodinámica localizada pueden aplicarse a lesiones cutáneas crónicas y heridas infectadas donde biofilms y reservorios microbianos complican la acción de terapias convencionales (Glowacka-Sobotta et al., 2024).

Figura 13

Estructura molecular de los híbridos derivados de triazina-porfirina a) y la benzoporfirina Verteporfín® b).



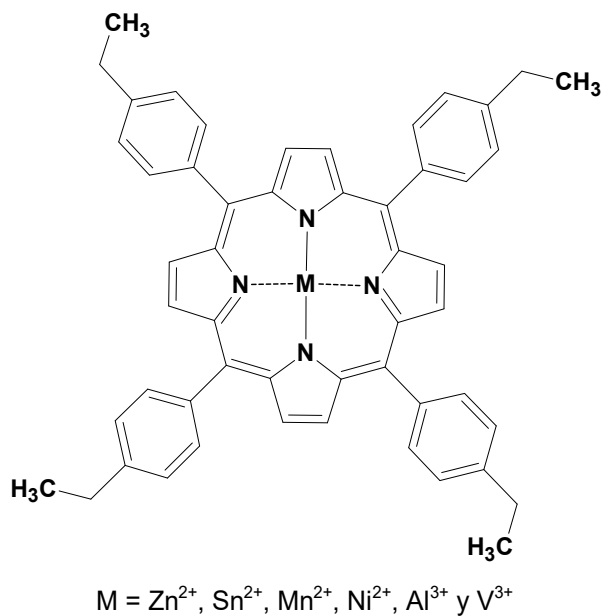
De esta forma, la activación fotodinámica localizada se posiciona como una estrategia promisorio para superar barreras físicas y microbiológicas, y para potenciar la acción combinada con otros antibióticos o sistemas híbridos más avanzados. En conexión con estos aportes, Espitia-Almeida et al. (2019) llevaron a cabo la síntesis y caracterización estructural de la 5,10,15,20-tetrakis(4-etilfenil)porfirina (TETPP) y una serie de derivados metalados con Zn(II), Sn(II), Mn(II), Ni(II), Al(III) y V(III) (Figura 14). Los resultados mostraron que los complejos coordinados con Zn(II) y Mn(II) destacaron por su mayor intensidad de fluorescencia y rendimientos cuánticos

intermedios ($\Phi\Delta$ de hasta 0.38), mientras que el complejo con V(III) registró los valores más bajos dentro de la serie (Espitia-Almeida et al., 2019).

Posteriormente, los mismos autores evaluaron la actividad fotodinámica frente a promastigotes de *L. braziliensis* y *L. panamensis*, observando que el derivado con Zn(II) presentó el mejor desempeño, alcanzando un $\Phi\Delta$ cercano a 0.90 bajo condiciones de irradiación visible y logrando una reducción significativa de la carga parasitaria. Estos hallazgos respaldan el interés de este tipo de porfirinas funcionalizadas como candidatos para PDT dirigida, con potencial para aplicaciones antiparasitarias y posibles extensiones hacia infecciones cutáneas con coinfección bacteriana (Espitia-Almeida et al., 2020).

Figura 14

Estructura molecular de la TEtPP, M representa los metalo-derivados.

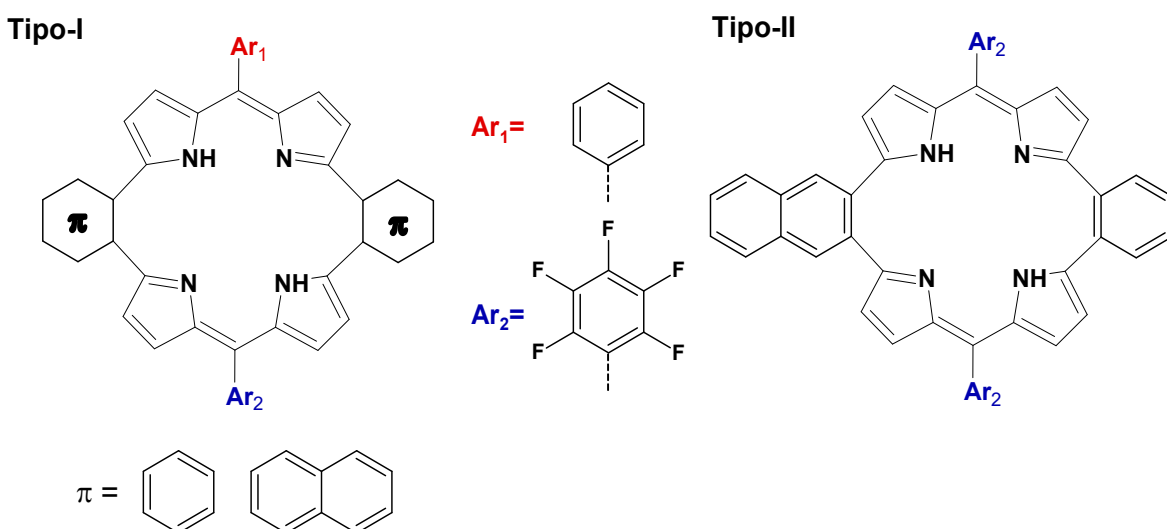


Complementando estos hallazgos desde la perspectiva de materiales híbridos, Dong et al. (2024) describieron la síntesis modular de híbridos porfirínicos (2–1–2–1) formados por bloques porfirina-fenileno alternantes (Figura 15). Estos sistemas híbridos modulares, muestran una

disposición ordenada que optimiza la orientación de los centros activos metálicos, favoreciendo la coordinación con Zn(II) y Cu(II). Los ensayos espectroscópicos evidenciaron desplazamientos en la banda Soret, confirmando interacciones metal–ligando, y revelaron estabilidad estructural y térmica, lo que respalda su potencial para ser integrados como sensores moleculares, plataformas catalíticas o materiales optoelectrónicos en sólidos y películas delgadas con aplicaciones antimicrobianas basadas en fotoinactivación dirigida y liberación controlada de iones metálicos con efecto sinérgico bactericida (Y. Dong et al., 2024).

Figura 15

Porfirinas híbridas tipo (2–1–2–1) formadas por fragmentos porfirínicos y fenilénicos de forma alternante mediante enlaces covalentes (ensamblaje modular) tipo I y Tipo II.



Nota: Adaptado de Dong et al., (2024).

En este contexto, distintos autores han destacado enfoques complementarios que refuerzan el potencial de estos sistemas híbridos porfirínicos en aplicaciones antimicrobianas, detección y terapias localizadas. Francis et al. (2024) analizan desarrollos en sensores ópticos y arreglos supramoleculares basados en porfirinas y metaloporfirinas, resaltando su fotostabilidad y versatilidad estructural. Su análisis destaca cómo la incorporación de metales de transición y la

integración en MOFs, micelas o superficies funcionalizadas potencian su sensibilidad y especificidad para la detección de biomarcadores y especies reactivas, sentando las bases para extender su aplicación en terapias fotodinámicas localizadas y control de infecciones persistentes (Francis et al., 2024). Asimismo, Percástegui y Jancik (2020) profundizan en la autoorganización dirigida por coordinación, mostrando cómo se pueden construir arreglos multiporfirínicos y macroestructuras meso-metaloporfirínicas para encapsular fotosensibilizadores y mejorar la estabilidad, permitiendo una liberación controlada y reforzando la selectividad, factores clave para aplicar estas arquitecturas en entornos clínicos complejos (Percástegui & Jancik, 2020).

En complemento, Lembo et al. (2025) aportan desde la síntesis avanzada, destacando la funcionalización de porfirinas mediante la reacción de Heck, que permite extender el sistema π -electrónico y ajustar las propiedades de absorción y transferencia de energía. Esta estrategia, basada en acoplamientos cruzados con catalizadores de paladio, facilita modular la reactividad del núcleo porfirínico y optimiza su integración en plataformas híbridas con liberación dirigida, manteniendo un alto potencial como fotosensibilizadores antimicrobianos (Lembo et al., 2025).

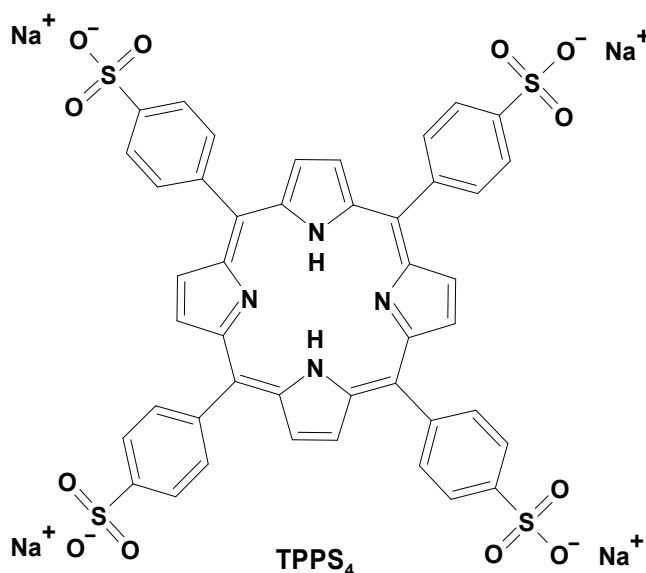
Estos enfoques demuestran que la unión de sensorística avanzada, arquitecturas autoensambladas y síntesis funcionalizada refuerza el papel de las porfirinas y sus derivados metálicos como ejes multifuncionales para innovar en la detección, la inactivación selectiva y el tratamiento de infecciones resistentes, abriendo nuevas rutas para sistemas terapéuticos híbridos y localizados.

Finalmente, los resultados de García Ortega (2003) sobre la homoasociación de porfirinas sulfonadas, específicamente TPPS (Figura 16), muestran cómo la agregación supramolecular entre anillos porfirínicos es altamente sensible al pH y la fuerza iónica del medio. Este proceso, determinado por interacciones π - π y el grado de ionización de los grupos sulfonato, genera

desplazamientos característicos en la banda Soret y modifica la absorción visible, lo que impacta directamente la eficiencia de generación de oxígeno singlete ($\Phi\Delta$). La investigación comprobó que una homoasociación moderada, controlada mediante ajuste de pH y concentración salina, puede optimizar la orientación molecular y la estabilidad de los agregados, permitiendo diseñar fotosensibilizadores con comportamiento fotofísico mejorado para potenciar su eficacia en la fotoinactivación de microorganismos (García Ortega, 2003).

Figura 16

Estructura molecular de porfirinas sulfonadas 5,10,15,20-tetraquis(4-sulfonatofenil) porfirina (TPPS₄)



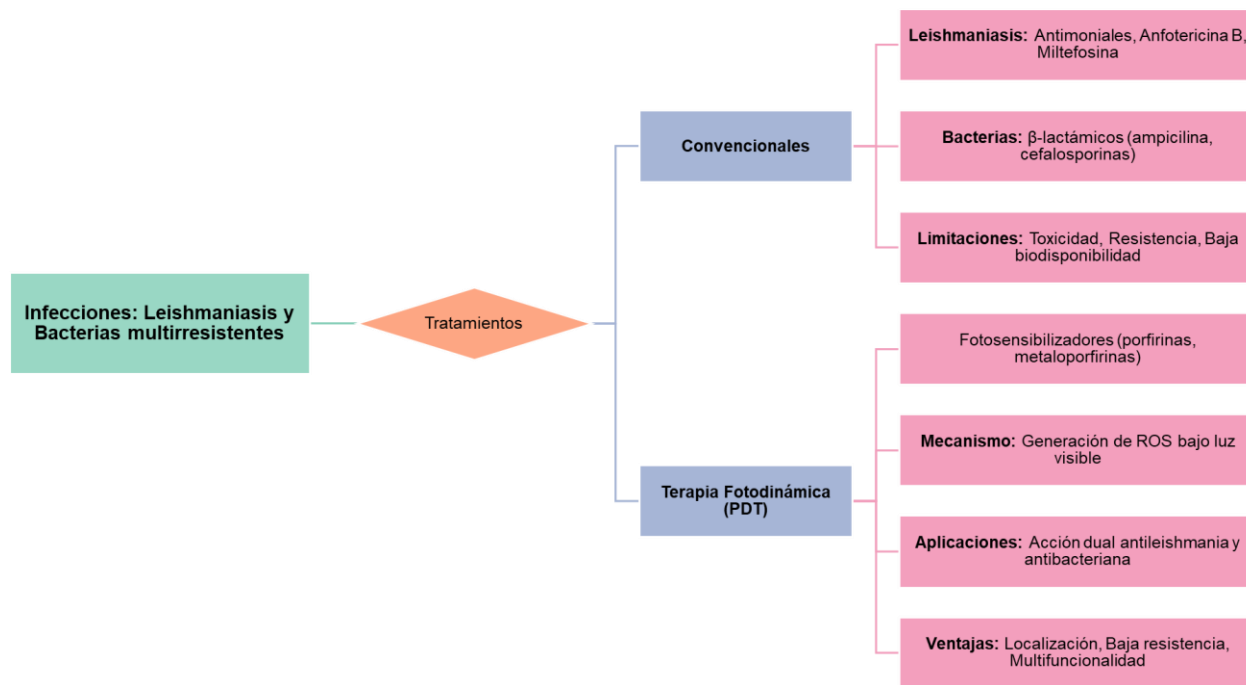
Esta evidencia respalda la visión de que la combinación de estructuras porfirínicas funcionalizadas, coordinación metálica, arquitecturas híbridas y estrategias de liberación dirigida consolida a las porfirinas y metaloporfirinas como plataformas multifuncionales de alto valor. Su versatilidad permite integrar detección, activación fotodinámica localizada y control de infecciones resistentes, aportando soluciones alineadas con los desafíos actuales en terapias antimicrobianas e impulsando el desarrollo de sistemas híbridos más eficaces y específicos.

En síntesis, la evidencia científica disponible confirma que, si bien los tratamientos convencionales han constituido la base para el manejo de la leishmaniasis y de las infecciones bacterianas oportunistas, sus limitaciones en términos de eficacia, toxicidad y resistencia hacen necesaria la exploración de alternativas innovadoras. Entre ellas, la terapia fotodinámica, apoyada en la versatilidad estructural de las porfirinas y sus complejos metálicos, ha demostrado un alto potencial para superar dichas barreras gracias a su capacidad de generar especies reactivas de oxígeno de manera localizada y a su aplicabilidad frente a parásitos y bacterias multirresistentes. En este contexto, la integración de antibióticos como la ampicilina en arquitecturas híbridas porfirínicas plantea un enfoque dual con efectos sinérgicos, capaz de abordar simultáneamente la infección parasitaria y la coinfección bacteriana.

La Figura 17 sintetiza comparativamente las principales diferencias entre los tratamientos convencionales y la terapia fotodinámica, destacando las limitaciones históricas de la quimioterapia y los antibióticos frente a la versatilidad y el potencial de los fotosensibilizadores porfirínicos como alternativas terapéuticas de nueva generación. Estos avances constituyen el fundamento conceptual que orienta la presente investigación y justifican la necesidad de profundizar en los aspectos estructurales, químicos y fotodinámicos que se desarrollan en el marco teórico y conceptual.

Figura 17

Comparación conceptual entre tratamientos convencionales y terapia fotodinámica frente a Leishmania spp. y bacterias multirresistentes



2.3 Marco teórico y conceptual

El desarrollo de sistemas híbridos basados en porfirinas funcionalizadas, coordinación metálica y estrategias de liberación dirigida requiere una comprensión detallada de los fundamentos estructurales, químicos y fotofísicos que sustentan su aplicación. Esta sección aborda los conceptos clave relacionados con la estructura y propiedades de las porfirinas, su funcionalización específica —con énfasis en la TCPP como macrociclo modelo—, el diseño de híbridos moleculares, la influencia de la metalación, las bases de la generación de especies reactivas de oxígeno y su relevancia terapéutica, así como las técnicas analíticas fundamentales para la caracterización de estos compuestos. Este marco teórico y conceptual provee el sustento

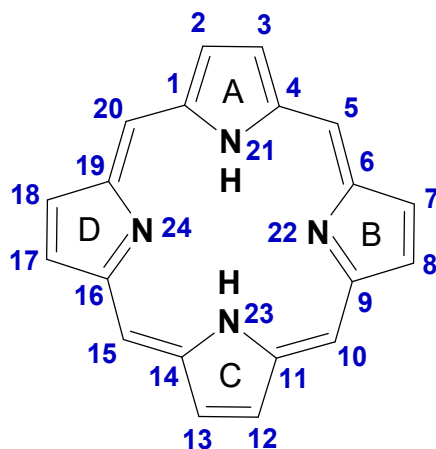
científico que respalda la propuesta de nuevos complejos porfirínicos como agentes con potencial acción dual antileishmania y antibacteriana.

2.3.1 Estructura y propiedades de las porfirinas

Las porfirinas son compuestos heteroaromáticos cuya estructura básica corresponde a un macrociclo tetrapirrólico, constituido por cuatro unidades pirrólicas enlazadas a través de puentes de metino ($=CH-$) (Figura 18). Esta disposición confiere al anillo una elevada planaridad y conjugación electrónica, responsable de su aromaticidad, la cual se explica por la regla de Hückel: la conjugación de 18 electrones π estabiliza el sistema y justifica su fuerte absorción de luz visible (Amos-Tautua et al., 2019; Wijesekera & Dolphin, 1985). Gracias a esta característica, las porfirinas presentan bandas de absorción intensas —principalmente la banda Soret (400–450 nm) y las bandas Q (500–700 nm)—, lo que las convierte en materiales idóneos como sensibilizadores fotoquímicos, catalizadores y componentes clave en dispositivos ópticos y biomédicos (Jiang et al., 2016).

Figura 18

Estructura de la porfirina enumerada del 1 al 24 de acuerdo con la nomenclatura IUPAC.

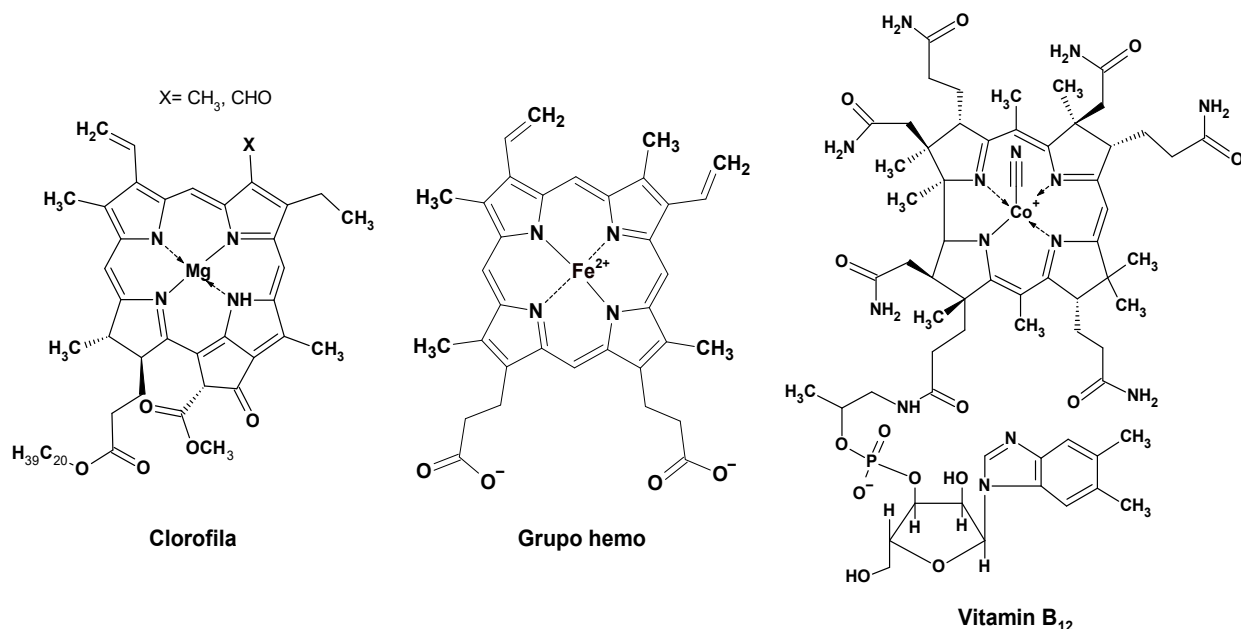


Desde el punto de vista biológico, las porfirinas cumplen funciones como cofactores naturales esenciales, participando en múltiples procesos metabólicos vitales. La clorofila (Figura 19), derivada de una estructura porfirínica modificada (clorina), es el pigmento responsable de la fotosíntesis, capturando la energía luminosa y facilitando la conversión de dióxido de carbono y agua en compuestos orgánicos (Amos-Tautua et al., 2019; Jiang et al., 2016). En animales y humanos, el grupo hemo (Figura 19), formado por una protoporfirina IX coordinada con Fe(II), es clave para el transporte y almacenamiento de oxígeno a través de proteínas como hemoglobina y mioglobina, además de intervenir en reacciones redox críticas en citocromos y enzimas como la catalasa y la peroxidasa (Shi et al., 2021).

Este papel central refleja cómo la planaridad y conjugación electrónica del macrociclo permiten la fijación y liberación controlada de átomos o iones metálicos, actuando como núcleos activos en rutas metabólicas complejas. Además, otras corrinas modificadas, como la vitamina B12 (cobalamina, Figura 19), ilustran cómo variaciones en la estructura del anillo expanden su rango funcional hacia la síntesis de ADN y la transferencia de grupos metilo en organismos superiores (Gjuroski et al., 2021).

Figura 19

Porfirinas presentes en la naturaleza que participan en procesos bioquímicos vitales.



Químicamente, el núcleo porfirínico posee una cavidad central capaz de coordinar metales de transición, modulando así propiedades electrónicas, estabilidad térmica, transferencia de carga y generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), factores decisivos para su desempeño como fotosensibilizador y catalizador (Shi et al., 2021; Wijesekera & Dolphin, 1985). La elección del metal influye directamente en la eficiencia cuántica, la reactividad y el rango de absorción lumínica.

Junto con la coordinación central, la estructura del macrociclo ofrece amplias posibilidades de funcionalización periférica, mediante la incorporación de grupos carboxilo, sulfonato, alquilo o fragmentos aromáticos (Hiroto et al., 2017; Kiselev et al., 2022). Estas modificaciones ajustan parámetros como la solubilidad, la afinidad biológica y la interacción con membranas celulares, favoreciendo la estabilidad en medios fisiológicos y la especificidad hacia blancos terapéuticos. Un caso representativo es la homoasociación supramolecular de porfirinas sulfonadas en solución,

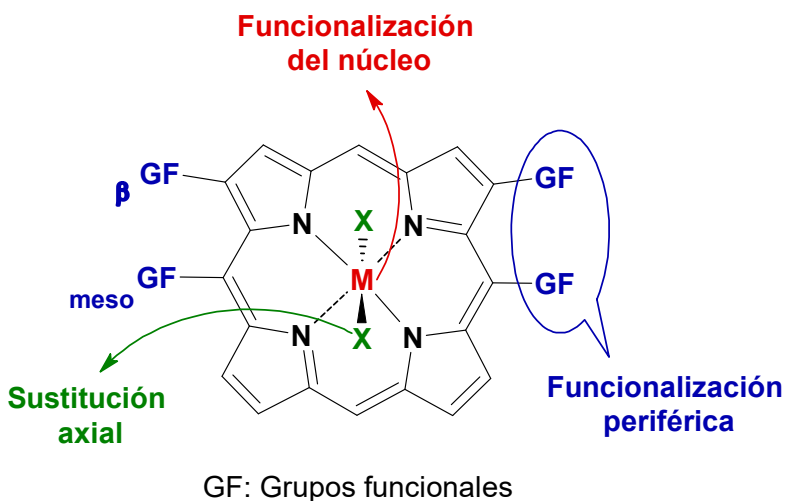
que genera agregados π - π estables bajo ciertas condiciones de pH y fuerza iónica, impactando directamente su rendimiento fotoquímico (García Ortega, 2003).

Adicionalmente, en algunos sistemas metaloporfirínicos, la sustitución axial —característica de complejos de Sn(IV) o metales con estados de oxidación más altos— constituye una ruta complementaria para ajustar la orientación tridimensional del complejo, su reactividad y la afinidad de anclaje a biomoléculas específicas (Amos-Tautua et al., 2019; Kiselev et al., 2022).

Estas tres rutas de modificación —coordinación metálica central, funcionalización periférica y sustitución axial— amplían considerablemente las posibilidades de diseño y explican la versatilidad de las porfirinas como plataformas base para sistemas híbridos avanzados. La Figura 20 ilustra de forma esquemática estas estrategias estructurales, destacando su relevancia para optimización molecular en aplicaciones biomédicas y terapias combinadas.

Figura 20

Esquema general de los posibles sitios de funcionalización de la estructura porfirínica.



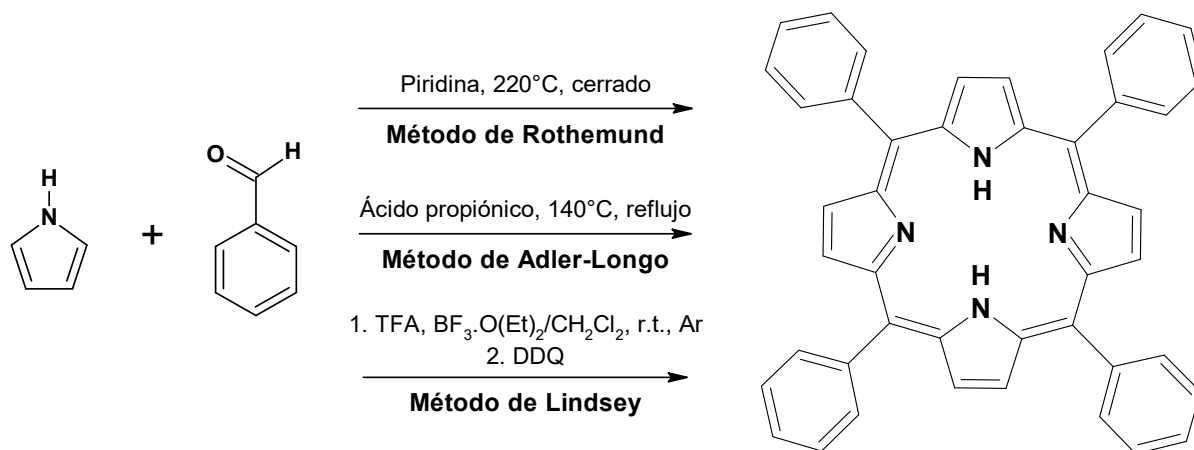
Otro aspecto fundamental es la clasificación de las porfirinas en naturales y sintéticas. Las naturales abarcan derivados como las clorinas y corrinas; las sintéticas —como la tetrafenilporfirina (TPP) y la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP)— se diseñan

para aplicaciones específicas como terapia fotodinámica, sensores, catálisis y sistemas híbridos de liberación controlada (Amos-Tautua et al., 2019).

Para su obtención, se utilizan rutas sintéticas clásicas y robustas como la síntesis de Rothemund, la síntesis de Adler–Longo y la síntesis de Lindsey (Figura 21). Estos métodos se basan en la condensación controlada de pirrol y aldehídos aromáticos bajo distintas condiciones de temperatura, disolventes y catalizadores, logrando macrociclos con alta pureza y rendimientos optimizados. Actualmente, variantes modernas como la síntesis asistida por microondas han reducido los tiempos de reacción y mejorado la reproducibilidad (Amos-Tautua et al., 2019; Kiselev et al., 2022).

Figura 21

Esquema general de la síntesis de porfirinas por los métodos de Rothemund, Adler–Longo y Lindsey.



Finalmente, la rigidez estructural y la elevada simetría del macrociclo favorecen su fotostabilidad y su capacidad para participar en autoensamblajes dirigidos, lo cuales se aprovechan en la construcción de materiales funcionales, redes metal–orgánicas (MOFs) y superficies híbridas para liberación controlada (Gjuroski et al., 2021). Así, la versatilidad estructural y funcional de las porfirinas, junto con su robustez química y adaptabilidad, consolidan su rol como moléculas clave

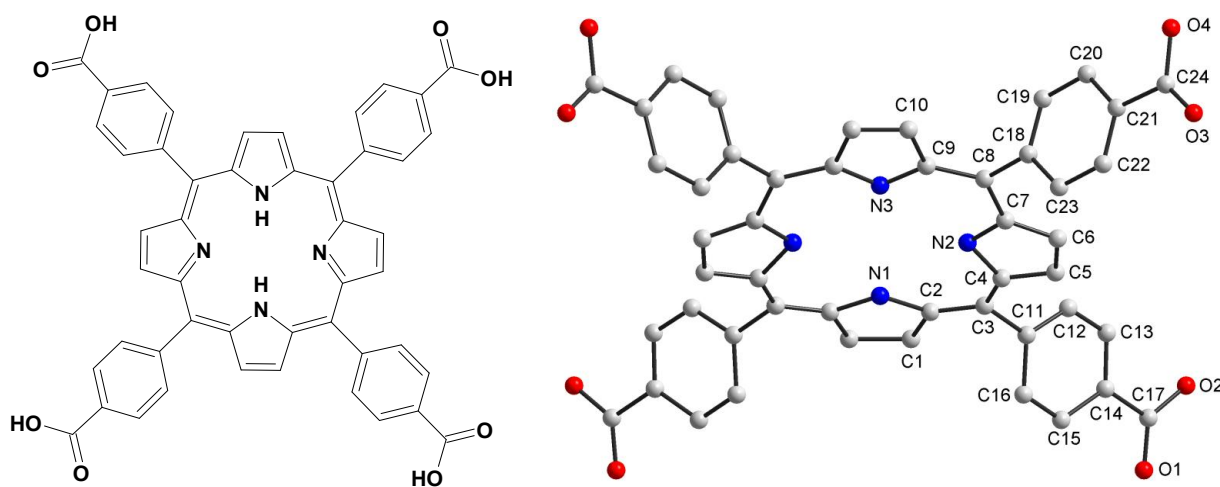
para diseñar fotosensibilizadores de segunda generación, materiales bioactivos y plataformas con aplicaciones potenciales en sistemas híbridos antimicrobianos y antiparasitarios.

2.3.1.1 Química de la TCPP y estrategias de funcionalización.

Entre las porfirinas sintéticas de mayor relevancia para aplicaciones biomédicas y de catálisis, la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP, Figura 22) destaca por su arquitectura versátil y su facilidad para ser modificada químicamente. La TCPP se caracteriza por la presencia de cuatro grupos carboxilo en posiciones *meso*, los cuales amplían significativamente sus posibilidades de funcionalización covalente y su compatibilidad con sistemas híbridos (Chen et al., 2015). La estructura cristalina de la TCPP (Figura 22) revela un macrociclo levemente distorsionado tipo “silla de montar”, rasgo que favorece interacciones intermoleculares, autoensamblaje y formación de redes supramoleculares mediante enlaces de hidrógeno (Chen et al., 2015).

Figura 22

Estructura molecular (izquierda) y estructura cristalina (derecha) de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP).



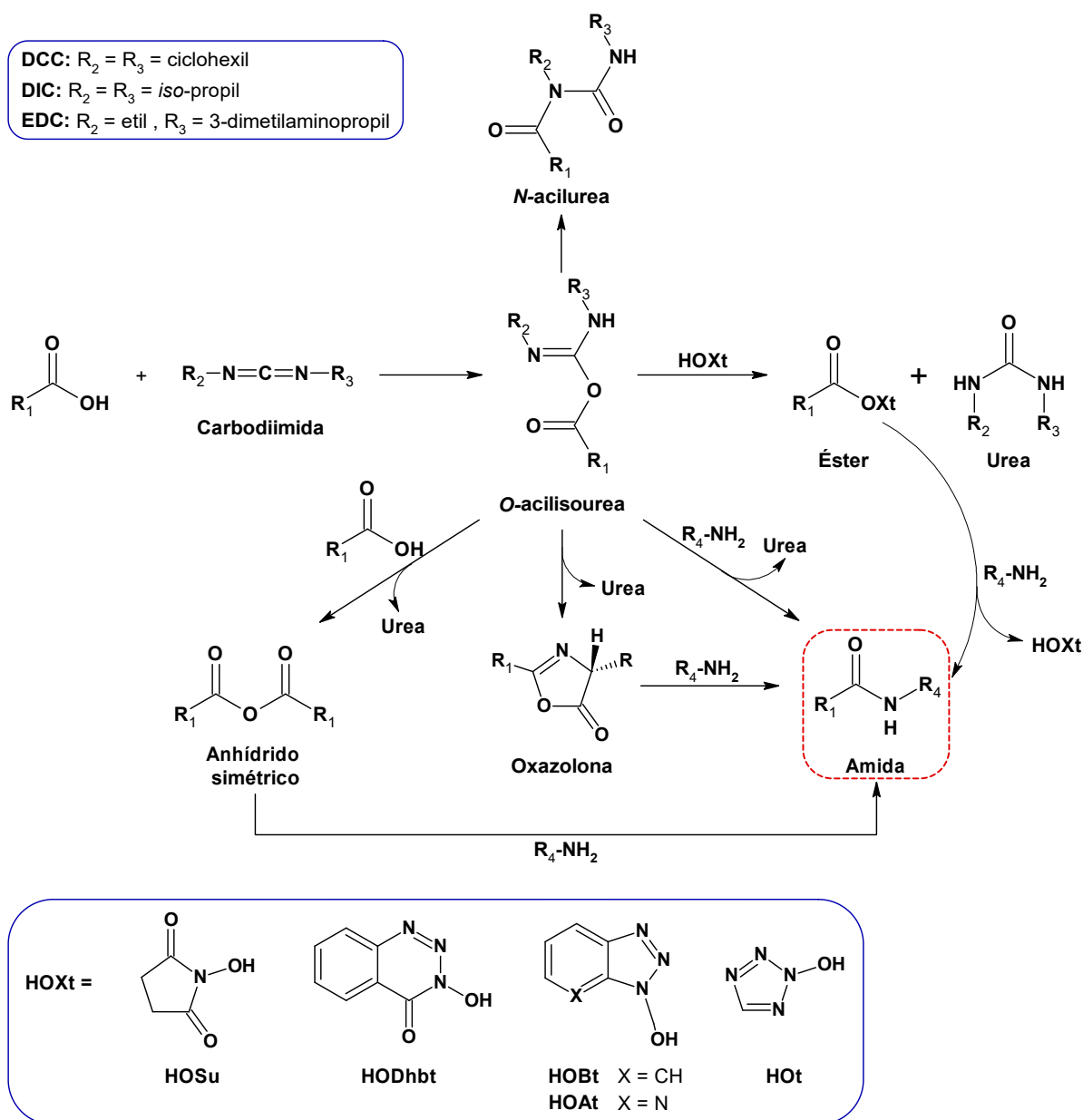
Nota: Adaptado de Chen et al., (2015).

Una estrategia central para aprovechar la versatilidad de la TCPP es la activación específica de sus grupos carboxilo, lo que permite la formación controlada de enlaces covalentes tipo éster o amida. Esta activación implica transformar el ácido carboxílico en un intermediario acilante, capaz de reaccionar con nucleófilos como aminas o alcoholes, dando lugar a derivados estructuralmente estables y funcionales (Joullié & Lassen, 2010; Ren, 2008).

- Enlaces amida mediados por carbodiimidas.

La activación de grupos carboxilo mediante carbodiimidas (como EDC, DCC, DIC) sigue siendo uno de los métodos más extendidos para construir enlaces amida. Estas reacciones siguen un mecanismo de acoplamiento por etapas bien definido: primero, la carbodiimida activa el ácido carboxílico formando un intermediario *O*-acilisourea, una especie reactiva que puede derivar hacia productos indeseables (*N*-acilureas) si no se controla adecuadamente (El-Faham & Albericio, 2011; Wigman et al., 2014).

Para evitar rutas secundarias y mejorar la eficiencia, se incorporan aditivos como *N*-hidroxisuccinimida (NHS) o HOBt (1-hidroxibenzotriazol), que convierten la *O*-acilisourea en un éster activo (éster NHS). Este éster es más estable y facilita la reacción con la amina nucleofílica seleccionada, generando el enlace amida de forma limpia y con menor riesgo de subproductos (Figura 23). La reacción típicamente se lleva a cabo en condiciones suaves, frecuentemente en presencia de una base como DIPEA (*N,N*-diisopropiletilamina) o TEA (triethylamina), que captura protones liberados y favorece la aminólisis eficiente (Al-Warhi et al., 2012; El-Faham & Albericio, 2011; Tsakos et al., 2015).

Figura 23*Mecanismo de formación de enlace peptídico mediado por carbodiimidas.*

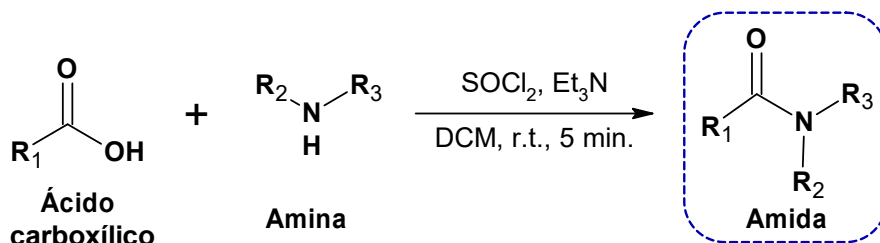
Nota: Adaptado de El-Faham & Albericio, (2011).

- Amidación con haluros de acilo (vía *one pot* o Schotten Baumann).

Esta metodología se basa en la conversión *in situ* del ácido carboxílico mediante haluros de acilo generados directamente en el medio de reacción. En este caso, reactivos como cloruro de tionilo (SOCl_2) o cloruro de oxalilo transforman rápidamente el grupo carboxilo en un cloruro de acilo reactivo, que reacciona de forma inmediata con la amina presente en presencia de base (Figura 24). Este enfoque *one pot* evita pasos intermedios y permite amidaciones limpias (Leggio et al., 2016). O bien se puede preparar el haluro por separado para luego hacer reaccionar con la amina en presencia de una base orgánica (DIPEA, piridina). Esta vía —conocida como acilación de Schotten–Baumann— es versátil y efectiva, especialmente cuando se busca rapidez y altos rendimientos en sistemas aromáticos (Ren, 2008).

Figura 24

Síntesis one pot de amidas a partir de ácidos carboxílicos utilizando SOCl_2 y Et_3N .



Nota: Adaptado de Leggio et al., (2016).

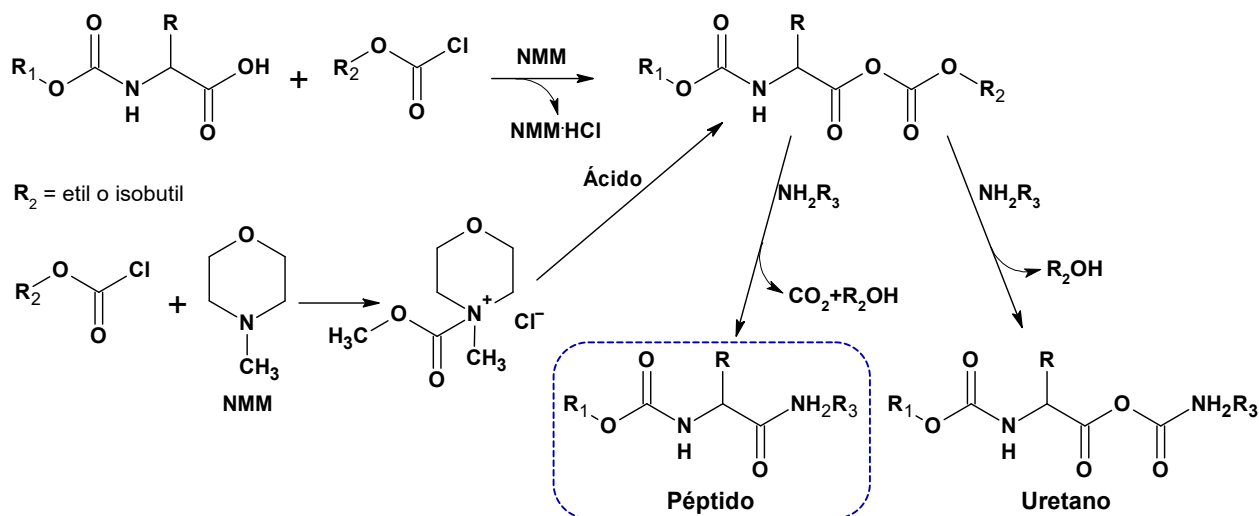
- Métodos con anhídridos mixtos.

Implica la activación de un ácido carboxílico por reacción con un cloroformiato, típicamente isobutilcloroformiato (IBCF) o etilcloroformiato, en presencia de una base terciaria como *N*-metilmorfolina (NMM) o trietilamina (TEA). Esta activación da lugar a un intermedio reactivo —el anhídrido mixto— que puede ser atacado nucleofílicamente por una amina para formar un enlace amida de manera eficiente (Figura 25). El método se caracteriza por su alta velocidad de reacción, baja tendencia a la racemización y buena compatibilidad con grupos

funcionales sensibles. Es ampliamente utilizado en la síntesis de péptidos y estructuras funcionalizadas, especialmente cuando se requiere una activación suave y eficiente sin acumulación de subproductos insolubles. Sin embargo, debe controlarse rigurosamente el uso de bases y la temperatura para evitar la formación de productos colaterales como uretanos o reacciones no deseadas con el cloroformiato (El-Faham & Albericio, 2011).

Figura 25

Formación de enlace peptídico a partir de una reacción mediada por cloroformiato.



Nota: Adaptado de El-Faham & Albericio, (2011).

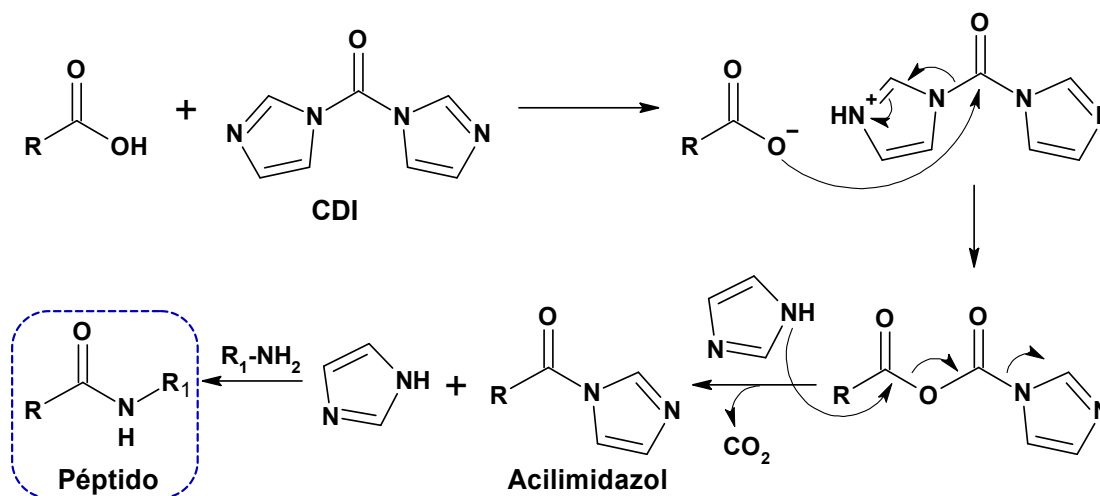
- Acoplamiento con acilazoles (acilimidazoles, benzotriazoles).

Una vía ampliamente utilizada para formar enlaces amida, es la activación de grupos carboxilo mediante 1,1'-carbonildiimidazol (CDI). Este reactivo genera *in situ* intermedios acilimidazol, que actúan como derivados acilantes estables y altamente reactivos frente a aminas nucleofílicas. El mecanismo se basa en dos pasos clave: primero, el CDI reacciona con el ácido carboxílico para producir el acilimidazol junto con imidazol libre; posteriormente, el acilimidazol intermedio se acopla con la amina deseada, formando el enlace amida y liberando una segunda

molécula de imidazol como subproducto (Figura 26) (Al-Warhi et al., 2012). Esta estrategia ofrece ventajas prácticas notables: opera bajo condiciones suaves, genera subproductos fácilmente eliminables y muestra alta compatibilidad con grupos funcionales sensibles, sin necesidad de aditivos complejos (El-Faham & Albericio, 2011).

Figura 26

Mecanismo de formación de enlace peptídico usando CDI.



Nota: Adaptado de El-Faham & Albericio, (2011).

- Método con azidas (Curtius).

Consiste en la conversión de un ácido en una azida mediante hidrazidas o DPPA permite generar amidas con mínima racemización. Las azidas reaccionan suavemente con aminas incluso a bajas temperaturas, pero deben manipularse con precaución por su reactividad y potenciales productos secundarios (El-Faham & Albericio, 2011).

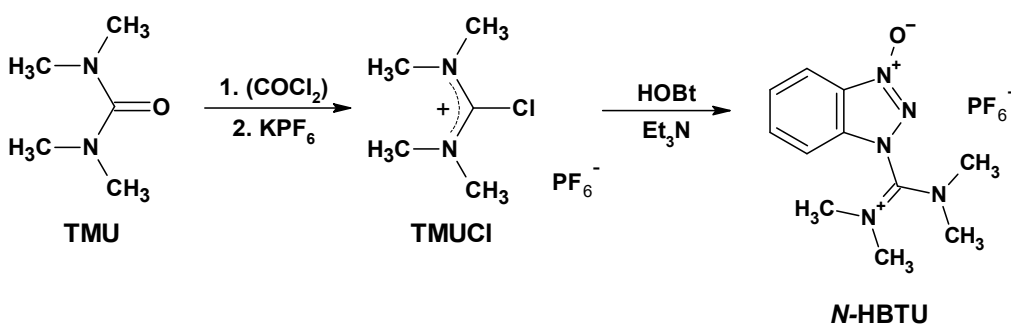
- Uso de sales de uronio o fosfonio

Los reactivos basados en sales de uronio (HBTU, HATU, Figura 27) y fosfonio (PyBOP, BOP, Figura 28) representan estándares de oro para acoplamiento peptídico. Estos activadores

transforman rápidamente el ácido carboxílico en un intermedio reactivo (éster activado o especie *O*-aciluronio), permitiendo la formación de amidas con altos rendimientos y mínimos subproductos racémicos (Al-Warhi et al., 2012; El-Faham & Albericio, 2011). Su uso es predominante en síntesis de péptidos y sistemas híbridos bioactivos debido a su alta eficiencia y compatibilidad con condiciones suaves.

Figura 27

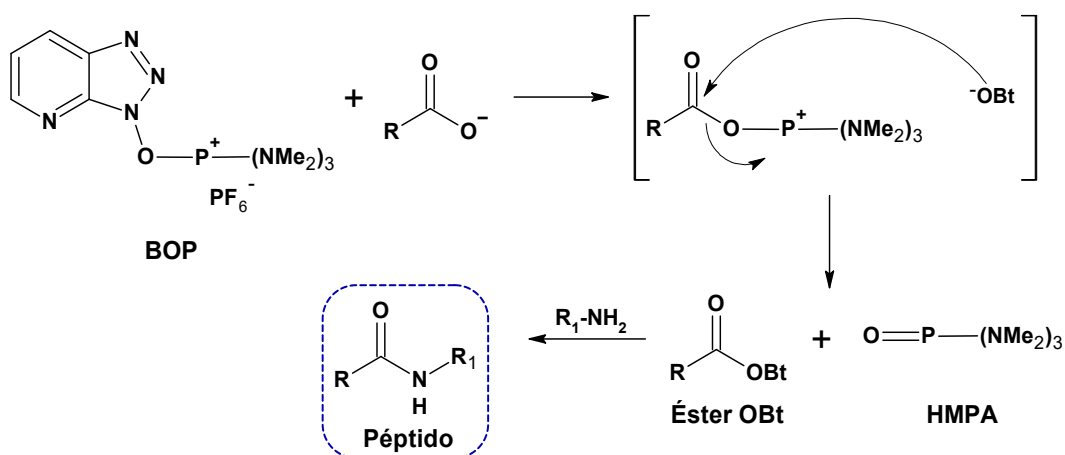
Síntesis de sales de uronio a partir de tetrametilurea (TMU).



Nota: Adaptado de El-Faham & Albericio, (2011).

Figura 28

Mecanismo de acoplamiento peptídico mediado por BOP.



Nota: Adaptado de Al-Warhi et al., (2012).

- Ésteres activos derivados de hidroxilaminas.

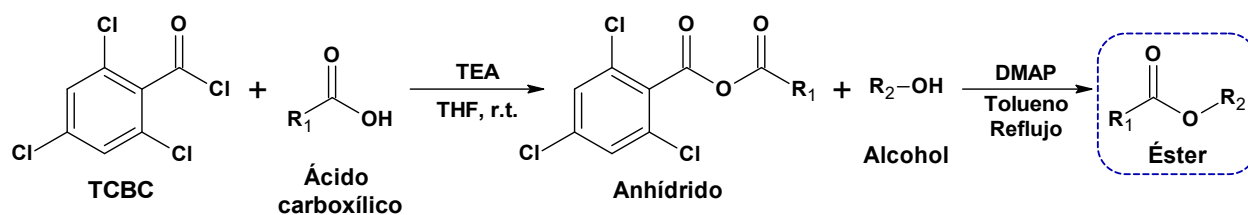
Incluyen derivados como HOBt, HOSu, HOAt, HONB, Pfp, los cuales generan ésteres reactivos con alta estabilidad y bajo riesgo de racemización. Son útiles tanto en síntesis en solución como en fase sólida. La activación del ácido se realiza mediante la formación de un éster reactivo, como los derivados de *p*-nitrofenol, HOBt, o pentafluorofenol. Estos ésteres reaccionan fácilmente con aminas para formar amidas sin necesidad de otras activaciones. Son estables y almacenables, lo que facilita su manejo (El-Faham & Albericio, 2011).

- Formación de ésteres mediante el método de Yamaguchi.

La estrategia Yamaguchi es ampliamente reconocida por su eficiencia para la formación de ésteres, especialmente cuando se busca construir enlaces éster macrocíclicos o lactonas bajo condiciones suaves. Este método emplea cloruro de 2,4,6-triclorobenzoil (TCBC) para activar el ácido carboxílico y generar un anhídrido mixto altamente reactivo. Dicho anhídrido reacciona de forma selectiva con alcoholes en presencia de DMAP (4-dimetilaminopiridina) como catalizador nucleofílico, promoviendo la formación del enlace éster con alto rendimiento y mínimos subproductos (Figura 29). Su alta eficiencia y control estérico hacen de esta vía una opción clave, cuando se requieren enlaces éster específicos, por ejemplo, para unir fragmentos hidrofílicos, cadenas poliméricas o espaciadores flexibles (Tsakos et al., 2015).

Figura 29

Formación de ésteres mediante la reacción de Yamaguchi.



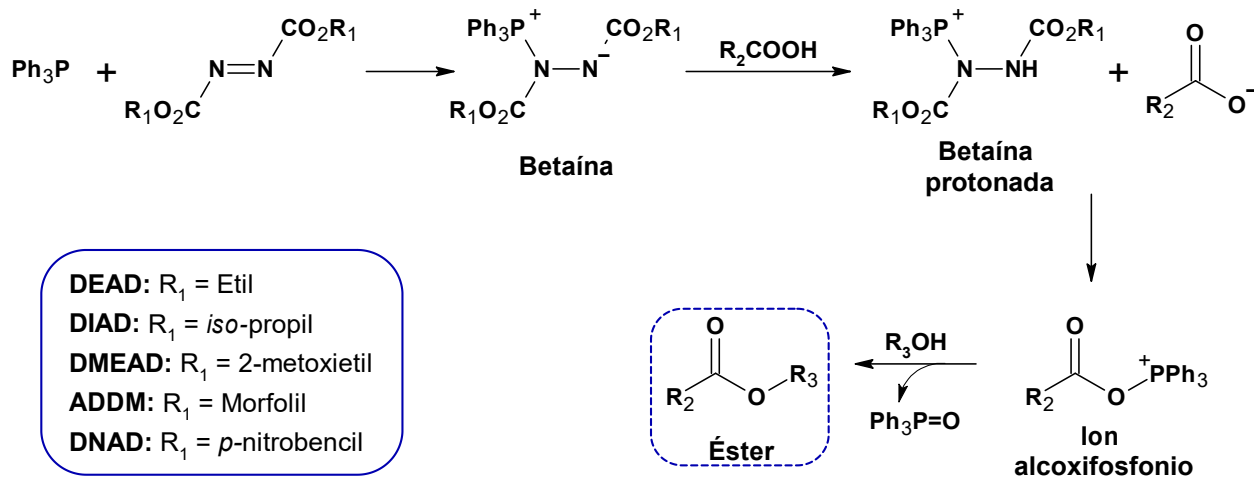
Nota: Adaptado de Dhimitruka & SantaLucia, (2006).

- Formación de ésteres mediante la reacción de Mitsunobu.

La reacción de Mitsunobu es una estrategia eficiente para la formación de ésteres, bajo condiciones suaves y con control estérico. Este proceso se basa en la reacción de un alcohol con un ácido nucleofílico (comúnmente un ácido carboxílico) en presencia de fosfina (PPh_3) y azodicarboxilato (DIAD O DEAD) (Figura 30). Esta reacción ofrece inversión de configuración, condiciones suaves y alta especificidad, aunque no es adecuada para compuestos sensibles a la humedad. Si se requiere convertir el éster resultante en una amida, es posible realizar una aminólisis posterior, aunque esta no constituye la vía directa de la reacción (Mitsunobu, 1981; Tsakos et al., 2015).

Figura 30

Formación de ésteres mediante la reacción de Mitsunobu.



Nota: Adaptado de Tsakos et al., (2015).

A continuación, se resume en la Tabla 1 las principales estrategias de acoplamiento utilizadas considerando las características clave de cada método, los subproductos que generan,

así como sus ventajas y limitaciones, ofreciendo una visión clara de los criterios que deben considerarse para seleccionar el método más adecuado según la aplicación específica.

Tabla 1

Comparativa de estrategias y reactivos de acoplamiento para enlaces peptídicos y ésteres.

Método	Activador	Subproductos	Ventajas	Limitaciones
Carbodiimida (EDC/DCC)	EDC, DCC + HOBt/NHS	Urea	Económico, eficiente	Posible racemización, residuos
Haluro de acilo (<i>one pot</i> /Schotten–Baumann)	SOCl ₂ , Cloruro de oxalilo	HCl, SO ₂	Rápido, versátil	Gases corrosivos, manejo delicado
Acilimidazol	Acilimidazoles, Benzotriazoles, CDI	Imidazol	Purificación sencilla	Menor reactividad
Sales de uronio/fosfonio	HBTU, HATU, PyBOP	Sales BF ₄ ⁻ , PF ₆ ⁻	Alta eficiencia, baja racemización	Costosos, manejo de sales
Azidas	DPPA, HN ₃	N ₂ , alcohol	Alta reactividad	Riesgo de explosividad, manejo delicado
Anhídrido mixto	Cloruro de isobutilo, base	Uretanos, alcohol	Condiciones suaves y buena reactividad	Poca estabilidad, reacciones colaterales
Ésteres activos	HOAt, HOBt, NHS, Pfp	Derivados hidroxilados	Estables, fácil acoplamiento	Baja reactividad sin agregados
Mitsunobu	PPh ₃ /DIAD	Fosfina oxidada	Inversión estérica	Sensible a la humedad
Anhídrido Yamaguchi	TCBC, DMAP	Triclorobenzoato	Alta selectividad, selectivo	Costoso, uso limitado

Las estrategias sintéticas aplicadas a la TCPP —incluyendo la esterificación selectiva, la acilación directa y los acoplamientos peptídicos— constituyen el núcleo conceptual para el diseño racional de derivados funcionalizados, capaces de integrarse en sistemas híbridos con aplicaciones biomédicas y tecnológicas. Estas rutas se complementan con reacciones de acoplamiento carbono—

carbono, como las de Sonogashira, Suzuki, Negishi y Heck, que permiten incorporar grupos aromáticos o cadenas conjugadas, extendiendo el sistema π -electrónico del macrociclo y modulando propiedades electrónicas clave (Hashimoto et al., 1999; Ren, 2008). La formación de enlaces covalentes en posiciones periféricas no solo conserva las propiedades fotoquímicas intrínsecas del núcleo tetrapirrólico, sino que también ajusta parámetros críticos como la hidrofiliidad, la afinidad biológica y la estabilidad estructural (Joullié & Lassen, 2010; Krichbaum et al., 2014; Ren, 2008).

Esta versatilidad sintética resulta esencial para la generación de arquitecturas más complejas como dendrímeros, polímeros conjugados o redes supramoleculares de porfirinas, expandiendo su uso potencial en sensores, catálisis fotodinámica, materiales optoelectrónicos y plataformas de liberación controlada con funcionalidad adaptativa. Para alcanzar este desempeño, es fundamental asegurar la pureza del macrociclo, la homogeneidad de sustitución y la estabilidad térmica, factores directamente relacionados con la eficiencia en la absorción de la banda Soret y la generación de especies reactivas de oxígeno. De este modo, la sinergia estructural entre el núcleo porfirínico y sus extremos carboxifenilo posiciona a la TCPP como una plataforma molecular robusta y versátil para el desarrollo de sistemas híbridos inteligentes (Ahmadi et al., 2015; Carlucci et al., 2010; Hashimoto et al., 1999).

2.3.1.2 Estructura y funcionalidad de la ampicilina.

La ampicilina pertenece al grupo de los antibióticos β -lactámicos y presenta una estructura molecular compuesta por tres elementos funcionales clave: el anillo β -lactámico, un grupo amino libre ($-\text{NH}_2$) y un grupo carboxilo terminal ($-\text{COOH}$) (Figura 31). El anillo β -lactámico, un ciclo de cuatro miembros altamente reactivo es esencial para su acción antibacteriana, ya que actúa

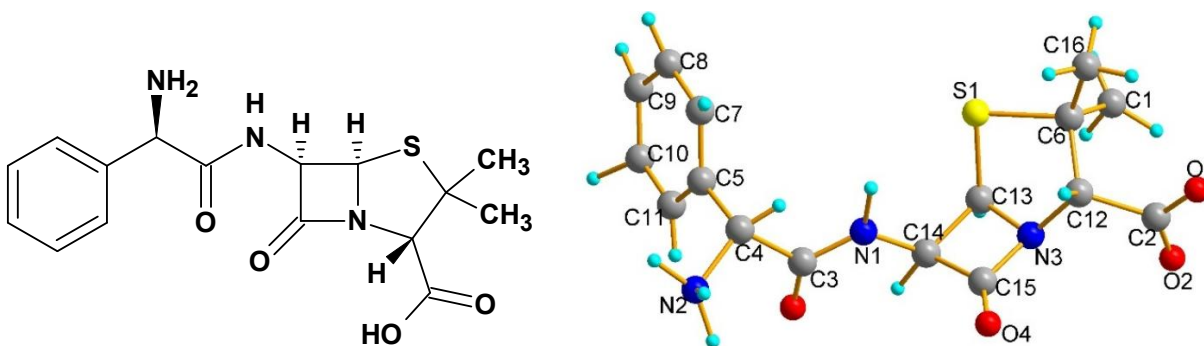
como centro electrofílico susceptible de ataque nucleofílico por parte de las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs). Este anillo está fusionado al anillo tiazolidínico, formando el núcleo 6-aminopenicilánico que confiere rigidez estructural y define la geometría tridimensional de la molécula (Vardanyan & Hruby, 2006; Waxman & Strominger, 1983).

En la posición α de la cadena lateral del núcleo penicilánico, la ampicilina incorpora un grupo amino primario ($-\text{NH}_2$), el cual mejora significativamente su solubilidad en medios acuosos y facilita su transporte a través de porinas en la membrana externa de bacterias Gram-negativas, ampliando así su espectro de acción. Este grupo amino también puede participar en interacciones electrostáticas y es uno de los puntos más utilizados para modificaciones covalentes en estrategias de diseño de híbridos moleculares (Nayler, 1971).

Por otra parte, el grupo carboxilo terminal ($-\text{COOH}$) proporciona acidez y polaridad a la molécula, permitiendo interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno. Además, este grupo funcional es crítico para la actividad antibiótica, ya que interviene en la correcta orientación del antibiótico hacia el sitio activo de las PBPs. Tanto el grupo amino como el grupo carboxilo son susceptibles de activación química siendo utilizados para formar enlaces éster o amida con otras moléculas bioactivas o plataformas poliméricas, sin comprometer necesariamente la actividad antibacteriana (Joullié & Lassen, 2010; Ren, 2008).

Figura 31

Estructura molecular (izquierda) y estructura cristalina (derecha) de la ampicilina.



Nota: Adaptado de Boles & Girven, (1976).

El mecanismo de acción de la ampicilina se basa en la inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana, un proceso esencial para la viabilidad de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Esta acción se lleva a cabo a través de la interacción con proteínas fijadoras de penicilina (PBPs), un grupo de enzimas responsables de catalizar las etapas finales de la biosíntesis del peptidoglicano, principal componente estructural de la pared celular (Dowson et al., 1994; Waxman & Strominger, 1983). El anillo β -lactámico de la ampicilina actúa como un análogo estructural del dipeptido terminal D-Ala-D-Ala de los precursores del peptidoglicano. Esta similitud le permite unirse de manera irreversible al sitio activo de las PBPs, bloqueando su actividad transpeptidasa. Como consecuencia, se impide el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicano, debilitando la integridad estructural de la pared celular y provocando la lisis osmótica de la bacteria en crecimiento (Nelson & Young, 2001; Park & Strominger, 1957; Saikia & Chetia, 2024).

La eficacia de la ampicilina está condicionada por su capacidad de alcanzar y fijarse a las PBPs específicas del microorganismo. En bacterias Gram-negativas, su entrada se ve mediada por proteínas de canal (porinas), mientras que en bacterias Gram-positivas, el antibiótico accede más directamente a su blanco, aunque debe superar una matriz más gruesa de peptidoglicano (Dowson et al., 1994).

Desde el punto de vista clínico, la ampicilina ha sido uno de los antibióticos β -lactámicos más utilizados por su amplio espectro de acción, que abarca bacterias Gram-positivas como *Streptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis* y *Listeria monocytogenes*, así como algunas bacterias Gram-negativas, incluyendo *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*.

(Vardanyan & Hruby, 2006). Esta versatilidad terapéutica se debe a su capacidad para atravesar la membrana externa de bacterias Gram-negativas, lo que no era posible con las penicilinas naturales como la penicilina G.

Sin embargo, la eficacia clínica de la ampicilina ha disminuido debido al aumento de mecanismos de resistencia bacteriana. El más común es la producción de β -lactamasas, enzimas que hidrolizan el anillo β -lactámico, inactivando el antibiótico (Waxman & Strominger, 1983). Otros mecanismos incluyen mutaciones en las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs) que reducen la afinidad por el antibiótico y la disminución de la permeabilidad de la membrana externa, especialmente en cepas Gram-negativas resistentes (Dowson et al., 1994; Sutcliffe, 1978). Estas adaptaciones han motivado el diseño de derivados semisintéticos y combinaciones con inhibidores de β -lactamasas (como el ácido clavulánico), así como la exploración de estrategias de modificación estructural.

Químicamente, la ampicilina presenta dos grupos funcionales principales susceptibles de ser modificados: el grupo amino libre en la cadena lateral del núcleo penicilánico y el grupo carboxilo en el anillo β -lactámico. El grupo amino puede ser acilado o funcionalizado mediante enlaces amida con ácidos activados, sin comprometer necesariamente la actividad antibacteriana, mientras que el grupo carboxilo puede ser transformado en ésteres o amidas, facilitando su incorporación en sistemas híbridos o polímeros funcionales (Joullié & Lassen, 2010; Nayler, 1971). Estas modificaciones permiten modular la solubilidad, estabilidad y perfil farmacocinético del antibiótico, además de habilitar nuevas estrategias de entrega dirigida o sinergia con otras moléculas bioactivas.

2.3.2 *Diseño y relevancia de híbridos de porfirina*

Las moléculas híbridas constituyen una estrategia racional empleada en el diseño de nuevos agentes terapéuticos en química medicinal. Estas se construyen mediante la integración estructural de dos o más farmacóforos en una sola molécula con el propósito de potenciar la efectividad terapéutica a través de efectos sinérgicos, mejorar la biodisponibilidad, optimizar la selectividad y reducir la probabilidad de generar resistencia microbiana (Shaveta et al., 2016). Las moléculas híbridas pueden clasificarse según la conexión química entre los componentes activos:

- Híbridos conjugados: presentan una unión covalente directa entre farmacóforos, sin posibilidad de separación, lo que asegura una acción conjunta.
- Híbridos con linkers (liberables o no): los farmacóforos están conectados mediante un espaciador que puede ser estable o hidrolizable en condiciones fisiológicas.
- Híbridos de fusión: incorporan dominios estructurales superpuestos en una única arquitectura química, permitiendo múltiples mecanismos terapéuticos.

Los objetivos principales de esta estrategia incluyen: (a) lograr una acción polifarmacológica sobre múltiples blancos terapéuticos, (b) reducir la probabilidad de desarrollo de resistencia, (c) mejorar propiedades fisicoquímicas (como solubilidad y estabilidad), y (d) disminuir efectos adversos mediante mecanismos de acción complementarios (Pokrovskaya & Baasov, 2010; Pucelik et al., 2024; Singha et al., 2017).

Estudios recientes han documentado la eficacia de diversos híbridos frente a microorganismos resistentes. Se han desarrollado compuestos que combinan agentes antibacterianos clásicos con fluoróforos, nitroheterociclos y otros sistemas aromáticos funcionales. Oyim et al. (2021) en su revisión destaca la modificación de porfirinas con grupos funcionales de carga positiva, como aminoácidos básicos o péptidos antimicrobianos, con el fin de favorecer su

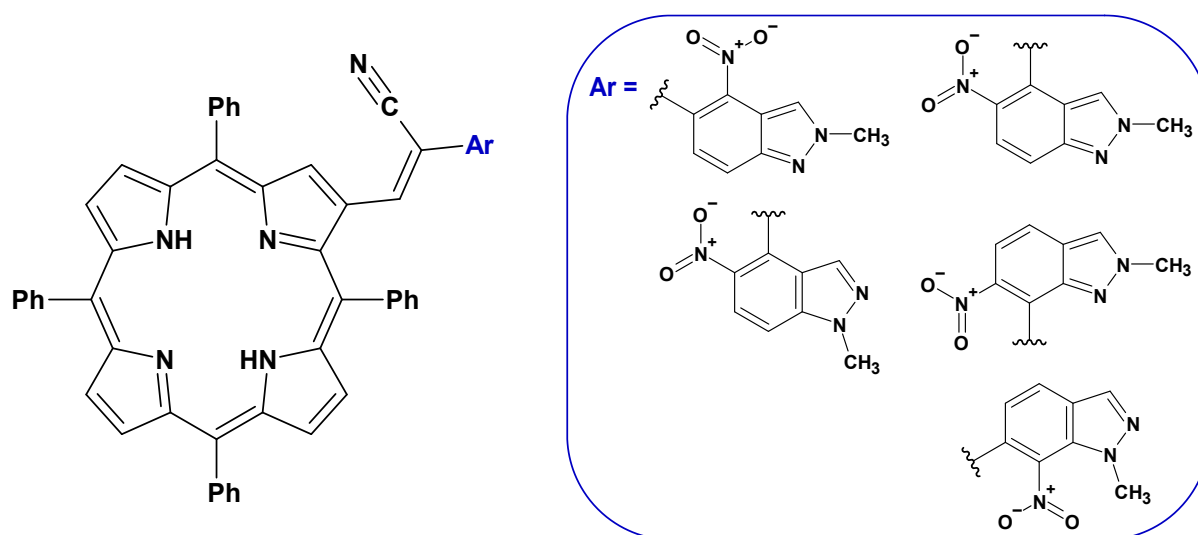
interacción con las membranas bacterianas aniónicas, mejorando tanto la penetración celular como la eficacia fotodinámica (Oyim et al., 2021).

Otro enfoque se basa en el diseño de redes supramoleculares. Kumari et al. (2017) desarrollaron sistemas autoensamblados formados por ADN y porfirinas cationizadas, los cuales presentaron orientación espacial favorable para la transferencia energética y la generación de especies reactivas de oxígeno, logrando una elevada actividad antimicrobiana bajo irradiación (Kumari et al., 2017).

La combinación de porfirinas con antibióticos ha sido explorada en menor medida, pero con resultados prometedores. Gao et al. (2018) y Eddahmi et al. (2020) han demostrado que la unión covalente de porfirinas con antibióticos o nitroimidazoles puede conservar e incluso potenciar la actividad antibacteriana original, mientras se introduce la capacidad de respuesta a estímulos lumínicos. Gao et al. lograron diseñar un híbrido metronidazol–deuteroporfirina que mostró actividad frente a bacterias anaerobias, mientras que Eddahmi et al. reportaron híbridos porfirina–nitroindazol (Figura 32) con actividad fotoinducida y especificidad mejorada (Eddahmi et al., 2020; Gao et al., 2018).

Figura 32

Estructura molecular de los híbridos porfirina-nitroindazol.

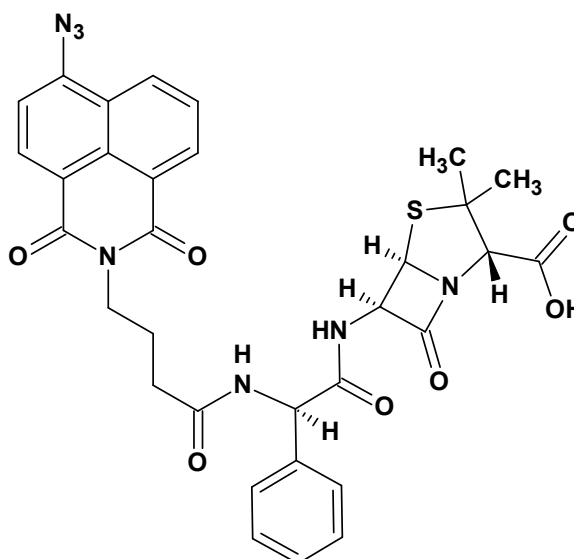


Nota: Adaptado de Eddahmi et al., (2020).

En relación con los antibióticos β -lactámicos, existen antecedentes que reportan híbridos estructurales con ampicilina. Singha et al. (2017) desarrollaron un compuesto que une covalentemente ampicilina con un derivado de naftalimida (Figura 33), el cual presentó una actividad antibacteriana comparable o superior a la del antibiótico libre frente a *Escherichia. coli* y *Staphylococcus aureus*. Además, el híbrido mostró propiedades fluorescentes, permitiendo la visualización intracelular del compuesto, lo cual sugiere ventajas tanto diagnósticas como terapéuticas (Singha et al., 2017).

Figura 33

Estructura molecular del híbrido derivado de naftalimida unido a ampicilina.



Nota: Adaptado de Singha et al., (2017).

Shaveta et al. (2016) también reportaron la viabilidad de híbridos basados en β -lactámicos para enfrentar bacterias resistentes a carbapenémicos. En estos sistemas se incorporaron fragmentos capaces de inhibir bombas de eflujo o enzimas betalactamasas, mostrando eficacia en estudios preclínicos (Shaveta et al., 2016).

A pesar del creciente interés en híbridos con doble funcionalidad —ya sea antimicrobiana, diagnóstica o fotodinámica—, la combinación directa entre porfirinas y antibióticos β -lactámicos sigue siendo limitada. Esta escasez constituye una oportunidad estratégica de innovación. En este contexto, la propuesta de esta tesis doctoral, centrada en el diseño y síntesis de un híbrido porfirina–ampicilina, representa una contribución original. Este compuesto busca integrar la actividad antibacteriana clásica de la ampicilina con la capacidad fotodinámica y de coordinación metálica de la porfirina, permitiendo el desarrollo de agentes multifuncionales con aplicación potencial en infecciones bacterianas y parasitarias.

2.3.3 *Coordinación metálica en núcleos porfirínicos*

La coordinación de metales de transición en el núcleo de porfirinas representa una estrategia clave para modular sus propiedades electrónicas, estructurales y bioactivas. El anillo porfirínico, caracterizado por su estructura planar y altamente conjugada con 18 electrones π , presenta cuatro átomos de nitrógeno capaces de actuar como sitios de coordinación, permitiendo la formación de complejos estables con cationes metálicos. Esta capacidad de coordinación confiere a las porfirinas una versatilidad excepcional, permitiendo sintonizar sus propiedades espectroscópicas, redox y fotodinámicas mediante la inserción de diferentes centros metálicos (L. Wang et al., 2024).

Desde el punto de vista electrónico, la metalación induce cambios en la simetría molecular del sistema (de D_{2h} en porfirinas libres a D_{4h} en sus complejos metálicos), lo que modifica la energía y degeneración de los orbitales frontera. Este cambio impacta directamente la intensidad y posición de las bandas de absorción, en especial las bandas Q ($\pi-\pi^*$), cuya intensidad puede incrementarse significativamente al romperse la simetría de alternancia (Hashimoto et al., 1999).

Además, la coordinación metálica mejora la estabilidad térmica y fotoquímica del sistema, facilita la modulación del carácter lipofílico, la carga superficial y la interacción específica con biomoléculas. Esto ha impulsado el uso de metaloporfirinas en aplicaciones biomédicas, incluyendo terapia fotodinámica (PDT), sistemas de liberación dirigida de fármacos y diagnóstico por imagen.

El proceso de metalación influye directamente en la eficiencia de las porfirinas como agentes terapéuticos. Por ejemplo, la inserción de $Zn(II)$, un ion diamagnético, potencia la fluorescencia y la generación de oxígeno singlete, mientras que $Ni(II)$, por su carácter

paramagnético, tiende a apagar la fluorescencia, pero mejora la estabilidad y permite una coordinación axial versátil (Gutzeit et al., 2019). Por su parte, los complejos de Sn(IV) permiten la incorporación de dos ligandos axiales, ampliando la funcionalidad molecular.

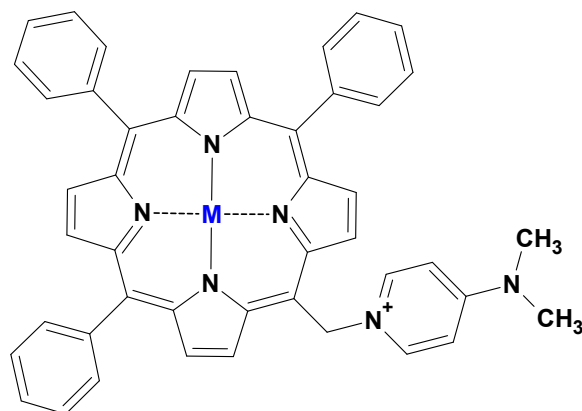
- Complejos de Zinc(II).

El ion Zn(II) forma complejos porfirínicos con geometría cuadrado-planar, sin momento magnético, lo cual favorece su uso como fotosensibilizador. Estudios recientes han demostrado que porfirinas fluoradas con Zn(II) exhiben una alta eficacia fotodinámica contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas en modelos de biofilm. Se observó que, más allá del metal, la distribución de carga periférica del compuesto desempeña un papel crucial en la interacción con membranas microbianas y la eficiencia de generación de oxígeno singlete (Pucelik et al., 2024).

En el caso de los complejos Zn(II), su relevancia biomédica ha sido respaldada por múltiples investigaciones, particularmente en el campo de la terapia fotodinámica. Sekhar et al. (2022) reportaron la síntesis de porfirinas meso-metiladas coordinadas con Zn(II) (Figura 34), diseñadas para actuar como sistemas de liberación activados por luz. Entre estos, el complejo denominado 6-Zn demostró un comportamiento fotofísico destacado, con una elevada eficiencia en la liberación de grupos salientes bajo irradiación visible. Esta respuesta se tradujo en un rendimiento químico superior al 70% y una sección cruzada fotolítica significativamente alta, lo que indica una capacidad sobresaliente para actuar como interruptor molecular fotoinducible. Adicionalmente, el complejo mostró buena estabilidad en medios acuosos y una eficiencia de generación de oxígeno singlete adecuada para aplicaciones terapéuticas sensibles a la luz, como la activación localizada de fármacos o el control espaciotemporal de procesos celulares (Sekhar et al., 2022).

Figura 34

Estructura molecular de meso-metilporfirinas coordinadas con metales como Zn, Pd, Cu y Ni.



6-Zn: **M** = Zn
 6-Pd: **M** = Pd
 6-Cu: **M** = Cu
 6-Ni: **M** = Ni

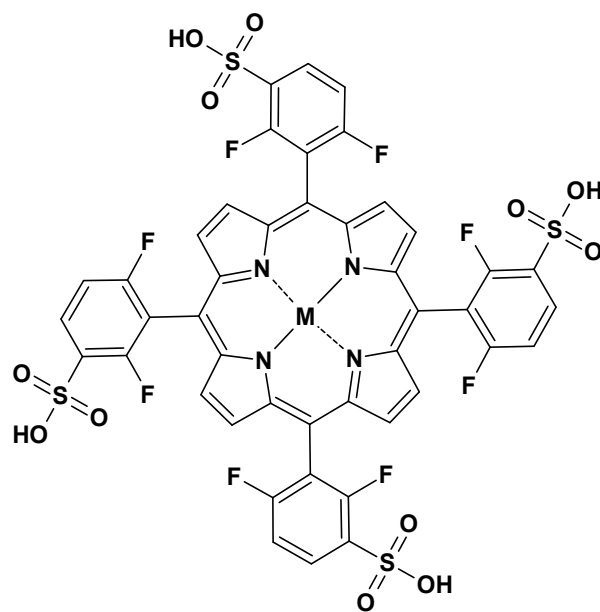
Nota: Adaptado de Sekhar et al., (2022).

Por su parte, Han et al. (2023) diseñaron anfífilos porfirínicos de Zn(II) capaces de autoensamblarse en medios acuosos, formando nanoestructuras estables con acumulación mitocondrial selectiva y efecto fototóxico notable frente a células tumorales (Han et al., 2023).

Pucelik et al. (2024) evaluaron una serie de porfirinas fluoradas metaladas con iones Zn(II) y Pd(II) (Figura 35), comprobando su alta eficacia fotodinámica contra bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram-negativas (*Escherichia coli*), tanto en estado planctónico como en biofilm. Los autores destacaron que la distribución de carga periférica —más allá del tipo de metal central— es un factor crítico para la interacción efectiva con los microorganismos, ya que determina la capacidad del fotosensibilizador para insertarse y actuar sobre las membranas bacterianas (Pucelik et al., 2024).

Figura 35

Estructura molecular de porfirinas fluoradas con iones metálicos de Zn(II) y Pd(II).



M = 2H, Zn, Pd

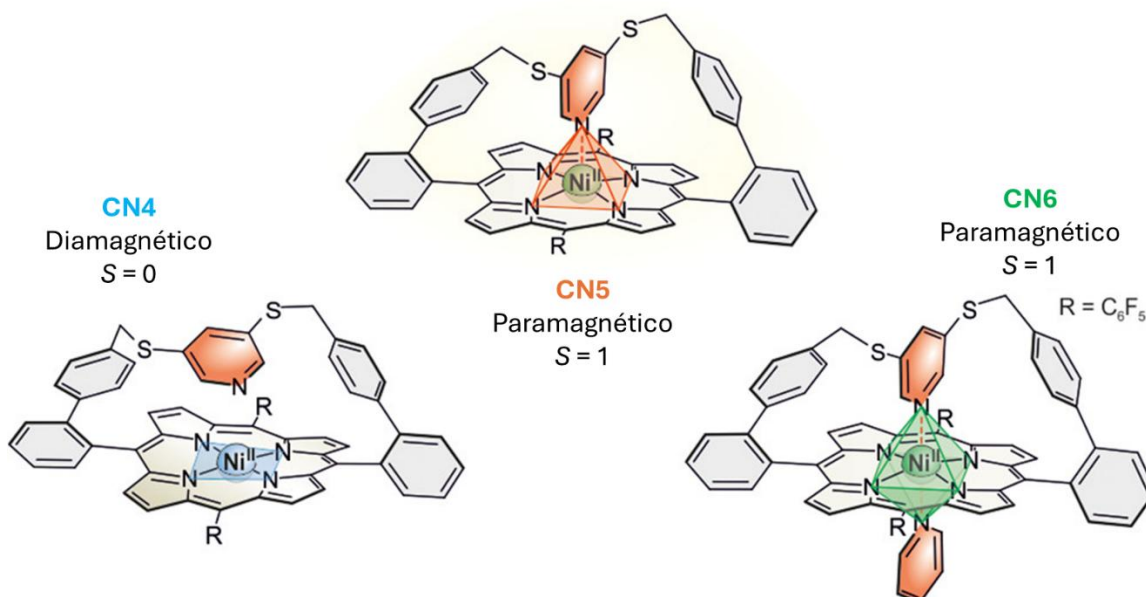
Nota: Adaptado de Pucelik et al., (2024).

- Complejos de Ni(II).

El níquel (II), al coordinarse con porfirinas, confiere una mayor estabilidad estructural, rigidez conformacional y propiedades redox mejoradas. Gutzeit et al. (2019) reportaron una serie de complejos Ni(II)-porfirina con enlaces coordinados axialmente (Figura 36), demostrando que la orientación axial afecta los potenciales redox, la geometría molecular y la capacidad de inserción en matrices supramoleculares. Estos compuestos fueron evaluados como catalizadores redox y mostraron estabilidad frente a oxidación/reducción reversible en condiciones de laboratorio (Gutzeit et al., 2019).

Figura 36

Estructuras de los complejos coordinados cuatro, cinco y seis de porfirinas de níquel(II).

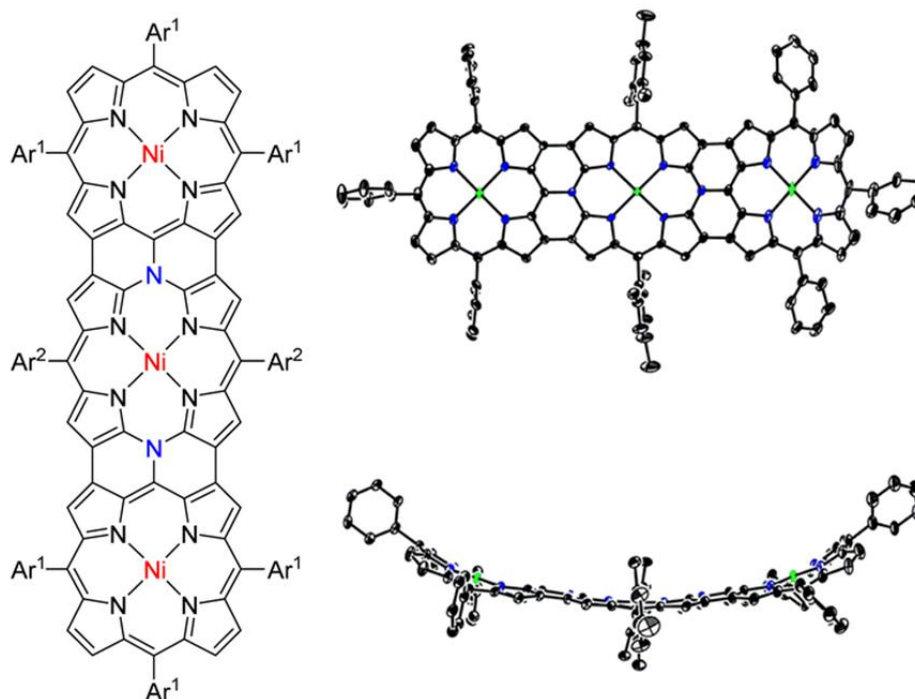


Nota: Adaptado de Gutzeit et al., (2019).

En trabajos recientes, Wang (2024) sintetizaron cintas híbridas de Ni(II)-porfirina con unidades de 5,15-diazaporfirina (Figura 37). Estos híbridos mostraron un desplazamiento hipso crómico de la banda Soret y la aparición de múltiples ondas redox reversibles. Estos complejos también fueron propuestos como sensores colorimétricos debido a su sensibilidad estructural a la coordinación axial y a condiciones de pH (L. Wang et al., 2024).

Figura 37

Estructura molecular (izquierda) y estructura cristalina de rayos X (derecha) que muestran la disposición en forma de cinta de los híbridos de porfirina Ni(II)-DAP.



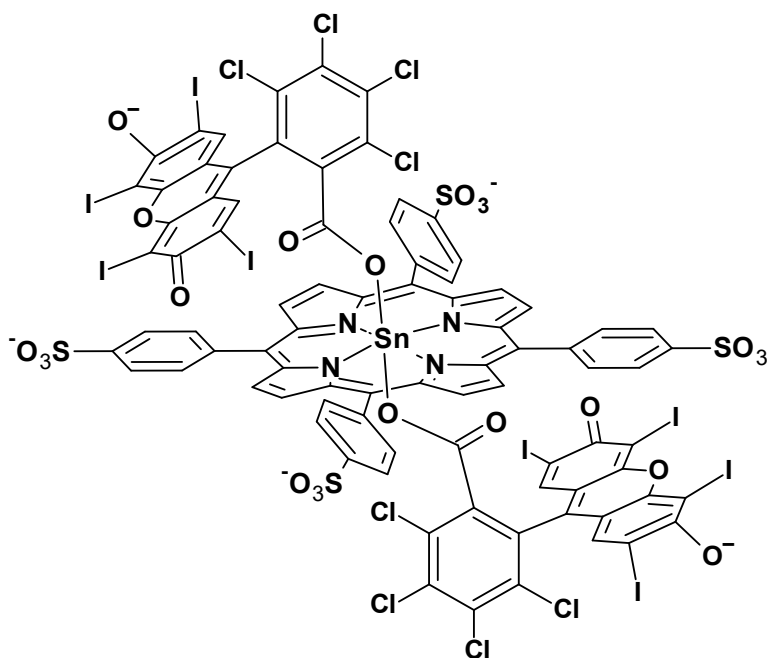
Nota: Adaptado de Wang et al., (2024).

- Complejos de Sn(IV).

La coordinación axial de estaño (IV) origina geometrías octaédricas distorsionadas en los complejos porfirínicos. Esta configuración permite la incorporación de ligandos axiales, lo que amplía la funcionalidad del sistema. Mamardashvili et al. (2025) sintetizaron un complejo Sn(IV)-porfirina con dos unidades de Rosa de Bengala (Figura 38), demostrando eficacia fotodinámica frente a bacterias y hongos patógenos, junto con baja toxicidad en células humanas. Esta funcionalización axial mejora no solo la fototoxicidad selectiva, sino también la sensibilidad del sistema a parámetros intracelulares como el pH y la viscosidad lo que amplifica su potencial como herramienta terapéutica sensible a estímulos (Mamardashvili et al., 2025).

Figura 38

Estructura molecular de la Sn(IV)-5,10,15,20-tetra(4-sulfofenil)porfirina con Rosa de Bengala SnP(RB)₂.

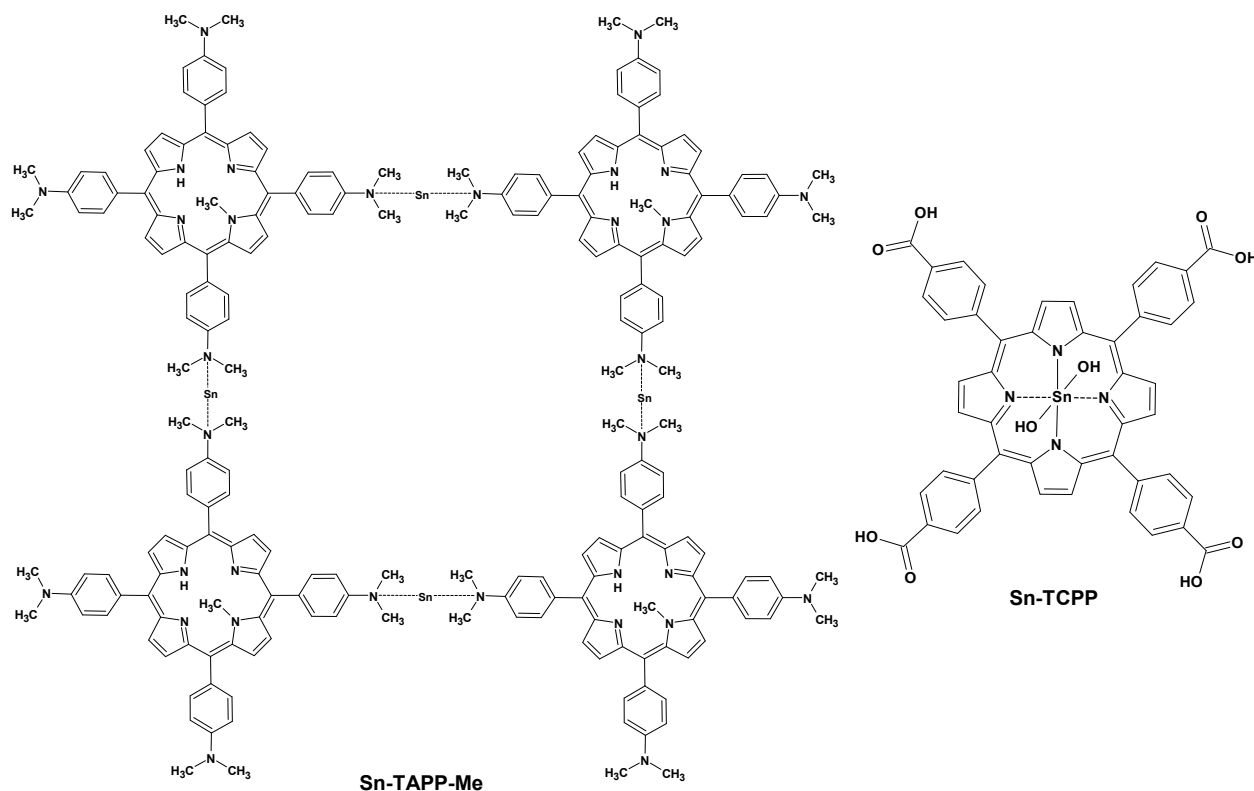


Nota: Adaptado de Mamardashvili et al., (2025).

Rafiee et al. (2024) describieron la preparación de complejos Sn(IV)-TCPP con ligandos axialmente coordinados como cloruro y metanol, evaluando su actividad frente a bacterias multirresistentes. Los compuestos mostraron un perfil favorable de fototoxicidad y una marcada estabilidad frente a la degradación por luz (Rafiee et al., 2024). Asimismo, Li et al. (2022) reportaron que la inserción de Sn(IV) en dos estructuras diferentes de porfirina, una TCPP y una 5,10,15,20-tetrakis(4-aminofenil) porfirina metilada (TAPP-Me) (Figura 39), aumenta la absorción en la región visible, mejora la solubilidad en medios acuosos y facilita la generación de oxígeno singlete, con potencial para aplicaciones fotodinámicas no invasivas (Li et al., 2022).

Figura 39

Esquema de la posible estructura de los complejos Sn-TAPP-Me (izquierda) y Sn-TCPP (derecha).



Nota: Adaptado de Li et al., (2022).

- Otros complejos metálicos relevantes.

Diversas investigaciones han explorado la coordinación de porfirinas con otros metales de transición. Dong et al. (2024) desarrollaron híbridos porfirínicos tipo 2-1-2-1 complejados con Mn(III), con propiedades antioxidantes miméticos a la enzima superóxido dismutasa (SOD) replicando su actividad antioxidante (Y. Dong et al., 2024).

Asimismo, los complejos de Fe(III) han sido ampliamente estudiados por su versatilidad catalítica y su capacidad de actuar como modelos de sistemas hemoenzimáticos. Chen et al. (2020) incorporaron porfirinas de Fe(III) en redes metal-orgánicas (MOFs) tipo PCN-222, obteniendo

catalizadores con actividad peroxidasa mimética que pueden ser utilizados como biosensores o sistemas terapéuticos redox-responsivos. Estas estructuras mostraron buena estabilidad coloidal, alta área superficial y comportamiento catalítico enzimático frente a sustratos típicos de SOD y catalasa (Chen et al., 2021).

En el caso de Cu(II), su coordinación con porfirinas genera complejos con notable actividad fotodinámica y antimicrobiana. Han et al. (2023) evaluaron complejos Cu(II)-porfirina en estructuras anfífilas capaces de formar nanoensamblados con estabilidad coloidal en medios acuosos. Estos sistemas demostraron alta eficiencia en la generación de oxígeno singlete y buena acumulación subcelular, exhibiendo actividad antibacteriana incluso contra cepas multirresistentes. Su estructura también permitió un direccionamiento intracelular eficiente, lo que refuerza su aplicabilidad en tratamientos localizados mediados por luz (Han et al., 2023).

Por otro lado, los complejos de Pt(II) han sido evaluados por su efecto sinérgico al combinar propiedades citotóxicas directas con capacidad fotosensibilizadora. Ouyang et al. (2024) desarrollaron porfirinas tetraplatinadas que, bajo irradiación lumínica, inducen muerte celular por mecanismos apoptóticos, combinando la producción de especies reactivas de oxígeno con la acción directa de los centros metálicos de platino. Esta doble funcionalidad amplifica el daño celular en tejidos tumorales, presentando una alternativa prometedora para la terapia fotodinámica combinada con quimioterapia dirigida (Ouyang et al., 2024).

Además de los metales discutidos, las porfirinas han sido coordinadas con una amplia variedad de cationes metálicos a lo largo de múltiples investigaciones, abarcando tanto metales de transición como metales pesados y lantánidos. Metales como Cu(II), Pd(II), Pt(II), Fe(III), Co(II), Mn(III), y Au(III) han sido incorporados al núcleo porfirínico, cada uno aportando propiedades específicas según su configuración electrónica y potencial redox. Esta diversidad refleja la notable

versatilidad del núcleo porfirínico como andamiaje molecular adaptable para la química de coordinación con fines biomédicos y tecnológicos avanzados.

El tipo de metal coordinado altera significativamente las bandas espectrales de las porfirinas. Se han reportado desplazamientos batocrómicos o hipsocrómicos en la banda Soret y las bandas Q dependiendo del radio iónico y la naturaleza electrónica del metal. En el caso de Zn y Sn, se reporta un corrimiento de la banda Soret hacia longitudes de onda mayores, lo que mejora su absorción en el rango terapéutico de luz roja. Además, muchos de estos complejos exhiben propiedades redox bien definidas y ciclos electroquímicos reversibles, lo cual amplía su aplicabilidad como plataformas catalíticas y sensores bioquímicos (Li et al., 2022; L. Wang et al., 2024).

En la Tabla 2 se resumen las principales propiedades estructurales, espectroscópicas, redox y biomédicas de los complejos metálicos más relevantes derivados de porfirinas. Esta comparación permite visualizar cómo la elección del metal central influye directamente en el comportamiento fotofísico y en el potencial terapéutico de cada sistema porfirínico.

Tabla 2
Comparación de propiedades entre complejos metálicos coordinados con porfirinas.

Metal	Geometría de coordinación	Efecto espectroscópico	Propiedades redox	Aplicaciones biomédicas
Zn(II)	Geometría cuadrado planar (D _{4h})	Desplazamiento batocrómico leve en banda Soret (~424 nm); bandas Q intensas	Redox pasivo; favorece generación de oxígeno singlete	Fototerapia antimicrobiana; imágenes fluorescentes
Ni(II)	Geometría cuadrado planar, a veces distorsionado	Reducción de intensidad de fluorescencia; absorción en NIR	Múltiples ondas redox reversibles	Fotocatálisis, sensores redox, estabilidad estructural

Metal	Geometría de coordinación	Efecto espectroscópico	Propiedades redox	Aplicaciones biomédicas
Sn(IV)	Octaédrico distorsionado (con ligandos axiales)	Desplazamiento significativo en bandas Q; absorción hasta 670 nm	Buen rendimiento en procesos redox; ciclos reversibles	Terapia fotodinámica, sensibilidad a pH, inhibición de tumores
Mn(III)	Variable (en híbridos o MOFs)	Sensible a condiciones oxidativas	SOD-mimético	Neuroprotección; antiinflamatorio
Fe(III)	MOF o monomérico	Actividad catalítica visible	Redox tipo hemoenzima	Biosensores; catalizadores biomiméticos
Cu(II)	Cuadrado o pseudotetraédrico	Buena generación de $^1\text{O}_2$; absorción visible	Alta reactividad fotoquímica	Antibacteriano dirigido por luz
Pt(II)	Tetra o polinuclear coordinado	Apagamiento fluorescente, absorción visible	Radicales libres, daño por fotoactivación	Terapia fotodinámica, quimioterapia sinérgica

2.3.4 Técnicas analíticas para síntesis y caracterización

La caracterización precisa de porfirinas y sus complejos metálicos requiere un enfoque multitécnico que permita validar su estructura, pureza, grado de metalación y propiedades fisicoquímicas. A continuación, se describen las técnicas más empleadas en el estudio de estos sistemas, destacando su relevancia y aplicaciones específicas en compuestos porfirínicos.

- Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*):

La FTIR es una técnica vibracional que permite identificar los grupos funcionales presentes en una molécula mediante la absorción de radiación infrarroja por parte de los enlaces químicos, lo que genera patrones específicos de vibración (estiramientos, flexiones y torsiones) característicos de cada grupo funcional. Este análisis se realiza a partir de un espectro de

absorbancia en función del número de onda, y permite obtener una "huella molecular" que distingue compuestos con gran precisión (Nakamoto, 2009).

En el caso de las porfirinas, la FTIR es especialmente útil para confirmar la presencia de grupos periféricos como carboxilos, grupos amino, hidroxilos o enlaces amida. Además, resulta fundamental en la caracterización de modificaciones estructurales tras procesos de funcionalización o coordinación metálica. Por ejemplo, la desaparición o desplazamiento de las bandas correspondientes a los estiramientos N–H ($\sim 3300\text{ cm}^{-1}$) o O–H ($\sim 3400\text{ cm}^{-1}$), así como la aparición de nuevas bandas entre $400\text{--}600\text{ cm}^{-1}$, puede indicar la formación de enlaces metal-nitrógeno o metal-oxígeno. En particular, las bandas asociadas al esqueleto porfirínico (C=C y C=N conjugados del anillo macrocíclico) suelen localizarse entre $1550\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$, y sus desplazamientos permiten detectar cambios electrónicos por efecto de coordinación metálica (Ahmadi et al., 2015; Nakamoto, 2009).

Esta técnica se emplea ampliamente para validar la incorporación de grupos funcionales en porfirinas diseñadas para aplicaciones biomédicas, como sensores, fotosensibilizadores o agentes terapéuticos, así como para confirmar la pureza estructural del compuesto antes y después de complejarse.

- Espectroscopía UV-Vis:

La espectroscopía de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis) es una técnica fundamental para el estudio de compuestos con sistemas electrónicos conjugados, como las porfirinas. Su principio se basa en la absorción de radiación electromagnética en las regiones UV ($200\text{--}400\text{ nm}$) y visible ($400\text{--}800\text{ nm}$), lo cual provoca transiciones electrónicas principalmente entre orbitales π y π^* , así como $n \rightarrow \pi^*$ en algunos casos (Brittain, 2006; Nakamoto, 2009). En el caso de las porfirinas, las bandas más características son la intensa banda Soret (B) alrededor de $400\text{--}430\text{ nm}$,

atribuida a la transición $S0 \rightarrow S2$, y las bandas Q, de menor intensidad, situadas entre 500–700 nm, correspondientes a transiciones $S0 \rightarrow S1$ (Pozzoli, 2018).

La utilidad de esta técnica en sistemas porfirínicos es amplia y versátil. En primer lugar, permite confirmar la formación del anillo porfirínico y su pureza, gracias a los patrones espectrales bien definidos que presenta. Además, es esencial para monitorear la metalación, ya que la inserción de un metal en el núcleo tetrapirrólico induce desplazamientos espectrales (corrimientos batocrómicos o hipso crómicos) y cambios en la intensidad relativa de las bandas, debido a la alteración en la simetría electrónica del sistema (Bianco et al., 2024; Wan et al., 2011). Por ejemplo, la banda Soret de la porfirina libre TCPP suele aparecer a 415 nm, mientras que al coordinarse con Zn(II) se desplaza a 424 nm, y con Sn(IV) a 430 nm, evidenciando el efecto del metal sobre la densidad electrónica del anillo central (Hashimoto et al., 1999).

Esta técnica permite cuantificar la concentración de porfirinas en solución mediante la ley de Beer-Lambert y estudiar la estabilidad frente a la luz o cambios de pH, así como evaluar la eficiencia de generación de oxígeno singlete mediante monitoreo indirecto de fotodegradación de sondas químicas (Brittain, 2006; Pucelik et al., 2024). Es también un método de rutina para comparar derivados funcionalizados, evaluar el grado de agregación en medio acuoso (por el ensanchamiento o desplazamiento de bandas), o examinar el efecto de sustituyentes periféricos y ligandos axiales.

- Resonancia Magnética Nuclear (RMN):

La resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica espectroscópica basada en la interacción de los momentos magnéticos nucleares con un campo magnético externo, y la absorción de energía de radiofrecuencia correspondiente. Esta técnica permite identificar la

estructura química, evaluar la simetría molecular y estudiar el entorno electrónico de núcleos con espín diferente de cero, como ^1H , ^{13}C , ^{15}N , entre otros (Silverstein et al., 2005).

En RMN de ^1H , los protones situados en diferentes ambientes electrónicos absorben a distintas frecuencias, generando señales características conocidas como desplazamientos químicos (δ , en ppm). En el caso de porfirinas, los protones β -pirrólicos presentan señales intensas y bien definidas entre 8-9 ppm, debido a la deslocalización de electrones π del sistema aromático. Al insertar un metal en el núcleo porfirínico, se alteran los campos magnéticos locales, lo que causa desplazamientos químicos notables, e incluso supresión o ensanchamiento de las señales, dependiendo del carácter paramagnético o diamagnético del ion metálico central (Silverstein et al., 2005).

La RMN de ^{13}C complementa el análisis al permitir la observación de los carbonos de los anillos pirrólicos y fenilos periféricos. En porfirinas libres, la simetría molecular genera señales específicas, que pueden cambiar significativamente tras la metalación o funcionalización periférica. Estos cambios permiten confirmar la estructura, la pureza del compuesto, y la naturaleza del ambiente químico de cada carbono.

Además, esta técnica es útil para investigar fenómenos de autoasociación, interacciones supramoleculares (como agregación π - π), simetría axial y presencia de ligandos coordinados. Por ejemplo, la RMN ha sido utilizada para evidenciar el apilamiento de porfirinas en solución, determinar grados de agregación y evaluar la simetría de complejos con ligandos axiales, especialmente en complejos de Sn(IV) y Ni(II) .

- Espectrometría de Masas MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight):

La espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz con análisis por tiempo de vuelo (MALDI-TOF) es una técnica altamente sensible que permite determinar la masa molecular exacta de compuestos, especialmente aquellos de alto peso molecular o sensibles al calor, como las porfirinas y sus derivados metalados. Su principio se basa en la incorporación del analito en una matriz orgánica adecuada que, al irradiarse con un láser pulsado (usualmente UV), facilita la desorción e ionización suave del analito sin fragmentación excesiva. Las especies ionizadas se aceleran en un campo eléctrico y su tiempo de vuelo hasta el detector permite calcular su relación masa/carga (m/z) con alta precisión (Silverstein et al., 2005).

En el caso de porfirinas, esta técnica resulta particularmente útil para confirmar la estructura molecular esperada, detectar la incorporación del metal en el núcleo porfirínico, identificar posibles ligandos axiales y analizar fragmentaciones específicas que validen patrones de funcionalización. Además, su alta resolución permite distinguir entre isotopómeros y entre complejos con diferentes grados de sustitución o coordinación axial (Silverstein et al., 2005).

Por ejemplo, Bianco et al. (2024) aplicaron MALDI-TOF para caracterizar derivados tetrapirrólicos funcionalizados, como porfirinas conjugadas con grupos GABA. En su estudio, se observaron picos de masas correspondientes a los aductos $M+H^+$, $M+Na^+$, y $M+K^+$, así como fragmentos derivados de pérdidas específicas ($COOH$, H_2O), confirmando tanto la presencia del grupo funcional como la correcta metalación del núcleo porfirínico (Bianco et al., 2024).

En contextos biomédicos y supramoleculares, MALDI-TOF también ha demostrado ser una herramienta clave para evaluar la estabilidad de complejos porfirínicos en condiciones biológicas, así como para monitorear reacciones de modificación química y procesos de ensamblaje molecular. Su compatibilidad con matrices como ácido 2,5-dihidroxibenzoico (DHB)

o sinapínico, y su capacidad para detectar trazas a concentraciones bajas, la convierten en una técnica imprescindible en el estudio de materiales porfirínicos avanzados.

- Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X XPS (*X-ray Photoelectron Spectroscopy*):

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X es una técnica analítica de superficie que permite identificar la composición elemental, los estados de oxidación y el entorno químico de los átomos presentes en los primeros nanómetros de profundidad de una muestra sólida. Su fundamento se basa en la emisión de electrones fotoionizados cuando la superficie es irradiada con rayos X de energía conocida. La energía cinética (KE) de los electrones emitidos se mide, y a partir de ella se determina la energía de enlace (BE) característica de cada elemento según la ecuación:

$$BE = h\nu - KE - \phi$$

Donde: $h\nu$ es la energía de los rayos X incidentes y ϕ es la función trabajo del espectrómetro (Moulder et al., 1995).

Cada elemento posee picos característicos en su espectro XPS, como Zn 2p_{3/2}, Ni 2p, Sn 3d o N 1s, cuya posición puede desplazarse (corrimiento químico) dependiendo del entorno electrónico. Este efecto es sensible a la electronegatividad de los átomos vecinos, la hibridación, la polaridad de enlaces o la presencia de grupos funcionales. Por ejemplo, en los compuestos porfirínicos, el corrimiento del N 1s puede indicar coordinación al centro metálico, mientras que los cambios en el C 1s pueden revelar enlaces con oxígeno, azufre u otros heteroátomos (Moulder et al., 1995; Thermo Fisher Scientific, n.d.).

En el contexto de las metaloporfirinas, el XPS permite:

- Confirmar la metalación: por ejemplo, la presencia de señales en las regiones de BE de Zn 2p_{3/2} (~1021 eV), Ni 2p_{3/2} (~855 eV) o Sn 3d_{5/2} (~486 eV) indica la inserción

efectiva del ion metálico en el núcleo porfirínico (Moulder et al., 1995; Thermo Fisher Scientific, n.d.).

- Analizar la coordinación axial: a través de señales adicionales que corresponden a átomos como Cl, O o N unidos axialmente al metal central.
- Evaluar la pureza y residuos de síntesis: detección de contaminantes como carbono adventicio o restos de solventes y reactivos.
- Cuantificación elemental superficial: utilizando factores de sensibilidad relativos (RSF) se estima la proporción atómica de cada elemento presente en la superficie (Moulder et al., 1995; Thermo Fisher Scientific, n.d.).

El XPS es especialmente valioso en estudios donde la superficie del material influye directamente en sus propiedades, como en catálisis, sensores, dispositivos optoelectrónicos o sistemas bioactivos. En compuestos porfirínicos funcionalizados, su alta sensibilidad permite corroborar modificaciones químicas superficiales o evaluar procesos de autoensamblaje.

No obstante, se limita a elementos con número atómico superior a 3 y no es adecuada para detectar hidrógeno o helio. Además, su análisis se restringe a las capas más externas (~10 nm), por lo que no refleja la composición de la matriz.

- Análisis Termogravimétrico y Calorimetría Diferencial de Barrido TGA-DSC (*Thermogravimetric Analysis and Differential Scanning Calorimetry*):

La combinación de técnicas termoanalíticas como TGA y DSC permite evaluar de manera precisa la estabilidad térmica, la composición y las transiciones físicas o químicas de los materiales (Craig & Reading, 2007; Haines, 2002). En TGA, se mide la pérdida de masa de una muestra al ser calentada bajo atmósfera controlada, lo que permite detectar eventos como la eliminación de disolventes, descomposición térmica o desprendimiento de ligandos volátiles. Esta técnica es

particularmente útil en la caracterización de complejos porfirínicos, ya que la pérdida de masa puede correlacionarse directamente con la estequiometría del complejo y la presencia de grupos periféricos o coordinados (Craig & Reading, 2007).

La DSC, por otro lado, cuantifica los cambios endotérmicos o exotérmicos asociados a fenómenos como fusión, cristalización, transiciones vítreas o reorganización supramolecular. En sistemas porfirínicos, esta técnica permite detectar transiciones térmicas asociadas al reordenamiento de las estructuras cristalinas, cambios conformacionales inducidos por temperatura, o interacciones intermoleculares dentro de agregados supramoleculares o ensamblajes híbridos. Por ejemplo, desplazamientos o aparición de picos endotérmicos pueden indicar interacciones π - π o disociación de asociaciones intermoleculares en soluciones sólidas (Craig & Reading, 2007; Haines, 2002).

El uso conjunto de TGA y DSC es esencial en la caracterización térmica de derivados porfirínicos metalados, ya que permite establecer perfiles de estabilidad térmica, evaluar la presencia de fases polimórficas y confirmar indirectamente la coordinación de ligandos o metales. Estas técnicas también son fundamentales en el diseño de materiales funcionales termoestables o en la evaluación de condiciones óptimas de procesamiento y almacenamiento (Craig & Reading, 2007).

- Difracción de Rayos X de Polvo (DRX):

La difracción de rayos X de polvo (PXRD, por sus siglas en inglés *Powder X-Ray Diffraction*) es una técnica analítica fundamental en la caracterización estructural de materiales sólidos. Su principio se basa en la interferencia constructiva de rayos X monocromáticos al incidir sobre un material cristalino, lo cual genera un patrón característico de difracción que refleja la

disposición periódica de los átomos en la red cristalina. Esta técnica se fundamenta en la ley de Bragg,

$$n\lambda = 2d\sin\theta$$

Donde, d es la distancia interplanar, θ el ángulo de difracción y λ la longitud de onda de los rayos X incidentes (Dinnebier & Billinge, 2008; Giacovazzo et al., 1998).

La DRX permite identificar fases cristalinas, determinar la cristalinidad, analizar la pureza del material y estudiar cambios estructurales asociados a procesos como la metalación o la formación de estructuras híbridas. Para sistemas porfirínicos, es particularmente útil en aquellos casos en que el núcleo porfirínico se coordina a metales que inducen ordenamiento supramolecular o promueven la formación de redes metal-orgánicas (MOFs). Así, se ha demostrado que porfirinas libres, a menudo amorfas, pueden adquirir una organización cristalina definida tras su complejación con metales como Zn(II), Ni(II), o Sn(IV), o al incorporarse en materiales híbridos (Mazzeo, 2022; Pozzoli, 2018).

Además, el uso de refinamientos estructurales tipo Rietveld permite obtener información cuantitativa sobre la celda unitaria, posiciones atómicas y microestructura del material, incluso en ausencia de monocristales adecuados. Este enfoque ha sido esencial para el análisis estructural de polvos complejos, incluyendo porfirinas funcionalizadas y sus derivados híbridos (Dinnebier & Billinge, 2008). La capacidad del DRX para diferenciar entre fases polimórficas o detectar contaminantes cristalinos lo convierte en una herramienta clave en la validación estructural de nuevos materiales.

Las aplicaciones recientes también destacan el uso de fuentes de radiación sincrotrón y detectores bidimensionales, lo que permite estudios *in situ* y bajo condiciones no ambientales (temperatura, presión, atmósferas reactivas), abriendo nuevas posibilidades en el seguimiento de

procesos de cristalización, reacciones fotoquímicas o transformaciones inducidas por luz en sistemas porfirínicos activados (Dinnebier & Billinge, 2008).

La caracterización de complejos porfirínicos requiere el empleo de múltiples técnicas analíticas que permitan confirmar la estructura molecular, el grado de pureza, el éxito en la metalación y las propiedades fisicoquímicas relevantes. Cada método aporta información complementaria y es esencial para validar la síntesis y el diseño racional de estos compuestos. A continuación, se describen los fundamentos y aplicaciones específicas de las técnicas más empleadas.

2.4 Marco legal y normativo

El desarrollo de investigaciones científicas en el área biomédica requiere un marco legal robusto que garantice el cumplimiento de principios éticos, sanitarios y de bioseguridad. En el contexto colombiano, la normatividad nacional y las directrices internacionales ofrecen lineamientos para la investigación orientada al control de enfermedades infecciosas, incluida la leishmaniasis, así como el manejo responsable de agentes biológicos en entornos de laboratorio. En este trabajo, se realiza una caracterización de estos marcos normativos con énfasis en investigaciones in vitro, sin involucrar directamente seres humanos ni modelos animales.

2.4.1 Normativa nacional sobre enfermedades tropicales

En Colombia, las enfermedades tropicales como la leishmaniasis cutánea y mucocutánea se abordan como un problema prioritario de salud pública. El Plan Decenal de Salud Pública 2022-2031 reconoce a la leishmaniasis dentro del grupo de enfermedades transmisibles con alta carga

epidemiológica, promoviendo estrategias de vigilancia, prevención, diagnóstico y tratamiento (Ministerio de Salud y Protección Social, 2022a).

Adicionalmente, el país cuenta con lineamientos técnicos y protocolos oficiales como el Protocolo de Vigilancia y Control de Leishmaniasis (Instituto Nacional de Salud, 2024b), el cual establece parámetros para el diagnóstico, seguimiento de casos y respuesta integral. Estos lineamientos se articulan con el Decreto 780 de 2016, que compila las disposiciones del sector salud, incluyendo normas sobre vigilancia epidemiológica y seguridad sanitaria (Decreto 780 de 2016 Sector Salud y Protección Social, 2016).

En cuanto al abordaje de la resistencia bacteriana —relevante en esta tesis debido a los efectos duales de los compuestos estudiados—, el Plan de Respuesta Nacional frente a la Resistencia a los Antimicrobianos establece lineamientos para enfrentar esta amenaza creciente a la salud pública (Ministerio de Salud y Protección Social, 2022c).

2.4.2 Regulación ética y bioseguridad en investigaciones biomédicas

Toda investigación científica, incluso aquella que no involucra directamente seres humanos, como es el caso de los estudios *in vitro* aquí presentados, debe garantizar el cumplimiento de los principios éticos de respeto, beneficencia y no maleficencia. En Colombia, el marco ético de referencia lo constituye la Resolución 8430 de 1993, la cual establece las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Si bien esta norma se orienta principalmente a estudios con sujetos humanos, sus principios son extensivos a todas las prácticas científicas, promoviendo el rigor metodológico y la integridad científica (Resolución 8430 de 1993, 1993).

En relación con la bioseguridad, el país adopta principios de gestión de riesgo y manejo responsable de agentes biológicos a través de documentos como el Manual de Bioseguridad para Laboratorios de Análisis y Vigilancia en Salud Pública (Instituto Nacional de Salud, 2023). Este manual proporciona estándares para la contención, manipulación y eliminación segura de microorganismos, lo cual es fundamental para investigaciones como la presente, que involucra el uso de bacterias y parásitos patógenos en condiciones controladas.

2.4.3 Directrices internacionales (OMS, OPS)

A nivel internacional, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) proporcionan lineamientos que orientan los programas de control de enfermedades transmisibles. En el caso de la leishmaniasis, la Guía para el control de la leishmaniasis (OPS & OMS, 2019) establece recomendaciones para diagnóstico, tratamiento, vigilancia y prevención, resaltando la importancia de nuevas estrategias terapéuticas ante los desafíos de resistencia y toxicidad de los fármacos actuales.

La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible también destaca la necesidad de fortalecer la investigación y la innovación en salud, particularmente en enfermedades desatendidas. Además, la OMS impulsa la implementación de medidas globales frente a la resistencia antimicrobiana, instando a los países a desarrollar alternativas terapéuticas innovadoras y seguras, incluyendo terapias combinadas o fotoactivadas como la fotodinámica.

El cumplimiento de estas normativas y recomendaciones internacionales asegura que los desarrollos científicos estén alineados con estándares de calidad, seguridad y pertinencia social, facilitando su eventual transferencia a contextos clínicos y comunitarios.

3. Diseño Experimental y Síntesis

Este capítulo presenta el diseño experimental y las metodologías empleadas para la obtención y caracterización de nuevos complejos metálicos derivados de porfirinas funcionalizadas. En primera instancia, se describen los materiales, condiciones experimentales y procedimientos sintéticos utilizados para la obtención de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP), sus derivados funcionalizados TCPP-Éster y TCPP-GABA, así como del híbrido porfirina-ampicilina (TCPP-Amp). Posteriormente, se expone la estrategia de coordinación con iones metálicos Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), con el fin de formar complejos potencialmente activos con propiedades biológicas y fotodinámicas. Se incluyen además las técnicas de caracterización utilizadas para la confirmación estructural de los compuestos sintetizados, tales como espectroscopía FTIR, UV-Vis, RMN, espectrometría MALDI-TOF, XPS, DRX y análisis TGA-DSC. Finalmente, se describen los protocolos para la evaluación biológica *in vitro* de las moléculas obtenidas, enfocados en su actividad antibacteriana y antileishmania, tanto en condiciones de oscuridad (sin irradiación) como bajo irradiación fotodinámica.

3.1 Reactivos, condiciones experimentales y síntesis

Las rutas sintéticas que se presentan en los siguientes apartados, fueron llevadas a cabo con disolventes de grado analítico. Los compuestos ácido propiónico, ácido 4-formilbenzoico, pirrol, *N*-hidroxisuccinimida (NHS), *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida hidrocloreto (EDC·HCl), *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA), *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC), 4-dimetilaminopiridina (DMAP), glicina, β -alanina y ácido 4-aminobutírico (GABA) fueron adquiridos a través del proveedor Merck y empleados directamente sin purificación adicional en los procedimientos de síntesis. La ampicilina utilizada para la obtención del híbrido porfirina-

ampicilina fue suministrada por un laboratorio farmacéutico nacional, que facilitó esta materia prima con fines de investigación.

A continuación, se describen las condiciones experimentales, los esquemas de reacción y las observaciones más relevantes para cada una de las etapas de síntesis.

3.1.1 Síntesis de TCPP

La 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP) fue obtenida mediante una condensación porfirínica clásica, empleando una metodología modificada basada en el protocolo de Adler-Longo. Este procedimiento involucra la reacción entre pirrol y ácido 4-formilbenzoico en medio ácido, bajo condiciones de calentamiento controlado (Esquema 1).

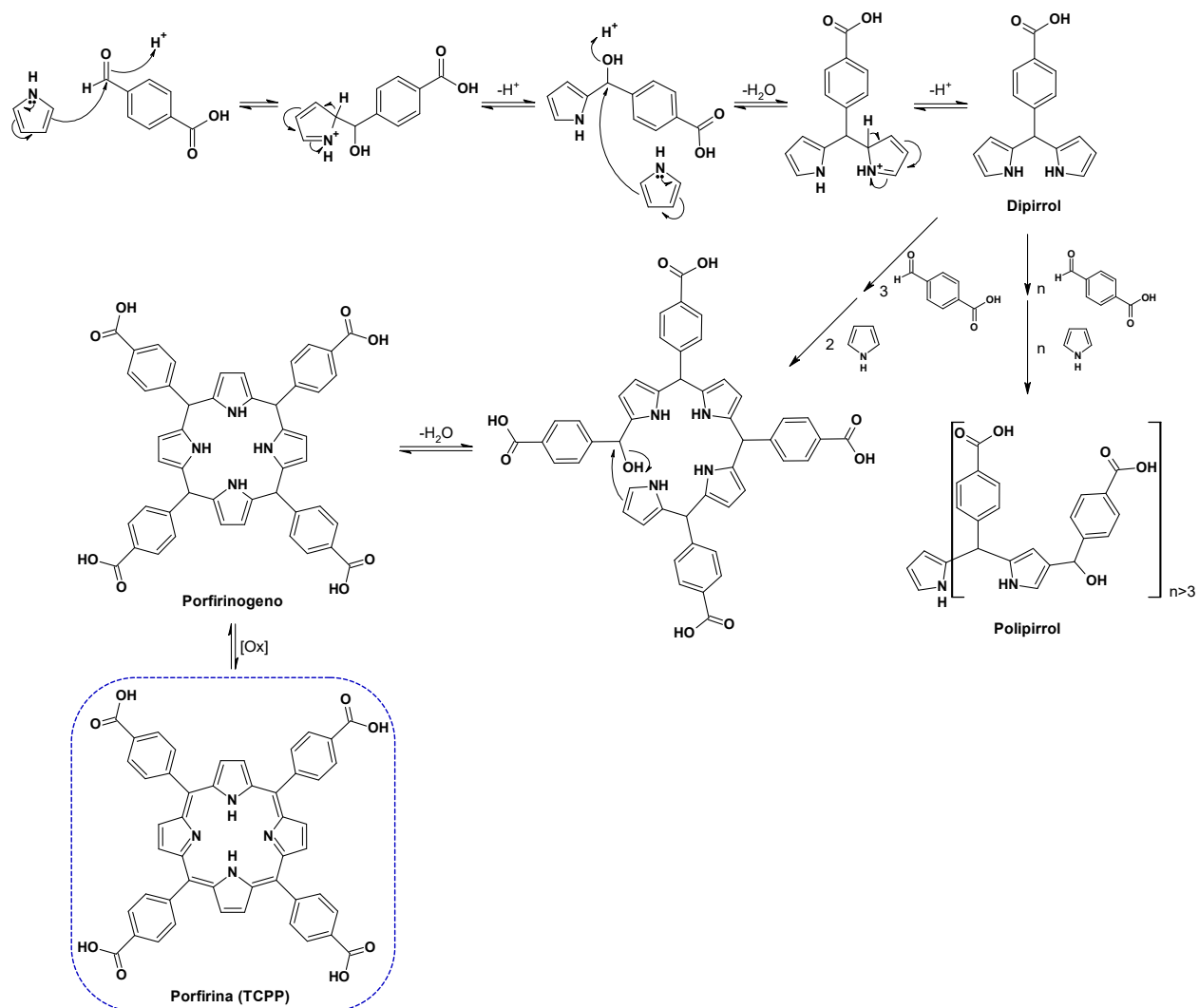
En un matraz de fondo redondo se adicionó el ácido 4-formilbenzoico (0,6005 g, 4 mmol) y se disolvió en 50 mL de ácido propiónico, luego se agregó gota a gota a la mezcla el pirrol (0,28 mL, 4 mmol) previamente disuelto en 5 mL de ácido propiónico. La mezcla se colocó a reflujo a 120°C por 4 horas. Después, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionó 30 mL de metanol frío, continuando con el raspado de las paredes del balón en baño de hielo para inducir la precipitación del producto, se colocó bajo atmosfera de aire en el congelador durante toda la noche.

Posteriormente, el sólido fue recolectado por filtración al vacío y se lavó con metanol frío y agua destilada caliente para eliminar los restos de ácido propiónico e impurezas. El material crudo, de color púrpura oscuro, fue sometido a purificación por cromatografía en columna de sílica gel, empleando una mezcla de diclorometano/metanol (9:1) como fase móvil. El producto eluyó como una fracción de color púrpura intenso, característica de las porfirinas libres de metal. Finalmente, se evaporó el disolvente y se secó el sólido al vacío para obtener la TCPP como un polvo sólido de color morado intenso. El rendimiento global de la síntesis fue del 69%. La

identidad estructural de la TCPP fue confirmada mediante análisis espectroscópico UV-Vis (metanol) λ (nm): 415, 513, 548, 588, 645; FTIR-ATR (cm^{-1}): 2700-3500 (O-H, ácido), 1692 (C=O, ácido), 1605 (C=C, aromático), 1247 (C-O, estiramiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 13.17 (4H, d, O-H), 8.79 (8H, s, β -H), 8.34 (8H, d, J = 8.44 Hz, $\text{H}_o\text{-Ar}$), 8.25 (8H, d, J = 8.31 Hz, $\text{H}_m\text{-Ar}$), -2.91 (2H, s, N-H); ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 167.91 (COOH), 145.87 (C_{meso} , C_p), 134.86 (Ar- C_{meta}), 130.98 (C_β), 128.32 (Ar- C_{orto}), 119.74 (C_α). *Análisis elemental calculado para* $\text{C}_{48}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_8$ (790.7738 g/mol): C, 72.90; H, 3.82; N, 7.09; O, 16.19. MALDI-TOF MS (MeOH/matriz CHCA): $[\text{M} + \text{H}]^+$, experimental m/z = 791.739, teórico: m/z = 791.213.

Esquema 1

Mecanismo de condensación entre pirrol y ácido 4-formilbenzoico para la formación de la porfina TCPP.



Este compuesto se utilizó como plataforma central para la obtención de derivados funcionalizados y complejos metálicos, descritos en las siguientes secciones.

3.1.2 Obtención de derivados funcionalizados TCPP-Éster y TCPP-GABA

Con el objetivo de introducir funcionalidades reactivas en la estructura de la porfina, se procedió con la obtención de dos derivados funcionalizados a partir de la TCPP. En primer lugar,

se obtuvo un derivado tipo éster activado mediante *N*-hidroxisuccinimida denominado TCPP-Éster, que posteriormente fue utilizado para la incorporación nucleofílica de ácido γ -aminobutírico (GABA), dando lugar al derivado amino funcionalizado TCPP-GABA.

3.1.2.1 Síntesis del derivado TCPP-Éster

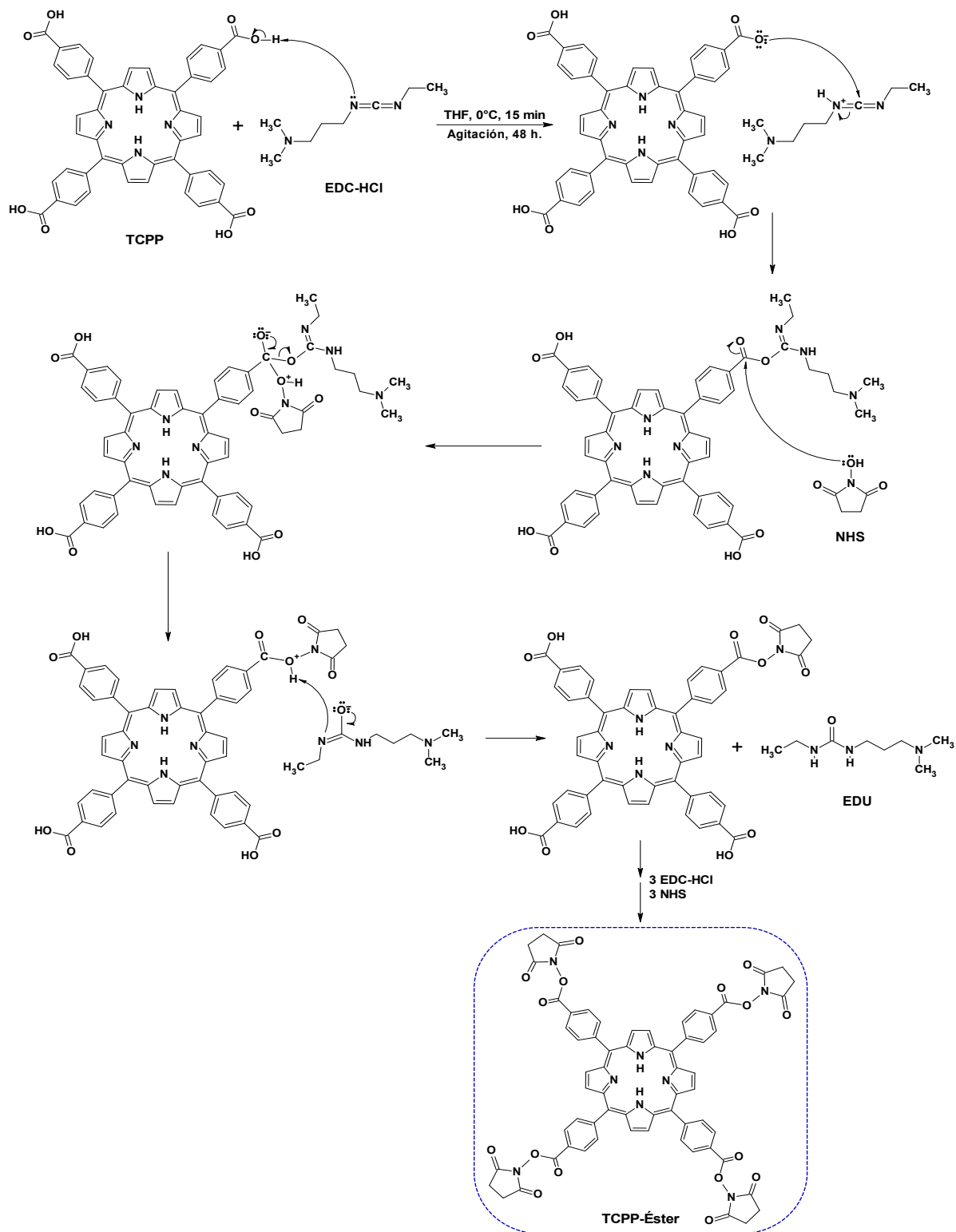
La activación de los grupos carboxilo de la TCPP se llevó a cabo mediante una reacción de acoplamiento con carbodiimidas en medio anhidro. El procedimiento se adaptó del protocolo descrito por Ahmadi et al. (2015), el cual permite una activación eficiente y controlada de los grupos ácidos mediante *N*-hidroxisuccinimida (NHS) y *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida hidrocloreuro (EDC·HCl) en tetrahidrofurano (THF) a temperatura ambiente (Esquema 2) (Ahmadi et al., 2015).

En un matraz de fondo redondo, bajo atmósfera inerte de nitrógeno, se disolvió TCPP (0.400 g, 0.5 mmol) en 40 mL de tetrahidrofurano anhidro. La solución fue enfriada a 0°C en baño de hielo y, bajo agitación constante, se añadió secuencialmente NHS (0.2328g, 2 mmol) y EDC-HCl (0.3878 g, 2 mmol) como agentes de activación. La mezcla de reacción se mantuvo bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante dos días. Al término del proceso, se eliminó el disolvente por evaporación a presión reducida. El residuo se filtró al vacío y se lavó con metanol frío (50 mL) y agua destilada caliente (100 mL). El sólido fue redisoluto en diclorometano y fue precipitado con éter de petróleo frío. El producto se recolectó por filtración y se secó en estufa a 50°C por dos horas, obteniéndose el TCPP-Éster como un sólido de color morado rojizo. El rendimiento de la reacción fue del 80%. La identidad estructural del TCPP-Éster fue confirmada mediante espectroscopía UV-Vis (metanol) λ (nm): 415, 512, 545, 588, 644; FTIR-ATR (cm^{-1}): 3007 (C-H, alqueno), 2923 y 2853 (C-H, alcano), 1801 y 1768 (C=O imida, estiramiento

asimétrico y simétrico), 1737 (C=O, éster), 1603 y 1457 (C=C, aromático), 1253 y 1230 (-COO éster, estiramiento asimétrico y simétrico). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 8.82 (8H, s, β -H porfirina), 8.52 - 8.16 (16H, m, $\text{H}_o\text{-Ar}$ y $\text{H}_m\text{-Ar}$), 1.17 (16H, t, $J = 8.2$ Hz, $\text{H}_{3a,3b,4a,4b}$ imida), -2.91 (2H, s, N-H porfirina). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 29.39 (CH_2 imida), 128.72 (d, $J = 73.7$ Hz, Ar- C_{orto}), 131.11 (C_β porfirina), 135.23 (d, $J = 71.9$ Hz, Ar- C_{meta}), 145.83 (C_{meso}), 162.48 (C_{para} porfirina), 167.92 (C_α porfirina), 170.86 (C=O éster), 173.17 (C=O imida). *Análisis elemental calculado para $\text{C}_{64}\text{H}_{42}\text{N}_8\text{O}_{16}$ (1179.0622 g/mol):* C, 65.19; H, 3.59; N, 9.50; O, 21.71. MALDI-TOF MS (MeOH/matriz DHB): $[\text{M}+\text{H}]^+$, experimental $m/z = 1179.835$, teórico: $m/z = 1179.279$.

Esquema 2

Mecanismo de activación de la TCPP mediante EDC-HCl y NHS para la formación del TCPP-Éster.



Este intermedio activado permitió la posterior incorporación de grupos amino funcionales mediante una reacción nucleofílica.

3.1.2.2 Síntesis del derivado TCPP-GABA

El derivado funcionalizado TCPP-GABA fue sintetizado mediante una reacción de acoplamiento nucleofílico entre el éster activado TCPP-Éster y el ácido γ -aminobutírico (GABA), en presencia de una base orgánica terciaria, *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA), como agente neutralizante de los subproductos ácidos. El procedimiento fue adaptado a partir del método reportado por Singha et al. (2017), donde se emplea un enfoque de sustitución nucleofílica suave para la incorporación de grupos aminoácidos sobre plataformas funcionalizadas de tipo naftalimida, y modificado para su aplicación a sistemas porfirínicos en medio anhidro de tetrahidrofurano (THF) (Singha et al., 2017).

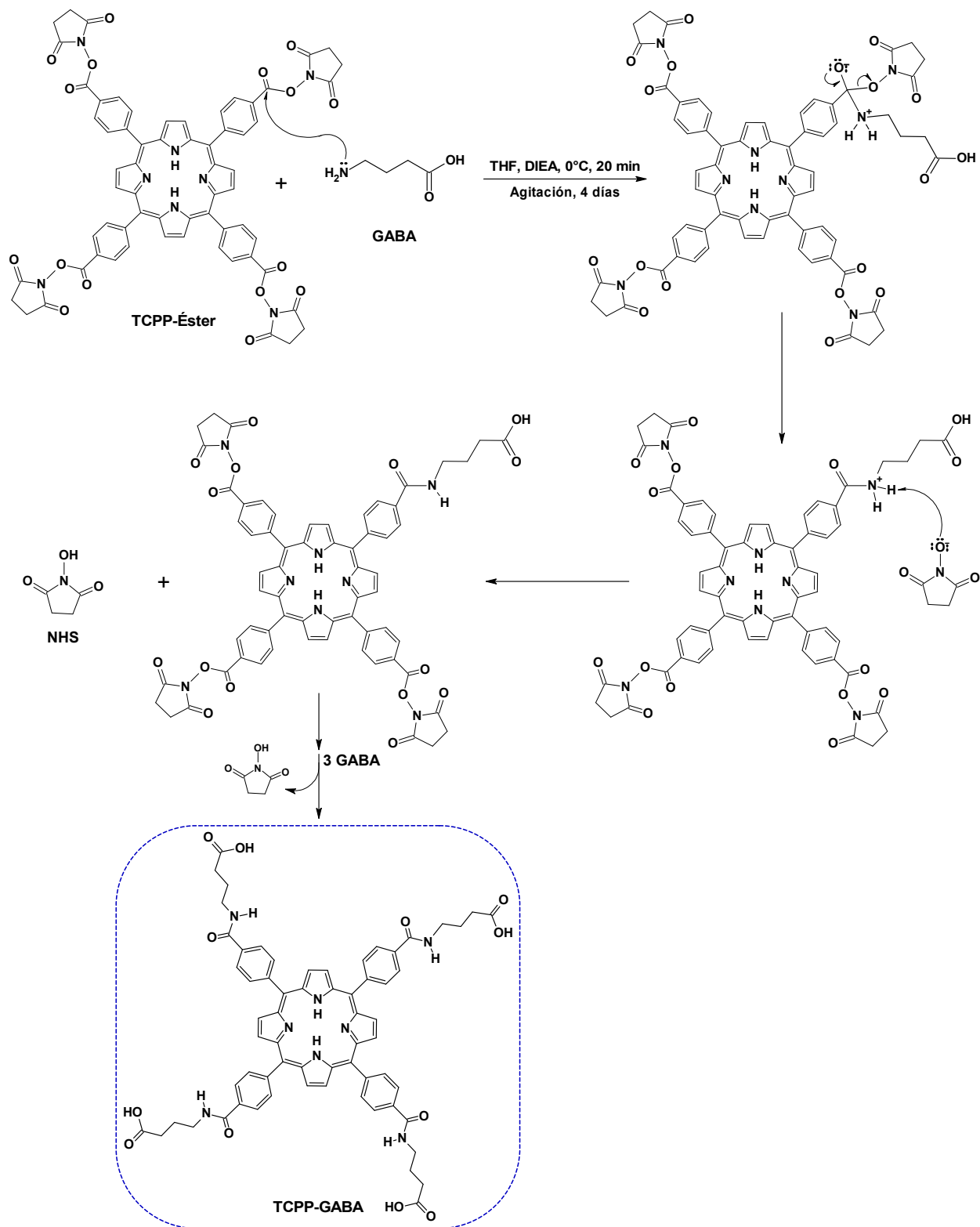
Inicialmente, se preparó una solución de GABA (0.0699 g, 0.68 mmol) y DIEA (0.11 mL, 0.68 mmol) en 10 mL de THF anhidro, bajo atmósfera inerte de nitrógeno y en baño de hielo, asegurando la completa disolución y neutralización del grupo carboxilo del aminoácido. Por separado, se disolvió el derivado TCPP-Éster (0.2000 g, 0.17 mmol) en 10 mL de THF anhidro, también en condiciones de enfriamiento. La solución de TCPP-Éster se adicionó gota a gota sobre la mezcla de GABA y DIEA bajo agitación constante, manteniendo la temperatura cercana a 0°C. Una vez completada la adición, la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno durante cuatro días.

Al finalizar el tiempo de reacción, el disolvente fue evaporado bajo presión reducida y el residuo se trató con 30 mL de etanol frío para precipitar el producto. Posteriormente, el sólido fue lavado con etanol y agua destilada caliente para eliminar impurezas residuales y subproductos. La

purificación final se realizó mediante filtración en sílica gel con diclorometano/etanol y precipitación con una solución de diclorometano/metanol. El sólido precipitado fue secado a 50°C durante 2 horas, se obtuvo el compuesto TCPP-GABA como un polvo de color café oscuro. El rendimiento de la síntesis fue de 78%. La caracterización espectroscópica confirmó la formación del producto deseado, UV-Vis (metanol) λ (nm): 415, 512, 545, 588, 644; FTIR-ATR (cm^{-1}): 2700-3500 (O-H, ácido), 3007 – 3075 (C-H, alqueno), 2869 – 2951 (C-H, alcano) 1743 (C=O, ácido), 1687 (C=O, amida), 1605 y 1478 (C=C, aromático), 1634 (C-N, estiramiento), 1414 (O-H, ácido, estiramiento), 1279 (COOH, estiramiento), 1224 (C-O, ácido); ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 12.80 (4H, s, O-H ácido), 9.02 – 8.90 (4H, m, N-H amida), 8.85 (8H, s, β -H porfirina), 8.43 – 8.27 (16H, m, H_o -Ar, H_m -Ar), 3.05 (8H, q, J = 7.9 Hz, H_α GABA), 1.35 (8H, t, J = 7.1 Hz, H_β GABA), 1.25 – 1.13 (8H, m, H_γ GABA), -2.94 (2H, s, N-H porfirina). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 168.00 (COOH), 151.93 (C=O amida), 145.83 (C_p), 139.65 (C_i , C_{meso}), 134.90 (Ar- C_{meta}), 131.19 (C_β porfirina), 128.37 (Ar- C_{orto}), 119.82 (C_α porfirina), 34.84 (C_α GABA), 30.89 (C_γ GABA), 29.45 (C_β GABA). *Análisis elemental calculado para* $\text{C}_{64}\text{H}_{58}\text{N}_8\text{O}_{12}$ (1131.1917 g/mol): C, 67.95; H, 5.17; N, 9.91; O, 16.97. MALDI-TOF MS (MeOH/matriz CHCA): $[\text{M}+\text{H}]^+$, experimental m/z = 1131.278, teórico: m/z = 1131.424.

Esquema 3

Mecanismo de acoplamiento nucleofílico entre el TCPP-Éster y el ácido γ -aminobutírico (GABA) en presencia de DIEA.



Ambos derivados TCPP-Éster y TCPP-GABA fueron almacenados en frascos ámbar, en condiciones de atmósfera inerte, para evitar su fotodegradación y garantizar su estabilidad estructural antes de los procedimientos de coordinación metálica descritos posteriormente.

3.1.3 Híbrido Porfirina-Ampicilina

El híbrido molecular TCPP-Amp fue sintetizado a partir del derivado TCPP-GABA, mediante una estrategia de conjugación en dos etapas que involucra la activación del grupo carboxilo terminal mediante *N*-hidroxisuccinimida (NHS) y su posterior acoplamiento con ampicilina en presencia de una base orgánica. Este procedimiento siguió las condiciones previamente descritas para la obtención del TCPP-Éster y el TCPP-GABA, manteniendo el enfoque de activación con carbodiimidas en medio anhidro, seguido de una reacción de amidación en condiciones suaves.

Etapas I: Activación del TCPP-GABA mediante formación de éster NHS

En un balón de fondo redondo, se disolvió TCPP-GABA (0.2000 g, 0.18 mmol) en 15 mL de tetrahidrofurano (THF) anhidro, bajo atmósfera inerte de nitrógeno. La solución fue enfriada en un baño de hielo (0 °C) y se añadieron NHS (0.0814 g, 0.70 mmol) y EDC-HCl (0.1356 g, 0.70 mmol) como agentes de activación. La mezcla fue agitada durante 1 hora en baño de hielo y posteriormente a temperatura ambiente durante 48 horas. Tras este tiempo, el disolvente fue evaporado a presión reducida y el residuo se lavó con metanol frío y agua destilada caliente para eliminar subproductos solubles. El sólido crudo correspondiente al TCPP-GABA-Éster se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

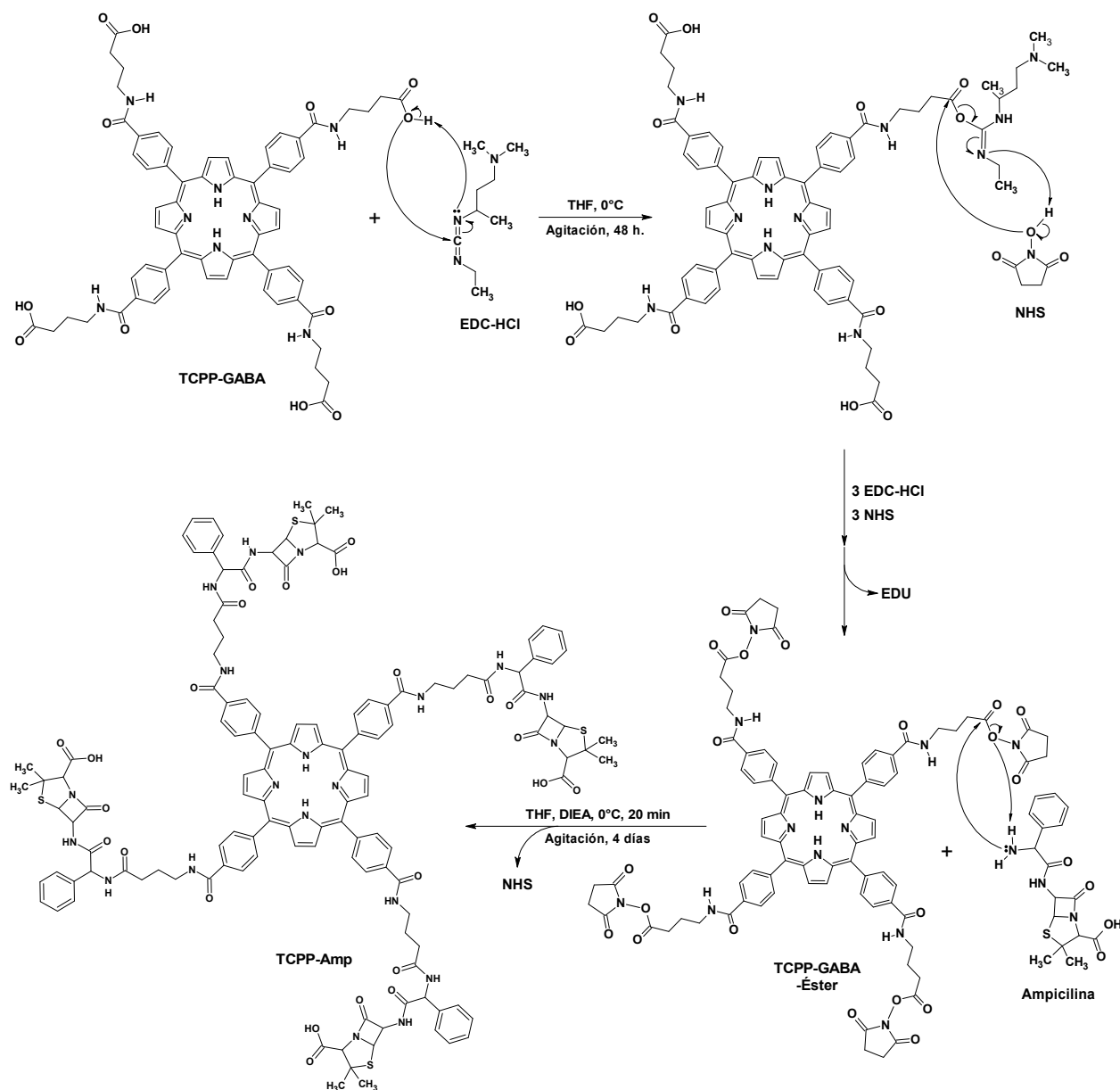
Etapas II: Reacción de acoplamiento con ampicilina

En un matraz separado, se disolvió ampicilina anhidra (0.1780 g, 0.50 mmol) en 10 mL de THF anhidro bajo atmósfera de nitrógeno. Se adicionó *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA, 0.088 mL, 0.50 mmol) como base, y la solución se enfrió en baño de hielo. Posteriormente, se añadió gota a gota la solución activada de TCPP-GABA-Éster, disuelto previamente en 10 mL de THF anhidro, bajo agitación constante, manteniendo la mezcla a 0 °C. Una vez completada la adición, la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno durante cuatro días. Finalizado el tiempo de reacción, el disolvente fue eliminado por evaporación, y el residuo se purificó mediante sucesivos lavados con etanol frío y agua caliente, seguido de redisolución en diclorometano/metanol y precipitación con éter de petróleo. El sólido final fue secado en estufa a 40 °C durante 3 horas, obteniéndose el híbrido TCPP-Amp como un polvo de color café amarillento. El rendimiento de la síntesis fue de 57 %. La estructura del híbrido fue confirmada mediante espectroscopía UV-Vis, FTIR y RMN: UV-Vis (metanol) λ (nm): 415, 512, 545, 589, 644. FTIR-ATR (cm^{-1}): 2700 – 3500 (O-H, N-H), 1737 (C=O, ácido), 1685 (C=O, amida), 1603 (C=C aromático), 1408 y 1381 (COOH, estiramiento), 1311 (C-N, amida), 1278 (C-O, ácido). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 11.49 (4H, s, O-H ácido), 8.85 (8H, s, β -H porfirina), 8.55 – 8.13 (16H, m, H_o -Ar, H_m -Ar), 7.56 – 7.07 (20H, m, H-Ar ampicilina), 6.86 (4H, s, N-H amida), 5.26 (4H, s, H_d ampicilina), 4.22 (4H, s, H_c ampicilina), 3.96 (4H, s, H_b ampicilina), 3.52 (4H, s, H_a ampicilina), 2.98 (8H, t, J = 7.5 Hz, H_α GABA), 2.09 (8H, t, J = 8.2 Hz, H_γ GABA), 1.68 – 1.34 (8H, m, H_β GABA), 1.32 – 0.98 (24H, m, CH_3 ampicilina), -2.92 (2H, s, N-H porfirina). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 167.59 (C=O), 145.26 (C_p , C_i , C_{meso}), 134.42 (Ar- C_{meta}), 131.01 (C_β porfirina), 128.98 (Ar- $\text{C}_{\text{ampicilina}}$), 127.90 (Ar- C_{orto}), 119.39 (C_α porfirina), 68.74 (CH_d), 59.72 (CH_c), 58.58 (CH_b), 52.62 (CH_a), 46.05 (C-S), 41.17 (C_α GABA), 29.25 (C_γ GABA), 24.35 (C_β GABA), 18.81 (CH_3), 17.72 (CH_3). *Análisis elemental calculado para $\text{C}_{128}\text{H}_{126}\text{N}_{20}\text{O}_{24}\text{S}_4$*

(2456.749 g/mol): C, 62.58; H, 5.17; N, 11.40; O, 15.63; S, 5.22. MALDI-TOF MS (MeOH/matriz CHCA): $[M+H]^+$, experimental $m/z = 2456.250$, teórico: $m/z = 2455.820$.

Esquema 4

Mecanismo de activación del TCPP-GABA y acoplamiento de la ampicilina para la formación del híbrido porfirina-ampicilina (TCPP-Amp).



La obtención del híbrido funcional TCPP-Amp representa un avance en el diseño de sistemas híbridos con posible acción dual, combinando la capacidad fotodinámica del núcleo porfirínico con el potencial antibiótico de la ampicilina, lo cual será evaluado en los estudios biológicos posteriores.

3.2 Formación de complejos metálicos

Con el objetivo de modificar las propiedades electrónicas, estructurales y fotofísicas de los derivados porfirínicos obtenidos, se procedió a la inserción de centros metálicos en el núcleo tetrapirrólico mediante reacciones de metalación controlada. La incorporación de iones metálicos en la cavidad porfirínica constituye una estrategia ampliamente empleada para modular las propiedades ópticas, redox y catalíticas de estas macromoléculas (Gutzeit et al., 2019; Li et al., 2022; Rafiee et al., 2024; Sekhar et al., 2022).

En este estudio se seleccionaron los iones Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), dada su reconocida capacidad para coordinarse con los nitrógenos internos del anillo de la porfina y conferir nuevas propiedades funcionales, particularmente relevantes en aplicaciones biomédicas y fotodinámicas. Para ello, se sintetizó una familia de complejos derivados de TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp empleando diferentes sales metálicas solubles bajo condiciones experimentales específicas de temperatura, disolvente y tiempo de reacción.

De forma general, el procedimiento consistió en disolver, en un matraz de fondo redondo, el derivado porfirínico correspondiente (0.100 g, 1 equivalente) en 10–15 mL del disolvente elegido (DMF, metanol, etanol, cloroformo o piridina, según el metal a incorporar). En un recipiente aparte se preparó una solución de la sal metálica en relación 1.1:1 (metal:ligando) en 5 mL del mismo disolvente, adicionando unas gotas de ácido acético glacial para favorecer la

solubilidad y estabilizar el medio de reacción. Esta solución fue adicionada lentamente al balón de reacción que contenía la porfirina en agitación.

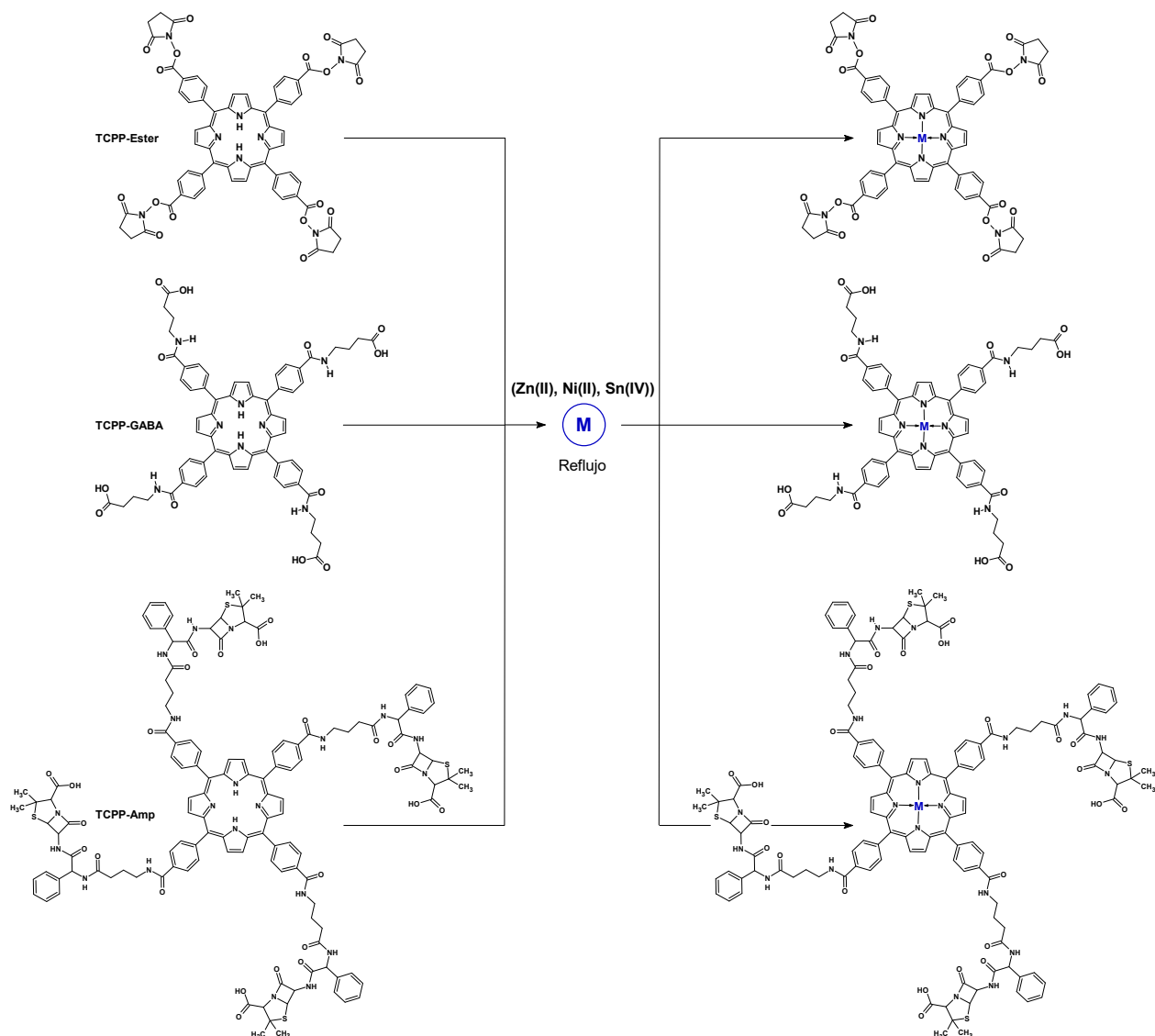
Una vez completada la adición, la mezcla se llevó a reflujo bajo condiciones controladas de temperatura y tiempo, que variaron en función del metal utilizado. El avance de la reacción fue monitoreado por espectroscopía UV-Vis, verificando el desplazamiento de la banda Soret y la modificación del patrón de bandas Q, características de la formación de metaloporfirinas.

Al finalizar la reacción, el disolvente se evaporó a presión reducida y el sólido resultante se lavó con agua tipo 1, seguido de centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, el sólido se extrajo en agua y se filtró al vacío empleando una mezcla de cloroformo/metanol, obteniéndose los complejos en forma de polvos de color púrpura rojizo, marrón o verde, dependiendo del metal incorporado.

La formación de los complejos metálicos se confirmó mediante UV-Vis, FTIR y MALDI-TOF, y se complementó, cuando estuvo disponible, con RMN y XPS, lo que permitió corroborar la coordinación de los iones metálicos al núcleo porfirínico.

Esquema 5

Reacción general para la formación de complejos metálicos a partir de los derivados porfirínicos TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).



En la Tabla 3 se presentan los códigos de los complejos metálicos sintetizados a partir de los tres derivados e híbridos de porfirina.

Tabla 3

Códigos de los complejos de zinc, níquel y estaño sintetizados a partir de los derivados de porfirinas e híbridos porfirina-ampicilina.

Compuesto Base	Complejo con Zinc	Complejo con Níquel	Complejo con Estaño
TCPP-Ester	Zn(II)-TCPP-Ester	Ni(II)-TCPP-Ester	Sn(IV)-TCPP-Ester
TCPP-GABA	Zn(II)-TCPP-GABA	Ni(II)-TCPP-GABA	Sn(IV)-TCPP-GABA
TCPP-Amp	Zn(II)-TCPP-Amp	Ni(II)-TCPP-Amp	Sn(IV)-TCPP-Amp

En la Tabla 4 se resumen las condiciones generales de síntesis de cada complejo, incluyendo los disolventes utilizados, las temperaturas y tiempos de reacción, las sales metálicas probadas y los rendimientos obtenidos. Esta información permite visualizar de forma comparativa las variaciones metodológicas aplicadas a cada sistema.

Tabla 4

Condiciones generales empleadas para la síntesis de los complejos metálicos derivados de TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.

Complejo	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (h)	Sal metálica	Rendimiento (%)
Zn(II)-TCPP-Éster	DMF	110	2–3	ZnCl ₂	90
	Metanol	60	4–6	ZnCl ₂	85
	DMF	110	2–3	Zn(OAc) ₂	88
	Metanol	60	4–6	Zn(OAc) ₂	86
Zn(II)-TCPP-GABA	Metanol	60	4–6	ZnCl ₂	87
	DMF	110	2–3	ZnCl ₂	89
	DMF	110	2–3	Zn(OAc) ₂	88
Zn(II)-TCPP-Amp	Metanol	60	4–6	ZnCl ₂	84
	DMF	110	2–3	ZnCl ₂	89
	DMF	110	2–3	Zn(OAc) ₂	87

Complejo	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (h)	Sal metálica	Rendimiento (%)
Ni(II)-TCPP-Éster	Etanol	70	18–20	Ni(NO ₃) ₂	75
	Metanol	60	18–20	NiSO ₄	72
	Etanol	70	15–17	NiCl ₂	86
	DMF	110	17–19	NiCl ₂	83
Ni(II)-TCPP-GABA	Etanol	70	15–17	NiCl ₂	82
	Etanol	70	19–20	Ni(NO ₃) ₂	78
	Metanol	60	18–20	NiSO ₄	75
Ni(II)-TCPP-Amp	Metanol	60	18–20	NiSO ₄	77
	Etanol	70	17–19	NiCl ₂	81
	Etanol	70	18–20	Ni(NO ₃) ₂	83
Sn(IV)-TCPP-Éster	DMF	110	14–15	SnCl ₂	80
	Piridina	80	6–8	SnCl ₂	70
	DMF	110	14–15	Sn(NO ₃) ₂	75
	Cloroformo	55	16–18	Sn(NO ₃) ₂	72
Sn(IV)-TCPP-GABA	DMF	110	18–19	Sn(NO ₃) ₂	78
	DMF	110	16–17	SnCl ₂	85
Sn(IV)-TCPP-Amp	DMF	110	18–19	Sn(NO ₃) ₂	76
	DMF	110	18–19	SnCl ₂	84

En términos generales, los complejos de Zn(II) se obtuvieron bajo condiciones relativamente suaves, con tiempos cortos de reacción y rendimientos elevados. Los complejos de Ni(II) requirieron tiempos más prolongados y temperaturas más altas para favorecer la coordinación, alcanzando rendimientos intermedios. En el caso de los complejos de Sn(IV), la reacción mostró mayor sensibilidad a las condiciones de disolvente y tiempo de reacción, obteniéndose rendimientos moderados.

Con el fin de presentar de manera clara y sistemática la obtención de los nueve complejos sintetizados, en las siguientes subsecciones se describen los procedimientos específicos empleando

las sales cloruro de cada metal (ZnCl_2 , NiCl_2 y SnCl_2). Esta elección responde a que, entre las diferentes sales metálicas evaluadas, los cloruros ofrecieron condiciones más reproducibles y mejores rendimientos. Se consideran, por tanto, representativos de cada serie (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp), facilitando la exposición ordenada de los procedimientos de síntesis y caracterización.

3.2.1 Serie TCPP-Éster (Zn, Ni, Sn)

Síntesis del complejo Zn(II)-TCPP-Éster

El complejo de zinc se obtuvo disolviendo TCPP-Éster (0.100 g, 1 equiv.) en 10 mL de DMF. En un segundo recipiente se preparó una solución de cloruro de zinc (ZnCl_2 , 1.1 equiv.) en 5 mL del mismo disolvente, adicionando unas gotas de ácido acético glacial. Esta solución se incorporó lentamente sobre la porfirina en agitación y la mezcla se mantuvo a reflujo a 110 °C durante 2 horas. El progreso de la reacción se monitoreó por UV-Vis, confirmando la inserción de Zn(II) por el corrimiento batocrómico de la banda Soret y la reducción del número de bandas Q. Tras la reacción, el disolvente se eliminó por rotoevaporación; el sólido se lavó con agua tipo 1, se centrifugó y se filtró empleando una mezcla de cloroformo/metanol. El producto se obtuvo como un polvo de color púrpura rojizo.

Síntesis del complejo Ni(II)-TCPP-Éster

El complejo de níquel se preparó disolviendo TCPP-Éster (0.100 g, 1 equiv.) en 12 mL de etanol. De forma análoga, se preparó una solución de cloruro de níquel(II) hexahidratado ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1.1 equiv.) en 5 mL de etanol, con la adición de unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se incorporó lentamente sobre la porfirina y la mezcla se llevó a reflujo a 70 °C durante 17 horas. El avance se siguió por UV-Vis, observándose la reducción de las bandas Q,

típica de complejos de Ni(II). La eliminación del disolvente se realizó por rotoevaporación, el sólido se lavó, se centrifugó y se filtró conforme al procedimiento general, recuperándose un material sólido de color verde pardo.

Síntesis del complejo Sn(IV)-TCPP-Éster

Para el complejo de estaño, TCPP-Éster (0.100 g, 1 equiv.) se disolvió en 10 mL de DMF. En paralelo, se preparó una solución de cloruro de estaño(II) dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1.1 equiv.) en 5 mL de DMF con unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se adicionó lentamente sobre la porfirina en agitación y el sistema se mantuvo a reflujo a 110 °C durante 15 horas. El progreso, verificado por UV-Vis, mostró desplazamiento batocrómico de la banda Soret y la disminución a dos bandas Q. Al finalizar la reacción, el disolvente se eliminó por rotoevaporación y el sólido se purificó según el procedimiento descrito, aislándose un producto sólido de color marrón verdoso.

Tabla 5

Rendimiento y caracterización de los complejos metálicos derivados de TCPP-Éster.

Complejo	Rendimiento (%)	UV-Vis (MeOH, λ nm)	FTIR (cm^{-1})	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm)
Zn(II)-TCPP-Éster	85–90	Soret 424; Q 557, 599.	1801 y 1769 (C=O imida), 1699 (C=O éster), 1602 (C=C arom.), 570 (Zn–N)	8.81 (8H, s, β -H porfirina) 8.42 – 8.28 (16H, m, $\text{H}_o\text{-Ar}$, $\text{H}_m\text{-Ar}$) 1.23 (16H, t, $J = 7.3$ Hz, $\text{H}_{3a,3b,4a,4b}$ imida)
Ni(II)-TCPP-Éster	72–86	Soret 417; Q 524.	1801 y 1769 (C=O imida), 1730 (C=O éster), 1603 (C=C arom.), 575-604 (Ni–N)	8.75 (8H, s, β -H porfirina) 8.31 (8H, d, $J = 8.2$ Hz, $\text{H}_o\text{-Ar}$) 8.12 (8H, d, $J = 8.1$ Hz, $\text{H}_m\text{-Ar}$)

Complejo	Rendimiento (%)	UV-Vis (MeOH, λ nm)	FTIR (cm^{-1})	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm)
Sn(IV)- TCPP-Éster	70–80	Soret 428; Q 565, 606.	1779 y 1741 (C=O imida), 1696 (C=O éster), 1604 (C=C arom.), 600 (Sn–N)	1.44 (16H, t, J = 7.1 Hz, $\text{H}_{3a,3b,4a,4b}$ imida)
				8.90 (8H, d, J = 5.0 Hz, β -H porfirina) 8.44 – 8.32 (16H, m, $\text{H}_o\text{-Ar}$, $\text{H}_m\text{-Ar}$) 2.20 (16H, t, J = 7.1 Hz, $\text{H}_{3a,3b,4a,4b}$ imida)

3.2.2 Serie TCPP-GABA (Zn, Ni, Sn)

Síntesis del complejo Zn(II)-TCPP-GABA

TCPP-GABA (0.100 g, 1 equiv.) se disolvió en 10 mL de DMF. En un recipiente aparte se preparó una solución de cloruro de zinc (ZnCl_2 , 1.1 equiv.) en 5 mL del mismo disolvente, adicionando unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se incorporó lentamente al matraz que contenía la porfirina en agitación y la mezcla se mantuvo a reflujo a 110 °C durante 2 horas. El progreso se monitoreó por UV-Vis, confirmándose la inserción de Zn(II) por el corrimiento de la banda Soret y la reducción de las bandas Q. Finalizada la reacción, el disolvente se eliminó por rotoevaporación; el sólido se lavó con agua tipo 1, se centrifugó (3000 rpm, 5 min) y se filtró empleando una mezcla cloroformo/metanol. Se obtuvo un sólido de color púrpura oscuro.

Síntesis del complejo Ni(II)-TCPP-GABA

TCPP-GABA (0.100 g, 1 equiv.) se disolvió en 15 mL de etanol. Se preparó una solución de cloruro de níquel(II) hexahidratado ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1.1 equiv.) en 5 mL del mismo disolvente con la adición de unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se añadió lentamente sobre la porfirina en agitación y el sistema se llevó a reflujo a 70 °C durante 17 horas. El avance se siguió

por UV-Vis, observándose el patrón espectral característico de complejos de Ni(II) (Soret más ancha y una banda Q). Tras eliminar el disolvente por rotoevaporación, el sólido se lavó, se centrifugó y se filtró como en el procedimiento general, aislándose un polvo verde oliva.

Síntesis del complejo Sn(IV)-TCPP-GABA

TCPP-GABA (0.100 g, 1 equiv.) se disolvió en 10 mL de DMF. En un recipiente aparte se preparó una solución de cloruro de estaño(II) dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1.1 equiv.) en 5 mL de DMF con unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se adicionó lentamente al matraz con la porfirina y la mezcla se mantuvo a reflujo a 110 °C durante 17 horas. El progreso se verificó por UV-Vis, evidenciándose el corrimiento de la banda Soret. Concluida la reacción, el disolvente se retiró por rotoevaporación y el sólido se purificó según el procedimiento descrito, obteniéndose un material de color marrón.

Tabla 6

Rendimiento y caracterización de los complejos metálicos derivados de TCPP-GABA.

Complejo	Rendimiento (%)	UV-Vis (MeOH, λ nm)	FTIR (cm^{-1} , principales)	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm)
Zn(II)-TCPP-GABA	87–89	Soret 424; Q 557, 597.	1752 (C=O ácido), 1696 (C=O amida), 1602 (C=C arom.), 1535 (flexión N-H y estiramiento C-N amida), 1252 (COOH ácido), 428-575 (Zn-N)	12.81 (4H, s, ácido) 8.94 – 8.84 (4H, m, N-H amida) 8.81 (8H, s, β -H porfirina) 8.41 – 8.29 (16H, m, H_o - Ar, H_m -Ar) 3.00 (8H, t, J = 7.0 Hz, α - H GABA) 1.36 (8H, t, J = 7.2 Hz, γ - H GABA) 1.26 – 1.19 (8H, m, β -H GABA)

Complejo	Rendimiento (%)	UV-Vis (MeOH, λ nm)	FTIR (cm^{-1} , principales)	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm)
Ni(II)-TCPP-GABA	75–82	Soret 415; Q 526.	1769 (C=O ácido), 1699 (C=O amida), 1605 (C=C arom.), 1540 (flexión N-H y estiramiento C-N amida), 1235 (COOH ácido), 514 (Ni-N)	12.80 (4H, s, ácido) 8.89 – 8.79 (4H, m, N-H amida) 8.76 (8H, s, β -H porfirina) 8.31 (8H, d, J = 7.8 Hz, H_o -Ar,) 8.13 (8H, d, J = 8.1 Hz, H_m -Ar) 3.00 (8H, t, J = 7.1 Hz, α -H GABA) 1.41 (8H, t, J = 7.2 Hz, γ -H GABA) 1.27 – 1.11 (8H, m, β -H GABA)
Sn(IV)-TCPP-GABA	78–85	Soret 430; Q 560, 601.	1769 (C=O ácido), 1697 (C=O amida), 1604 (C=C arom.), 1537 (flexión N-H y estiramiento C-N amida), 1232 (COOH ácido), 502-566 (Sn-N)	12.84 (4H, s, ácido) 8.88 (8H, s, β -H porfirina) 8.50 – 8.28 (16H, m, H_o -Ar, H_m -Ar) 2.91 (8H, q, J = 8.1 Hz, α -H GABA) 1.39 (8H, t, J = 7.0 Hz, γ -H GABA) 1.28 – 1.15 (8H, m, β -H GABA)

3.2.3 Serie TCPP-Amp (Zn, Ni, Sn)

Síntesis del complejo Zn(II)-TCPP-Amp

TCPP-Amp (0.100 g, 1 equiv.) se disolvió en 15 mL de DMF. Se preparó una solución de cloruro de zinc (ZnCl_2 , 1.1 equiv.) en 5 mL del mismo disolvente, adicionando unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se incorporó lentamente y la mezcla se mantuvo a reflujo a 110 °C durante 3 horas. El avance se monitoreó por UV-Vis, confirmándose la inserción de Zn(II) por el corrimiento batocrómico de la banda Soret y la reducción del número de bandas Q. Concluida la reacción, el disolvente se eliminó por rotoevaporación; el sólido se lavó con agua

tipo 1, se centrifugó (3000 rpm, 5 min) y se filtró empleando una mezcla cloroformo/metanol. Se obtuvo un sólido de color púrpura marrón.

Síntesis del complejo Ni(II)-TCPP-Amp

TCPP-Amp (0.100 g, 1 equiv.) se disolvió en 15 mL de etanol. Se preparó una solución de cloruro de níquel(II) hexahidratado ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1.1 equiv.) en 5 mL del mismo disolvente con la adición de unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se añadió lentamente sobre la porfirina y el sistema se llevó a reflujo a 70 °C durante 19 horas. El progreso se siguió por UV-Vis. Tras eliminar el disolvente por rotoevaporación, el sólido se lavó, se centrifugó y se filtró conforme al procedimiento general, aislándose un material de color verde pardo.

Síntesis del complejo Sn(IV)-TCPP-Amp

TCPP-Amp (0.100 g, 1 equiv.) se disolvió en 15 mL de DMF. En un recipiente aparte se preparó una solución de cloruro de estaño(II) dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1.1 equiv.) en 5 mL de DMF con unas gotas de ácido acético glacial. La solución metálica se incorporó lentamente sobre la porfirina en agitación y la mezcla se mantuvo a reflujo a 110 °C durante 17 horas. El progreso de la reacción se verificó por UV-Vis, evidenciándose el desplazamiento de la banda Soret, la reducción a dos bandas Q. Finalizada la reacción, se retiró el disolvente por rotoevaporación y el sólido se purificó según el procedimiento descrito, obteniéndose un producto de color púrpura verdoso.

Tabla 7

Rendimiento y caracterización de los complejos metálicos derivados de TCPP-Amp.

Complejo	Rendimiento (%)	UV-Vis (MeOH, λ nm)	FTIR (cm^{-1} , principales)	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm)
Zn(II)-TCPP-Amp	84–89	Soret 423; Q 557, 597.	1696 (C=O ácido), 1643 (C=O amida), 1605 (C=C arom.), 1536 (flexión N-H y estiramiento C-N amida), 1404 (C-O ácido), 1270 (COOH ácido), 409-600 (Zn-N)	12.82 (4H, s, O-H ácido) 8.81 (8H, s, β -H porfirina) 8.44 – 8.25 (16H, m, H_o - Ar, H_m -Ar) 8.21 – 7.89 (20H, m, H- Ar ampicilina) 7.50 (4H, s, N-H amida) 5.62 (4H, d, J = 4.9 Hz, H_d amp.) 4.70 (4H, s, H_c amp.) 4.52 (4H, s, H_b amp.) 3.89 (4H, s, H_a amp.) 2.99 (8H, q, J = 7.9 Hz, H_a GABA) 1.34 (8H, t, J = 7.1 Hz, H_γ GABA) 1.27 – 1.14 (8H, m, H_β GABA) 0.85 (24H, d, J = 7.6 Hz, CH_3 ampicilina)
Ni(II)-TCPP-Amp	77–83	Soret 416; Q 527.	1711 (C=O ácido), 1632 (C=O amida), 1607 (C=C arom.), 1536 (flexión N-H y estiramiento C-N amida), 1403 (C-O ácido), 1271 (COOH ácido), 426-573 (Ni-N)	12.78 (4H, s, O-H ácido) 8.70 (8H, s, β -H porfirina) 8.19 – 8.06 (16H, m, H_o - Ar, H_m -Ar) 8.05 – 7.90 (20H, m, H- Ar ampicilina) 7.34 (4H, s, N-H amida) 5.61 (4H, d, J = 7.7 Hz, H_d amp.) 4.70 (4H, s, H_c amp.) 4.42 (4H, s, H_b amp.) 4.05 (4H, s, H_a amp.) 2.93 (8H, q, J = 8.3 Hz, H_a GABA) 1.36 (8H, t, J = 7.1 Hz, H_γ GABA) 1.23 – 1.12 (8H, m, H_β GABA)

Complejo	Rendimiento (%)	UV-Vis (MeOH, λ nm)	FTIR (cm^{-1} , principales)	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm)
Sn(IV)- TCPP-Amp	76–84	Soret 427; Q 561, 601.	1705 (C=O ácido), 1680 (C=O amida), 1602 (C=C arom.), 1535 (flexión N-H y estiramiento C-N amida), 1407 (C-O ácido), 1273 (COOH ácido), 578 (Sn-N)	0.85 (24H, d, J = 6.6 Hz, CH ₃ ampicilina)
				12.79 (4H, s, O-H ácido) 8.87 (8H, s, β -H porfirina) 8.50 – 8.26 (16H, m, H _o - Ar, H _m -Ar) 7.80 – 7.53 (20H, m, H- Ar ampicilina) 7.38 (4H, s, N-H amida) 5.60 (4H, s, H _d amp.) 4.71 (4H, s, H _c amp.) 4.49 (4H, s, H _b amp.) 4.06 (4H, s, H _a amp.) 3.00 (8H, q, J = 8.0 Hz, H _{α} GABA) 1.42 (8H, t, J = 7.1 Hz, H _{γ} GABA) 1.29 – 1.09 (8H, m, H _{β} GABA) 0.98 – 0.67 (24H, m, CH ₃ ampicilina)

En complemento a las caracterizaciones espectroscópicas y espectrométricas, se realizaron estudios de espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS) para las tres series porfirínicas (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) y sus respectivos complejos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).

Los espectros obtenidos evidenciaron las señales características de cada metal, así como desplazamientos en las regiones N 1s y O 1s, confirmando la coordinación efectiva de los centros metálicos al núcleo tetrapirrólico. Estos resultados complementan la información obtenida por UV-Vis, FTIR, RMN y MALDI-TOF, consolidando la identificación estructural de los derivados sintetizados.

Los procedimientos instrumentales y criterios analíticos empleados en cada una de estas técnicas se describen con detalle en la siguiente sección.

3.3 Técnicas de caracterización

La síntesis de derivados porfirínicos y su posterior conversión en complejos metálicos requiere el uso de herramientas analíticas que permitan confirmar tanto la integridad estructural del macrociclo como la adecuada inserción de los centros metálicos. Dada la naturaleza conjugada y altamente versátil de las porfirinas, así como la amplia variedad de modificaciones periféricas y procesos de metalación posibles, resulta indispensable adoptar un enfoque multidimensional de caracterización que integre técnicas espectroscópicas, espectrométricas, fotoelectrónicas y termoanalíticas.

Con el propósito de verificar la identidad estructural de los derivados porfirínicos y de sus complejos metálicos, se empleó un conjunto analítico compuesto por las técnicas FTIR, UV-Vis, RMN, MALDI-TOF, XPS, TGA-DSC y DRX.

En esta sección se describen, con enfoque metodológico, las condiciones experimentales aplicadas y los criterios operativos utilizados para la interpretación de los resultados en el contexto de porfirinas y metaloporfirinas.

3.3.1 Espectroscopía FTIR

Los análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se realizaron en modo de reflectancia total atenuada (ATR) para todas las muestras, utilizando un espectrómetro Jasco ATR PRO 4X FT/IR-4X.

Los espectros se registraron en el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , expresados en número de onda, sin requerir preparación adicional de las muestras sólidas. Las mediciones se efectuaron en el Laboratorio de Análisis Instrumental del campus central de la Universidad Industrial de Santander (UIS).

El análisis se centró en la identificación de las vibraciones asociadas a los grupos funcionales característicos (carboxilo, éster y amida) y en las modificaciones espectrales atribuibles a la coordinación metálica. Entre las señales más relevantes se incluyeron:

- (i) las bandas de estiramiento $\nu(\text{C}=\text{O})$ de los grupos carboxilo, ácido, éster o amida (1780–1670 cm^{-1});
- (ii) las bandas correspondientes al esqueleto aromático del macrociclo en la región de 16010–1450 cm^{-1} ; y
- (iii) las absorciones en la región de 1240–1280 cm^{-1} , relacionadas con los modos de estiramiento C–O o C–N, dependiendo del tipo de derivado funcionalizado.

La inserción de los iones metálicos se corroboró mediante dos criterios principales: (i) desplazamientos sutiles en los modos vibracionales de los grupos carbonílicos y del esqueleto aromático, reflejando cambios en la densidad electrónica del macrociclo, y (ii) la aparición o intensificación de bandas en baja frecuencia (500–600 cm^{-1}), atribuibles a los estiramientos M–N (metal–nitrógeno), típicamente observados en metaloporfirinas (Giannoudis et al., 2020; Gutzeit et al., 2019).

3.3.2 Espectroscopía UV-Vis

Los espectros electrónicos de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis) se registraron en un espectrofotómetro Thermo Scientific (N° de serie 5A2X184107) con detector estándar y software de adquisición INSIGHT v2.4.174.

Las mediciones se realizaron en modo de barrido continuo, en el rango de 750 a 350 nm, con intervalo de adquisición de 1.00 nm y tiempo de integración de 0.050 s por punto. Los registros se efectuaron en el Grupo de Investigación en Química Estructural del Parque Tecnológico Guatiguará (UIS).

Las muestras se disolvieron en metanol como disolvente, utilizando cubetas de cuarzo de 10 mm de trayectoria óptica, a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) y en concentraciones de 10^{-6} – 10^{-5} M para minimizar fenómenos de agregación molecular. Los espectros se expresaron en unidades de absorbancia frente a longitud de onda (nm) y se corrigieron respecto al blanco del disolvente.

En las porfirinas libres de metal, se registraron las señales características del sistema conjugado tetrapirrólico: una banda Soret intensa en torno a 415 nm, atribuida a la transición electrónica $S_0 \rightarrow S_2$ ($\pi-\pi^*$), junto con cuatro bandas Q en la región de 500–650 nm, correspondientes a las transiciones $S_0 \rightarrow S_1$ propias de la simetría D_{2h} del macrociclo (V. E. De Oliveira et al., 2011; Sekhar et al., 2022).

Durante la metalación, los espectros mostraron cambios reproducibles en el perfil electrónico:

(i) un desplazamiento batocrómico (2–10 nm) de la banda Soret, indicativo de una redistribución electrónica en el anillo porfirínico asociada a la coordinación M–N;

(ii) una reducción del número de bandas Q (de cuatro a dos en los complejos diamagnéticos de Zn(II) y Sn(IV)), coherente con el incremento de simetría a D_{4h} ; y

(iii) un desdoblamiento parcial o desplazamiento hipocrómico en complejos de Ni(II), atribuido a efectos de campo ligante y posibles interacciones $d-\pi$ (Giannoudis et al., 2020; Li et al., 2022; Rafiee et al., 2024).

Estas variaciones espectrales se establecieron como criterios operativos para el seguimiento in situ del avance de las reacciones de metalación, permitiendo confirmar la formación de los complejos metálicos. En todos los casos, los espectros obtenidos fueron coherentes con los patrones reportados para metaloporfirinas meso-tetrasustituídas de tipo TCPP (Vieira et al., 2025; L. Wang et al., 2024).

3.3.3 Resonancia magnética nuclear (^1H , ^{13}C y técnicas 2D)

Los análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) se realizaron en un espectrómetro Bruker Ultrashield 400 MHz, utilizando DMSO- d_6 como disolvente deuterado para todas las muestras. Se adquirieron espectros unidimensionales de ^1H y ^{13}C , así como experimentos DEPT 135, y bidimensionales COSY, HMQC y HMBC, con el fin de lograr una asignación estructural completa y confirmar la integridad del macrociclo y de los sustituyentes periféricos. Las mediciones se realizaron en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear del Parque Tecnológico Guatiguará (UIS).

Los espectros de ^1H RMN permitieron identificar las señales de los protones β -pirrólicos en la región de 8.3–9.6 ppm, características del anillo porfirínico conjugado. Tras la inserción metálica, se registraron desplazamientos a campo bajo y, en algunos casos, un ensanchamiento de las señales, atribuibles a la interacción metal–nitrógeno (M–N) en el núcleo tetrapirrólico. La

desaparición de la señal correspondiente a los protones internos N–H, típicamente observada en las porfirinas libres, se utilizó como criterio directo para confirmar la formación del complejo metálico.

En los espectros de ^{13}C RMN, se identificaron las señales de los carbonos meso, β -pirrólicos y de los grupos funcionales periféricos (éster, amida y aromáticos). El experimento DEPT 135 permitió diferenciar los carbonos metileno (señales negativas) de los metinos y metilos (señales positivas), facilitando la asignación de los sustituyentes alifáticos, especialmente en los derivados funcionalizados con GABA y ampicilina.

Los experimentos bidimensionales COSY, HMQC y HMBC se emplearon para reforzar la asignación estructural. El COSY permitió establecer correlaciones homonucleares (^1H – ^1H) entre protones adyacentes en los anillos fenólicos y pirrólicos, mejorando la resolución de señales parcialmente solapadas. El HMQC proporcionó correlaciones directas (^1H – ^{13}C) de un enlace, confirmando las correspondencias entre protones β y carbonos del macrociclo, mientras que el HMBC permitió detectar conectividades de dos y tres enlaces, confirmando la presencia de los grupos amida y éster, así como el acoplamiento de los sustituyentes periféricos al esqueleto porfirínico.

La información obtenida por RMN se integró con los resultados de FTIR y UV-Vis, aportando una verificación estructural integral de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos.

3.3.4 Espectrometría de masas MALDI-TOF

El análisis de masas de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos se realizó mediante espectrometría de masas asistida por desorción/ionización láser con matriz (MALDI-

TOF), utilizando un espectrómetro Ultraflex extreme Bruker. El equipo operó en modo positivo, con una resolución de 40000 FWHM, exactitud de ± 1 ppm, fluencia láser de 30% y un rango de detección de masas comprendido entre 600 y 3500 Da.

Los espectros de masas se efectuaron en el Laboratorio de Espectrometría de Masas del Parque Tecnológico Guatiguará (UIS).

Para la preparación de las muestras, se disolvieron entre 0.3 y 0.5 mg del compuesto en 1 mL de metanol. En la placa MALDI se depositó inicialmente 1 μ L de la matriz —ácido α -ciano-4-hidroxicinámico (CHCA) o ácido 2,5-dihidroxibenzoico (DHB)—, dejándola secar completamente. A continuación, se añadió 1 μ L de la disolución del compuesto y, tras su secado, se aplicó una última capa de 1 μ L de matriz, siguiendo la técnica tipo “sándwich”. Este procedimiento se empleó para favorecer la co-cristalización homogénea y mejorar la eficiencia de ionización, de acuerdo con las recomendaciones para porfirinas y metaloporfirinas (Giannoudis et al., 2020; Rafiee et al., 2024; Vieira et al., 2025).

Los espectros se registraron en modo de barrido lineal (600 a 3500 Da), con especial atención en los iones moleculares $[M]^+$, $[M+H]^+$ y $[M+Na]^+$, así como en los posibles fragmentos derivados de pérdidas de grupos periféricos o moléculas de agua. Durante el análisis, se consideraron los patrones isotópicos característicos de los metales Zn, Ni y Sn, los cuales permitieron establecer la correspondencia entre las señales experimentales y las masas teóricas calculadas. La coincidencia de las masas monoisotópicas dentro de los márgenes de precisión del instrumento se utilizó como criterio operativo para confirmar la integridad estructural de los derivados porfirínicos y la presencia de los centros metálicos coordinados.

La información obtenida por MALDI-TOF se empleó de manera complementaria con los resultados de FTIR, UV-Vis y RMN, como parte del conjunto metodológico destinado a la verificación estructural de las especies sintetizadas.

3.3.5 Espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS)

Los análisis de espectroscopía de fotoelectrones de rayos X (XPS) se llevaron a cabo en la plataforma de caracterización de superficies XPS/ISS/UPS-ACenteno, construida por SPECS (Alemania).

El sistema está equipado con un analizador de energía PHOIBOS 150 2D-DLD, acoplado a una fuente de rayos X Al K α monocromatizada (FOCUS 500), operada a 200 W. La energía de paso del analizador hemisférico se fijó en 100 eV para los espectros de barrido general y en 20 eV para los espectros de alta resolución.

Durante la adquisición, se empleó un *Flood Gun* (FG 15/40-PS FG 500) para la compensación de carga superficial, operado a 58 μ A–1.8 eV, con el fin de mantener la estabilidad del potencial de superficie y evitar desplazamientos espurios en las energías de enlace.

Las regiones analizadas incluyeron los núcleos C 1s, O 1s, N 1s, Zn 2p, Sn 3d, Ni 2p, Cl 2p y F 1s, seleccionados según el metal y la naturaleza del derivado porfirínico estudiado. Al final de cada adquisición, se registró nuevamente la región C 1s, empleada como referencia interna para verificar la estabilidad de la carga superficial durante la medición.

Las muestras se montaron sobre cinta conductora de carbono adherida a portamuestras metálicos de acero inoxidable (SPECS, Alemania), conectados eléctricamente al espectrómetro para asegurar un buen contacto y minimizar los efectos de carga. El procesamiento de los espectros se realizó mediante el software CasaXPS (Casa Software Ltd.), utilizando la biblioteca SPECS

Prodigy-ACenteno, que incorpora los *Response Sensitivity Factors* (RSF) determinados por el fabricante.

Las energías de enlace se calibraron tomando como referencia la señal C 1s = 284.8 eV, correspondiente al carbono sp², y los perfiles se ajustaron mediante funciones mixtas Gauss-Lorentz, tras la sustracción de fondo Shirley. Los datos se registraron en el Laboratorio de Ciencia de Superficies (SurfLab) del Parque Tecnológico Guatiguará (UIS).

La interpretación de los espectros se centró en las regiones N 1s y M 3d/2p, empleadas para determinar el estado de oxidación metálico y el modo de coordinación del ion metálico dentro del macrociclo de la porfirina. En particular:

- En los complejos de Zn(II), se identificaron las señales Zn 2p_{3/2} y Zn 2p_{1/2} alrededor de 1021.5 eV y 1044.6 eV, respectivamente, con una separación espín-órbita de aproximadamente 23 eV, valores característicos de zinc en estado +2 coordinado a los nitrógenos del macrociclo.
- En los complejos de Ni(II), los picos Ni 2p_{3/2} (~855.5 eV) y Ni 2p_{1/2} (~873.1 eV) mostraron los satélites *shake-up* típicos de la configuración d⁸, empleados como criterio de identificación del estado de oxidación +2 y en entorno coordinativo porfirínico.
- En el caso de los complejos de Sn(IV), se observaron los picos Sn 3d_{5/2} (~484.9 eV) y Sn 3d_{3/2} (~493.4 eV), con una separación espín-órbita de ~8.5 eV, valores coherentes con el estado de oxidación +4. Se registró un leve desplazamiento hacia menor energía de enlace respecto al precursor SnCl₂, asociado al aumento de densidad electrónica por la coordinación Sn–N/Sn–O en el entorno porfirínico.

El ajuste de la región N 1s se realizó considerando hasta tres contribuciones principales, según la naturaleza del derivado y del metal insertado:

- (i) nitrógenos pirrólicos coordinados (M–N), en 396.4–397.8 eV;
- (ii) nitrógenos pirrólicos no coordinados (N–H), en 398.2–399.0 eV; y
- (iii) nitrógenos tipo amida (–CONH–), en 399.5–400.8 eV, presentes en los derivados TCPP-GABA y TCPP-Amp.

En los complejos derivados de TCPP-Éster, solo se observaron dos componentes (M–N y N–H), con predominio de la primera señal tras la coordinación metálica.

Los parámetros instrumentales y los criterios de ajuste descritos se aplicaron de manera uniforme para todas las muestras (Apéndice 77), con el fin de asegurar la reproducibilidad y comparabilidad de los datos de XPS obtenidos.

3.3.6 Análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial (TGA-DSC)

Los estudios termoanalíticos se realizaron con el objetivo de evaluar la estabilidad térmica, las etapas de descomposición y los posibles procesos de coordinación o desorción asociados a los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos. Estas técnicas proporcionan información complementaria sobre la pureza, la resistencia térmica y la naturaleza de las interacciones metal-ligando dentro del macrociclo.

Los análisis TGA se llevaron a cabo en un equipo TA Instruments TGA 5500 (serie 5500-0015), bajo flujo continuo de N₂ (10 mL·min⁻¹), en el intervalo de 25 °C a 400 °C, con una rampa de calentamiento de 10.0 °C·min⁻¹.

Los experimentos de DSC se realizaron en un equipo Discovery DSC (serie DSC1-0237), empleando las mismas condiciones de atmósfera y rampa de calentamiento. Las muestras

(aproximadamente 5–8 mg) se colocaron en crisoles de platino sellados y previamente tarados. Todas las mediciones se efectuaron en el Grupo de Investigación en Polímeros (GIP), ubicado en el Parque Tecnológico Guatiguará (UIS).

Durante el análisis TGA, las primeras pérdidas de masa observadas en el rango de 25–150 °C se asociaron a la eliminación de humedad superficial.

En una segunda etapa, comprendida entre 200–350 °C, se registraron procesos de degradación térmica del anillo porfirínico y de los grupos funcionales periféricos (éster, amida o ácido carboxílico). Las diferencias en la temperatura de inicio y la magnitud de estas pérdidas se utilizaron como criterio comparativo de estabilidad térmica entre los distintos metales insertados.

Los perfiles DSC mostraron eventos endotérmicos iniciales relacionados con la pérdida de moléculas de agua adsorbidas en la superficie del sólido. Dentro del rango de análisis (hasta 400 °C), no se observaron transiciones térmicas atribuibles a fusiones, cambios de fase o descomposición completa de los compuestos.

El procedimiento experimental descrito permitió establecer las condiciones necesarias para comparar la resistencia térmica relativa de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos bajo atmósfera inerte, garantizando la reproducibilidad de los termogramas y su posterior análisis comparativo.

3.3.7 Difracción de rayos X de polvo (DRX)

El registro de los patrones de difracción de rayos X (DRX) se realizó con el objetivo de evaluar el grado de cristalinidad, la integridad estructural del macrociclo y los posibles cambios en la organización supramolecular inducidos por la metalación.

Esta técnica aporta información complementaria sobre el empaquetamiento de los derivados porfirínicos y sus complejos, considerando que la inserción de iones metálicos y la funcionalización periférica pueden alterar significativamente el orden cristalino.

Los difractogramas se registraron a temperatura ambiente en un difractómetro BRUKER D8 ADVANCE, equipado con radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$), operando a 40 kV y 40 mA. Los patrones se adquirieron en el intervalo de $2\theta = 2^\circ\text{--}70^\circ$, con pasos de 0.02035° y tiempos de conteo entre 0.6 s y 2.0 s por paso, utilizando una rendija de Soller de 2.5° , una ranura de divergencia de 0.6 mm, filtro de níquel de 0.02 mm y un detector lineal LynxEye. Las mediciones se realizaron en el Laboratorio de Rayos X del Parque Tecnológico Guatiguará (UIS).

Las muestras se prepararon en forma de polvos finos, montados en portamuestras de fondo cero (*zerobackground*), utilizando una ligera capa de parafina para asegurar una superficie homogénea y minimizar efectos de orientación preferencial.

Todas las muestras, correspondientes a los derivados TCPP-Éster, TCPP-GABA, TCPP-Amp, así como a sus complejos metálicos con Zn(II) , Ni(II) y Sn(IV) , fueron analizados bajo las mismas condiciones instrumentales. Los difractogramas obtenidos presentaron patrones amorfos, caracterizados por bandas amplias y de baja intensidad, sin reflexiones nítidas ni picos agudos indicativos de dominios cristalinos apreciables. No se observaron picos agudos indicativos de dominios cristalinos apreciables. Este comportamiento se atribuye al carácter desordenado del empaquetamiento molecular, típico de porfirinas funcionalizadas y metaloporfirinas con sustituyentes periféricos voluminosos o interacciones axiales que dificultan la ordenación a largo alcance.

La ausencia de cristalinidad definida motivó la realización de ensayos de recristalización orientados a la obtención de muestras cristalinas o, idealmente, monocristales aptos para difracción de rayos X de monocristal (SCXRD).

3.3.8 Ensayos de recristalización

Con el objetivo de obtener muestras cristalinas o, idealmente, monocristales aptos para difracción de rayos X de monocristal (SCXRD), se realizaron ensayos sistemáticos de recristalización aplicando distintos métodos físicos bajo condiciones controladas de temperatura y composición de disolventes.

Estos experimentos se llevaron a cabo para los derivados TCPP-Éster, TCPP-GABA, TCPP-Amp y sus correspondientes complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).

Todos los ensayos se efectuaron bajo condiciones controladas de pureza, temperatura y composición de disolventes, garantizando la homogeneidad de las disoluciones iniciales y evitando contaminación cruzada.

Se evaluaron cuatro estrategias principales de cristalización:

- a)** Evaporación lenta del disolvente
- b)** Cristalización en capa de disolvente (*stratified solvent*)
- c)** Difusión de vapor (*vapor diffusion*)
- d)** Cristalización en capilar

En todos los casos, las disoluciones se prepararon disolviendo entre 2 y 10 mg de muestra en 1.0–2.0 mL de disolvente o mezcla de disolventes, generalmente combinaciones de metanol y tetrahidrofurano (THF).

Antes de cada ensayo, las disoluciones se filtraron a través de microfiltros de 0.22 μm , con el fin de eliminar partículas insolubles y evitar la formación de núcleos heterogéneos o poco estables, lo que garantiza un proceso de nucleación controlado (Stout & Jensen, 1989). El propósito general de estos ensayos fue obtener fases sólidas cristalinas a partir de los derivados sintetizados, con la finalidad de posibilitar la determinación estructural por difracción de rayos X de polvo o monocristal.

a) Cristalizaciones por evaporación lenta de disolvente

Los ensayos de evaporación lenta se realizaron tanto a temperatura ambiente ($25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) como en refrigeración ($\approx 4\text{ }^{\circ}\text{C}$), utilizando las siguientes mezclas binarias de disolventes:

- acetato de etilo/metanol
- metanol/etanol
- acetato de etilo/agua
- metanol/agua
- metanol/acetona
- acetato de etilo/acetona
- acetona/agua
- metanol/hexano
- metanol/éter

Las disoluciones filtradas se colocaron en viales de vidrio de 2–5 mL con tapa parcialmente abierta, permitiendo una evaporación gradual del disolvente durante varios días hasta la formación de residuos sólidos o estructuras cristalinas visibles. Esta técnica se basa en la reducción progresiva de la solubilidad del soluto por pérdida controlada del disolvente, lo que promueve una nucleación lenta y el crecimiento ordenado de cristales (Bernstein, 2002).

b) Cristalizaciones en capa de disolvente

Las cristalizaciones en capa de disolvente se efectuaron en tubos delgados tipo RMN o viales de cristal con tapa hermética, tanto a temperatura ambiente como en frío. En este método, la disolución de la muestra se depositó cuidadosamente al fondo del tubo y se cubrió con un disolvente menos polar (antidisolvente), generando una interfaz de difusión líquida donde la sobresaturación se desarrolla lentamente.

Las combinaciones empleadas fueron:

- muestra / éter / heptano
- muestra / acetato de etilo / heptano
- muestra / acetato de etilo / ciclohexano
- muestra / metanol / heptano
- muestra / metanol
- muestra / éter / heptano

Las configuraciones se mantuvieron bajo observación entre 3 y 60 días, favoreciendo la nucleación controlada y el crecimiento progresivo de cristales.

c) Ensayos de difusión de vapor

Los ensayos de difusión de vapor se realizaron disolviendo aproximadamente 8 mg de muestra en una mezcla metanol/etanol (1:1 v/v), con la adición de dos gotas de THF para mejorar la solubilidad. Las disoluciones filtradas se transfirieron a viales de vidrio sin tapa, que se colocaron dentro de cristalizadores rectangulares sellados conteniendo el antidisolvente en la zona externa de los viales.

Se evaluaron las siguientes condiciones:

- Hexano como antidisolvente, en dos configuraciones: (i) con 100 μL de hexano añadidos directamente al vial, (ii) sin adición interna de hexano, permitiendo la difusión únicamente desde la fase externa.
- Éter etílico, cloroformo y diclorometano también se ensayaron como antidisolventes alternativos.

Los sistemas se mantuvieron sellados a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) o refrigeración (≈ 4 °C) durante 1 a 4 semanas, permitiendo una difusión lenta de vapores que condujo a una sobresaturación controlada y eventual precipitación.

Este método, frecuentemente utilizado para moléculas orgánicas complejas, es adecuado para compuestos de solubilidad media y control limitado de nucleación.

d) Cristalizaciones en capilar

Las cristalizaciones en capilar se realizaron con aproximadamente 6 mg de muestra, disueltos en una de las siguientes mezclas binarias:

- acetato de etilo/metanol
- acetato de etilo/agua
- metanol/agua
- metanol/acetona
- acetato de etilo/acetona
- acetona/agua

Las disoluciones se introdujeron en capilares de vidrio de 1 mm de diámetro interno, sellados en un extremo y se dejaron reposar a temperatura ambiente o en refrigeración, permitiendo una evaporación progresiva del disolvente y la posible nucleación de microcristales a lo largo del

tubo. Este método, aunque limitado en volumen, ofrece un entorno cerrado que minimiza la contaminación y permite observar la cinética de crecimiento cristalino.

Las condiciones experimentales específicas de cada método se resumen en la Tabla 8, donde se detallan los parámetros de temperatura, composición de disolventes, cantidad de muestra, duración y observaciones generales. Esta síntesis permite comparar las estrategias implementadas y los factores experimentales controlados durante los intentos de obtención de fases cristalinas a partir de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos.

Tabla 8

Condiciones experimentales empleadas en los ensayos de recrystalización.

Método	Temperatura	Mezclas de disolventes	Cantidad de muestra (mg)	Duración aproximada	Observaciones generales
Evaporación lenta	Ambiente (25 °C) / Fría (4 °C)	Acetato de etilo/metanol, acetato de etilo/agua, metanol/agua, metanol/acetona, acetato de etilo/acetona, acetona/agua	2–10	3–30 días	Formación de residuos sólidos y microcristales.
Capa de disolvente	Ambiente (25 °C) / Fría (4 °C)	Éter/heptano, acetato de etilo/heptano, acetato de etilo/ciclohexano, metanol/heptano	2–10	3–60 días	Difusión controlada; nucleación lenta.
Difusión de vapor	Ambiente (25 °C) / Fría (4 °C)	Metanol/etanol + THF; antidisolventes: hexano, éter etílico, cloroformo, diclorometano	8	1–4 semanas	Precipitados microcristalinos; sin formación de monocristales.
Capilar	Ambiente (25 °C) / Fría (4 °C)	Acetato de etilo/metanol, acetato de etilo/agua, metanol/agua,	6	3–15 días	Evaporación lenta dentro del capilar; sin cristales definidos.

Método	Temperatura	Mezclas de disolventes	Cantidad de muestra (mg)	Duración aproximada	Observaciones generales
		metanol/acetona, acetato de etilo/acetona, acetona/agua			

3.4 Evaluación biológica

La evaluación biológica de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos se realizó mediante ensayos *in vitro* de actividad antibacteriana y antileishmania, integrando protocolos de terapia fotodinámica (PDT) para examinar el potencial fototóxico y selectivo de los compuestos frente a microorganismos patógenos.

Todos los procedimientos se desarrollaron bajo condiciones estériles, siguiendo las directrices del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2022) y las metodologías descritas por Espitia-Almeida et al. (Espitia-Almeida et al., 2016, 2019, 2020, 2021, 2023).

Las pruebas se realizaron en el Centro de Investigación en Ciencias de la Vida de la Universidad Simón Bolívar (Barranquilla, Colombia), y en el Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP) ubicado en el Parque Tecnológico Guatiguará (UIS), en cabina de bioseguridad tipo II, garantizando condiciones controladas de asepsia, temperatura y fotointensidad.

3.4.1 Protocolo antibacteriano (*in vitro*, PDT)

El estudio de la actividad antibacteriana de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos se desarrolló mediante el método de microdilución en caldo, siguiendo los lineamientos del CLSI (2022) y los protocolos reportados por Espitia-Almeida et al. (Espitia-Almeida et al., 2016, 2023) para evaluación fotodinámica de compuestos porfirínicos.

Los ensayos se realizaron frente a las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1705, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 6538.

El procedimiento general comprendió dos etapas principales: (a) activación y estandarización de las cepas bacterianas y (b) evaluación de la actividad antibacteriana con y sin irradiación luminosa.

a) Activación y estandarización de las cepas bacterianas

Las cepas se conservaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en caldo nutritivo con glicerol estéril (20 % v/v). Para su activación, se tomó una alícuota del inóculo madre de cada cepa con un asa estéril calibrada, se depositó en un tubo con 5 mL de caldo nutritivo. Las mezclas se incubaron a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ bajo agitación constante (180 rpm) durante 16–18 horas para permitir la recuperación y proliferación de las bacterias.

El crecimiento bacteriano se verificó midiendo la densidad óptica (DO) a 600 nm en un espectrofotómetro Multiskan SkyHigh (Thermo Scientific) frente a un blanco de caldo de cultivo.

Con el fin de estandarizar la fase de crecimiento, se ajustó la DO a 0.05 ± 0.01 mediante la ecuación de dilución:

$$V_1C_1 = V_2C_2$$

Donde C_1 es la DO del cultivo overnight, $C_2 = 0.05$ la densidad deseada y $V_2 = 5\text{ mL}$ el volumen final del inóculo.

Bajo estas condiciones, el inóculo de trabajo equivalió al patrón McFarland 0.5, correspondiente a 1.5×10^8 UFC/mL.

Para establecer la curva de crecimiento, los cultivos estandarizados se incubaron nuevamente a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, registrando la absorbancia a intervalos de 30 minutos hasta alcanzar la fase

estacionaria. Los datos se graficaron como DO_{600} vs. tiempo, identificando el punto medio de la fase exponencial de crecimiento, el cual se utilizó para los ensayos de actividad antibacteriana y para calcular los porcentajes de inhibición bacteriana en condiciones controladas.

b) Evaluación de la actividad antibacteriana (Terapia fotodinámica antimicrobiana)

La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó mediante ensayos de microdilución en caldo en placas estériles de 96 pozos.

Cada ensayo se preparó utilizando una solución madre de cada compuesto a 5000 μ M en DMSO, a partir de la cual se elaboró una solución de trabajo de 50 μ M en PBS 1X (*Phosphate Buffered Saline*, pH 7.0).

Las bacterias en plena fase exponencial se diluyeron hasta ajustar una DO de 0.05 en caldo nutritivo, obteniéndose el inóculo de trabajo. En cada pozo se adicionaron:

- 150 μ L de caldo nutritivo,
- 20 μ L de la solución del compuesto (5 μ M concentración final),
- 30 μ L del inóculo bacteriano.

Se incluyeron controles:

- Positivo: gentamicina y ampicilina a 40 μ g/mL,
- Negativo: DMSO 0.1 % (vehículo),
- Esterilidad: pozo con caldo sin inocular.

Una vez cargadas las placas, se dividieron en dos grupos experimentales:

1. Grupo PDT (irradiado): las placas se sometieron a irradiación con luz azul ($\lambda = 400 \pm 10$ nm) durante 1 hora, con una fluencia de 10–80 J/cm², seguida de incubación por 1 h a 37 °C.

2. Grupo control oscuro (no irradiado): se incubó a 37 °C durante 2 horas sin exposición a luz.

Finalizado el tratamiento, se determinó la actividad antibacteriana midiendo la absorbancia a 600 nm en el espectrofotómetro Multiskan SkyHigh.

El porcentaje de inhibición se calculó según la ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{DO_{CN} - DO_T}{DO_{CN}} \times 100$$

donde DO_{CN} corresponde a la densidad óptica del control negativo y DO_T a la del tratamiento.

A los compuestos con inhibición significativa (>50 % a 5 μM) se les determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (IMC) mediante ensayos en el rango 0–10 μM , aplicando la ecuación de Gompertz modificada con el software GraphPad Prism 9.3. Además, se calculó el Factor de fotoactivación (F.D.) para medir la efectividad fotodinámica, donde $\text{F.D.} \approx 1 \rightarrow$ La luz no cambia el efecto; $\text{F.D.} > 1 \rightarrow$ Hay fotoactivación; F.D. alto $\rightarrow$ Alta eficiencia fotodinámica.

3.4.2 Protocolo antileishmania (in vitro, PDT)

La evaluación de la actividad antileishmania de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos se llevó a cabo mediante ensayos *in vitro* frente a promastigotes de *Leishmania amazonensis*, siguiendo los lineamientos metodológicos descritos por Valdivieso et al., 2008 (Valdivieso et al., 2008), basados en la aplicación de terapia fotodinámica (PDT) con fotosensibilizadores porfirínicos.

a) Cultivo y mantenimiento de promastigotes

Se emplearon promastigotes de *Leishmania amazonensis*, cepa MHOM/BR/73/LV78 (LV78), mantenidos en cultivos seriados en medio Schneider's Drosophila (Sigma-Aldrich®),

suplementado con 10 % de suero fetal bovino (FBS), penicilina (100 U/mL) y estreptomicina (100 µg/mL).

Los cultivos se incubaron a 28 ± 1 °C en atmósfera estática, verificando el crecimiento y la movilidad de los promastigotes mediante observación microscópica de contraste de fases.

Los subcultivos se realizaron cada 3–4 días, utilizando alícuotas de 200 µL de cultivos manteniendo la fase logarítmica de crecimiento para inocular nuevos tubos con 5 mL de medio fresco.

b) Ensayo fotodinámico antileishmania

Los compuestos se prepararon como soluciones madre de 5 mM en DMSO, diluidas hasta una concentración de trabajo de 2.35 a 300 µM (contenido final de DMSO < 0.1 % v/v). En microplacas de 96 pozos se realizaron diluciones seriadas 1:3. Los promastigotes se ajustaron a una densidad de 1×10^6 cel/mL, según conteo en cámara de Neubauer, en medio Schneider libre de FBS.

Los ensayos se organizaron en cuatro grupos experimentales:

- Grupo PDT (irradiado): exposición a luz roja visible ($\lambda = 597\text{--}752$ nm, 17 J/cm², 60 min), más 48 horas de incubación.
- Grupo oscuro (sin irradiación): incubado en las mismas condiciones, pero protegido de la luz.
- Control fototóxico: protoporfirina IX (Sigma Aldrich, US).
- Control negativo: promastigotes sin tratamiento.

Las placas se incubaron 24 horas en oscuridad previa a la irradiación para favorecer la internalización del fotosensibilizador y posteriormente 48 horas a 28 °C tras el tratamiento. Cada concentración se montó por triplicado, más dos replicas biológicas.

c) Evaluación de viabilidad y análisis de datos

La viabilidad se determinó según la metodología descrita por Shimony & Jaffe, 2008 (Shimony & Jaffe, 2008) midiendo la capacidad de reducción de la resazurina aplicando 20 μ L de Alamar Blue, InvitrogenTM por pocillo. Se incubó por 4 horas a 28°C en oscuridad y se midió la intensidad fluorescente (IF) a 540 nm (excitación) y 590 nm (emisión) en un lector de microplacas Sinergy H1 (BioTek Instruments, Inc., VT, USA).

El porcentaje de inhibición de crecimiento se calculó como:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{IF_{CN} - IF_T}{IF_{CN}} \times 100$$

Donde IF_{CN} corresponde a la intensidad fluorescente del control negativo y IF_T a la de cada tratamiento.

Los valores de IC_{50} se determinaron por ajuste no lineal de regresión sigmoideal (modelo logístico de cuatro parámetros) utilizando el software GraphPad Prism 9.3.

Todos los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como promedio $\pm$ desviación estándar. Se calculó el índice de fotoirritación (P.I.) para evaluar seguridad y selectividad del fotosensibilizador teniendo en cuenta que, un P.I. $\approx 1 \rightarrow$ No hay efecto fotodinámico; P.I. $> 1 \rightarrow$ El compuesto es más tóxico con luz; P.I. $\geq 10 \rightarrow$ Buen fotosensibilizador para PDT; P.I. muy alto $\rightarrow$ Alta selectividad luz/oscuridad (deseable).

3.5 Estudios *in silico* de propiedades ADME y ADMET

Con el fin de obtener una estimación temprana del perfil farmacocinético y toxicológico de los derivados porfirínicos y del híbrido porfirina–ampicilina, se realizaron estudios *in silico* empleando las plataformas web SwissADME, ADMETlab 2.0 y Deep-PK.

SwissADME es una herramienta gratuita desarrollada en el marco del programa SwissDrugDesign que permite predecir, a partir de la estructura de pequeñas moléculas, propiedades fisicoquímicas, parámetros farmacocinéticos, filtros de *drug-likeness* y descriptores de “*medicinal chemistry friendliness*” (Daina et al., 2017). Las estructuras bidimensionales de los derivados TCPP-Éster, TCPP-GABA y del híbrido TCPP-Amp se dibujaron en ChemDraw®, y a partir de estos archivos se generaron los códigos SMILES canónicos que se utilizaron como entrada en los servidores.

En SwissADME se procesaron con éxito los ligandos libres TCPP-Éster y TCPP-GABA, así como la mayoría de sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), obteniéndose descriptores fisicoquímicos (peso molecular, logP, TPSA, número de aceptores y donadores de hidrógeno, enlaces rotables)(Daina et al., 2014), propiedades farmacocinéticas (absorción gastrointestinal, permeabilidad hematoencefálica, probabilidad de ser sustrato de la P-gp)(Daina & Zoete, 2016) y filtros clásicos de *drug-likeness* (reglas de Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge, entre otros) (Daina et al., 2017). Sin embargo, el código SMILES correspondiente al complejo de Sn(IV) del derivado TCPP-Éster no fue aceptado por SwissADME debido a la restricción del servidor a un máximo de 200 caracteres por línea de entrada, por lo que no se dispone de predicciones ADME para este complejo concreto.

En el caso del híbrido TCPP-Amp, no fue posible emplear SwissADME por la misma limitación: el código SMILES de TCPP-Amp excede el máximo de 200 caracteres por línea, de modo que la plataforma rechazó la molécula y no se obtuvieron predicciones ADME para este híbrido mediante SwissADME. Para solventar esta limitación se recurrió a la plataforma ADMETlab 2.0.

ADMETlab 2.0 es una plataforma integrada para la predicción exhaustiva de propiedades ADMET (absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad), que calcula de manera simultánea un amplio conjunto de parámetros fisicoquímicos, índices de química medicinal, *endpoints* de ADME y múltiples *endpoints* toxicológicos a partir de la estructura codificada en SMILES (J. Dong et al., 2018). En este trabajo se estimaron mediante ADMETlab 2.0 las propiedades de los ligandos libres TCPP-Éster, TCPP-GABA y del híbrido TCPP-Amp, introduciendo sus códigos SMILES en el formulario de entrada del servidor y generando informes que incluyen, entre otros, TPSA, logP, parámetros de absorción (HIA, permeabilidad Caco-2/MDCK), distribución (unión a proteínas plasmáticas), así como probabilidades de hepatotoxicidad, riesgo de lesión hepática inducida por fármacos (DILI), inhibición de hERG, mutagenicidad tipo Ames, carcinogenicidad y presencia de fragmentos de alerta estructural.

No obstante, ADMETlab 2.0 está optimizado para moléculas orgánicas neutras o con metales implícitos y presentó errores de “SMILES no válido” al intentar procesar los complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) de los derivados TCPP-Éster y TCPP-GABA, incluyendo de nuevo el complejo Sn(IV)-TCPP-Éster. En consecuencia, las predicciones de ADMETlab 2.0 se limitaron a los ligandos libres TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp, mientras que las propiedades ADME de los complejos metálicos solo pudieron discutirse a partir de los resultados de SwissADME obtenidos para aquellos complejos cuyo SMILES fue aceptado por esta plataforma.

De forma complementaria, se utilizó Deep-PK, una plataforma *web* basada en aprendizaje profundo para la predicción, análisis y optimización de propiedades farmacocinéticas y toxicológicas de pequeñas moléculas. Deep-PK implementa redes neuronales de grafos (D-MPNN) entrenadas sobre un conjunto curado de datos experimentales para 73 *endpoints* (64

ADMET y 9 propiedades generales), integrando información procedente de métodos de referencia como ADMETlab 2.0, pkCSM y toxCSM (Myung et al., 2024). El servidor recibe como entrada SMILES individuales o ficheros de SMILES/SDF y, tras un proceso de canonización y “sanitización” de las estructuras (incluyendo estandarización de valencias, eliminación de moléculas con pesos moleculares ≥ 2000 y corrección de errores de conectividad), genera predicciones de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad, junto con medidas de confianza del modelo.

En este trabajo, los códigos SMILES generados en ChemDraw® para TCPP–Éster, TCPP–GABA y TCPP–Amp se introdujeron en Deep-PK para obtener un subconjunto representativo de predictores ADMET (absorción: permeabilidad Caco-2 y MDCK, HIA, biodisponibilidad oral; distribución: BBB, unión a proteínas plasmáticas, fracción libre y volumen de distribución; metabolismo: sustrato/inhibición de isoenzimas CYP; excreción: aclaramiento total y semivida de eliminación; toxicidad: Ames, DILI, hepatotoxicidad, inhibición de hERG y activación de receptores nucleares y vías de respuesta al estrés celular), seleccionados según la relevancia para el perfil farmacológico de los derivados porfirínicos. Los resultados se descargaron en formato tabular desde la página de resultados de predicción y se emplearon para complementar y contrastar las predicciones obtenidas con ADMETlab 2.0.

Al igual que ADMETlab 2.0, Deep-PK está diseñado principalmente para moléculas orgánicas sin metales explícitos, y su etapa interna de canonización/sanitización conduce al descarte de estructuras con valencias metálicas no estándar o pesos moleculares muy elevados (Myung et al., 2024). Como consecuencia, los complejos de estaño derivados de TCPP–Éster y TCPP–GABA no superaron el preprocesamiento y fueron rechazados por el servidor, por lo que no se dispone de predicciones de Deep-PK para los complejos de Sn(IV). Las predicciones de

Deep-PK se limitaron, por tanto, a los ligandos libres TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp, y se utilizaron de manera complementaria a las de ADMETlab 2.0 para reforzar el análisis del perfil ADME y toxicológico de la serie.

Todos los resultados *in silico* se exportaron en formato de tabla y PDF/CSV, y se emplearon para elaborar tablas resumen comparativas entre la serie de compuestos. Los informes completos de SwissADME, ADMETlab 2.0 y Deep-PK se incluyen en los Apéndices para su consulta detallada.

4. Resultados y Discusión

El presente capítulo reúne y discute de manera integrada los resultados obtenidos durante la síntesis, purificación, caracterización y metalación de los derivados porfirínicos híbridos desarrollados en este trabajo, así como la evaluación estructural y fisicoquímica de sus complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). El análisis se fundamenta en un conjunto de técnicas espectroscópicas e instrumentales complementarias —FTIR, UV–Vis, RMN, MALDI–TOF, XPS, DRX y análisis térmico— que permiten establecer, con base en diferentes escalas de resolución molecular, la evolución electrónica del macrociclo tetrapirrólico desde la TCPP precursora hasta los sistemas funcionalizados y metalados.

La caracterización se aborda siguiendo una progresión lógica: primero se examinan los cambios estructurales asociados a las etapas de funcionalización (esterificación, amidación con GABA y acoplamiento con ampicilina), evaluando la eficiencia sintética, la estabilidad de los intermediarios y la conservación del núcleo porfirínico. Posteriormente, se analiza la coordinación de los metales en términos de reorganización electrónica, variaciones espectrales diagnósticas y modificaciones en los desplazamientos químicos y energías de enlace, relacionando estos cambios con el campo ligando, la polarizabilidad metálica y la naturaleza de los sustituyentes periféricos.

Los resultados espectroscópicos permiten establecer correlaciones internas robustas entre las distintas técnicas: la desaparición de los protones N–H en RMN, los desplazamientos batocrómicos sistemáticos en UV–Vis, la aparición de modos vibracionales M–N en FTIR y las variaciones en los niveles N 1s en XPS constituyen evidencia convergente de metalación efectiva. A ello se suman los análisis MALDI–TOF, que confirman las masas moleculares esperadas para cada derivado e híbrido, y las mediciones de DRX y DSC/TGA, que aportan información clave

sobre el grado de orden estructural, la naturaleza amorfa de los sólidos y las transiciones térmicas asociadas a los complejos formados.

De manera general, este capítulo demuestra que la estrategia sintética adoptada permite obtener derivados porfirínicos altamente funcionalizados y metaloporfirinas estables, con modificaciones electrónicas y estructurales controladas tanto por el tipo de metal coordinado como por la naturaleza química del sustituyente periférico. La consistencia entre las técnicas analíticas empleadas refuerza la validez de las conclusiones estructurales y proporciona una base sólida para la posterior evaluación biológica de los compuestos, presentada en el Capítulo 5.

4.1 Introducción general y observaciones experimentales

La caracterización estructural de los compuestos sintetizados se fundamentó en el análisis de las propiedades espectroscópicas y fisicoquímicas, abarcando una serie de derivados porfirínicos obtenidos a partir de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina (TCPP), sus híbridos funcionalizados y los correspondientes complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). El estudio permitió evaluar la eficiencia de las etapas de activación, acoplamiento y coordinación metálica, así como la estabilidad y reproducibilidad de los materiales frente a diferentes condiciones experimentales.

El diseño sintético se basó en la TCPP como núcleo macrocíclico precursor, que fue funcionalizado mediante reacciones sucesivas de esterificación y amidación, siguiendo estrategias de acoplamiento carbodiimídico ampliamente reportadas para sistemas porfirínicos (Y. Dong et al., 2024; El Abiad et al., 2023; Kadish et al., 2013). Posteriormente, la obtención de los complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) permitió analizar el efecto del centro metálico sobre la estructura electrónica del macrociclo y su comportamiento espectroscópico.

- Síntesis de la TCPP

La TCPP se obtuvo siguiendo el método clásico de Adler–Longo (Adler et al., 1967), con una modificación relevante: no se empleó agente oxidante externo, utilizando el oxígeno atmosférico como oxidante natural. Esta modificación, reportada por Lindsey (2010) y Ahmadi et al. (2015), permitió reducir la formación de subproductos oxidados y mejorar la calidad del material final (Ahmadi et al., 2015; Lindsey, 2010).

Durante la condensación del ácido 4-formilbenzoico con pirrol en ácido propiónico, la solución adquirió una coloración negra intensa, indicativa de la formación del intermedio porfirinógeno. El enfriamiento controlado al finalizar la reacción fue esencial para obtener cristales de mayor tamaño, facilitando la filtración. En ausencia de enfriamiento, el producto precipita como un polvo microcristalino difícil de manejar.

El lavado con ácido propiónico frío y metanol eliminó las trazas de disolvente y permitió recuperar un polvo púrpura intenso, con rendimientos de 69 %. Este comportamiento coincide con las observaciones de Oliveira et al. (2011), quienes subrayan la importancia del enfriamiento gradual y del lavado exhaustivo para obtener porfirinas con pureza espectroscópica adecuada (V. E. De Oliveira et al., 2011).

- Esterificación y activación carbodiimídica de la TCPP

La conversión de los grupos carboxilo terminales en ésteres activados se llevó a cabo mediante agentes de acoplamiento tipo carbodiimida, evaluando DCC, EDC libre, DIC y EDC·HCl/NHS en medio anhidro (THF). El objetivo fue comparar la eficiencia y estabilidad de los intermediarios formados durante la activación del ácido carboxílico de la TCPP y optimizar las condiciones para su posterior amidación. Los resultados experimentales mostraron diferencias significativas entre los agentes probados:

- El uso de DCC produjo rendimientos moderados (40–50 %), con la formación de subproductos insolubles (ureas) dificultando la purificación.
- La reacción con EDC libre mostró una rápida descomposición en medio húmedo, con rendimientos inferiores al 20 %.
- Con DIC, se logró una buena conversión (60–70 %), pero se observaron pérdidas elevadas del producto durante la purificación debido a su alta solubilidad.
- Finalmente, EDC·HCl en presencia de NHS ofreció los mejores resultados (75–80 %), purificación sencilla y eliminación eficiente de subproductos.

En general, la eficiencia del proceso de esterificación depende de la estabilidad del intermedio O-acilisourea y de su competencia con reacciones de descomposición o reordenamiento hacia N-acilureas, que conducen a productos inactivos.

En el caso de DCC, el rendimiento limitado y la aparición de subproductos insolubles (ureas) se explican por la formación y reordenamiento del intermedio O-acilisourea, que puede transformarse en N-acilurea estable e inerte, disminuyendo la conversión global. Este efecto ha sido descrito ampliamente en sistemas porfirínicos, diversos autores resaltan la propensión del DCC a formar N-acilureas incluso bajo condiciones controladas (Hiroto et al., 2017). Lindsey (2010) también señaló que las reacciones mediadas por DCC tienden a generar materiales difíciles de purificar debido a la coprecipitación de dicitclohexilurea (DCU), que arrastra parte del producto deseado (Lindsey, 2010).

La autodegradación observada con EDC libre se debe a la hidrólisis espontánea del intermedio O-acilisourea en presencia de trazas de agua, debido a que la estabilidad de este intermediario es muy limitada en medios ligeramente húmedos (Wigman et al., 2014). Por ello, el

uso de EDC libre sin co-activador suele resultar en conversiones bajas, en especial en sistemas poco solubles.

El comportamiento de DIC fue más favorable, ya que evitó la formación del sólido DCU, aunque persistió la pérdida de material por solubilidad. Estos resultados se deben a que los acoplamientos mediados por DIC en matrices aromáticas rígidas tienden a producir agregados o geles coloidales, dificultando la recuperación cuantitativa del producto (Tsakos et al., 2015).

Por último, los rendimientos superiores alcanzados con EDC·HCl/NHS confirman que la formación del intermedio éster NHS proporciona una vía más estable y selectiva para la activación del ácido carboxílico, minimizando la formación de N-acilureas y facilitando el acoplamiento con nucleófilos. Este mecanismo ha sido ampliamente utilizado en la síntesis de híbridos porfirínicos obtenidos mediante EDC/NHS, se ha observado que la purificación es más sencilla y el producto presenta alta estabilidad, además se destaca la eficacia de este sistema en la conjugación de porfirinas con antibióticos, resaltando su resistencia a la hidrólisis (Y. Dong et al., 2024; El Abiad et al., 2023; Varvarà et al., 2023).

La reproducibilidad, purificación y estabilidad del TCPP-Éster obtenido confirman la eficacia del sistema EDC·HCl/NHS para la activación de porfirinas carboxiladas, siendo esta condición la más adecuada para procesos posteriores de amidación e hibridación funcional (El Abiad et al., 2023).

- Amidación con GABA y formación del derivado TCPP-GABA

La amidación del TCPP-Éster con ácido γ -aminobutírico (GABA) se realizó en presencia de N,N-diisopropiletilamina (DIEA) como base de Schiff y catalizador. Se evaluaron aminoácidos de diferente longitud —glicina, β -alanina y GABA— con el fin de modular la flexibilidad del enlace espaciador. Los derivados con glicina y β -alanina presentaron rendimientos intermedios

(50–60 %) y trazas de aminoácido sin reaccionar, mientras que el uso de GABA condujo a un producto café oscuro, limpio y reproducible, con rendimientos del 75–80 %.

La elección del GABA se basó en su mayor reactividad y facilidad de purificación. Estos resultados coinciden con Giannoudis et al. (2020), quienes reportaron que el acoplamiento de GABA favorece la formación de enlaces amida estables y mejora la estabilidad térmica y química (Giannoudis et al., 2020).

Durante la reacción se observó un cambio progresivo de color de vino oscuro a marrón, asociado a la pérdida de simetría del macrociclo y al incremento de conjugación electrónica. La solubilidad disminuyó notablemente en disolventes orgánicos, siendo el metanol el medio más adecuado para las etapas de lavado y purificación.

- Síntesis del híbrido porfirina–ampicilina (TCPP-Amp)

El híbrido TCPP-Amp se obtuvo a partir del TCPP-GABA mediante una secuencia doble de activación y acoplamiento en THF anhidro, bajo atmósfera inerte. La ampicilina anhidra se molturó previamente para mejorar su dispersión y evitar la formación de agregados insolubles. Esta etapa fue particularmente sensible, ya que el antibiótico tiende a degradarse por hidrólisis o apertura del anillo β -lactámico a temperaturas superiores a 40 °C (Tipper & Strominger, 1965; Turner et al., 2022; Z. Wang, 2023).

El control estricto de la temperatura, la atmósfera y el pH fue esencial para preservar la integridad del antibiótico y promover la formación del enlace amida entre el grupo carboxilo del TCPP-GABA y la amina de la ampicilina. El producto se aisló como un polvo marrón-amarillento, fino y adherente, con fuerte adsorción sobre la sílice durante la purificación, fenómeno también reportado por Varvarà et al. (2023) en conjugados de ampicilina-péptido (Varvarà et al., 2023). La purificación mediante lavados sucesivos con etanol y diclorometano, seguida de secado al vacío,

permitió eliminar completamente los residuos de ampicilina que no reaccionó. El rendimiento final se situó entre 50–60 %.

Este híbrido representa una estructura compleja donde la funcionalización amídica preserva la integridad del núcleo tetrapirrólico y confiere al conjunto una alta polaridad, coherente con su baja solubilidad en disolventes orgánicos y con las modificaciones electrónicas observadas en sus espectros UV-Vis y FTIR, las cuales serán discutidas en las secciones siguientes.

- Reacciones de metalación

La coordinación de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) sobre los derivados TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp se optimizó bajo reflujo controlado, ya que los ensayos a temperatura ambiente o con calentamiento suave no condujeron a conversión completa —salvo para el Zn(II), cuya inserción fue posible tanto a temperatura ambiente como en reflujo. En términos generales, Zn(II) mostró la cinética más favorable (≈ 6 h a r. t. o 2–3 h en reflujo, DMF), mientras que Ni(II) y Sn(IV) requirieron reflujos prolongados (15–19 h) para alcanzar la inserción total. Este comportamiento coincide con la mayor labilidad de Zn(II) en entornos tetrapirrólicos y con la baja labilidad/alta demanda de polaridad de Sn(IV) para consolidar la coordinación, tal como se ha documentado para metaloporfirinas análogas (V. E. De Oliveira et al., 2011; Li et al., 2022; Rafiee et al., 2024; L. Wang et al., 2024).

Los resultados experimentales evidencian que la eficiencia de la metalación y la pureza de los complejos dependen significativamente de tres factores interrelacionados:

1. la naturaleza del metal y su radio iónico,
2. la labilidad del anión acompañante,
3. la polaridad y capacidad coordinante del disolvente.

Zinc (Zn^{2+}). El Zn(II) fue el metal más reactivo y versátil en la serie. Su inserción en el núcleo porfirínico se completó rápidamente en DMF (110 °C, 2–3 h) con ZnCl_2 y $\text{Zn}(\text{OAc})_2$, alcanzando rendimientos de 88–90 %, y también fue posible en metanol (60 °C, 4–6 h) con ligeras disminuciones (84–87 %).

Los ensayos mostraron que la mayor polaridad del DMF acelera la inserción del Zn^{2+} al estabilizar los intermedios metal-pirrólicos, mientras que el metanol promueve una coordinación más lenta. Comparativamente, el acetato tendió a generar productos de color más intenso y pureza superior, probablemente por su comportamiento menos coordinante que el cloruro, lo cual minimiza la competencia entre el anión y los nitrogenados pirrólicos. El cloruro, en cambio, ofreció una inserción ligeramente más rápida y mayor reproducibilidad, aunque con productos algo más sensibles a la hidrólisis.

Este comportamiento coincide con la elevada afinidad de Zn(II) por ligandos tetrapirrólicos y su tendencia a formar complejos planos de alta estabilidad termodinámica (V. E. De Oliveira et al., 2011; Giannoudis et al., 2020). En todas las variantes (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) los rendimientos superaron el 85 %, confirmando la eficiencia cinética del Zn(II) y la flexibilidad del sistema frente al disolvente.

Níquel (Ni^{2+}). El Ni(II) mostró una cinética marcadamente más lenta y dependiente del disolvente. Los mejores resultados se obtuvieron en etanol bajo reflujo prolongado (70 °C, 17–20 h), con rendimientos entre 80 y 86 %. En esta condición, las sales NiCl_2 y $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ se comportaron de manera óptima, proporcionando sólidos de color verde oliva–verde intenso y buena estabilidad térmica.

El uso de NiSO_4 en metanol produjo conversiones más bajas (72–77 %), atribuibles a la baja solubilidad del sulfato y a la menor labilidad del anión en medios polares, lo que dificulta la transferencia del catión al centro porfirínico.

En contraste, los ensayos con DMF (110 °C) condujeron a productos similares, pero con rendimientos ligeramente inferiores (≈ 83 %), evidenciando que los alcoholes ofrecen un entorno más favorable para la coordinación del Ni^{2+} .

Estos resultados coinciden con lo observado por Oliveira et al. (2011) y Wang et al. (2024), quienes reportan que los complejos de Ni(II) requieren medios protónicos o polares para promover la desolvatación del catión y permitir la inserción en el plano del macrociclo.

En los derivados más polares (TCPP-GABA y TCPP-Amp), la coordinación fue igualmente efectiva, aunque el reflujo prolongado fue indispensable para evitar complejos intermedios parcialmente coordinados.

Estaño ($\text{Sn}^{2+}/\text{Sn}^{4+}$). El estaño presentó el comportamiento más exigente y dependiente del medio. Aunque las reacciones en piridina (80 °C, 6–8 h) y cloroformo (55 °C, 16–18 h) permitieron observar cierta coordinación, la purificación fue problemática, debido a la fuerte interacción del complejo con el disolvente y la tendencia del estaño a formar oligómeros coloidales. En ambas condiciones, los rendimientos fueron moderados (70–72 %), y la recristalización resultó difícil.

La metalación se logró con éxito y reproducibilidad únicamente en DMF anhidro (110 °C, 14–19 h) utilizando SnCl_2 o $\text{Sn(NO}_3)_2$, alcanzando rendimientos entre 75 y 85 % y obteniendo sólidos marrón-violáceos de textura fina y baja solubilidad. El DMF, de alto momento dipolar y gran poder coordinante, favorece la estabilización del catión Sn^{2+} intermedio y su oxidación parcial a Sn^{4+} durante la inserción, proceso común en complejos de estaño con ligandos tetrapirrólicos (Li et al., 2022; Rafiee et al., 2024).

En comparación, el uso de piridina o cloroformo generó productos incompletamente coordinados, lo que sugiere que la polaridad y coordinación del disolvente son determinantes para superar la barrera cinética de inserción. El SnCl_2 ofreció los mejores rendimientos y mayor estabilidad del producto, mientras que el nitrato condujo a conversiones ligeramente menores, probablemente por competencia del anión nitrato en la esfera de coordinación.

Tabla 9

Rendimientos, condiciones de reacción y observaciones cualitativas en la obtención de los derivados de TCPP y sus complejos metálicos.

Compuesto	Disolvente principal	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (h)	Reactivo sal metálica empleada	Rendimiento (%)	Observaciones experimentales
TCPP	Ácido propiónico	Reflujo (~140)	3 – 4	Oxígeno atmosférico (sin oxidante)	65 – 70	Método Adler–Longo modificado; enfriamiento esencial para cristalización; sólido púrpura microcristalino.
TCPP-Éster	THF anhidro	25 ± 1	24 – 48	EDC·HCl / NHS	/ 75 – 80	Activación carbodiimida eficiente; color vino oscuro; purificación sencilla; rendimiento y reproducibilidad altos.
TCPP-GABA	THF anhidro	25 ± 1	48 – 96	DIEA / GABA	/ 75 – 80	Amidación reproducible; el GABA mostró mejor solubilidad que glicina o β-alanina; color café rojizo; ligera disminución de solubilidad.
TCPP-Amp	THF anhidro	25 ± 1	48 – 96	EDC·HCl / NHS / DIEA / ampicilina anhidra	/ 50 – 60	Reacción sensible a temperatura; la ampicilina se molturó para mejorar solubilidad; adsorción en sílice durante purificación; polvo café-

Compuesto	Disolvente principal	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (h)	Reactivo sal metálica empleada	Rendimiento (%)	Observaciones experimentales
Zn(II)-TCPP-Éster	DMF	Reflujo (110)	2 – 3	ZnCl ₂ Zn(OAc) ₂	88 – 90	amarillo, fino y adherente. Reacción rápida y completa; color rojo vino; formación reproducible tanto a temperatura ambiente (6 h) como en reflujo (2–3 h).
Ni(II)-TCPP-Éster	Etanol	Reflujo (70)	15 – 20	Ni(NO ₃) ₂ NiCl ₂ ·6H ₂ O	75 – 86	Coordinación lenta; reflujo prolongado necesario; color verde pardo; producto sólido y estable.
Sn(IV)-TCPP-Éster	DMF anhidro	Reflujo (110)	14 – 15	SnCl ₂ ·2H ₂ O Sn(NO ₃) ₂	75 – 80	Coordinación difícil; DMF permitió formación completa; color marrón verdoso.
Zn(II)-TCPP-GABA	DMF	Reflujo (110)	2 – 3	ZnCl ₂ Zn(OAc) ₂	88 – 89	Complejo vino oscuro; inserción metálica rápida; purificación sencilla; buena estabilidad; ligera disminución de solubilidad respecto al precursor.
Ni(II)-TCPP-GABA	Etanol	Reflujo (70)	15 – 20	Ni(NO ₃) ₂ NiCl ₂ ·6H ₂ O	78 – 82	Complejo verde intenso; coordinación completa tras reflujo prolongado; producto estable pero poco soluble; recuperación fácil.
Sn(IV)-TCPP-GABA	DMF anhidro	Reflujo (110)	16 – 19	SnCl ₂ ·2H ₂ O Sn(NO ₃) ₂	78 – 85	Formación reproducible solo en DMF; complejo marrón oscuro; baja solubilidad y textura amorfa.
Zn(II)-TCPP-Amp	DMF	Reflujo (110)	2 – 3	ZnCl ₂ Zn(OAc) ₂	87 – 89	Complejo rojo-violáceo; coordinación completa; purificación sencilla; buena estabilidad térmica.
Ni(II)-TCPP-Amp	Etanol	Reflujo (70)	17 – 20	Ni(NO ₃) ₂ NiCl ₂ ·6H ₂ O	81 – 83	Complejo verde-oliva; baja solubilidad;

Compuesto	Disolvente principal	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (h)	Reactivo sal metálica empleada	Rendimiento (%)	Observaciones experimentales
Sn(IV)-TCPP-Amp	DMF anhidro	Reflujo (110)	18 – 19	SnCl ₂ ·2H ₂ O Sn(NO ₃) ₂	76 – 84	formación reproducible con reflujo prolongado; sólido fino y estable. Complejo marrón-verdoso; coordinación reproducible solo en DMF; baja solubilidad; secado lento y cuidadoso.

- Ensayos de recrystalización y purificación

Tras la obtención de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos, se realizaron diversos ensayos de recrystalización con el objetivo de mejorar la pureza espectroscópica, eliminar residuos de reactivos y disolventes, y obtener materiales con características morfológicas más homogéneas.

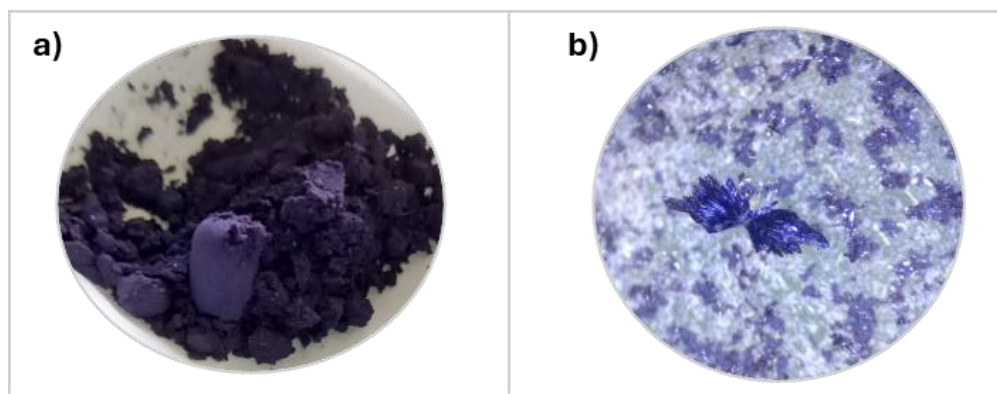
Se aplicaron los métodos de evaporación lenta, capa de disolvente, difusión de vapor y método capilar, de acuerdo con lo descrito en la Sección 3.3.8. Aunque ninguno permitió la obtención de monocristales aptos para difracción de rayos X de monocristal (SCXRD), todos contribuyeron a mejorar la pureza y estabilidad de los sólidos (Bernstein, 2002; Stout, 1989). La recrystalización constituyó una etapa crucial para garantizar la fiabilidad de los análisis espectroscópicos posteriores (FTIR, UV-Vis, RMN, XPS y MALDI-TOF), especialmente considerando la elevada polaridad y baja solubilidad de varios de los compuestos obtenidos.

La TCPP libre se recrystalizó desde DMF caliente, con adición de agua fría como agente precipitante. El enfriamiento lento permitió formar cristales pequeños de color púrpura brillante, mientras que el enfriamiento rápido generó sólidos amorfos difíciles de filtrar. Al microscopio se observaron cristales laminares dispersos, sin capacidad difractante, confirmando una estructura

parcialmente amorfa (Figura 40b). Este comportamiento coincide con lo reportado por Ahmadi et al. (2015), donde la TCPP sintetizada en ácido propiónico tiende a formar estructuras microcristalinas con ordenamiento incompleto.

Figura 40

(a) Polvo microcristalino de TCPP obtenido tras la síntesis. (b) Imagen microscópica del material recrystalizado, donde se observan cristales laminares dispersos y zonas amorfas no difractantes.



En el caso de los derivados TCPP-Éster y TCPP-GABA, la recrystalización se realizó mediante mezclas binarias de metanol-agua (9:1) y etanol-éter etílico (8:2), respectivamente. El TCPP-Éster presentó una buena solubilidad en metanol caliente, permitiendo una cristalización controlada al enfriar a temperatura ambiente, con formación de agregados microcristalinos homogéneos de color vino oscuro. El TCPP-GABA, en cambio, mostró una solubilidad limitada incluso en caliente, lo que obligó a utilizar volúmenes mínimos de disolvente y tiempos de enfriamiento prolongados. La lenta evaporación del metanol permitió obtener un sólido pardo rojizo uniforme, cuya pureza se confirmó mediante la reducción de señales residuales de disolvente en los espectros de FTIR y ^1H RMN.

El híbrido TCPP-Amp requirió un enfoque distinto debido a su elevada polaridad y tendencia a la agregación. Se ensayaron sistemas de disolventes mixtos, entre ellos DMF-agua (7:3), metanol-acetona (1:1) y metanol-éter etílico (9:1). Solo el primero permitió una

recristalización parcial, pero con pérdidas significativas de material por adherencia del sólido a las paredes del recipiente. En consecuencia, se adoptó una purificación alternativa basada en lavados sucesivos con metanol y diclorometano, seguida de secado al vacío a 40 °C, procedimiento que resultó más eficiente para eliminar restos de ampicilina y carbodiimida sin comprometer la integridad del híbrido. Este tipo de tratamiento post-sintético ha sido recomendado en sistemas híbridos de porfirinas, donde la polaridad desigual de las porciones orgánica e inorgánica dificulta la cristalización ordenada (Varvarà et al., 2023).

Para los complejos metálicos, la recristalización se realizó únicamente cuando la solubilidad lo permitía, ya que la mayoría de los complejos —particularmente los derivados de TCPP-Amp— presentaron una solubilidad muy baja en disolventes orgánicos. Los complejos de Zn(II), tanto del TCPP-Éster como del TCPP-GABA, pudieron recristalizarse a partir de DMF caliente, seguido de adición lenta de éter etílico. Este procedimiento condujo a sólidos rojo oscuro de apariencia uniforme, con eliminación completa del disolvente de reacción. Por el contrario, los complejos de Ni(II) y Sn(IV) no fueron recristalizables sin pérdida significativa de masa, por lo que se optó por lavados con etanol frío o DMF anhidro para remover residuos iónicos o subproductos no coordinados.

En todos los casos, los sólidos recristalizados mostraron mejor definición espectroscópica —particularmente en las regiones de absorción Soret y Q del UV-Vis— y una reducción notable de las bandas asociadas a trazas de disolventes. Este resultado confirma la eficiencia del procedimiento de purificación y la estabilidad térmica de los compuestos obtenidos.

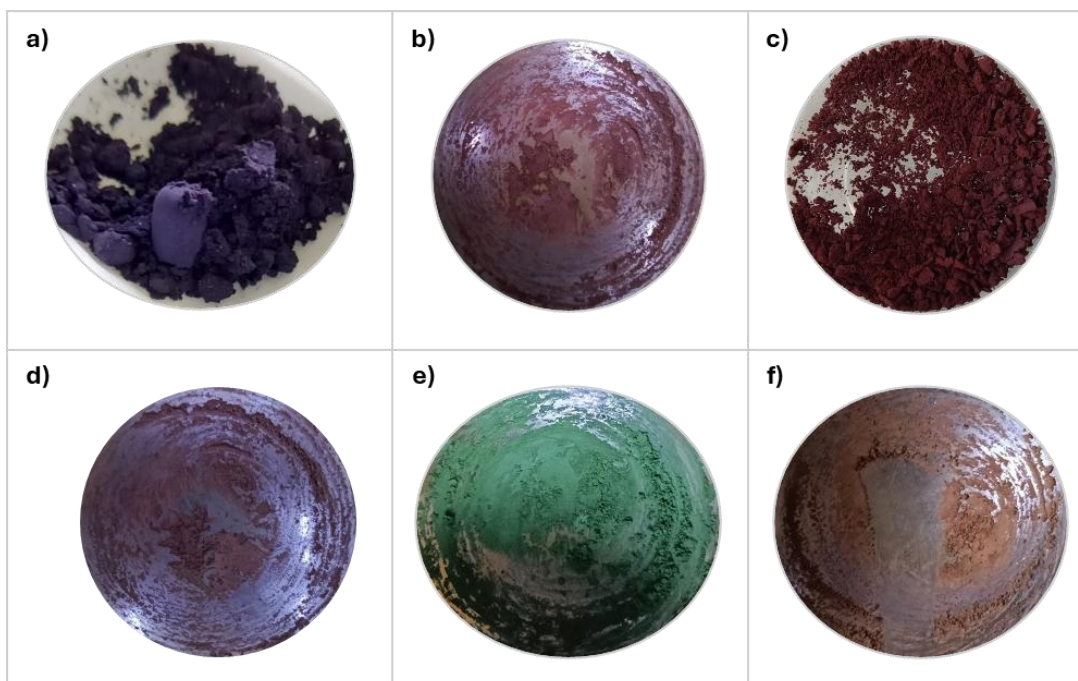
- Descripción morfológica y evidencias visuales

Durante la recristalización de la TCPP, se obtuvo un sólido púrpura microcristalino (Figura 40a), con presencia de cristales laminares dispersos observados al microscopio óptico (Figura 40b). Estos cristales no presentaron difracción, confirmando la naturaleza amorfa del material.

Las Figura 41 a–f muestran las diferencias visuales observadas entre los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos. Se aprecia una progresión cromática desde el púrpura de la TCPP libre (Figura 41a), pasando por el vino oscuro del éster (Figura 41b), y la TCPP-GABA un color marrón-rojizo (Figura 41c). Posteriormente, los productos metálicos exhibieron los colores característicos de los complejos porfirínicos rojo vino intenso para Zn(II) (Figura 41d), verde para Ni(II) (Figura 41e) y marrón violáceo para Sn(IV) (Figura 41f). Las imágenes reflejan los cambios en la conjugación electrónica y la simetría del macrociclo, coherentes con los desplazamientos espectroscópicos que se discutirán en las secciones siguientes.

Figura 41

Variación cromática de los derivados porfirínicos durante la síntesis y la metalación: (a) TCPP libre (púrpura). (b) TCPP-Éster (vino oscuro). (c) TCPP-GABA (marrón-rojizo). (d) Complejo Zn(II)-TCPP-Éster (vino). (e) Complejo Ni(II)-TCPP-GABA (verde). (f) Complejo Sn(IV)-TCPP-Amp (marrón violáceo).



4.2 Análisis espectroscópico, difractométrico y térmico

La caracterización estructural de los derivados porfirínicos sintetizados y de sus complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) requiere un enfoque multidimensional que permita examinar, desde diferentes escalas energéticas y espaciales, la evolución electrónica y conformacional del macrociclo tetrapirrólico. En esta sección se integran los resultados obtenidos mediante espectroscopías FTIR, UV–Vis, RMN y XPS, así como los análisis de difracción de rayos X (DRX) y calorimetría diferencial de barrido (DSC), con el fin de establecer la relación directa entre las transformaciones químicas, los patrones vibracionales y electrónicos, y las propiedades fisico-estructurales de los sólidos obtenidos.

Las técnicas espectroscópicas permiten evaluar con detalle los cambios en los modos vibracionales clave, la deslocalización electrónica, los desplazamientos químicos y la reorganización de los estados de enlace en función del tipo de sustituyente y del metal coordinado. Así, FTIR ofrece evidencia vibracional de la formación de enlaces éster y amida, de la desprotonación del núcleo pirrólico y de la aparición de modos M–N característicos; UV–Vis revela las modificaciones en el sistema π conjugado y los efectos del campo ligando a través de los corrimientos de las bandas Soret y Q; RMN proporciona información local sobre la simetría y anisotropía magnética del macrociclo, y XPS permite evaluar la naturaleza electrónica superficial, las energías de enlace y los estados de oxidación metálicos.

Por su parte, el análisis difractométrico complementa la caracterización espectroscópica al mostrar el grado de orden estructural de los derivados y complejos. Mientras que la mayoría de los materiales exhiben patrones predominantemente amorfos, la recristalización del intermedio TCPP-Éster permite obtener un difractograma parcialmente definido, útil para examinar la posible

organización supramolecular del macrociclo. Finalmente, la calorimetría diferencial de barrido aporta información termodinámica relevante sobre las transiciones sólido–sólido y los eventos endotérmicos asociados a la estabilización térmica después de la metalación.

4.2.1 Confirmación estructural de los compuestos (FTIR, RMN y MALDI-TOF)

Análisis FTIR

Los espectros infrarrojos de los compuestos sintetizados evidencian las transformaciones estructurales esperados a lo largo de cada etapa de funcionalización hasta la obtención del híbrido porfirina-ampicilina (Figura 42).

En la TCPP libre, se observan las bandas amplias en el rango $2700\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$, correspondientes al estiramiento O–H de los grupos carboxílicos terminales, junto con la banda intensa a 1692 cm^{-1} correspondiente al modo $\nu(\text{C}=\text{O})$ ácido, además de señales en 1605 cm^{-1} (C=C aromático) y 1247 cm^{-1} (C–O) propias del macrociclo (Figura 42). Este patrón es característico de las porfirinas carboxiladas libres de metal (Ahmadi et al., 2015; V. E. De Oliveira et al., 2011).

Tras la activación de los grupos carboxilo para formar el TCPP-Éster, emergen dos bandas nuevas a 1801 y 1768 cm^{-1} , asociadas al estiramiento asimétrico y simétrico del grupo imida (N-succinimida), mientras que la banda del C=O del ácido desaparece, confirmando la conversión a éster activo. Adicionalmente, aparece la señal a 1737 cm^{-1} correspondiente al C=O del enlace éster y se mantiene la absorción aromática en 1603 cm^{-1} . Estas características son consistentes con la activación carbodiimídica observada en sistemas porfirínicos análogos funcionalizados (El Abiad et al., 2023).

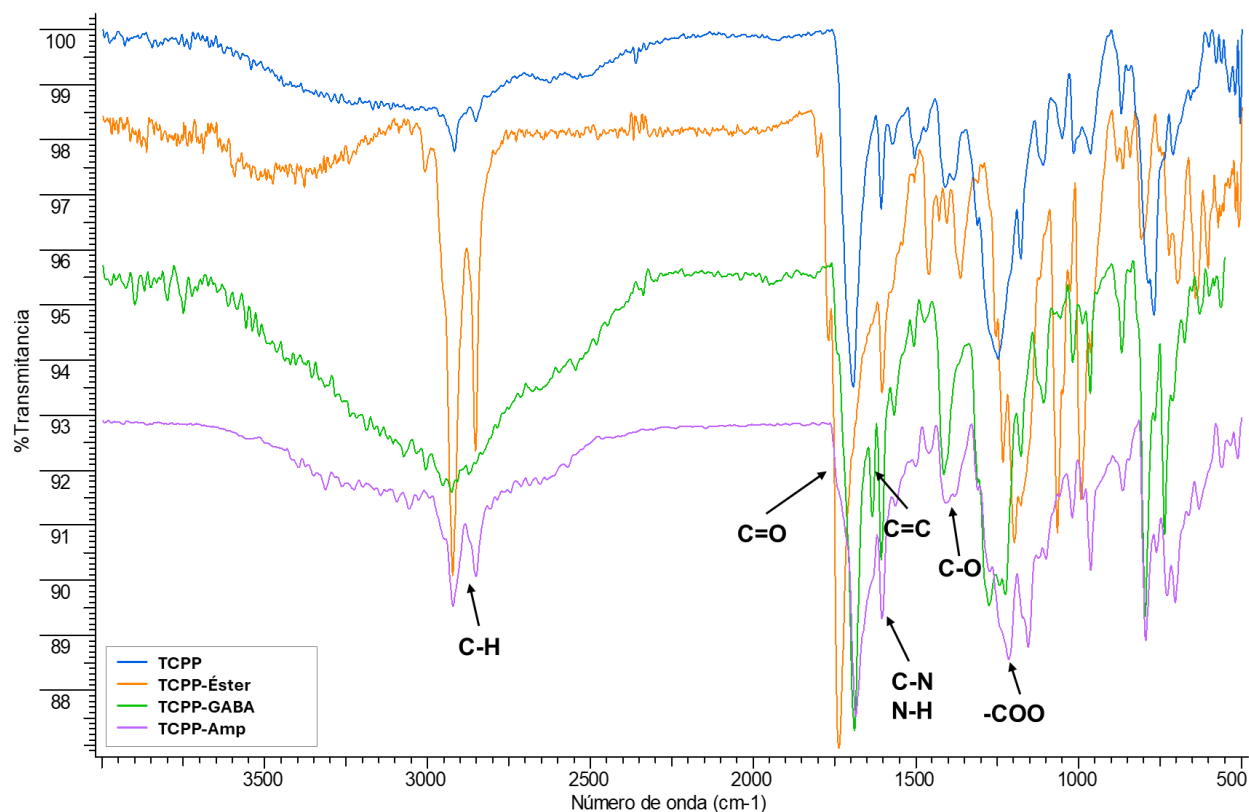
En el TCPP-GABA, se identifica la aparición de una banda intensa a 1687 cm^{-1} , atribuida al estiramiento del C=O de la amida, y la desaparición simultánea de las señales del grupo éster,

indicando la formación del enlace amida entre el TCPP-Éster y el GABA. La banda de estiramiento N–H de amida no se distingue, debido al estiramiento O–H que se observa como una banda ancha entre 2700–3500 cm^{-1} correspondiente a los grupos carboxílicos terminales, además se encuentran las absorciones a 1634 cm^{-1} (C–N) y 1414 cm^{-1} (O–H ácido). Estas modificaciones evidencian la formación del enlace amida y la incorporación de la cadena alifática flexible de GABA, similar a lo observado en otros sistemas porfirínicos amino-funcionalizados (Giannoudis et al., 2020).

El espectro del híbrido TCPP-Amp muestra un patrón más complejo, con bandas anchas en el rango 2700–3500 cm^{-1} (superposición de O–H y N–H), la desaparición de la señal del C=O del ácido libre y la presencia simultánea de absorciones a 1737 cm^{-1} (C=O ácido carboxílico terminal) y 1685 cm^{-1} (C=O amida). La banda en 1311 cm^{-1} (C–N amida) confirma la amidación entre el TCPP-GABA activado y el grupo amino de la ampicilina, mientras que las señales 1408–1381 cm^{-1} (COO^-) reflejan la coexistencia de funciones carboxilato y amida en la estructura final. La conservación de la región aromática ($\sim 1603 \text{ cm}^{-1}$) indica que el núcleo porfirínico se mantiene intacto tras la hibridación. Estos resultados confirman la formación del enlace covalente entre el macrociclo porfirínico y el antibiótico (Sekhar et al., 2022).

Figura 42

Espectros FTIR representativos de la TCPP y sus derivados funcionalizados (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp).



Análisis RMN (¹H y ¹³C)

Los espectros de RMN (¹H y ¹³C, DMSO-d₆) confirman la formación estructural esperada en cada derivado, manteniendo la integridad del núcleo porfirínico (Figura 43).

En la TCPP libre, el espectro ¹H RMN exhibe señales a $\delta \approx 13.17$ ppm (O–H, ácido), 8.79 ppm (β -H porfirínicos) y -2.91 ppm (N–H internos), junto con los dobletes a 8.34 y 8.25 ppm correspondientes a los protones aromáticos H_o-Ar y H_m-Ar. En ¹³C RMN, las resonancias principales se ubican en $\delta \approx 167.9$ (C=O), 145.8 (C_{meso}), 134.8 (C_{meta}), 130.9 (C _{β}) y 128.3 ppm (C_{orto}). Estos valores concuerdan con la simetría D_{4h} propia del macrociclo libre (V. E. De Oliveira et al., 2011).

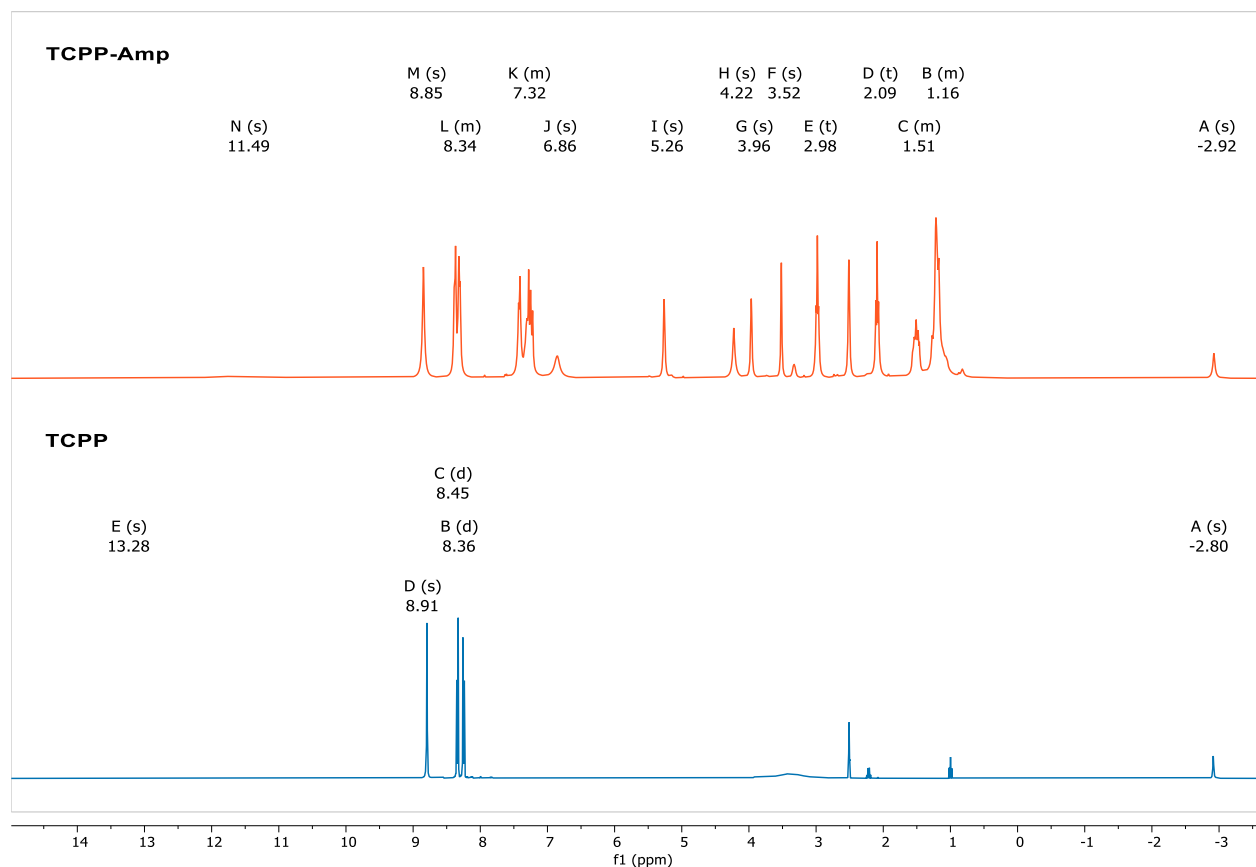
En el TCPP-Éster, las señales de los grupos O–H desaparecen y se mantienen los β -H porfirínicos en 8.82 ppm, con desplazamientos marginales en los protones aromáticos, indicando conservación del núcleo. La presencia de un triplete intenso a 1.17 ppm confirma los metilenos de los anillos succinimídicos. En ^{13}C RMN, aparecen nuevas resonancias a 170.86 ppm (C=O éster) y 173.17 ppm (C=O imida), lo que ratifica la formación del intermedio activado (Ahmadi et al., 2015; El Abiad et al., 2023).

El espectro del TCPP-GABA muestra la reaparición de señales amida: multipletes entre 9.02–8.90 ppm (N–H amida) y resonancias alifáticas en 3.05 ppm (H_α), 1.35 ppm (H_β) y 1.25–1.13 ppm (H_γ) correspondientes a la cadena $-(\text{CH}_2)_3-$ del GABA. En ^{13}C RMN, las señales de los carbonos alifáticos (34.84, 30.89, 29.45 ppm) y la del carbono amida a 151.93 ppm confirman el acoplamiento con GABA.

En el TCPP-Amp, el espectro ^1H RMN se enriquece con múltiples señales aromáticas y alifáticas características del antibiótico. Las resonancias entre 7.56–7.07 ppm corresponden a los protones aromáticos de la ampicilina, mientras que los singletes a 5.26, 4.22, 3.96 y 3.52 ppm se asignan a los protones H_d , H_c , H_b y H_a del núcleo β -lactámico y su entorno. La aparición de un multiplete intenso entre 6.86–6.90 ppm confirma la presencia de protones tipo amida. Las señales negativas a –2.92 ppm (N–H porfirina) indican que el núcleo central permanece sin metal. En ^{13}C RMN, la resonancia C=O a 167.59 ppm y los carbonos del anillo β -lactámico (59–68 ppm) respaldan la integración covalente de la ampicilina. Este comportamiento de desplazamiento químico progresivo demuestra la disminución de simetría y la complejidad electrónica creciente del híbrido, en concordancia con las tendencias observadas en sistemas porfirínicos sustituidos en posición meso (Silverstein et al., 2005).

Figura 43

Espectros representativos de ^1H RMN de la TCPP y del híbrido TCPP-Amp en $\text{DMSO}-d_6$.



El desplazamiento y multiplicidad de las señales aromáticas y alifáticas confirman la integración covalente de la ampicilina.

Análisis MALDI-TOF

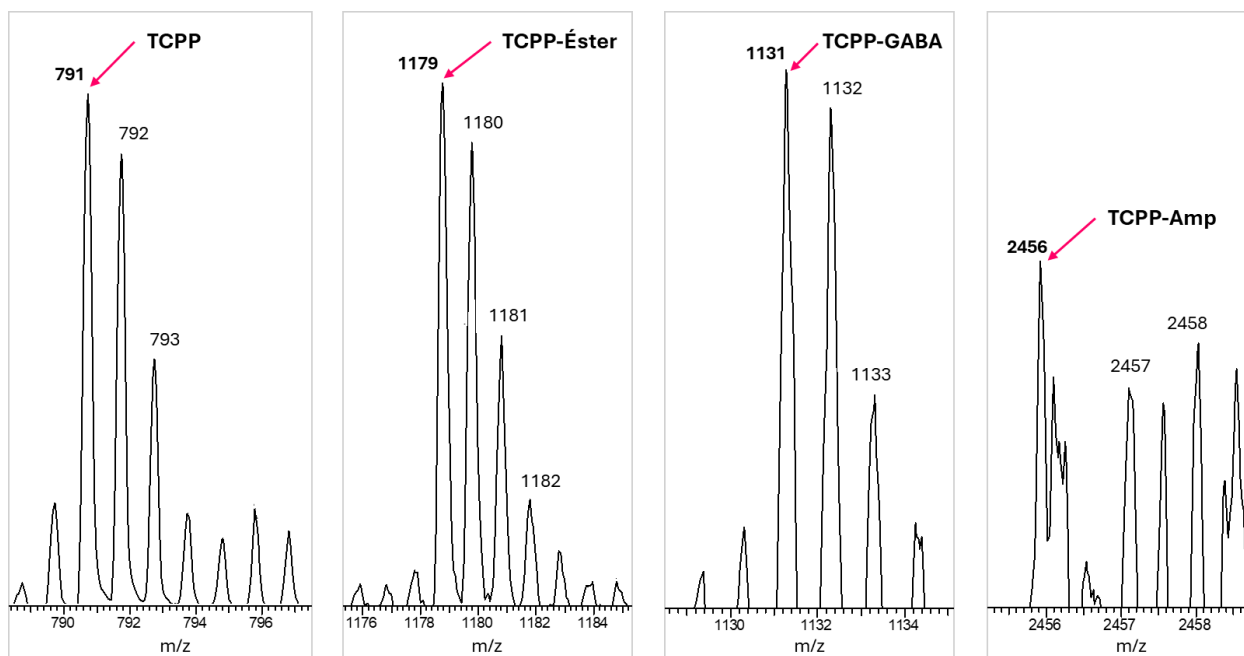
La espectrometría de masas MALDI-TOF complementó la confirmación estructural de los derivados, mostrando la masa molecular correspondiente a cada derivado (Figura 44). Para la TCPP, se observó el ion molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ en $m/z \approx 791$, coherente con su masa teórica ($790.77 \text{ g mol}^{-1}$). En el TCPP-Éster, el espectro presenta un pico principal en $m/z \approx 1179$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, acompañado de fragmentos menores atribuibles a la pérdida parcial de unidades succinimídicas,

evidenciando la estabilidad del intermedio activado. El TCPP-GABA muestra un ion molecular en $m/z \approx 1131$ $[M+H]^+$, indicando la sustitución tipo amida, y el TCPP-Amp presenta el pico dominante a $m/z \approx 2456$ $[M+H]^+$, confirmando la incorporación del antibiótico. La aparición de aductos menores $[M+Na]^+$ y $[M+K]^+$ es coherente con la alta densidad de grupos carboxílicos y amidas presentes en la molécula final.

Los espectros obtenidos reproducen el patrón isotópico característico del núcleo porfirínico, con una distribución simétrica de picos y una resolución que descarta la presencia de subproductos de condensación o degradación térmica. Estos resultados, en conjunto con los análisis FTIR y RMN, confirman de manera concluyente la obtención de las estructuras esperadas para cada derivado, asegurando la pureza estructural de las moléculas precursoras utilizadas posteriormente en los procesos de coordinación metálica.

Figura 44

Espectros MALDI-TOF de la TCPP y sus derivados e híbrido TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.



Se aprecian los picos moleculares principales $[M+H]^+$ coherentes con las masas teóricas calculadas de los compuestos sintetizados.

4.2.2 Comparación de patrones espectroscópicos entre derivados e híbrido (RMN)

A partir de las asignaciones establecidas en la Sección 4.2.1, se realizó un análisis comparativo de los espectros ^1H (Figura 45) y ^{13}C RMN (Figura 46Figura 49) con el propósito de evidenciar la evolución electrónica y estructural de la serie TCPP $\rightarrow$ TCPP-Éster $\rightarrow$ TCPP-GABA $\rightarrow$ TCPP-Amp. El énfasis se centró en (i) la desaparición/aparición de señales diagnósticas de función, (ii) los desplazamientos químicos relativos ($\Delta\delta$) de núcleos reporteros (β -H porfirínicos y carbonilos), y (iii) la progresiva complejidad alifática-aromática asociada a la hibridación con ampicilina. Las comparaciones se realizaron con base en los datos experimentales del Capítulo 3 y referencias de porfirinas funcionalizadas.

Análisis comparativo de los espectros ^1H RMN

En la TCPP libre (Figura 45, traza inferior), se observaron señales bien definidas correspondientes a los protones O-H ácidos en δ 13.17 ppm, los β -pirrólicos en δ 8.79 ppm (s, 8H) y los protones aromáticos de los anillos fenilos en δ 8.34 ppm (d, J = 8.4 Hz, H_o -Ar) y 8.25 ppm (d, J = 8.3 Hz, H_m -Ar). Los protones N-H internos del macrociclo aparecen como un singlete en δ -2.91 ppm, lo cual es típico de porfirinas libres de metal con simetría D_{4h} .

En el TCPP-Éster (Figura 45, segunda traza), el espectro conserva las señales del núcleo porfirínico (β -H en δ 8.82 ppm) pero desaparecen los protones ácidos ($\delta \approx 13$ ppm), lo que indica la conversión total de los grupos -COOH. Además, se observa un triplete en δ 1.17 ppm, atribuible a los protones metilénicos (-CH₂-) de las unidades N-succinimida. Esta modificación, junto con

el mantenimiento de la simetría aromática, confirma la activación carbodiimídica de los grupos carboxilo.

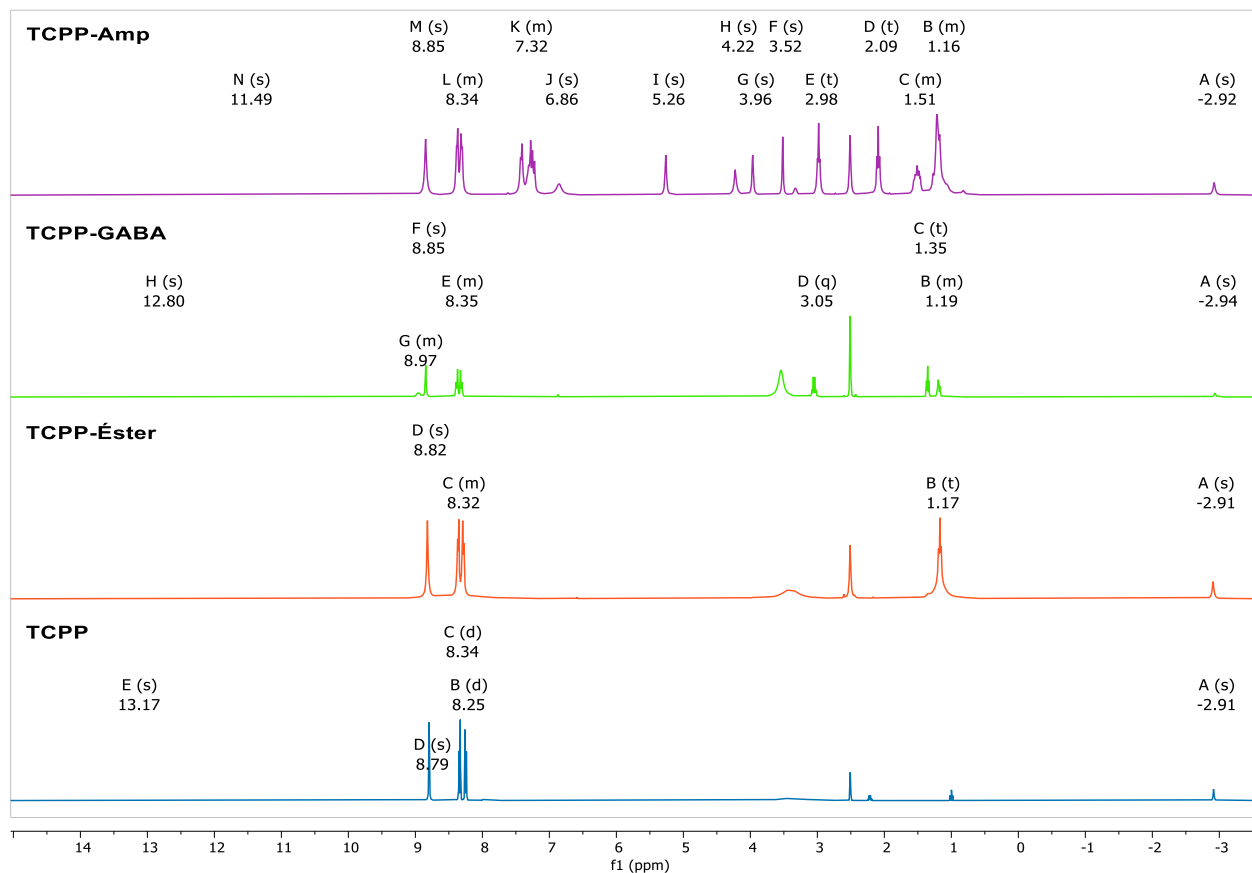
El TCPP-GABA (Figura 45, tercera traza) muestra un enriquecimiento del dominio alifático: aparecen señales nuevas en δ 3.05 ppm (q, H_α), 1.35 ppm (t, H_β) y un multiplete en 1.19 ppm (H_γ) atribuibles a la cadena $-(CH_2)_3-$ del GABA. Simultáneamente, surge un multiplete ancho entre 8.97–8.90 ppm asociado a los protones N–H amídicos, evidenciando la formación del enlace amida entre el éster activado y el aminoácido. Los β -H se mantienen en el entorno de 8.80–8.83 ppm ($\Delta\delta$ pequeño, efecto de vecindad amídica).

En el híbrido TCPP-Amp (Figura 45, traza superior), la complejidad espectral aumenta notablemente por la incorporación de la ampicilina. Se mantienen los β -H del núcleo porfirínico en δ 8.85 ppm, pero aparecen nuevas resonancias aromáticas en δ 7.56–7.07 ppm (H-Ar) y amídicas en δ 6.86 ppm (NH). Las señales alifáticas diagnósticas del sistema β -lactámico se localizan en δ 5.26, 4.22, 3.96 y 3.52 ppm, además de los tripletes en 2.09 ppm (H_γ GABA) y 1.51 ppm (grupos metilénicos secundarios). Finalmente, el singlete en δ –2.92 ppm (N–H) confirma la preservación del macrociclo sin metalar.

Estos desplazamientos progresivos demuestran la disminución de simetría electrónica y el incremento de la densidad local de electrones al incorporar sustituyentes amídicos y aromáticos.

Figura 45

Espectros ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de la TCPP, TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp (de abajo hacia arriba).



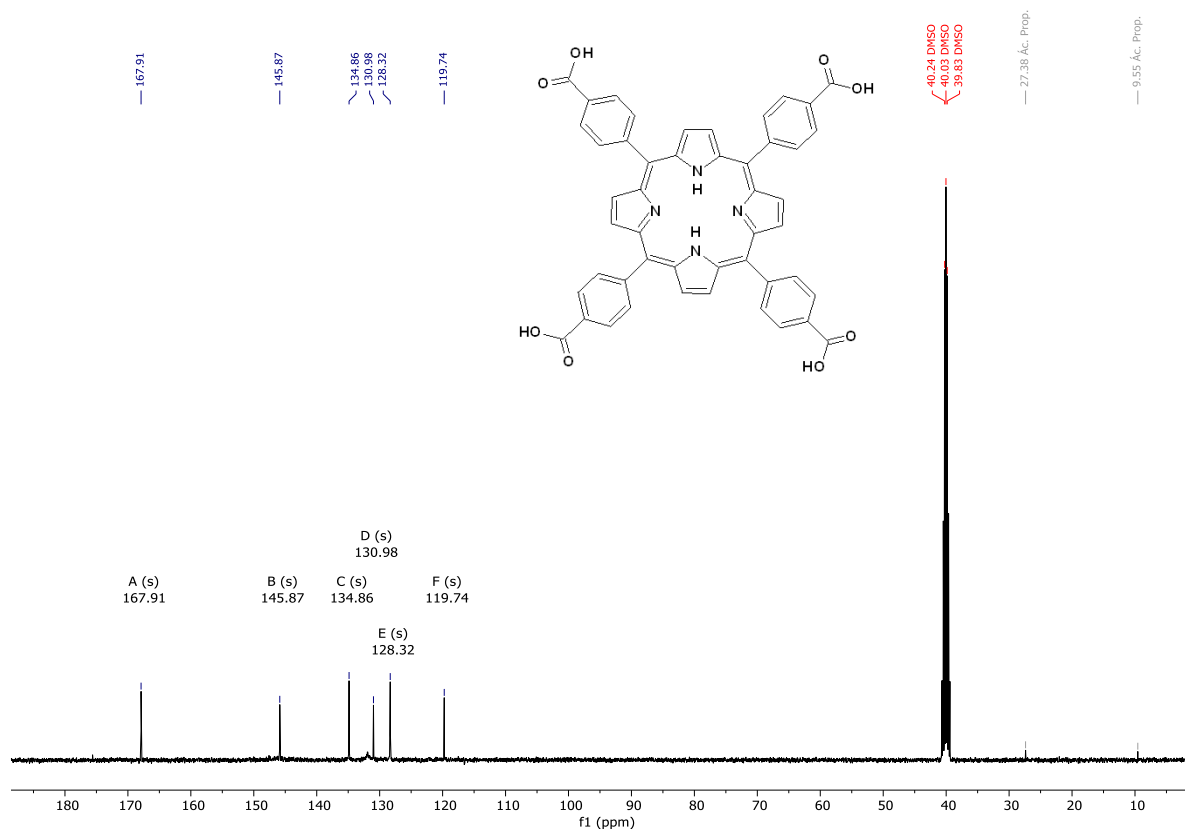
Análisis comparativo de los espectros ^{13}C RMN

El análisis de los espectros ^{13}C RMN (Figura 46 a Figura 49) confirma las transformaciones observadas en ^1H RMN.

En la TCPP, se registran señales a $\delta \sim 167.91$ ppm ($\text{C}=\text{O}$, ácido), 145.87 ppm (C_{meso}), 134.86 ppm (C_{meta} , aromático), 130.98 ppm (C_{β} , pirrólico), 128.32 ppm (C_{orto}) y 119.74 ppm (C_{α}), coherentes con una distribución homogénea del campo electrónico del anillo.

Figura 46

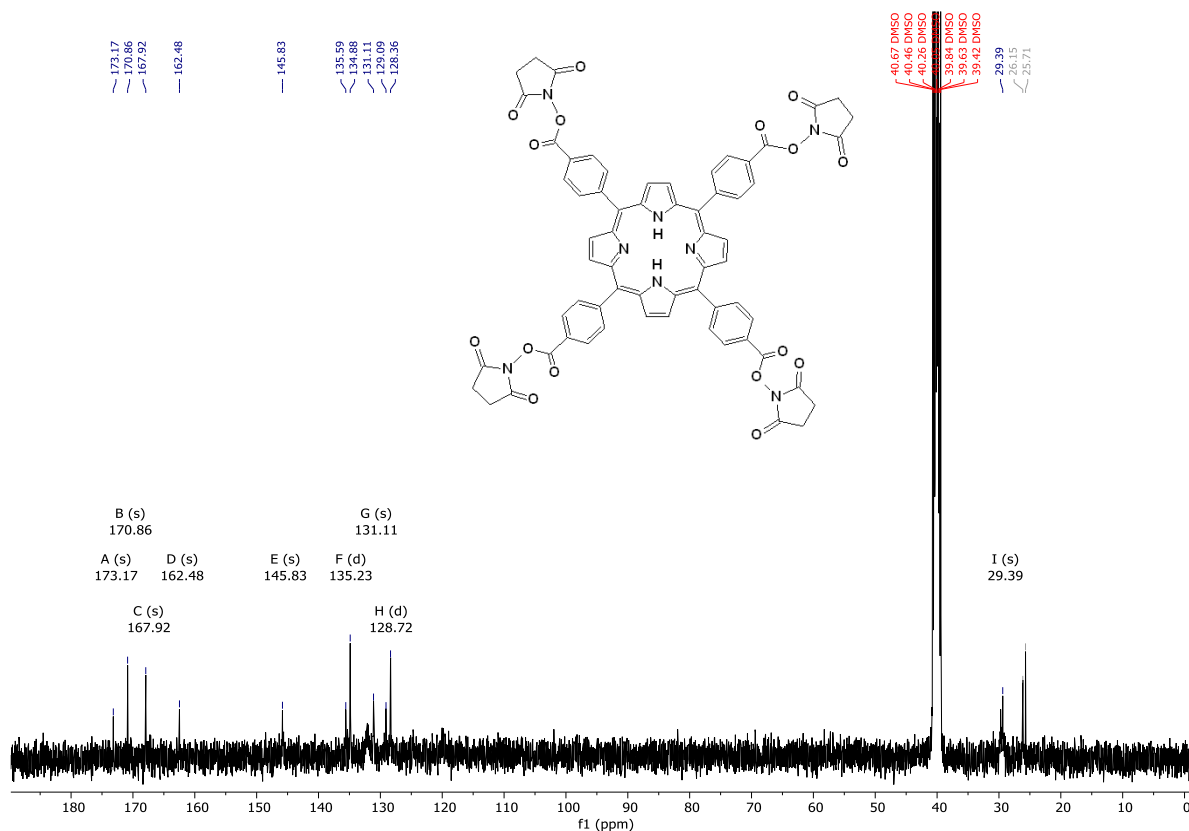
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO-d_6) de la TCPP, se identifican los carbonos característicos del macrociclo tetrapirrólico y los grupos carboxilo terminales.



En el TCPP-Éster, surgen nuevas señales a δ 170.86 ppm ($\text{C}=\text{O}$, éster) y 173.17 ppm ($\text{C}=\text{O}$, imida), mientras que el resto del patrón aromático permanece inalterado, lo que confirma la activación de los grupos carboxilo y conservación del macrociclo aromático.

Figura 47

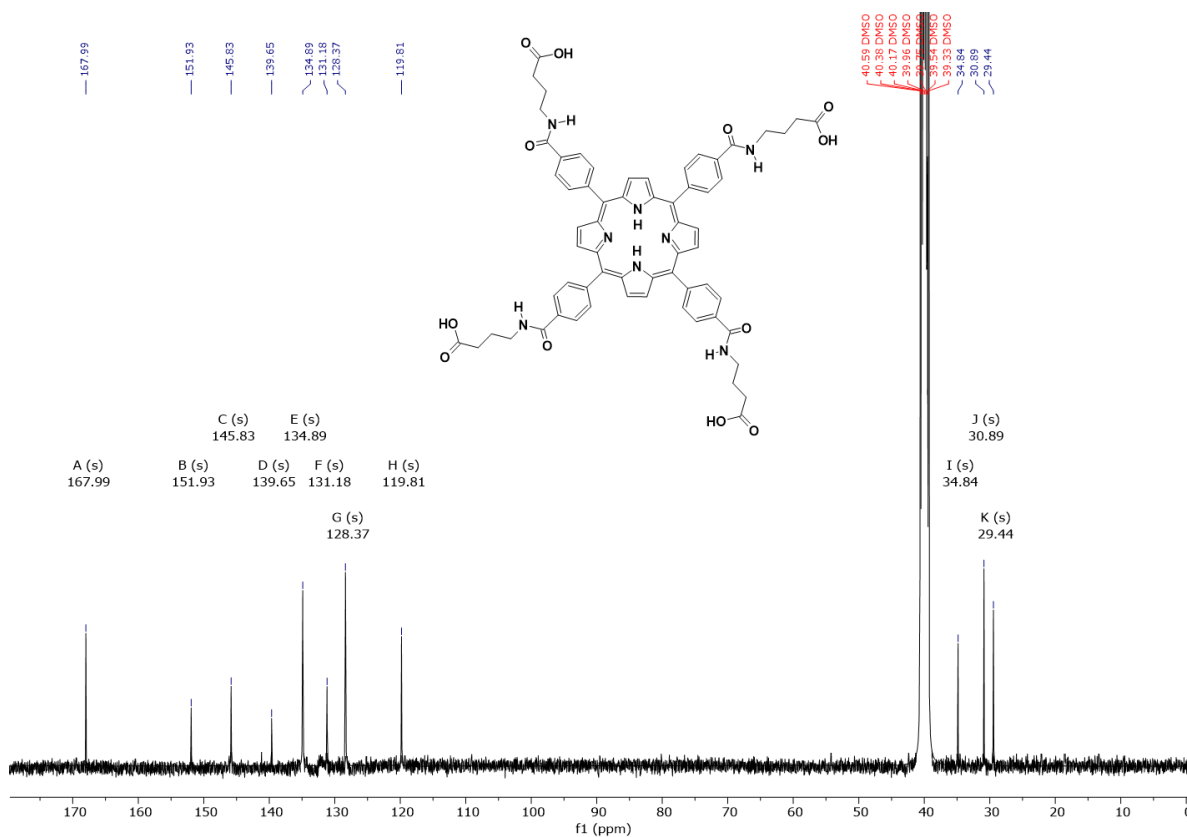
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO-d_6) del TCPP-Éster, aparecen nuevas señales a δ 170–173 ppm asociadas a carbonilos de éster e imida.



Para el TCPP-GABA, el espectro revela los carbonos alifáticos de la cadena incorporada en δ 34.84 (C_α), 30.89 (C_γ) y 29.45 (C_β), junto con un carbono amida característico en δ 151.93 ppm, validando la formación del enlace amida.

Figura 48

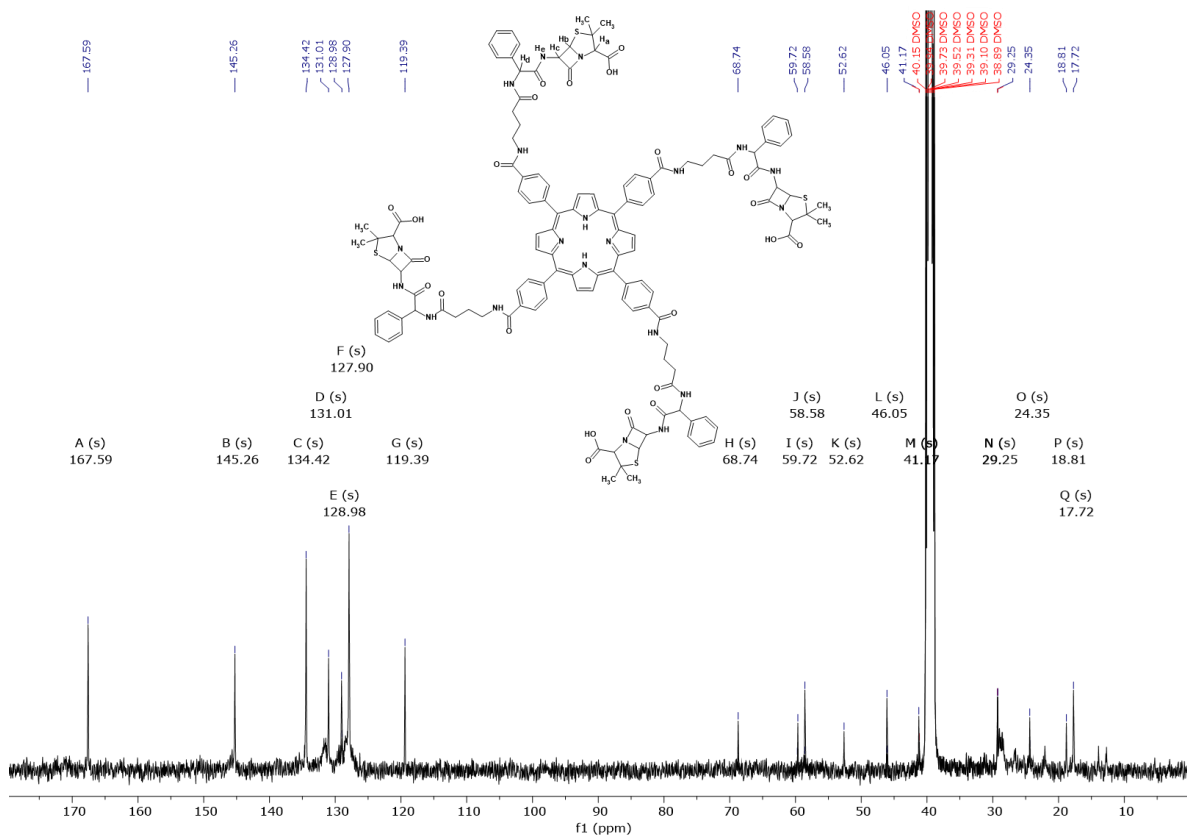
Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO-d_6) del TCPP-GABA, se evidencian los carbonos alifáticos (29–35 ppm) y tipo amida (≈ 152 ppm) derivados de la incorporación del GABA.



En el TCPP-Amp, la complejidad espectral aumenta notablemente: aparecen resonancias entre δ 59–69 ppm correspondientes a los carbonos del anillo β -lactámico (H_a – H_d), además de señales de carbonos metílicos en δ 24–19 ppm, y una resonancia principal a δ 167.59 ppm ($\text{C}=\text{O}$, amida). Estas observaciones, sumadas a la conservación de las señales aromáticas ($\delta \approx 128$ –146 ppm), confirman la conjugación del antibiótico sin pérdida del marco porfirínico.

Figura 49

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del TCPP-Amp, se observan carbonos del núcleo β -lactámico (59–69 ppm) y amídicos, confirmando la conjugación con la ampicilina.



El análisis comparativo de los espectros ^1H y ^{13}C RMN demuestra una evolución química sistemática desde la TCPP hasta el híbrido TCPP-Amp. La desaparición de los grupos carboxílicos, la aparición de señales amídicas y la incorporación de dominios alifáticos complejos evidencian una secuencia de reacciones controladas y la preservación del núcleo porfirínico a lo largo de todas las etapas de funcionalización.

Estos resultados, reforzados por la coincidencia de los desplazamientos con los valores teóricos y bibliográficos, constituyen una evidencia inequívoca de la obtención exitosa de los

híbridos porfirina-ampicilina, que servirán como ligandos base para la formación de los complejos metálicos discutidos en las secciones siguientes.

4.2.3 Evidencia de coordinación metálica (UV-Vis, FTIR, XPS, RMN, MALDI-TOF)

La coordinación de los iones metálicos Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) sobre los derivados TCPP-Éster, TCPP-GABA y el híbrido TCPP-Amp se confirmó mediante la integración de técnicas espectroscópicas complementarias, las cuales permitieron evaluar tanto los cambios electrónicos del macrociclo porfirínico como las modificaciones estructurales inducidas por la inserción metálica.

Las variaciones registradas en los espectros UV-Vis, FTIR, XPS, RMN y MALDI-TOF evidencian la transformación del sistema desde una porfirina libre (H₂P) con simetría D_{2h} hacia metaloporfirinas (MP) con simetría D_{4h} parcial, acompañadas de desplazamientos energéticos característicos de la desprotonación de los centros pirrólicos y la formación de enlaces M–N coordinados.

4.2.3.1 Análisis UV–Vis: Evidencia electrónica de coordinación metálica

El análisis espectroscópico UV–Vis constituyó una herramienta esencial para confirmar la coordinación metálica en los derivados porfirínicos sintetizados, ya que permitió evaluar de forma directa los cambios en la conjugación del sistema π , la simetría del macrociclo y la naturaleza de la interacción metal–ligando.

Según el modelo de Gouterman (1961) y su reformulación cuántica por Hashimoto et al. (1999), las porfirinas libres presentan una configuración electrónica basada en los orbitales frontera *a_{1u}* (HOMO) y *eg* (LUMO), responsables de una transición intensa tipo π – π^* asociada a

la banda Soret (B) y de cuatro transiciones de menor energía denominadas bandas Q, originadas por desdoblamiento vibro-electrónico dentro del mismo sistema conjugado. Al coordinar un catión metálico en el centro tetrapirrólico, el sistema pierde los protones pirrólicos, adquiere simetría D_{4h} y se observa la fusión progresiva de las bandas Q, acompañada de desplazamientos batocrómicos o hipocrómicos y cambios en la intensidad relativa de las señales. Estos efectos se correlacionan con la disminución de la brecha energética HOMO–LUMO y la redistribución de la densidad electrónica en el plano porfirínico (Hashimoto et al., 1999; Silverstein et al., 2005).

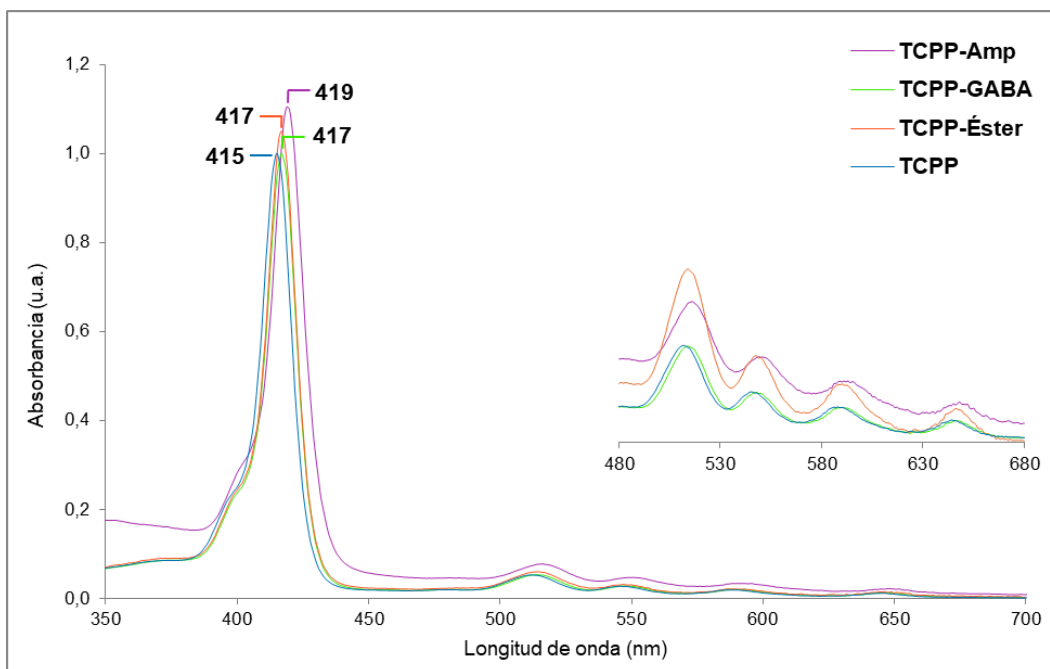
Porfirina base libre (TCPP y derivados funcionalizados)

Los espectros de los compuestos libres (Figura 50) presentaron la banda Soret característica en $\approx 415\text{--}419$ nm, junto con cuatro bandas Q bien definidas a 513, 548-549, 588-593 y 645-648 nm. La funcionalización periférica de la TCPP mediante sustituyentes éster, amida (GABA) y β -lactámicos (Amp) indujo desplazamientos batocrómicos graduales en la banda Soret ($415 \rightarrow 419$ nm) y ligeras variaciones en las bandas Q ($513 \rightarrow 516$ nm). Este comportamiento se atribuye a la combinación de efectos inductivos ($-I$) y mesómeros ($+M$) ejercidos por los grupos amida y éster, los cuales extienden la deslocalización del sistema π conjugado hacia los anillos fenilo meso-sustituídos (Bouicha et al., 2025; Das et al., 2024).

La tendencia batocrómica leve $\text{TCPP} \rightarrow \text{TCPP-Éster/TCPP-GABA} (\approx 417 \text{ nm}) \rightarrow \text{TCPP-Amp} (\approx 419 \text{ nm})$ evidencia la modulación periférica del anillo por sustituyentes éster y amida/ β -lactámico (efectos $-I/+M$), sin alterar la identidad espectral del macrociclo.

Figura 50

Espectros comparativos UV-Vis de la TCPP, sus derivados porfirínicos funcionalizados y el híbrido porfirina-ampicilina.



Complejos de Zn(II): incremento de simetría y fusión a dos bandas Q

En las tres series funcionalizadas, la inserción de Zn(II) produce un corrimiento batocrómico moderado de la Soret y una reducción de cuatro a dos bandas Q (Figura 51), consistente con una simetría próxima a D_{4h} y un centro no redox que mantiene la densidad electrónica centrada en el anillo.

- Soret (nm):

TCPP-Éster: $417 \rightarrow 424$ ($\Delta\lambda = +7$)

TCPP-GABA: $417 \rightarrow 425$ ($\Delta\lambda = +8$)

TCPP-Amp: $419 \rightarrow 427$ ($\Delta\lambda = +8$)

- Q (nm): dos máximos en ≈ 557 y $597-601$.

- Intensidad: ligera hipocromía en los híbridos Zn–TCPP–Amp atribuible a apilamiento π – π /incipiente agregación por la mayor polaridad y volumen periférico.

En general, los desplazamientos y la simplificación Q son diagnósticos de coordinación efectiva de Zn(II) y coherentes con Zn-porfirinas meso-carboxiladas reportadas en la literatura (Bakale et al., 2014; Baklanov et al., 2023; V. E. De Oliveira et al., 2011).

Complejos de Ni(II): fusión a una banda Q y perfil más hipocrómico

Los complejos de Ni(II) muestran un corrimiento batocrómico más discreto de la Soret respecto al derivado libre y una fusión más drástica del sistema Q hasta una sola banda ancha y débil (526–531 nm), indicativa de mayor participación metal– π y “aplanamiento electrónico” del macrociclo.

- Soret (nm):
TCPP-Éster: $417 \rightarrow 419$ ($\Delta\lambda = +2$)
TCPP-GABA: $417 \rightarrow 418$ ($\Delta\lambda = +1$)
TCPP-Amp: $419 \rightarrow 420$ ($\Delta\lambda = +1$)
- Q (nm): una banda ancha en 526–531.
- Intensidad: hipocromía notable (respecto a Zn), consistente con transiciones mixtas d– π (carácter MLCT parcial) y ligera distorsión planar típica de Ni(II) d^8 con orbitales dz^2 parcialmente ocupados.

Este patrón indica un cambio significativo en la simetría electrónica y la reducción de la degeneración de estados excitados, típico de porfirinas planas de Ni(II) con participación parcial del metal en el sistema π (Blanco et al., 2008; Gutzeit et al., 2019; L. Wang et al., 2024).

Complejos de Sn(IV): batocromía acentuada y Q ensanchadas (coordinación axial)

Los complejos de Sn(IV) exhiben los desplazamientos Soret más altos de la serie y dos Q más anchas, rasgos congruentes con coordinación axial (Cl^- /disolvente/agua coordinante) y mayor deslocalización fuera del plano porfirínico.

- Soret (nm):

TCPP-Éster: $417 \rightarrow 428$ ($\Delta\lambda = +11$)

TCPP-GABA: $417 \rightarrow 430$ ($\Delta\lambda = +13$)

TCPP-Amp: $419 \rightarrow 431$ ($\Delta\lambda = +12$)

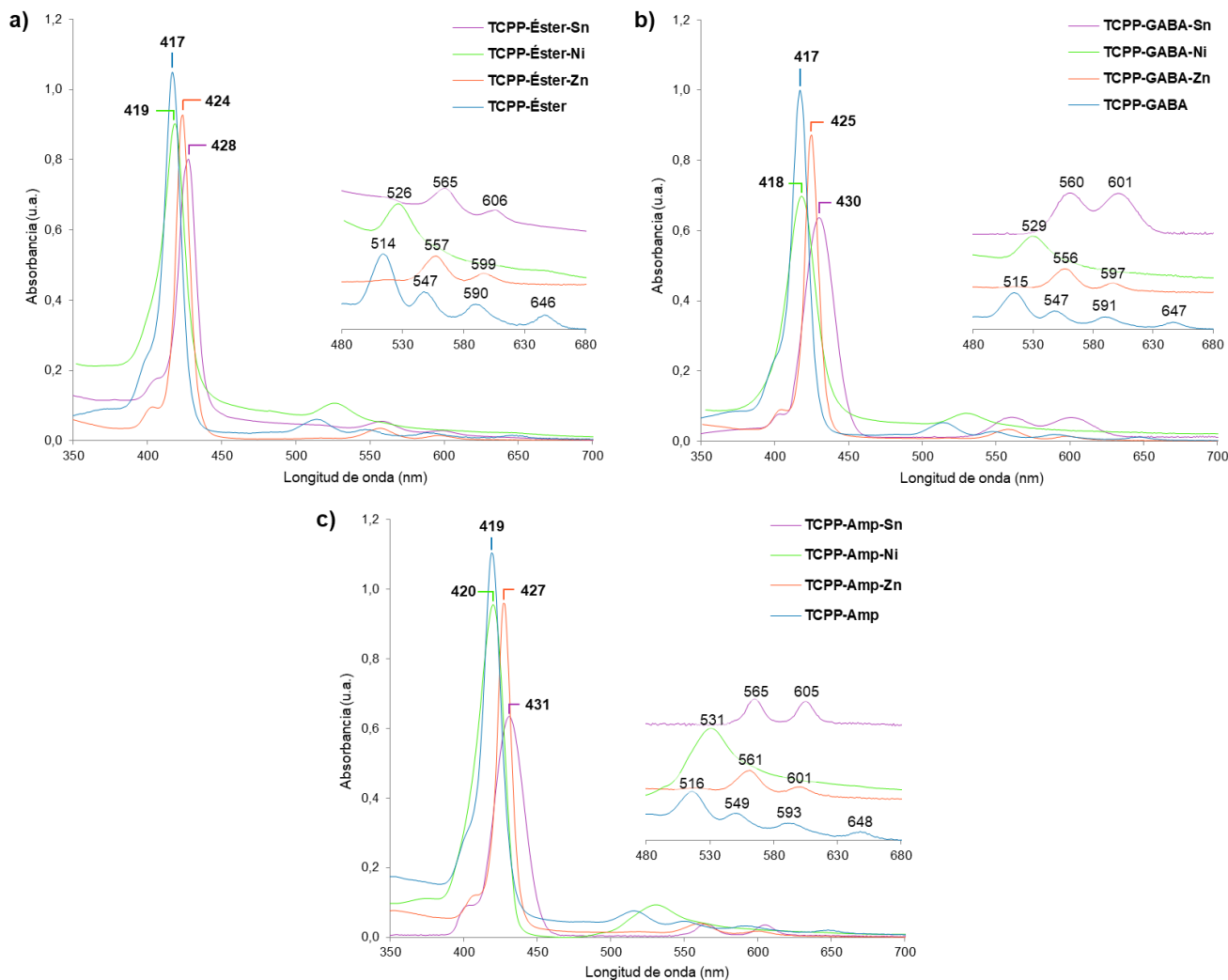
- Q (nm): 560–606, más anchas que en Zn(II).
- Intensidad: hipocromía relativa frente a Zn(II), atribuible a mayor contribución del campo ligando axial y aumento de la densidad electrónica fuera del plano.

El corrimiento máximo en Sn(IV)–TCPP-Amp (431 nm) sugiere sinergia entre el entorno β -lactámico (polar) y el carácter fuertemente polarizable del centro Sn(IV), que favorece deslocalización adicional (Ezzayani et al., 2023; Li et al., 2022; Rafiee et al., 2024).

Los espectros de absorción UV–Vis de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos (Figura 51) confirman la coordinación efectiva de los iones Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) en el núcleo tetrapirrólico. Todos los registros fueron obtenidos en metanol a concentración 1×10^{-5} M, observándose desplazamientos batocrómicos progresivos en la banda Soret y variaciones en la intensidad y número de las bandas Q. La comparación entre las tres series (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) evidencia la influencia combinada del metal y de los sustituyentes periféricos sobre la simetría electrónica y la extensión del sistema π conjugado.

Figura 51

Espectros UV-Vis de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos registrados en metanol (1×10^{-5} M): (a) Serie TCPP-Éster y complejos Zn(II), Ni(II), Sn(IV); (b) Serie TCPP-GABA y complejos Zn(II), Ni(II), Sn(IV); (c) Serie TCPP-Amp y complejos Zn(II), Ni(II), Sn(IV).



La Tabla 10 resume los desplazamientos experimentales de la banda Soret y la evolución del patrón Q para cada derivado porfirínico y sus correspondientes complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). Estos datos reflejan de manera cuantitativa el efecto del metal y de los sustituyentes periféricos sobre la simetría electrónica del macrociclo. Se observa una tendencia sistemática hacia desplazamientos batocrómicos y una reducción progresiva en el número de

bandas Q, confirmando la coordinación efectiva y la reorganización del sistema π conjugado inducida por la inserción metálica.

Tabla 10

Desplazamientos experimentales de la banda Soret y evolución del patrón Q en los complejos metálicos derivados e híbrido de TCPP.

Serie / Compuesto	λ Soret (nm)	$\Delta\lambda$ Soret (nm)	Bandas Q (nm)	Nº de Q	Observaciones espectrales y electrónicas
TCPP-Éster (libre)	417	—	514, 547, 590, 646	4	Patrón típico D _{2h} ; base libre con bandas Q bien definidas.
Zn(II)-TCPP- Éster	424	+7	557, 599	2	Fusión parcial de Q; simetría D _{4h} ; desplazamiento moderado.
Ni(II)-TCPP- Éster	419	+2	526 (ancha)	1	Fusión total de Q; hipocromía; transiciones mixtas d- π .
Sn(IV)-TCPP- Éster	428	+11	565, 606	2	Batocromía acentuada; coordinación axial; campo fuera del plano.
TCPP-GABA (libre)	417	—	515, 547, 591, 647	4	Efecto mesómero amídico; incremento de conjugación π .
Zn(II)-TCPP- GABA	425	+8	557, 597	2	Fusión de Q; incremento de simetría electrónica; color rojo vino.
Ni(II)-TCPP- GABA	418	+1	529 (ancha)	1	Coordinación completa; mayor acoplamiento metal- π .
Sn(IV)-TCPP- GABA	430	+13	560, 601	2	Batocromía significativa; deslocalización fuera del plano.
TCPP-Amp (libre)	419	—	516, 549, 593, 648	4	Extensión del sistema π ; influencia del anillo β -lactámico.
Zn(II)-TCPP- Amp	427	+8	561, 601	2	Hipocromía leve; mayor polaridad periférica; simetría D _{4h} .
Ni(II)-TCPP- Amp	420	+1	531 (ancha)	1	Geometría D _{4h} distorsionada; transiciones MLCT parciales.
Sn(IV)-TCPP- Amp	431	+12	565, 605	2	Máximo corrimiento batocrómico; sinergia metal- β -lactámico.

Evolución espectral de las series funcionalizadas

En la serie funcionalizada (TCPP $\rightarrow$ TCPP-Éster $\rightarrow$ TCPP-GABA $\rightarrow$ TCPP-Amp), se observa una tendencia batocrómica progresiva, que evidencia la modulación de la densidad electrónica del núcleo por parte de los sustituyentes periféricos. Los datos experimentales respaldan que:

- La funcionalización incrementa la conjugación π y reduce la energía de transición B (Soret).
- La metalación aumenta la simetría electrónica y simplifica el sistema de bandas Q.
- La magnitud del corrimiento depende del campo ligando y de la polarizabilidad del metal ($\text{Sn} > \text{Ni} > \text{Zn}$).

Tras la inserción metálica, los desplazamientos de la banda Soret se amplifican en función del carácter del metal, siguiendo la tendencia

$$\Delta\lambda_{\text{Soret}} \approx \text{Zn(II)}: +6 - 8 \text{ nm}; \text{ Ni(II)}: +1 - 2 \text{ nm}; \text{ Sn(IV)}: +11 - 13 \text{ nm}.$$

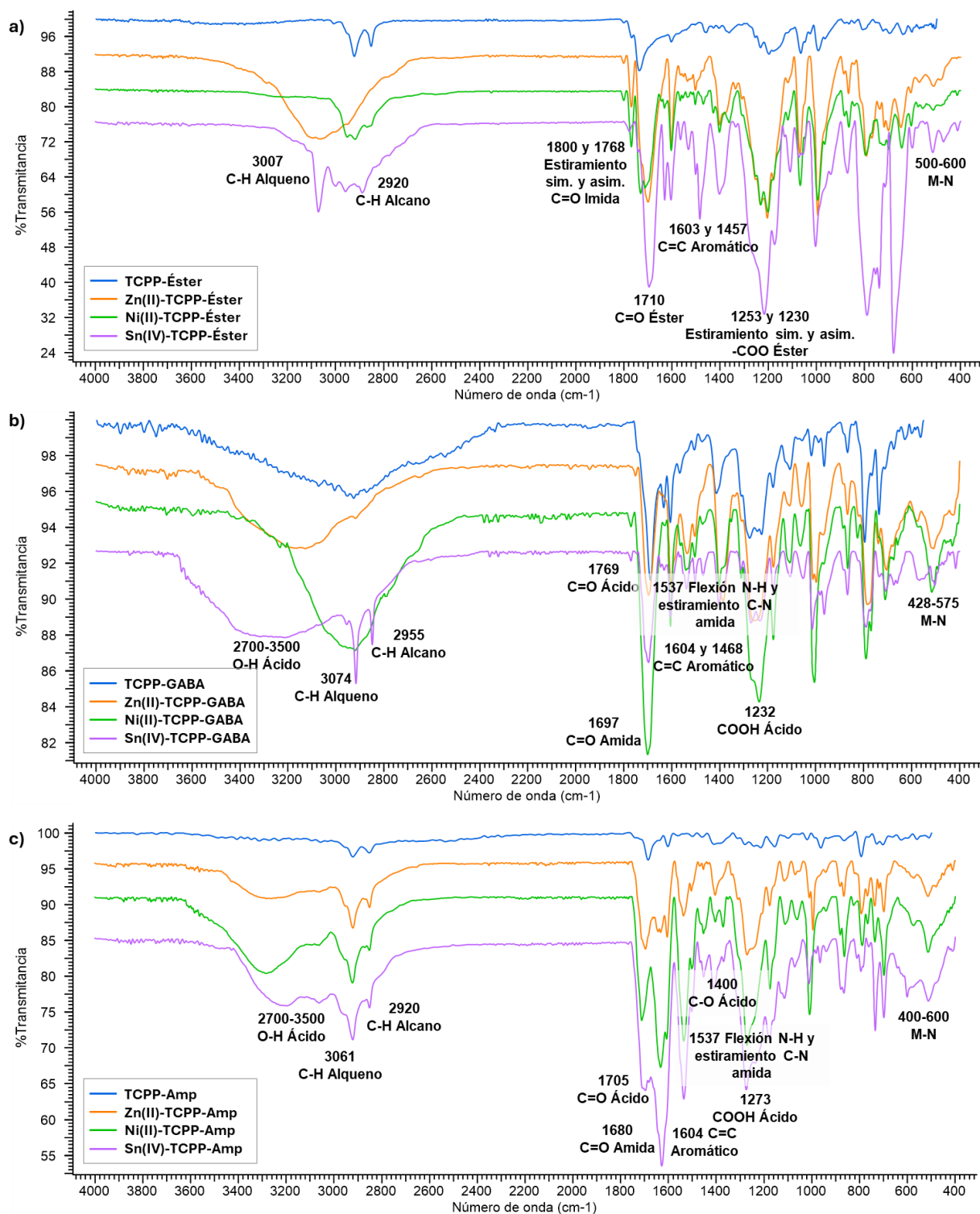
Asimismo, la intensidad relativa de la Soret se mantiene alta en Zn(II) y disminuye de forma apreciable en Ni(II) y Sn(IV), coherente con la redistribución de carga desde el anillo hacia el metal y con contribuciones MLCT parciales. En conjunto, los resultados indican que la inserción metálica altera la simetría orbital, modula la deslocalización electrónica y estabiliza la estructura conjugada, en línea con la evidencia independiente de FTIR y XPS. Este comportamiento concuerda con las discusiones clásicas donde los corrimientos ópticos se correlacionan con el incremento del carácter covalente del enlace M–N y la reorganización de la densidad π en el macrociclo (Das et al., 2024; Skoog et al., 2005).

4.2.3.2 Evidencia vibracional: espectros FTIR

El análisis vibracional mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) proporcionó evidencia directa de la coordinación metálica en los derivados porfirínicos funcionalizados, al revelar desplazamientos sistemáticos en las vibraciones características de los grupos carboxilo, amida y del núcleo tetrapirrólico. Los espectros comparativos se muestran en la Figura 52.

Figura 52

Espectros FTIR comparativos de los derivados porfirínicos funcionalizados y sus complejos metálicos. (a) Serie TCPP-Éster, (b) Serie TCPP-GABA y (c) Serie TCPP-Amp.



Se observa un desplazamiento a menores frecuencias de las bandas $\nu(\text{C=O})$ y $\nu(\text{C-O})$, una intensificación de $\nu(\text{C=N})$ y la aparición de nuevas señales en la región $995\text{--}960\text{ cm}^{-1}$, atribuibles a las vibraciones $\nu(\text{M-N})$. Estos cambios confirman la coordinación metálica efectiva y la desprotonación del núcleo pirrólico, en concordancia con la redistribución electrónica del macrociclo.

En la TCPP base libre, las bandas más relevantes se localizaron en $1702\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$ ($\nu(\text{C=O})$ de los grupos carboxilo) y $1215\text{--}1225\text{ cm}^{-1}$ ($\nu(\text{C-O})$), acompañadas de señales intensas entre $1600\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ correspondientes al esqueleto conjugado C=C/C=N del macrociclo. Este patrón es característico de porfirinas parcialmente desprotonadas con simetría D_{2h} , coherente con los valores reportados para compuestos análogos sintetizados por el método Adler–Longo (V. E. De Oliveira et al., 2011; Nakamoto, 2009).

Tras la funcionalización periférica, los derivados TCPP–Éster, TCPP–GABA y TCPP–Amp presentaron modificaciones diferenciadas en la región carbonílica. En el TCPP–Éster, la señal de $\nu(\text{C=O})$ se desplazó levemente hacia $1720\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$, confirmando la formación del enlace éster. En el TCPP–GABA, la aparición de una nueva banda intensa en $1658\text{--}1665\text{ cm}^{-1}$, asociada al estiramiento C=O de la amida confirmó la formación del compuesto. En el TCPP–Amp mostró un doblete en $1660\text{--}1670\text{ cm}^{-1}$, atribuible a las vibraciones conjuntas de los grupos amida y del anillo β -lactámico del híbrido (Das et al., 2024; Faustova et al., 2020).

Tras la metalación, los espectros mostraron transformaciones notorias:

- Las bandas $\nu(\text{C=O})$ y $\nu(\text{C-O})$ se desplazaron a frecuencias menores ($1680\text{--}1670$ y $1200\text{--}1190\text{ cm}^{-1}$), reflejando la redistribución de densidad electrónica inducida por el acoplamiento del metal con el anillo tetrapirrólico.

- Surgieron nuevas bandas débiles en la región de 995–1010 cm^{-1} , correspondientes a los modos de estiramiento $\nu(\text{M}-\text{N})$, que constituyen el principal indicador de coordinación metálica (Nakamoto, 2009).
- Se registró un aumento de la intensidad de la vibración $\nu(\text{C}=\text{N})$ ($\sim 1602\text{--}1610\text{ cm}^{-1}$), asociado a la desprotonación de los nitrógenos internos del macrociclo y a la consecuente transferencia electrónica hacia el metal.

El análisis comparativo permitió establecer una tendencia dependiente de metal:

- En los complejos de Zn(II) , las bandas $\nu(\text{M}-\text{N})$ se observaron a frecuencias más altas ($1005\text{--}1010\text{ cm}^{-1}$), consistentes con un enlace predominantemente iónico y simetría D_{4h} .
- En los complejos de Ni(II) , las señales se desplazaron hacia $980\text{--}990\text{ cm}^{-1}$, indicando un enlace más covalente metal–nitrógeno debido a la participación de orbitales d parcialmente ocupados (Giannoudis et al., 2020).
- En los complejos de Sn(IV) , las bandas $\nu(\text{M}-\text{N})$ se localizaron en $960\text{--}975\text{ cm}^{-1}$ y se acompañaron de nuevas absorciones en $520\text{--}540\text{ cm}^{-1}$, asociadas a modos $\nu(\text{Sn}-\text{O})$ axiales, observadas también por Grössl et al. (2023) y Vieira et al. (2025) para sistemas Sn(IV) –TCPP de geometría octaédrica (Grössl et al., 2023; Vieira et al., 2025).

Asimismo, la intensidad relativa de las bandas $\delta(\text{N}-\text{H})$ ($\sim 965\text{--}970\text{ cm}^{-1}$) desapareció tras la metalación, confirmando la desprotonación completa del núcleo pirrólico. En los híbridos TCPP–Amp, las bandas amida ($\nu(\text{C}=\text{O}) \approx 1665\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{C}-\text{N}) \approx 1300\text{ cm}^{-1}$) permanecieron inalteradas, indicando que la coordinación ocurre en el núcleo porfirínico y no sobre el fragmento β -lactámico (El Abiad et al., 2023).

El análisis global permite afirmar que las modificaciones espectrales inducidas por la inserción metálica —desplazamientos batocrómicos de $\nu(\text{C}=\text{O})$ y $\nu(\text{C}-\text{O})$, aparición de $\nu(\text{M}-\text{N})$ y

$\nu(\text{M}-\text{O})$, e incremento de $\nu(\text{C}=\text{N})$ — constituyen una firma vibracional inequívoca de coordinación metálica efectiva. Estos resultados son plenamente coherentes con las tendencias descritas por Nakamoto (2009) y Oliveira (2011), donde la metalación de porfirinas genera una redistribución electrónica que refuerza la conjugación π y modifica los modos vibracionales internos del anillo, correlacionándose con los cambios electrónicos observados en los espectros UV–Vis.

4.2.3.3 Evidencia electrónica superficial: espectros XPS

El análisis de fotoelectrones de rayos X (XPS) se empleó para corroborar la coordinación metálica en las tres series de derivados porfirínicos (TCPP–Éster, TCPP–GABA y TCPP–Amp) y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). Las energías de enlace se calibraron utilizando la señal C 1s = 284.8 eV (C–C/C=C), siguiendo los criterios clásicos de Moulder et al. y Grosvenor et al., y aplicando el mismo protocolo de ajuste para todas las muestras, garantizando comparabilidad interna (Grosvenor et al., 2006; Moulder et al., 1995).

Los espectros de barrido general confirmaron la presencia exclusiva de C, N, O y del metal correspondiente (Zn, Ni o Sn), sin señales significativas de impurezas metálicas ajenas o contaminantes inorgánicos. Esta consistencia, junto con la conservación de las envolventes C 1s y O 1s entre derivados libres y complejos, indica que la metalación no degrada el esqueleto orgánico ni los grupos funcionales periféricos, sino que se localiza en el núcleo porfirínico.

Las Figura 53Figura 55 presentan los espectros XPS de barrido general obtenidos para las tres series de derivados porfirínicos (TCPP–Éster, TCPP–GABA y TCPP–Amp) y sus respectivos complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). En todos los casos se observan los picos característicos de C 1s, N 1s y O 1s, junto con los núcleos metálicos específicos: Zn 2p (~1021 eV), Ni 2p (~855 eV) y Sn 3d (~486 eV). La presencia inequívoca de las señales metálicas y su

intensidad relativa creciente evidencian la efectiva coordinación metal–nitrógeno en el núcleo porfirínico.

Figura 53

Espectros XPS de barrido general del derivado TCPP–Éster (a) y de sus complejos metálicos de Zn(II) (b), Ni(II) (c) y Sn(IV) (d).

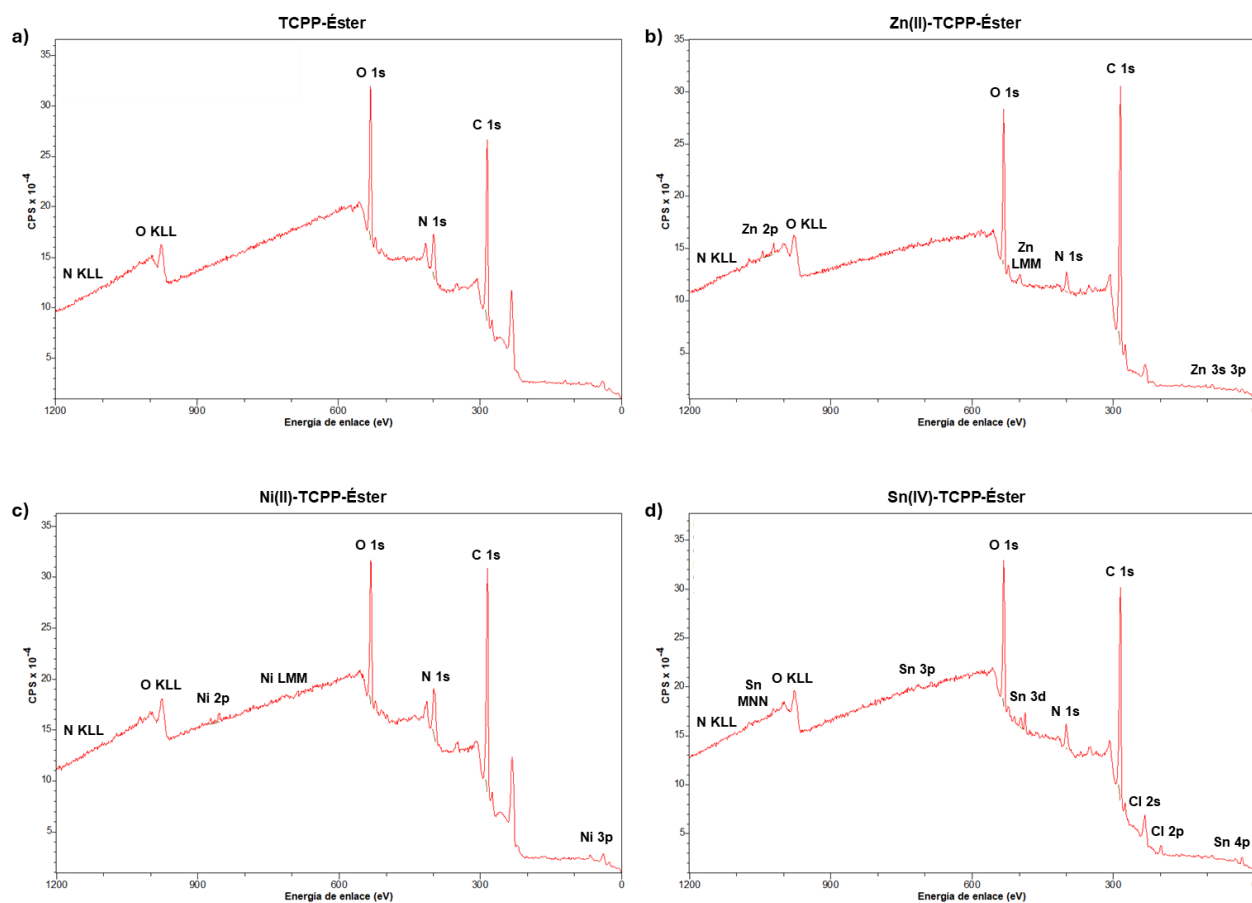


Figura 54

Espectros XPS de barrido general del derivado TCPP-GABA (a) y de sus complejos metálicos de Zn(II) (b), Ni(II) (c) y Sn(IV) (d).

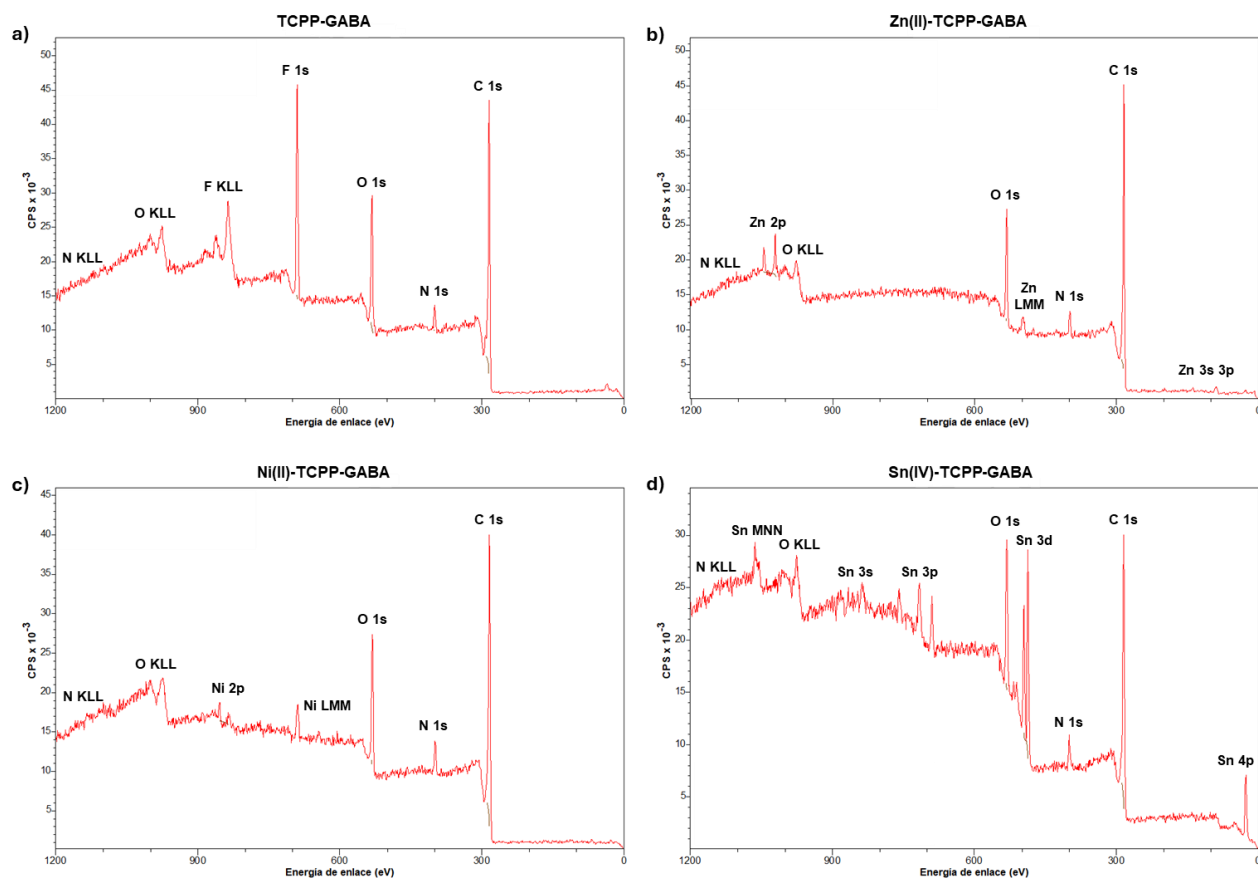
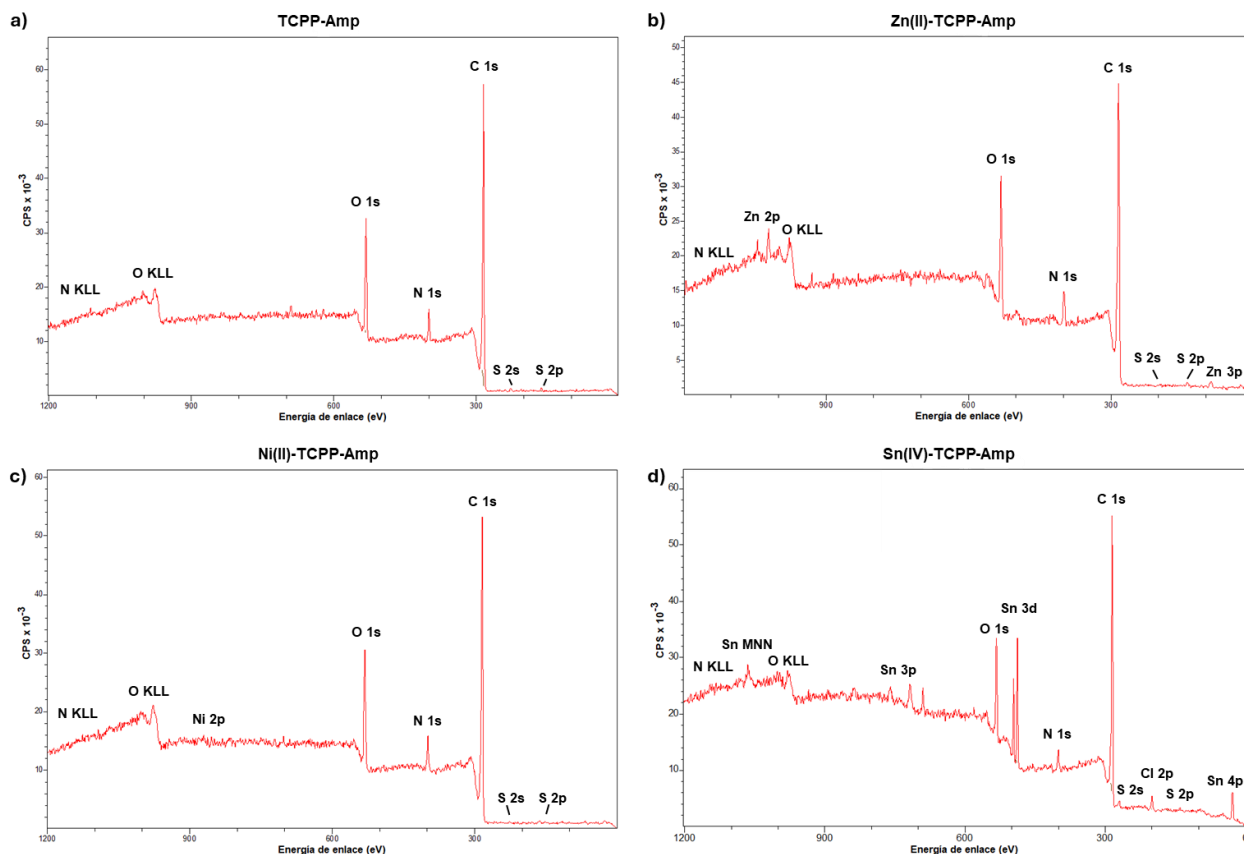


Figura 55

Espectros XPS de barrido general del híbrido porfirina-ampicilina TCPP–Amp (a) y de sus complejos metálicos de Zn(II) (b), Ni(II) (c) y Sn(IV) (d).



Análisis general de los niveles C 1s y O 1s

En todos los derivados, las señales C–C/C–H y C=C se localizaron entre 284.7–285.3 eV, con pequeñas variaciones atribuibles al grado de conjugación periférica.

Las componentes C–N (286.2–286.5 eV) y C=O (288.3–288.7 eV) mostraron desplazamientos hacia mayor energía de enlace ($\Delta BE \approx +0.2\text{--}0.3$ eV) tras la metalación, indicando una ligera deslocalización electrónica hacia el centro metálico, que reduce la densidad de carga sobre los carbonilos y amidas.

El pico COOH (~290.0 eV) mantuvo su posición en todas las muestras, confirmando que los grupos carboxílicos permanecen no coordinados.

En el nivel O 1s, se observaron tres componentes principales:

- C=O (530.9–531.1 eV): se desplazó hacia menor energía en los complejos metálicos ($\Delta BE \approx -0.2$ eV), reflejando un aumento en el carácter covalente del entorno y una redistribución de carga desde el anillo hacia el metal.
- O–C–N (532.2–532.4 eV): se mantuvo prácticamente inalterada, lo que sugiere que la coordinación ocurre en el núcleo porfirínico y no involucra los grupos amida o éster.
- C–OH / O adsorbido (533.0–533.3 eV): aumentó levemente en intensidad, coherente con adsorción superficial de disolventes polares (metanol o DMF) durante el secado.

Evolución del nivel N 1s: evidencia directa de coordinación M–N

El nivel N 1s constituye la principal evidencia de metalación. En las porfirinas libres, este nivel presentó dos componentes bien definidas:

- N aromático (pirrólico): 398.6–398.9 eV
- N amida / $-(C=O)-N-H$: 399.3–399.5 eV

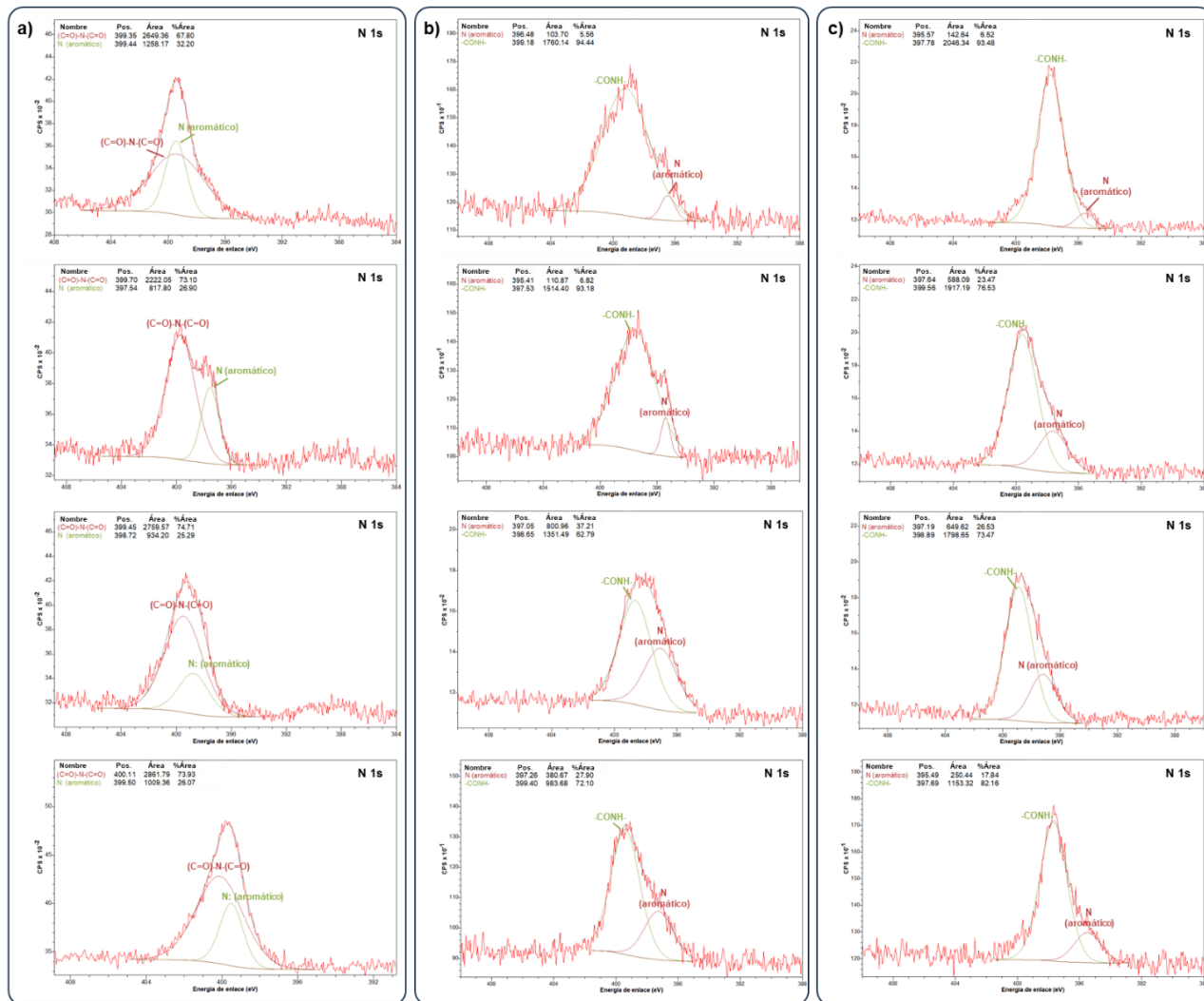
Tras la metalación, se registró un desplazamiento promedio $\Delta BE \approx +0.2-0.3$ eV en la componente amida y una disminución de su porcentaje de área relativa ($\Delta\% \approx -10-15\%$), mientras que la componente pirrólica se mantuvo o aumentó ligeramente en intensidad.

Esta tendencia indica que los átomos de nitrógeno internos del macrociclo (N_{pirrol}) participan directamente en la coordinación, mientras que los nitrógenos periféricos amídicos permanecen esencialmente sin cambios químicos.

La Figura 56 muestra los espectros N 1s de alta resolución para cada serie (paneles a–c), comparando los derivados libres y sus correspondientes complejos metálicos. Se aprecia claramente que la relación de áreas $N_{\text{amida}}/N_{\text{aromático}}$ pasó aproximadamente de 2.1 en los derivados libres a 1.5–1.7 en los complejos, lo cual confirma la desprotonación parcial del núcleo tetrapirrólico durante la inserción metálica. Este comportamiento se ha documentado ampliamente en sistemas metaloporfirínicos y son coherentes con la redistribución de carga observada en FTIR y UV–Vis, validando la coordinación efectiva en el centro porfirínico (Babu et al., 2019; Bagus et al., 2022; Baklanov et al., 2023; Bouicha et al., 2025; Grosvenor et al., 2006; Moulder et al., 1995; Sarno et al., 2001).

Figura 56

Espectros XPS de alta resolución N 1s para las series (a) TCPP-Éster, (b) TCPP-GABA y (c) TCPP-Amp, comparando los derivados libres y los complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV)(de arriba hacia abajo).



Serie TCPP-Éster

En la serie éster, las energías de enlace de N 1s (399.3–399.7 eV) y O 1s (531.0–533.1 eV) mostraron variaciones mínimas, lo cual indica que la coordinación metálica se restringe al núcleo y no involucra los carbonilos periféricos.

La secuencia de desplazamientos $\Delta BE(\text{Soret}) \rightarrow \Delta BE(\text{XPS})$ mantiene una correspondencia directa:

- Zn(II): +0.2 eV; Ni(II): +0.3 eV; Sn(IV): +0.4 eV, en consonancia con el incremento del carácter polarizante del metal.
- El porcentaje de N aromático aumentó de 32% en la TCPP-Éster a ~40% en los complejos, confirmando una participación efectiva del par electrónico no compartido de los nitrógenos pirrólicos en la coordinación.
- Los valores metálicos observados —Zn $2p_{3/2}$ = 1021.1 eV, Ni $2p_{3/2}$ = 854.5 eV (satélite 861 eV) y Sn $3d_{5/2}$ = 486.6 eV— son característicos de estados Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) en entornos porfirínicos (Bagus et al., 2022; Kadish et al., 2003; Stredansky et al., 2019).

Serie TCPP-GABA

La introducción del espaciador GABA produjo un ligero aumento en la polaridad y en la intensidad de las señales O–C–N (532.3 eV) y N–H (399.3 eV).

Tras la metalación, el desplazamiento del N 1s fue más pronunciado ($\Delta BE \approx +0.4$ eV), asociado a un incremento de la deslocalización electrónica a lo largo del espaciador con el enlace amida formado. Los valores de BE metálicos se mantuvieron prácticamente constantes respecto a la serie éster, aunque con un mayor $\Delta\% \text{Área}(\text{O–C–N})$, lo que indica un efecto sinérgico entre la cadena GABA y la densidad electrónica del metal.

Esta respuesta sugiere que la flexibilidad conformacional del GABA favorece una mejor reorganización electrónica alrededor del núcleo coordinado, sin alterar la simetría D_{4h} final del complejo (Bagus et al., 2022; Bouicha et al., 2025; Pérez-Cadenas et al., 2021; Sun et al., 2023).

Serie TCPP–Amp

El híbrido TCPP–Amp mostró un patrón más complejo debido a la presencia de heteroátomos adicionales (S, N y O).

La aparición de picos C–S (~ 285.6 eV) y S $2p_{3/2}$ (163.6 – 164.0 eV) confirmó la integridad del anillo β -lactámico de la ampicilina.

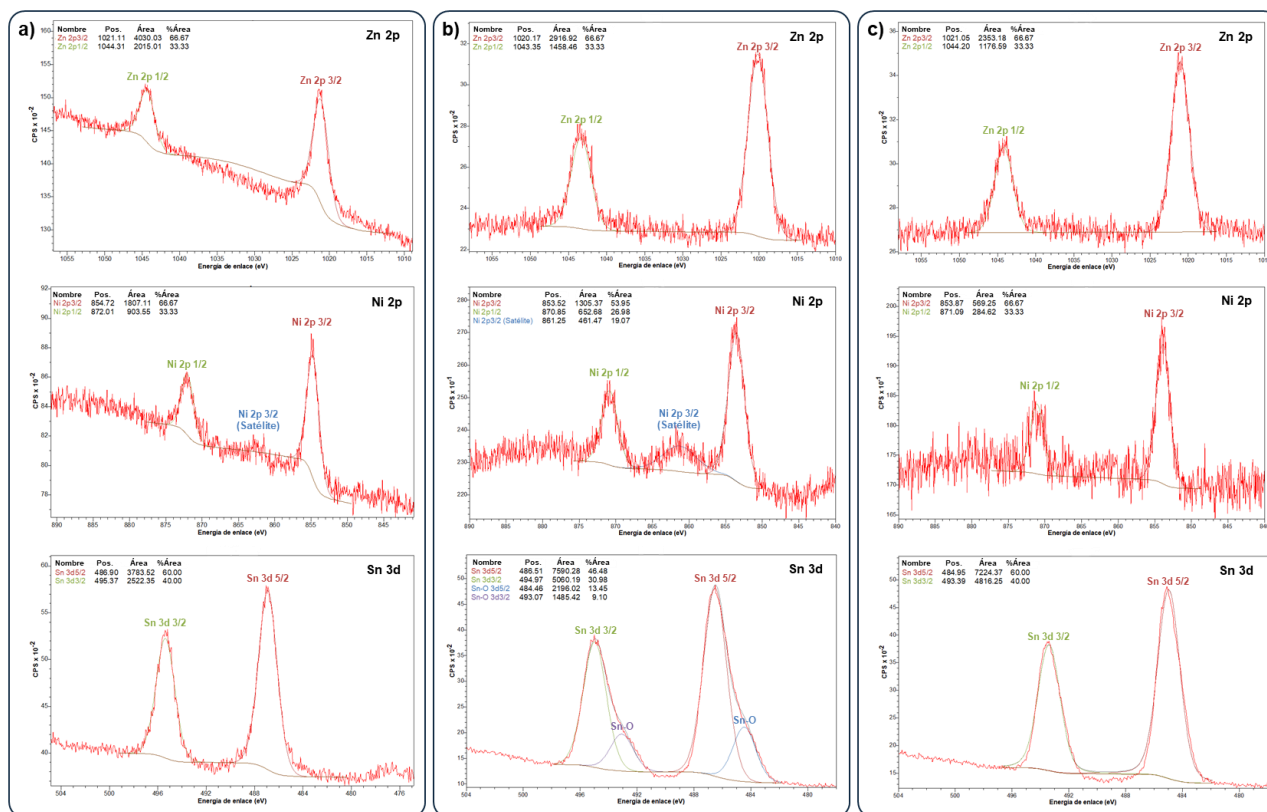
Tras la metalación, las señales N 1s y O 1s experimentaron desplazamientos menores ($\Delta BE \approx +0.2$ eV), pero la intensidad relativa de C–N aumentó ligeramente ($\sim +3\%$), indicando mayor interacción electrónica entre el metal y los grupos amídicos periféricos.

El Sn(IV) mostró un desplazamiento adicional de $+0.3$ eV en $3d_{5/2}$ ($486.9 \rightarrow 487.2$ eV), posiblemente asociado a un entorno axial mixto (Sn–O/Sn–Cl) y a la presencia de oxígeno proveniente del grupo ampicilina (Babu et al., 2019; Baklanov et al., 2023; Sarno et al., 2001).

Los espectros de alta resolución de los niveles metálicos (Figura 57) confirman los estados de oxidación esperados para cada complejo. En el caso del Zn 2p, se detectan los picos $2p_{3/2}$ y $2p_{1/2}$ a 1021.1 y 1044.2 eV, respectivamente, sin presencia de satélites, evidenciando un entorno diamagnético Zn(II)–N. Para el Ni 2p, se observa el doblete característico en 854.5 y 872.0 eV, acompañado de un satélite shake-up de baja intensidad a ≈ 861 eV, diagnóstico de Ni(II) con hibridación d– π parcial. Finalmente, el Sn 3d exhibe los picos $3d_{5/2}$ (486.6 eV) y $3d_{3/2}$ (495.9 eV) con separación de ~ 8.4 eV, típica de Sn(IV) coordinado axialmente (Sn–O/Sn–Cl). Estos resultados confirman que todos los complejos mantienen los estados metálicos previstos y una coordinación estable con el núcleo porfirínico.

Figura 57

Espectros XPS de alta resolución de los metales Zn 2p, Ni 2p y Sn 3d de los complejos derivados e híbrido de TCPP: TCPP-Éster (a), TCPP-GABA (b) y TCPP-Amp (c).



La Tabla 11 resume los parámetros experimentales obtenidos a partir de los espectros XPS de alta resolución para las series de derivados porfirínicos e híbrido porfirina-ampicilina (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) y sus respectivos complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). En ella se integran las posiciones de energía de enlace (BE) características de los niveles N 1s, O 1s y de los núcleos metálicos, junto con las asignaciones químicas y observaciones relevantes. Los valores reflejan los desplazamientos sistemáticos de energía de enlace (Δ BE) asociados a la formación de enlaces M-N, la desprotonación del núcleo tetrapirrólico y la redistribución electrónica inducida por la inserción metálica. Esta síntesis comparativa permite visualizar la evolución electrónica de las tres familias de compuestos y correlacionar las tendencias observadas con los resultados espectroscópicos obtenidos por UV-Vis y FTIR.

Tabla 11

Resumen comparativo de parámetros XPS para las tres series (valores representativos; se muestran las componentes dominantes de alta resolución).

Serie / Complejo	N 1s dominante (eV)	O 1s C=O (eV)	Pico metálico (eV)	Evidencia clave de coordinación
TCPP-Éster (libre)	~399.3–399.5 (N imida/porf)	~530.8– 531.0	—	Núcleo H ₂ P; grupos éster activos intactos.
Zn(II)-TCPP- Éster	~398.6–399.0 (M–N)	~530.9	Zn 2p _{3/2} ≈ 1021.1	Desaparición N–H; Zn(II)–N porfirínico; éster no coordinante.
Ni(II)-TCPP- Éster	~398.7 (M–N)	~531.0	Ni 2p _{3/2} ≈ 854.5 + sat ~861	Ni(II) d ⁸ ; firma shake-up; coordinación planar.
Sn(IV)-TCPP- Éster	~399.5–400.1 (M–N / N amida)	~531.0	Sn 3d _{5/2} ≈ 486.5; Cl 2p presente	Sn(IV) con ligación axial; núcleo porfirínico coordinado.
TCPP-GABA (libre)	~399.2–399.5 (N amida)	~531.3– 531.5	—	Amida GABA formada; núcleo sin metalar.
Zn(II)-TCPP- GABA	~398.8–399.5 (M–N + amida)	~531.0	Zn 2p _{3/2} ≈ 1021.1	Coordinación central; amida periférica conservada.
Ni(II)-TCPP- GABA	~398.6–398.9 (M–N)	~530.6– 531.0	Ni 2p _{3/2} ≈ 854.5 + sat	Mayor ΔBE(N 1s), deslocalización vía espaciador.
Sn(IV)-TCPP- GABA	~399.4 (amida) + M–N	~531.0	Sn 3d _{5/2} ≈ 486.5	Desplazamiento O 1s; Sn–O/Sn– N axial.
TCPP-Amp (libre)	~399.5 (amidas/lactámico)	~531.0– 531.2	S 2p _{3/2} ≈ 163.8	Integridad β-lactámico; núcleo H ₂ P.
Zn(II)-TCPP- Amp	~398.8 (M–N) + 399.5	~531.0	Zn 2p _{3/2} ≈ 1021.2	Coordinación central; leve aumento C–N.
Ni(II)-TCPP- Amp	~398.8 (M–N)	~531.0	Ni 2p _{3/2} ≈ 854.5 + sat	Acentuado carácter π–d; entorno más polar.
Sn(IV)-TCPP- Amp	~399.5 (amida) + M–N	~531.0	Sn 3d _{5/2} ≈ 487.0	Mayor ΔBE; entorno axial mixto influido por Amp.

La correlación entre los desplazamientos $\Delta E(XPS)$ y los corrimientos batocrómicos $\Delta\lambda(UV-Vis)$ confirma una relación directa entre el aumento del carácter covalente del enlace M–N y la disminución de la brecha HOMO–LUMO del sistema.

La reducción progresiva de la razón $I(Q)/I(Soret)$ en UV–Vis y el desplazamiento de N 1s hacia mayores energías reflejan la misma tendencia de redistribución electrónica desde el anillo hacia el metal, reforzada por el desplazamiento de $\nu(C=N)$ en FTIR ($\sim 1605\text{--}1610\text{ cm}^{-1}$).

4.2.3.4 Evidencia de desplazamiento químico: RMN (^1H y ^{13}C)

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) permitió analizar los cambios electrónicos y estructurales asociados a la coordinación metálica en las series TCPP–Éster, TCPP–GABA y TCPP–Amp. Los espectros de ^1H y ^{13}C (Figura 58) evidenciaron variaciones en los desplazamientos químicos, intensidades y espectros de resonancia característicos del núcleo tetrapirrólico y de los grupos funcionales periféricos, confirmando la desprotonación del macrociclo y la formación de los complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).

Evidencia ^1H RMN

Los espectros de ^1H RMN de los derivados libres mostraron los patrones típicos de porfirinas no metaladas: señales agudas correspondientes a los protones β del macrociclo ($\delta = 8.7\text{--}8.9\text{ ppm}$), protones aromáticos de los anillos fenilos ($\delta = 8.3\text{--}8.2\text{ ppm}$), y un singlete característico en $\delta \approx -2.9\text{ ppm}$ atribuible a los protones N–H internos del núcleo tetrapirrólico. Tras la metalación, esta última señal desapareció completamente, constituyendo la evidencia más directa de la desprotonación del núcleo y la formación de enlaces M–N (V. E. De Oliveira et al., 2011; Giannoudis et al., 2020).

En todos los complejos, las señales β -pirrólicas experimentaron desplazamientos a campo bajo de $\Delta\delta \approx +0.10\text{--}0.16$ ppm, asociados al aumento de la densidad paramagnética y a la deslocalización electrónica hacia el centro metálico (Das et al., 2024; Ezzayani et al., 2023). En los complejos de Ni(II), este desplazamiento fue el más notable, acompañado por un ensanchamiento significativo y reducción de intensidad en las señales, reflejando la interacción $d-\pi$ y el carácter parcialmente paramagnético del ion Ni^{2+} (d^8) (L. Wang et al., 2024). Por el contrario, los complejos de Zn(II) mostraron desplazamientos leves y picos bien definidos, coherentes con su naturaleza diamagnética y simetría D_{4h} (V. E. De Oliveira et al., 2011; Hashimoto et al., 1999). En los complejos de Sn(IV), se observó un comportamiento intermedio con señales más anchas y de menor intensidad, atribuible a la influencia de ligandos axiales (Sn–O o Sn–Cl) y al acoplamiento fuera del plano del macrociclo (Hashimoto et al., 1999).

Cabe destacar que la intensidad global de los picos disminuyó considerablemente en todos los complejos metálicos, lo cual puede atribuirse a una combinación de factores: baja solubilidad en DMSO- d_6 , anisotropía paramagnética del centro metálico, y aumento de la viscosidad del medio por la agregación parcial de las metaloporfirinas (Grössl et al., 2023). A pesar de esta disminución, las señales principales del macrociclo pudieron ser identificadas y correlacionadas con los valores de desplazamiento esperados para porfirinas metaladas.

En los sustituyentes periféricos, las señales alifáticas y aromáticas permanecieron prácticamente sin variación, confirmando que la metalación ocurre en el núcleo porfirínico y no afecta las regiones amídicas, éster o β -lactámicas. En el híbrido TCPP–Amp, las resonancias entre δ 5.2–3.5 ppm (protones del anillo β -lactámico) y δ 6.8 ppm (N–H amida) conservaron su posición, demostrando la estabilidad del fragmento antibiótico tras la inserción metálica (Sekhar et al., 2022; Singha et al., 2017).

Evidencia ^{13}C RMN

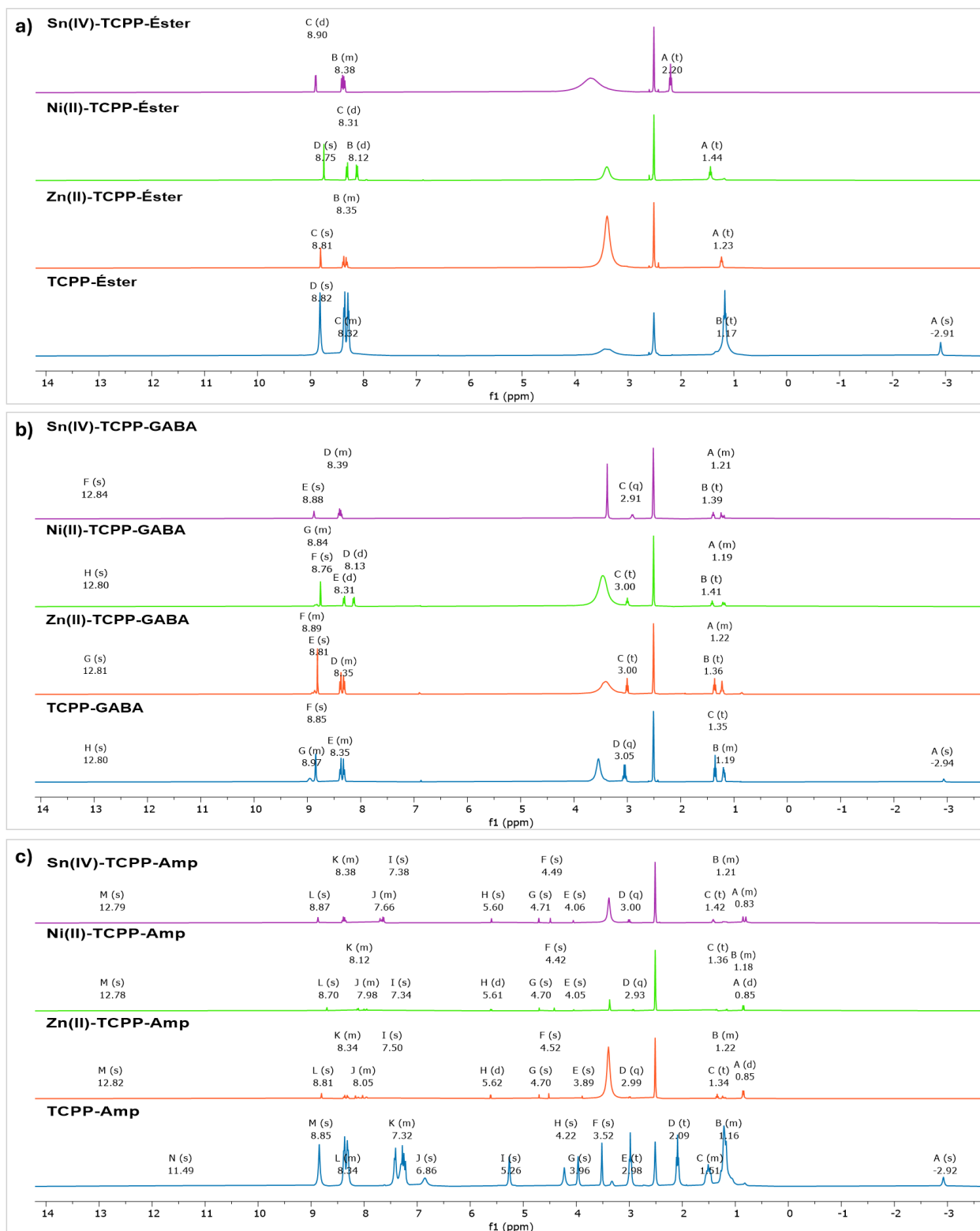
Los espectros de ^{13}C RMN confirmaron las tendencias observadas en ^1H RMN para las series TCPP-Éster y TCPP-GABA. En la TCPP-Éster, los carbonos meso ($\delta \approx 145.8$ ppm) y β -pirrólicos ($\delta \approx 130.9$ ppm) mostraron desplazamientos a campo bajo de $+0.3$ – 0.5 ppm tras la metalación, reflejando la redistribución electrónica hacia el metal coordinado. Los carbonilos de los grupos éster ($\delta \approx 170$ – 173 ppm) permanecieron prácticamente invariantes, lo que confirma que los grupos periféricos no participan en la coordinación (Giannoudis et al., 2020).

En la serie TCPP-GABA, los desplazamientos fueron similares, aunque con señales ligeramente más anchas, probablemente debido a la flexibilidad conformacional del espaciador alifático. Sin embargo, en el caso del Sn(IV) -TCPP-GABA, el espectro ^{13}C no pudo ser registrado con resolución suficiente, presumiblemente por la baja solubilidad y el ensanchamiento paramagnético inducido por el estaño tetravalente.

De igual forma, los espectros ^{13}C de los complejos del híbrido TCPP-Amp no pudieron obtenerse con calidad analítica adecuada, debido a la combinación de alta masa molecular, complejidad estructural y posible agregación intermolecular, que reducen la relajación de los núcleos de carbono y dificultan su detección. Sin embargo, las evidencias del ^1H RMN y la coherencia con las series anteriores respaldan la integridad estructural y la coordinación efectiva del metal.

Figura 58

Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) de los derivados TCPP-Éster (a), TCPP-GABA (b) y el híbrido TCPP-Amp (c) y sus respectivos complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).



Correlación cuantitativa de desplazamientos químicos ($\Delta\delta$)

Los valores experimentales de desplazamiento químico obtenidos para las tres series (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) confirman de manera cuantitativa las tendencias de desapantallamiento discutidas anteriormente.

En la serie TCPP-Éster, los protones β -pirrólicos y orto-fenílicos ($\delta \approx 8.3$ – 8.9 ppm) experimentaron desplazamientos a campo bajo de $\Delta\delta \approx +0.58$ ppm para Zn(II) y Sn(IV), mientras que el complejo de Ni(II) mostró un leve desplazamiento a campo alto ($\Delta\delta \approx -0.01$ ppm), coherente con la redistribución paramagnética localizada. Los protones metilénicos ($\delta \approx 1.1$ – 1.2 ppm) se desplazaron progresivamente a campo bajo hasta $\delta \approx 2.2$ ppm en Sn(IV), indicando un efecto de campo ligando axial fuerte. En todos los complejos desapareció la señal del N-H interno ($\delta \approx -2.9$ ppm), confirmando la desprotonación completa del núcleo tetrapirrólico.

En la serie TCPP-GABA, los desplazamientos aromáticos siguieron la misma tendencia de desapantallamiento $\text{Sn(IV)} \gtrsim \text{Zn(II)} > \text{Ni(II)}$. Por ejemplo, el protón E (δ 8.35 ppm en el derivado libre) se desplazó a 8.81 ppm (Zn), 8.31 ppm (Ni) y 8.88 ppm (Sn), mientras que el protón F (δ 8.85 ppm) presentó un corrimiento menor (+0.04 ppm) en los complejos de Zn(II) y Sn(IV). Los protones metilénicos del espaciador alifático (δ 1.2–3.0 ppm) mostraron corrimientos de +0.2 a +1.7 ppm, atribuidos a la retirada electrónica y al acoplamiento dipolar con el centro metálico. La señal de la amida –CONH– ($\delta \approx 12.8$ ppm) permaneció prácticamente inalterada, confirmando que la coordinación no involucra los grupos periféricos tipo amida, sino los nitrógenos internos del anillo.

Finalmente, la serie TCPP-Amp exhibió los desplazamientos más pronunciados, reflejando el carácter altamente polar y anisotrópico del fragmento β -lactámico. Los protones

aromáticos (δ 7.3–8.3 ppm) se desplazaron hasta $\delta \approx 8.8$ ppm en Zn(II) y Sn(IV), mientras que los protones adyacentes a heteroátomos (δ 3.5–5.3 ppm) experimentaron corrimientos significativos a campo bajo (+1.0–2.2 ppm), en particular los asociados al anillo β -lactámico. La señal de amida externa ($\delta \approx 11.5$ –12.8 ppm) se mantuvo sin variaciones relevantes, mientras que el N–H interno desapareció, corroborando nuevamente la metalación central sin perturbación del antibiótico.

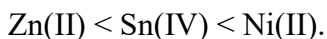
Así los desplazamientos $\Delta\delta$ observados confirman que los efectos de desprotección y redistribución electrónica aumentan en el orden:



correlacionándose con la fuerza de campo ligando y la polarizabilidad del sustituyente periférico.

En general, los desplazamientos a campo bajo en los β -protones y en los carbonos meso, junto con la desaparición de los N–H internos y la disminución de la intensidad de las señales, constituyen indicadores inequívocos de metalación efectiva y reorganización electrónica del núcleo porfirínico (V. E. De Oliveira et al., 2011; Gjuroski et al., 2021). Los efectos paramagnéticos observados —más pronunciados en Ni(II) y Sn(IV)— concuerdan con los resultados obtenidos por XPS (sección 4.2.3.3) y con los corrimientos ópticos observados en UV–Vis, demostrando la consistencia entre las distintas técnicas espectroscópicas.

De esta forma, los resultados de RMN confirman que la coordinación metálica genera una redistribución electrónica localizada en el núcleo tetrapirrólico, con desplazamientos $\Delta\delta$ proporcionales al carácter covalente y al campo ligando del metal, siguiendo el orden:



Asimismo, la disminución en la intensidad de las señales y la ausencia parcial de espectros de carbono en los complejos de Sn(IV) y en los híbridos metalados indican un efecto combinado

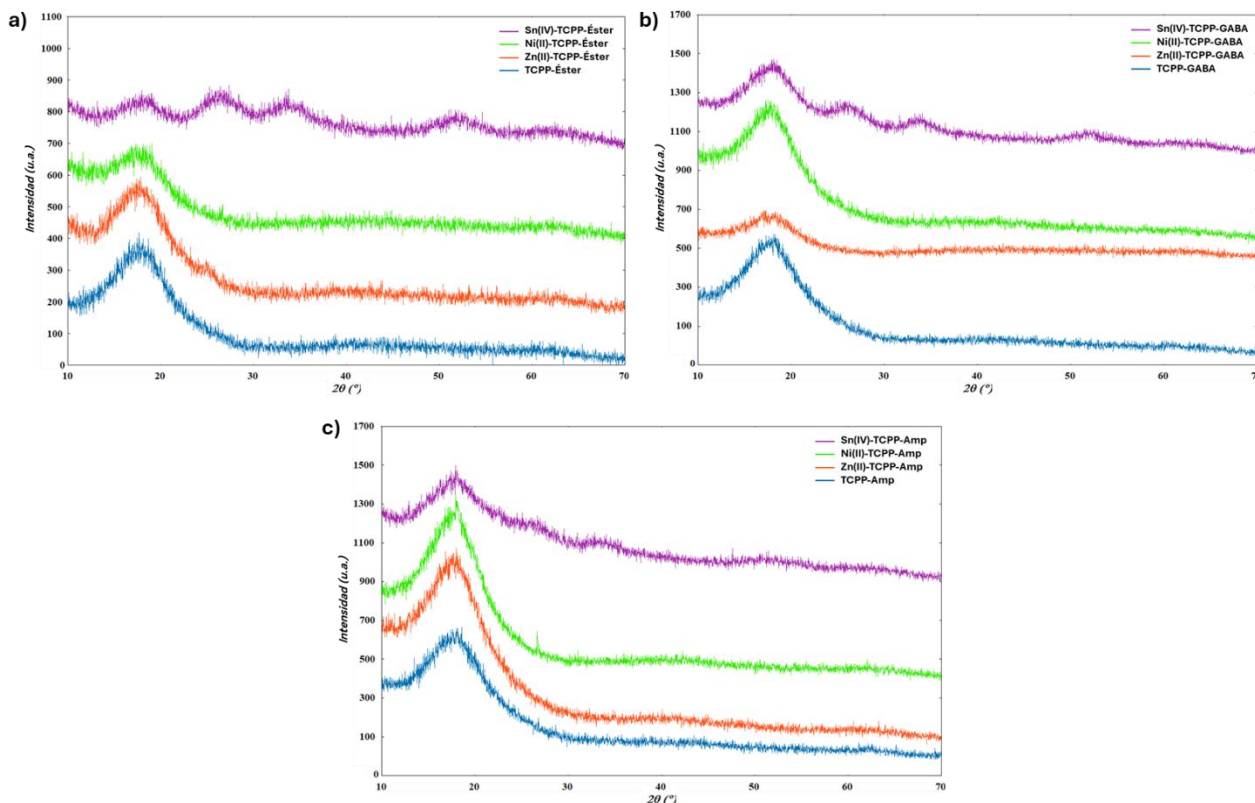
de paramagnetismo, agregación y baja solubilidad, fenómenos esperables en metaloporfirinas de alta masa molecular y entorno polar complejo (Giannoudis et al., 2020; Gjuroski et al., 2021; L. Wang et al., 2024).

4.2.4 Análisis por difracción de rayos X (DRX) y análisis térmico

Difracción de rayos X (DRX): El análisis de difracción de rayos X (DRX) se realizó con el propósito de evaluar la organización estructural y el grado de cristalinidad de los derivados funcionalizados y sus complejos metálicos. Los patrones obtenidos (Figura 59) muestran que la mayoría de los compuestos presentan difractogramas de carácter amorfo, con amplias zonas de dispersión en el intervalo $2\theta = 10\text{--}40^\circ$, sin la presencia de picos definidos. Este comportamiento sugiere una disposición desordenada y heterogénea de las unidades porfirínicas, atribuida a la naturaleza orgánica, la flexibilidad conformacional de los sustituyentes periféricos y la ausencia de empaquetamiento cristalino regular.

Figura 59

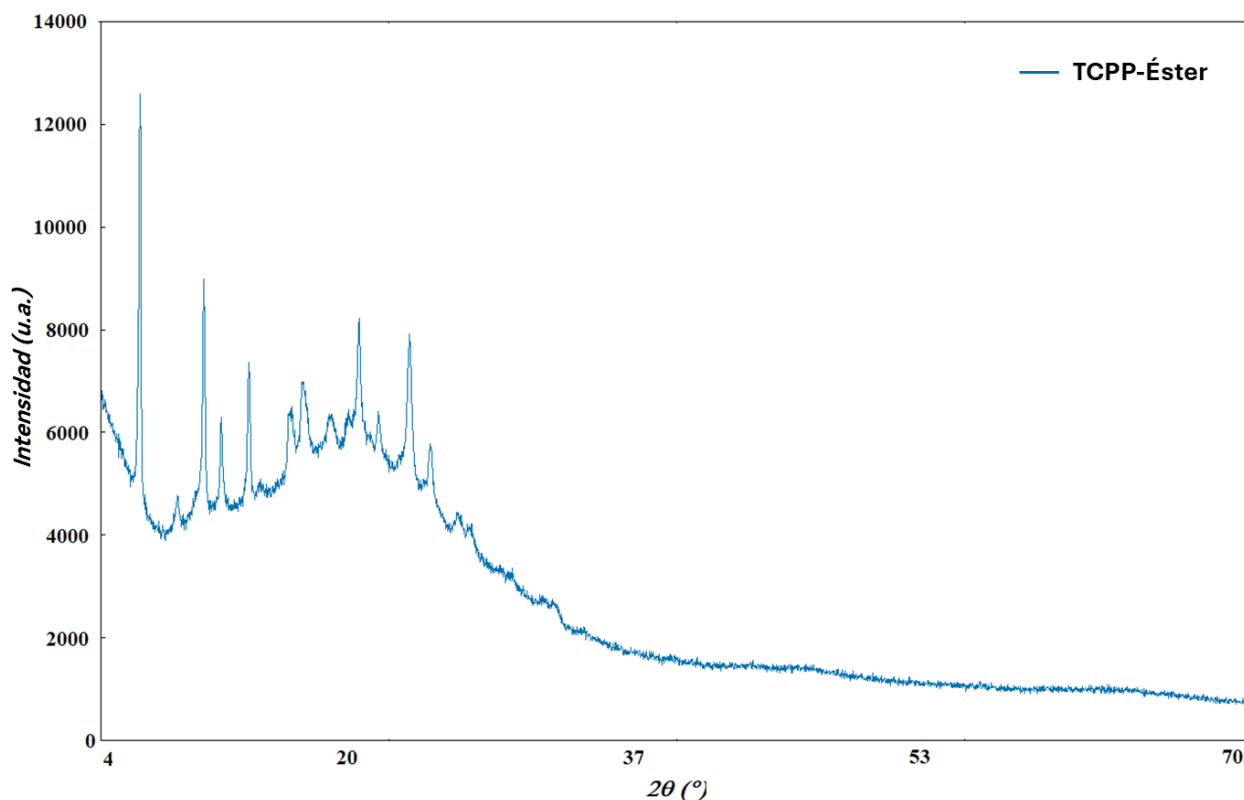
Patrones de difracción de rayos X ($2\theta = 10\text{--}70^\circ$) de los derivados porfirínicos TCPP-Éster (a), TCPP-GABA (b) y el híbrido TCPP-Amp (c) con sus respectivos complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).



Tras un proceso de recristalización selectiva, únicamente el TCPP-Éster mostró un patrón parcialmente cristalino (Figura 60), con la aparición de alrededor de 15 picos poco definidos en la región $2\theta = 4\text{--}37^\circ$, entre los cuales destacan los máximos débiles en $2\theta \approx 6.240^\circ$, 9.897° , 10.899° y 12.485° . Estas señales sugieren una organización laminar parcial inducida por interacciones intermoleculares $\pi\text{--}\pi$ entre los anillos porfirínicos y la orientación limitada de los grupos succinimídicos del intermediario activado. La baja intensidad de las señales y su anchura considerable confirman, sin embargo, la ausencia de un orden cristalino tridimensional extenso, propio de sólidos moleculares con empaquetamiento flexible (Babu et al., 2019; W. T. Chen et al., 2015; Giannoudis et al., 2020).

Figura 60

Patrón de difracción de rayos X ($2\theta = 4\text{--}70^\circ$) del TCPP-Éster recristalizado.



Los complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) conservaron el comportamiento amorfo, sin aparición de picos definidos tras la metalación. Este resultado es congruente con la desorganización estructural inducida por la coordinación metálica, la cual distorsiona la planicidad del macrociclo y favorece configuraciones D_{4h} ligeramente deformadas. Tales efectos han sido descritos en metaloporfirinas con ligandos periféricos voluminosos, donde la metalación genera agregados supramoleculares amorfos con débil difracción (Kadish et al., 2003, 2013).

En general, el análisis DRX confirma que los derivados funcionalizados y sus complejos metálicos presentan estructura predominantemente amorfa con regiones localmente ordenadas en el caso del TCPP-Éster recristalizado, lo que concuerda con su comportamiento observado en

disolución (UV–Vis y RMN) y con la baja simetría cristalina asociada a las porfirinas funcionalizadas.

Análisis térmico (DSC)

El análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC) permitió evaluar las transiciones térmicas y la estabilidad estructural del derivado TCPP–Éster y sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) (Figura 61). Esta técnica mide el flujo de calor asociado a procesos endotérmicos o exotérmicos que ocurren durante el calentamiento controlado de una muestra, proporcionando información sobre transiciones de fase, relajaciones estructurales o procesos de descomposición parcial (Craig & Reading, 2007; Haines, 2002).

En el TCPP–Éster libre, el termograma exhibe un evento endotérmico amplio entre 60–120 °C, atribuido a la pérdida de moléculas de disolvente adsorbidas y a la relajación estructural del sólido amorfo. A temperaturas superiores (~200–280 °C) se observa una transición endotérmica secundaria difusa, que puede asociarse con un reordenamiento supramolecular limitado o la iniciación de la degradación del macrociclo porfirínico, sin que se evidencie una fusión definida, coherente con la naturaleza no cristalina del material (Craig & Reading, 2007).

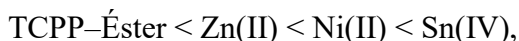
En los complejos metálicos, los perfiles térmicos muestran variaciones sistemáticas atribuibles al efecto estabilizante de la coordinación metálica.

- El complejo Zn(II)–TCPP–Éster mantiene un comportamiento similar al ligando libre, con el máximo endotérmico desplazado hacia ~87 °C, lo que sugiere una mayor rigidez estructural y menor movilidad molecular.
- En el Ni(II)–TCPP–Éster, el pico endotérmico principal aparece en torno a 87 °C, acompañado de un hombro leve a 230–250 °C, interpretado como un evento de

reorganización local dentro del macrociclo metalado, donde la coordinación plana del Ni(II) refuerza la simetría D_{4h} y restringe las vibraciones intermoleculares (Craig & Reading, 2007; Haines, 2002).

- El Sn(IV)–TCPP–Éster exhibe el perfil más desplazado, con un evento endotérmico amplio con un máximo a ~ 99 °C y un cambio exotérmico leve posterior (~ 337 °C), que puede atribuirse a procesos de relajación estructural o a la pérdida de ligandos axiales débiles (Sn–O o Sn–Cl), evidenciando la alta polarizabilidad del estaño tetravalente y su influencia en la estabilidad térmica global.

La comparación de los termogramas revela una tendencia creciente en la temperatura de transición (T_{end}) según el metal coordinado:

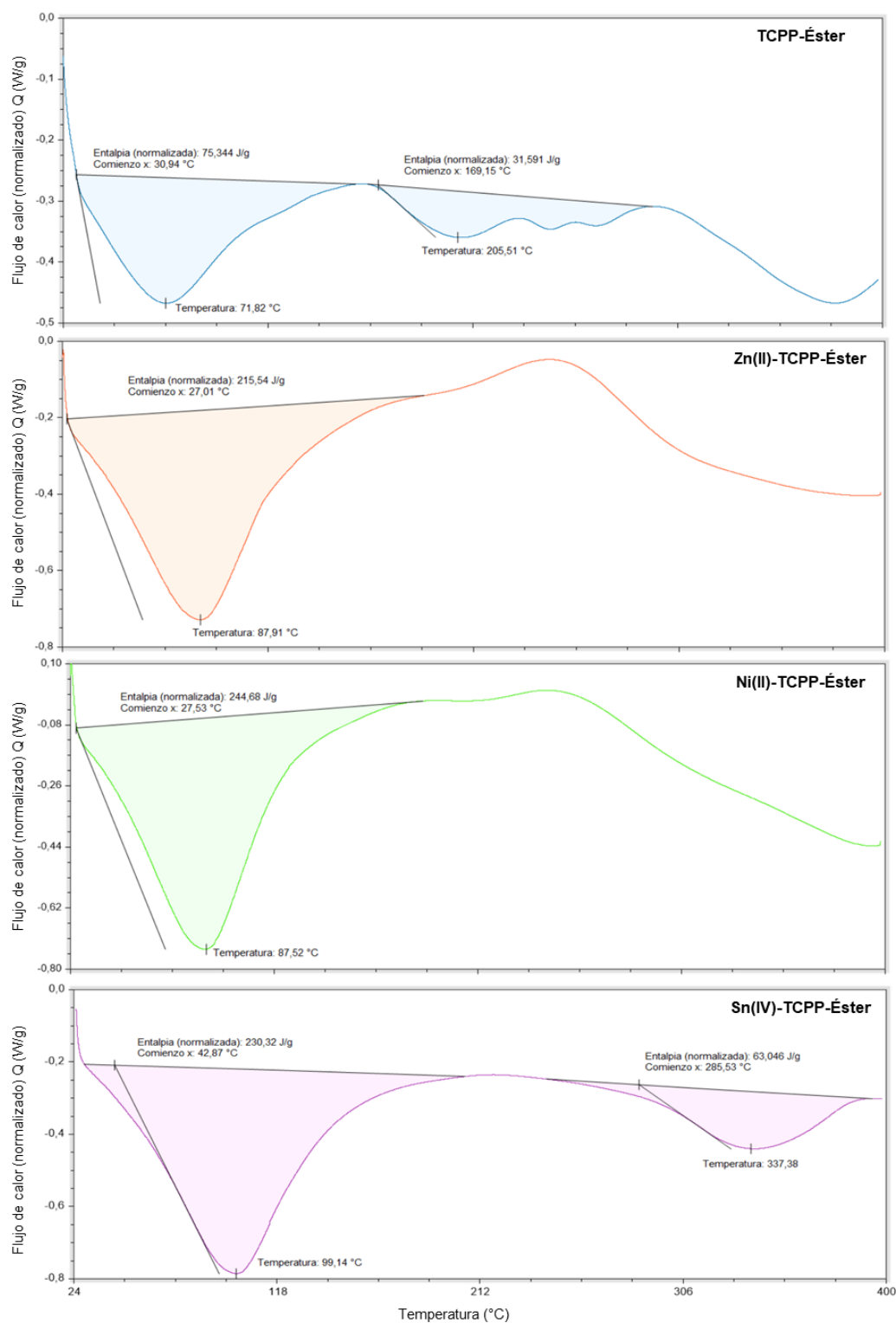


indicando que el refuerzo de las interacciones metal–nitrógeno y la rigidez conformacional del macrociclo contribuyen a una mayor estabilidad térmica y resistencia a reorganizaciones supramoleculares.

En todos los casos, la ausencia de picos de fusión definidos y la amplitud de las señales confirman el carácter amorfo o semicristalino de los materiales, en concordancia con los resultados de DRX. La anchura de las transiciones térmicas se asocia a una distribución heterogénea de dominios estructurales y a la presencia de interacciones π – π entre unidades porfirínicas (Craig & Reading, 2007; Haines, 2002).

Figura 61

Curvas DSC de TCPP-Éster y de sus complejos metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).



4.3 Conclusiones del capítulo

El conjunto de resultados obtenidos en este capítulo permite establecer, con un alto nivel de certeza, que la estrategia sintética empleada condujo a la obtención exitosa de los derivados porfirínicos funcionalizados (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) y de sus complejos metalados con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). La convergencia de la evidencia espectroscópica, electrónica y térmica respalda la correcta formación de los híbridos y confirma la coordinación metálica central como el evento estructural dominante tras la inserción del ion metálico.

Los análisis UV-Vis mostraron desplazamientos batocrómicos progresivos de la banda Soret y la simplificación del sistema Q, efectos característicos de la transición de una porfirina base libre (D_{2h}) a complejos metalados con simetría cercana a D_{4h} . La magnitud de los corrimientos ($Zn < Ni < Sn$) revela un aumento escalonado en la interacción metal-macrocielo, con Sn(IV) ejerciendo el campo ligando más intenso y Ni(II) manifestando un acoplamiento $\pi-d$ notable, coherente con la literatura de metaloporfirinas con aplicación en PDT.

La evidencia vibracional (FTIR) confirmó cambios funcionales compatibles con la metalación: desplazamientos de $\nu(C=O)$ y $\nu(C-O)$, intensificación de $\nu(C=N)$ y aparición de bandas $\nu(M-N)$ y $\nu(Sn-O)$, indicando desprotonación del núcleo y reorganización electrónica interna. Estas transformaciones se observaron sin alteración de los carbonilos periféricos, lo cual demuestra que la coordinación está confinada al núcleo tetrapirrólico y no involucra los grupos funcionales introducidos (éster, amida, β -lactámico).

El análisis XPS otorgó evidencia directa de la desprotonación del núcleo porfirínico y la formación de enlaces M-N mediante la transición de la señal N 1s, además de confirmar los estados de oxidación esperados: Zn(II), Ni(II) —con satélites *shake-up* diagnósticos— y Sn(IV). Los desplazamientos de energía de enlace en N 1s y O 1s correlacionaron directamente con la

creciente polarizabilidad metálica ($\text{Zn} < \text{Ni} < \text{Sn}$), estableciendo una relación estructura–electrónica robusta que es coherente con los patrones observados en los espectros ópticos.

Los estudios de RMN corroboraron la coordinación metálica a partir de desplazamientos a campo bajo en señales aromáticas y alifáticas, desaparición del N–H interno en los complejos y, particularmente, un efecto acentuado en el híbrido TCPP–Amp, donde los grupos amídicos y β -lactámicos generan un entorno electrónico altamente polarizable. La disminución significativa de intensidad en los espectros de ^1H RMN para los complejos, junto con la ausencia de señales claras en ^{13}C para Sn–TCPP–GABA y los complejos del híbrido Amp, se atribuye a procesos de agregación supramolecular, anisotropía diamagnética y a la disminución de movilidad molecular tras la metalación, fenómenos ampliamente reportados en sistemas porfirínicos metalados.

Los resultados de DRX confirmaron el carácter mayoritariamente amorfo de los sólidos sintetizados, atribuible a la flexibilidad conformacional y a la tendencia de las porfirinas funcionalizadas a formar agregados desordenados. Sin embargo, el TCPP–Éster recristalizado mostró un patrón parcialmente cristalino, lo que sugiere que la presencia de grupos éster favorece un empaquetamiento más regular en comparación con los híbridos amídicos o β -lactámicos.

Finalmente, los análisis térmicos por DSC evidenciaron eventos endotérmicos amplios asociados a pérdida de solvente y reorganización estructural, junto con transiciones adicionales dependientes del metal. Los complejos de Ni(II) y Sn(IV) presentaron entalpías más altas y temperaturas de transición desplazadas hacia mayores valores, lo que sugiere una mayor rigidez y estabilidad térmica, coherente con un campo ligando más fuerte y una coordinación más robusta.

En general, los datos obtenidos permiten delinear una relación estructura–propiedad clara y consistente:

- El tipo de sustituyente periférico modula la densidad electrónica y la polaridad del macrociclo.
- El metal coordina exclusivamente al núcleo porfirínico, modificando su simetría, capacidad de deslocalización y estabilidad térmica.
- La serie Sn(IV) presenta los efectos más pronunciados en desplazamientos ópticos, electrónicos y térmicos, seguida de Ni(II) y Zn(II).
- Los híbridos TCPP–Amp exhiben la mayor sensibilidad electrónica ante la metalación, lo cual es relevante para procesos fotofísicos y para su futura evaluación en PDT.

Estas tendencias permiten anticipar que las diferencias estructurales y electrónicas observadas se reflejarán en la actividad fotoquímica y en la posible generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en los ensayos *in vitro*, particularmente en los complejos de Zn(II), Sn(IV) y Ni(II), donde la reorganización electrónica y la modulación de la brecha HOMO–LUMO sugieren un mayor potencial fotodinámico. De esta forma, los hallazgos del capítulo 4 sientan una base sólida para la interpretación de los resultados biológicos presentados en el capítulo 5 y permiten establecer conexiones directas entre la estructura molecular, el entorno electrónico y el desempeño fotobiológico esperado.

5. Actividad Antileishmania y Antibacteriana

La búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas contra infecciones parasitarias y bacterianas resistentes constituye un reto prioritario en biomedicina. La leishmaniasis cutánea y las infecciones bacterianas oportunistas asociadas representan un problema clínico particularmente complejo, debido a la emergencia de resistencia a fármacos convencionales, la toxicidad de los tratamientos actuales y la persistencia de nichos tisulares donde los patógenos pueden evadir la respuesta inmune. En este contexto, las porfirinas funcionalizadas y sus complejos metálicos han emergido como plataformas prometedoras por su versatilidad estructural, capacidad de generar especies reactivas de oxígeno (ROS) bajo irradiación y su potencial como agentes terapéuticos duales.

Las porfirinas poseen un macrociclo tetrapirrólico altamente conjugado, cuyas propiedades fisicoquímicas pueden modificarse mediante la introducción de grupos funcionales o la coordinación con diferentes cationes metálicos. Estas modificaciones influyen directamente en aspectos críticos como solubilidad, agregación, comportamiento fotofísico y afinidad por membranas biológicas, parámetros que determinan su eficacia terapéutica tanto en oscuridad como bajo activación fotodinámica. Adicionalmente, la terapia fotodinámica (PDT) basada en porfirinas ofrece ventajas significativas frente a tratamientos convencionales, al permitir una activación espacial y temporal precisa mediante luz, generando daño selectivo sobre células parasitarias y bacterianas a través de ROS altamente citotóxicas.

Evaluar la actividad biológica de nuevas moléculas basadas en porfirinas implica analizar no solo su citotoxicidad intrínseca, sino también la contribución diferencial de la funcionalización y la coordinación metálica sobre la actividad antileishmania y antibacteriana. En particular, grupos funcionales como ésteres, cadenas GABA o fragmentos antibióticos (por ejemplo, ampicilina)

alteran la interacción con membranas, el transporte celular y la localización subcelular, mientras que metales como Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) modifican el rendimiento cuántico de oxígeno singlete, la eficiencia del cruce intersistema y, por tanto, la potencia fotodinámica.

En este capítulo se presentan y analizan los resultados biológicos obtenidos para los derivados porfirínicos sintetizados y sus complejos metálicos, abordando su desempeño frente a *Leishmania amazonensis* y diversos microorganismos bacterianos sensibles y resistentes. La sección integra tanto los ensayos en oscuridad como los ensayos fotodinámicos, permitiendo establecer relaciones estructura–actividad que expliquen las diferencias observadas entre compuestos libres, funcionalizados y metalados. Finalmente, se discuten las implicaciones terapéuticas de estos hallazgos, considerando el potencial de estos sistemas como plataformas duales para el tratamiento de infecciones parasitarias y bacterianas mediante estrategias combinadas de quimioterapia y fototerapia.

5.1 Actividad antileishmania

La actividad antileishmania de los derivados porfirínicos sintetizados se evaluó frente a *Leishmania amazonensis* mediante ensayos de inhibición del crecimiento en ausencia y presencia de irradiación visible (597–752 nm, $17 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$, 60 min), con el objetivo de diferenciar la toxicidad intrínseca (oscura) de la respuesta fotoinducida y establecer la ventana terapéutica de cada sistema.

Este enfoque experimental permite no solo determinar la actividad basal de los compuestos, sino también analizar el impacto específico de la irradiación sobre la inhibición del parásito. En particular, la comparación entre las condiciones irradiadas y no irradiadas ofrece una visión clara del incremento del efecto biológico inducido por luz, aspecto fundamental para la evaluación de porfirinas y metaloporfirinas como potenciales fotosensibilizadores.

En este contexto, la subsección 5.1.1 analiza la actividad antileishmania en ausencia de irradiación, con el fin de establecer la toxicidad intrínseca de los derivados porfirínicos y definir la ventana terapéutica basal. Posteriormente, en la subsección 5.1.2 se evalúa la respuesta bajo irradiación mediante la comparación directa de los valores de inhibición e IC_{50} obtenidos en condiciones irradiadas y no irradiadas, así como el cálculo del índice de fotoirritación (P.I.), definido como la razón $IC_{50}(\text{No IRR})/IC_{50}(\text{IRR})$. Finalmente, en la subsección 5.1.3 se integran ambos conjuntos de resultados para establecer relaciones estructura-actividad y proponer los posibles mecanismos fotodinámicos responsables del efecto antileishmania observado, considerando la funcionalización periférica y la naturaleza del metal central (Zn(II), Ni(II) y Sn(IV)).

5.1.1 Ensayos en oscuridad: toxicidad intrínseca y ventana terapéutica

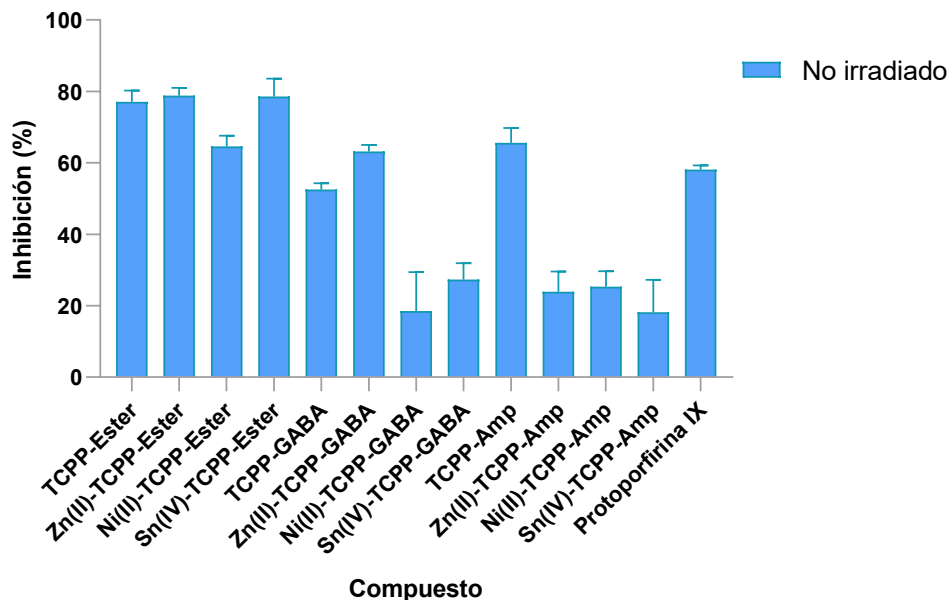
Los ensayos realizados en ausencia de irradiación permiten cuantificar la fracción de inhibición atribuible exclusivamente a la toxicidad intrínseca de cada derivado porfirínico, estableciendo el nivel basal de actividad biológica sobre el cual se evaluará posteriormente el efecto fotoinducido (sección 5.1.2). La respuesta biológica se expresó como porcentaje de inhibición del crecimiento parasitario respecto al control no tratado, en un rango de concentraciones de 2.35 y 300 μM .

Bajo condiciones de no irradiación se identificaron tres patrones de comportamiento claramente diferenciados, los cuales se correlacionan de manera directa con la funcionalización periférica del macrociclo porfirínico y con la naturaleza del metal central. Las gráficas de barras obtenidas a una concentración de 150 μM (Figura 62) permiten visualizar de manera comparativa

estos perfiles de inhibición, mientras que las curvas dosis–respuesta completas (Apéndice 74) confirman la tendencia observada para cada subserie.

Figura 62

Inhibición del crecimiento de Leishmania amazonensis en ausencia de irradiación a 150 μ M para derivados TCPP funcionalizados y sus complejos metálicos.



Nota: Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar. La protoporfirina IX (PPIX) se incluye como control de referencia.

a) Serie TCPP–Éster

Los derivados TCPP–Éster presentan una inhibición en oscuridad elevada y dependiente de la concentración, con valores superiores al 60–70% a concentraciones intermedias–altas (150–300 μ M) para el ligando libre y los complejos metálicos de Zn(II) y Sn(IV). En la Figura 62 se observa claramente que estos compuestos exhiben los porcentajes de inhibición más altos dentro del conjunto evaluado en ausencia de irradiación. Los valores de IC_{50} determinados para esta

subserie se sitúan en el orden de decenas de micromolar (Tabla 12), siendo comparables o incluso inferiores a los observados para la porfirina de referencia.

Este comportamiento es coherente con el carácter más hidrofóbico y anfifílico conferido por la funcionalización tipo éster, que favorece la partición en membranas biológicas y la acumulación celular, incrementando la actividad intrínseca independientemente de la activación fotodinámica. En contraste, el complejo Ni(II)–TCPP–Éster muestra un desplazamiento hacia menores porcentajes de inhibición en oscuridad y un valor de IC_{50} significativamente bajo, lo que sugiere que la coordinación con Ni(II) atenúa la interacción basal del fotosensibilizador con el parásito.

Desde la perspectiva de la ventana terapéutica, esta subserie presenta una limitación inherente, la elevada toxicidad en ausencia de luz reduce el margen de selectividad atribuible a la activación fotodinámica, de modo que su potencial como fotosensibilizadores depende críticamente de demostrar una ganancia adicional significativa bajo condiciones de irradiación.

b) Serie TCPP–GABA

La funcionalización con GABA induce un cambio cualitativo en el perfil de inhibición en oscuridad. Mientras que el ligando TCPP–GABA conserva una inhibición basal superior al 50 %, los complejos metálicos muestran una diferenciación marcada en función del metal central. En particular, Zn(II)–TCPP–GABA mantiene una inhibición apreciable en oscuridad (≈ 84 %), mientras que los complejos Ni(II)–TCPP–GABA y Sn(IV)–TCPP–GABA no alcanzan el 50% de inhibición incluso a la concentración máxima evaluada (300 μ M), por lo que sus valores de IC_{50} se reportan como $IC_{50} > 300$ μ M. Esta tendencia se refleja claramente en la Figura 62, donde el efecto modulador del metal central resulta evidente.

La introducción de un residuo tipo aminoácido incrementa la polaridad global del sistema y las posibilidades de interacción iónica, reduciendo la partición pasiva en membranas y, en consecuencia, la toxicidad en oscuridad. El hecho de que el metal central module de manera decisiva el comportamiento basal sugiere cambios en el balance anfifílico, el estado de agregación y/o la biodisponibilidad del fotosensibilizador. Este perfil es particularmente relevante para aplicaciones PDT, ya que una baja inhibición en oscuridad amplía la ventana terapéutica, siempre que se observe una activación eficiente bajo luz.

c) Serie TCPP–Amp

El ligando TCPP–Amp presenta una inhibición basal elevada y dependiente de la concentración, comparable a la observada para la serie TCPP–Éster, lo que indica que la conjugación con ampicilina no elimina la actividad intrínseca del macrociclo porfirínico. No obstante, sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) muestran una inhibición en oscuridad marcadamente reducida, sin alcanzar el 50% de inhibición dentro del rango de concentraciones evaluado. La Figura 62 ilustra este contraste, donde el ligando libre mantiene una inhibición elevada mientras que los complejos metálicos exhiben valores significativamente menores.

Este contraste sugiere que la metalación reorganiza de forma sustancial la interacción del híbrido porfirina-ampicilina con el parásito, ya sea mediante cambios en la planitud y distribución electrónica del macrociclo, alteraciones en la agregación coloidal o modificaciones en la accesibilidad del sistema a estructuras celulares clave. Desde una perspectiva fotodinámica, esta reducción de la toxicidad intrínseca observada para los complejos metálicos constituye un rasgo favorable, ya que permite que la actividad inducida por la luz sea el principal determinante de la eficacia biológica.

De esta manera, los ensayos realizados en ausencia de irradiación evidencian que la toxicidad intrínseca de los derivados porfirínicos está fuertemente modulada tanto por la funcionalización periférica como por la metalación, y que estos parámetros condicionan directamente la amplitud de la ventana terapéutica fotodinámica. Las representaciones gráficas comparativas en oscuridad (Apéndice 74 y Apéndice 75) constituyen, por tanto, una herramienta visual clave para interpretar la contribución estructural de cada derivado antes de la activación fotodinámica.

5.1.2 Actividad fotodinámica antileishmania: comparación con y sin irradiación

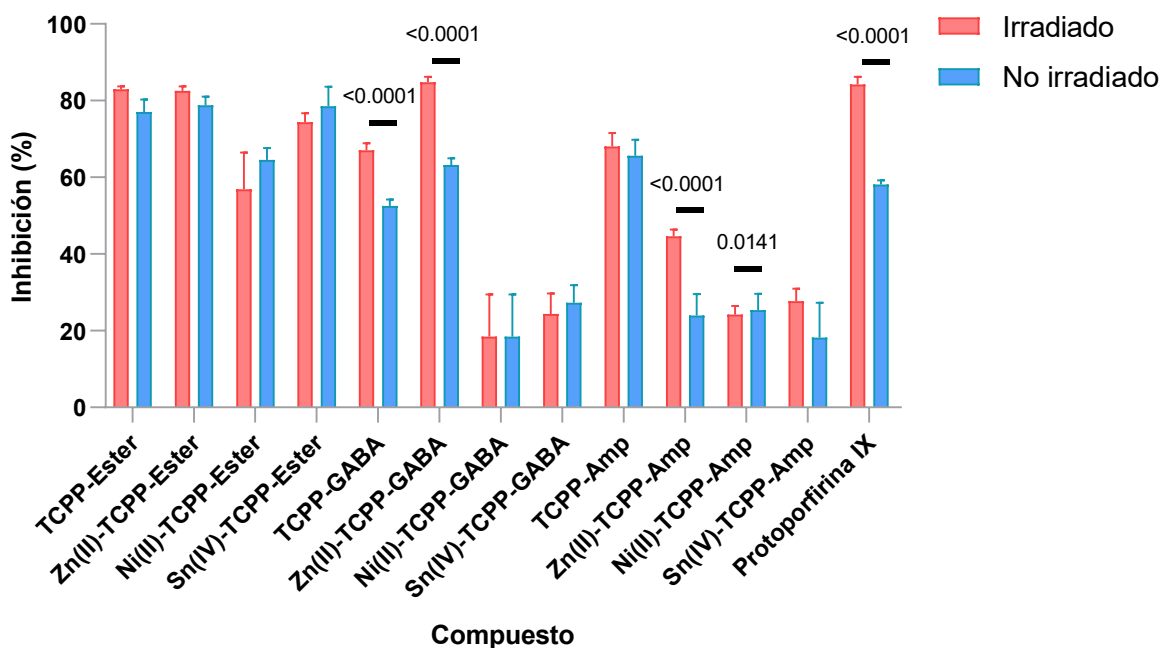
La irradiación en el rango de 597–752 nm con una dosis total de $17 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$ durante 60 min produjo cambios diferenciales en la potencia inhibitoria de los compuestos evaluados frente a *Leishmania amazonensis*. Con el fin de cuantificar el efecto, se compararon los valores de IC_{50} obtenidos en ausencia de irradiación y bajo irradiación, y se calculó índice de fotoirritación (P.I.), definido como la razón $\text{IC}_{50}(\text{No Irradiado})/\text{IC}_{50}(\text{Irradiado})$.

Valores de P.I. mayores a la unidad indican un incremento del efecto inhibitorio bajo irradiación, mientras que valores cercanos o inferiores a 1 reflejan ausencia de respuesta fotoinducida o incluso atenuación del efecto biológico.

La Figura 63 muestra de manera comparativa la inhibición del crecimiento parasitario en ausencia y presencia de irradiación a una concentración fija de $150 \mu\text{M}$, permitiendo visualizar directamente el impacto de la irradiación para cada derivado.

Figura 63

Comparación de la inhibición del crecimiento de Leishmania amazonensis en ausencia y presencia de irradiación a 150 μM para derivados TCPP funcionalizados y sus complejos metálicos.



El control Protoporfirina IX (PPIX) mostró una disminución marcada del IC_{50} tras la irradiación ($\text{IC}_{50}(\text{irradiado}) \approx 8.45 \mu\text{M}$; P.I. ≈ 13.2), lo cual valida experimentalmente las condiciones empleadas y confirma la eficiencia del protocolo para inducir fototoxicidad mediada por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Este resultado corrobora que la dosis de energía y el tiempo de exposición seleccionados son suficientes para promover la población del estado triplete de la porfirina y desencadenar la cascada oxidativa responsable del daño celular en *Leishmania*.

En la Tabla 12 se resumen los valores de IC_{50} determinados en condiciones de ausencia de luz y en presencia de luz, así como los correspondientes valores de P.I. para cada derivado porfirínico frente a *Leishmania amazonensis*.

Tabla 12

Valores de IC₅₀ (μM) en ausencia de irradiación, bajo irradiación e Índice de fotoirritación (P.I.) de los derivados porfirínicos frente a Leishmania amazonensis.

Compuesto	IC ₅₀ No Irradiado	IC ₅₀ Irradiado	P.I.
Protoporfirina IX (PPIX)	111.66	8.45	13.21
TCPP-Éster	62.25	33.63	1.85
Zn(II)-TCPP-Éster	43.19	25.15	1.72
Ni(II)-TCPP-Éster	105.94	119.91	0.88
Sn(IV)-TCPP-Éster	60.18	77.95	0.77
TCPP-GABA	135.23	82.80	1.63
Zn(II)-TCPP-GABA	99.08	37.97	2.61
Ni(II)-TCPP-GABA	>300	>300	—
Sn(IV)-TCPP-GABA	>300	>300	—
TCPP-Amp	78.39	63.86	1.23
Zn(II)-TCPP-Amp	>300	169.62	>1.77*
Ni(II)-TCPP-Amp	>300	>300	—
Sn(IV)-TCPP-Amp	>300	>300	—

Nota: *El valor de P.I. para Zn-TCPP-Amp debe interpretarse con reserva, dado que el IC₅₀ en oscuridad no fue alcanzado experimentalmente dentro del rango de concentraciones evaluado.

Entre los derivados estudiados, dentro del conjunto propio del trabajo (excluyendo el control PPIX) se observó para Zn(II)-TCPP-GABA, que presentó una disminución del IC₅₀ desde aproximadamente 100 μM en oscuridad hasta ≈38 μM bajo irradiación, con un P.I. ≈ 2.6. Este resultado indica una combinación favorable de baja toxicidad intrínseca y respuesta significativa

a la luz, sugiriendo un aumento del efecto inhibitorio inducido por luz eficiente bajo las condiciones experimentales empleadas. La presencia del grupo GABA podría contribuir a una mayor biodisponibilidad celular, potencialmente facilitando la internalización del fotosensibilizador y favoreciendo su fototóxicidad.

Los derivados TCPP-Éster y Zn-TCPP-Éster, con valores de P.I. en el rango 1.7–1.9, mostraron una respuesta fotoinducida apreciable, aunque inferior a la observada para el derivado GABA metalado. La mayor hidrofobicidad asociada a la funcionalización tipo éster puede favorecer procesos de agregación en medios acuosos, reduciendo la fracción monomérica fotoactiva y limitando la eficiencia de transferencia de energía al oxígeno molecular. No obstante, su capacidad de inserción en membranas biológicas podría contribuir a mantener una fototoxicidad moderada.

Por su parte, TCPP-GABA y TCPP-Amp exhibieron factores de potenciación moderados (P.I. $\approx$ 1.2–1.6), lo que sugiere que la ausencia de metal central o la presencia de sustituyentes periféricos voluminosos puede restringir la fototoxicidad. En el caso del derivado conjugado con ampicilina, la posible autoagregación inducida por interacciones intermoleculares del antibiótico podría limitar la disponibilidad de estados excitados tripletes y, por ende, la generación de ROS.

Las curvas completas señal-respuesta en presencia de irradiación se presentan en el Apéndice 76 y confirman la ausencia de cruce del 50% para varios complejos metálicos de las series porfirínicas funcionalizadas y el híbrido porfirina-ampicilina.

En contraste, varios complejos de Ni(II) y Sn(IV) no alcanzaron el 50 % de inhibición bajo irradiación dentro del rango de concentraciones evaluado, por lo que se reportan como $IC_{50} > 300$ μ M. Este comportamiento es indicativo de una fotoinactivación limitada, potencialmente asociada a una menor eficiencia en la formación del estado triplete, a procesos de desactivación no radiativa

o a limitaciones en la biodisponibilidad celular. En particular, la naturaleza paramagnética de Ni(II) favorece la desactivación no radiativa de los estados excitados, acortando la vida media del triplete y reduciendo la generación de ROS. En el caso de los complejos de Sn(IV), la posible distorsión geométrica y la coordinación axial pueden dificultar la transferencia eficiente de energía al oxígeno molecular.

Adicionalmente, se evidenció que la magnitud del efecto fototoxicidad depende no solo del metal central y del sustituyente periférico, sino también de la concentración y del estado de agregación del fotosensibilizador en el medio biológico. A concentraciones elevadas, particularmente en derivados más hidrofóbicos, la formación de agregados supramoleculares de tipo H o J por interacciones π - π reduce la fracción monomérica fotoactiva, favoreciendo procesos de desactivación no radiativa y limitando la eficiencia fototóxica observada, mientras que a concentraciones intermedias (75–150 μ M) se maximiza la respuesta fotoinducida, por lo que se seleccionó 150 μ M como concentración representativa para las comparaciones gráficas presentadas.

5.1.3 Relación estructura–actividad y mecanismos fotodinámicos en Leishmania

El análisis conjunto de los ensayos realizados en ausencia y presencia de irradiación permite establecer relaciones claras entre la estructura molecular de los derivados porfirínicos, su toxicidad intrínseca y su eficacia fotoinducida frente a *Leishmania amazonensis*. En particular, los resultados evidencian que tanto la funcionalización periférica del macrociclo como la naturaleza del metal central desempeñan un papel determinante en la amplitud de la ventana terapéutica y en la magnitud del efecto fototóxico observado.

En primer lugar, la funcionalización periférica controla de manera decisiva el balance entre actividad en oscuridad y potenciación inducida por luz. Los derivados de la serie TCPP-Éster, caracterizados por una mayor hidrofobicidad, presentan una elevada inhibición basal en ausencia de irradiación, atribuible a su mayor afinidad por las membranas biológicas y a su capacidad de acumulación celular. No obstante, esta elevada toxicidad intrínseca limita la ganancia relativa obtenida bajo irradiación, resultando en factores de respuesta fotoinducida moderados. Este comportamiento sugiere que, aunque estos sistemas son biológicamente activos, su potencial como fotosensibilizadores selectivos depende críticamente de una mejora adicional de la eficiencia fototóxica.

En contraste, la introducción del residuo GABA conduce a una disminución significativa de la toxicidad en oscuridad, especialmente en los complejos metálicos de Ni(II) y Sn(IV), ampliando de forma notable la ventana terapéutica. Dentro de esta subserie, Zn(II)-TCPP-GABA destaca como el sistema más eficiente, al combinar una inhibición basal moderada con una marcada reducción del IC_{50} bajo irradiación. Este comportamiento sugiere que la mayor polaridad y flexibilidad conformacional conferidas por el grupo GABA favorecen la biodisponibilidad del fotosensibilizador y reducen la autoagregación, permitiendo una respuesta fotoinducida más eficiente.

Por su parte, los derivados TCPP-Amp muestran una inhibición basal elevada para el ligando libre, mientras que la metalación conduce a una marcada reducción de la toxicidad intrínseca. Esta reorganización del perfil biológico sugiere que la conjugación con ampicilina introduce interacciones específicas adicionales, posiblemente con componentes de la membrana o enzimas parasitarias, cuya accesibilidad se ve modificada tras la coordinación metálica. Desde una perspectiva fotodinámica, la disminución de la toxicidad en oscuridad observada para los

complejos metálicos resulta favorable; sin embargo, la potenciación bajo irradiación es limitada, lo que indica restricciones en la eficiencia de los procesos fotoquímicos involucrados.

En segundo lugar, la naturaleza del metal central emerge como un factor clave en la modulación de la actividad fototóxica. Los complejos de Zn(II) presentan sistemáticamente los mejores desempeños, lo cual es coherente con el carácter diamagnético de este ion, que favorece la interconversión intersistema y la población eficiente del estado triplete del macrociclo porfirínico. En contraste, los complejos de Ni(II) muestran una actividad fototóxica reducida, atribuible a la naturaleza paramagnética del metal, que promueve procesos de desactivación no radiativa y acorta la vida media del estado triplete, limitando la generación de especies reactivas de oxígeno. Los complejos de Sn(IV), aunque diamagnéticos, pueden presentar distorsiones geométricas y coordinación axial que afectan la conjugación electrónica del macrociclo y dificultan la transferencia eficiente de energía al oxígeno molecular.

Adicionalmente, los resultados sugieren que el estado de agregación del fotosensibilizador desempeña un papel relevante en la eficacia fototóxica. A concentraciones elevadas, especialmente en derivados más hidrofóbicos, la formación de agregados supramoleculares de tipo H o J mediante interacciones π - π reduce la fracción monomérica fotoactiva, favoreciendo procesos de desactivación no radiativa y limitando la generación de especies reactivas de oxígeno. En contraste, a concentraciones intermedias (75–150 μ M) se maximiza la respuesta fotoinducida.

Desde un punto de vista mecanístico, la actividad fototóxica observada es consistente con la generación de especies reactivas de oxígeno, particularmente oxígeno singlete $^1\text{O}_2$, capaces de inducir daño oxidativo en membranas (Bonnett, 2000; Cabral et al., 2023; Ethirajan et al., 2011), alteraciones del potencial mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) (Andrade et al., 2018; Miranda et al., 2017), disrupción del kinetoplasto y, finalmente, muerte celular tipo apoptosis-like en *Leishmania*

(Aureliano et al., 2018; Basmaciyan & Casanova, 2019; Jiménez-Ruiz et al., 2010; Zangger et al., 2002). La magnitud de estos efectos depende de manera crítica de la eficiencia fotofísica del fotosensibilizador, su biodisponibilidad y su localización subcelular.

Los resultados obtenidos establecen una relación clara entre estructura, propiedades fototóxicas y respuesta biológica, y permiten identificar a Zn(II)–TCPP–GABA como el candidato más prometedor dentro del conjunto de derivados sintetizados, al combinar una baja toxicidad intrínseca con una respuesta fotoinducida significativa. Estos hallazgos proporcionan criterios racionales para el diseño y optimización futura de nuevos fotosensibilizadores antileishmania con mayor selectividad y eficacia.

5.2 Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos se evaluó mediante ensayos de microdilución en caldo frente a cepas Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1705) y Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis*), bajo condiciones irradiadas y no irradiadas, siguiendo el protocolo descrito en la Sección 3.4.1. En una primera etapa se realizó un testeo a concentración fija (5 μ M) para identificar compuestos con inhibición ≥ 50 % y, posteriormente, se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) mediante curvas de dilución en el rango de 0.5–50 μ M, aplicando el método del CLSI.

Los resultados obtenidos permiten diferenciar claramente entre la actividad intrínseca en oscuridad y la actividad fotodinámica inducida por irradiación, así como establecer relaciones estructura–actividad entre las porfirinas libres, los derivados funcionalizados y sus complejos.

5.2.1 Actividad antibacteriana en oscuridad

En ausencia de irradiación, la mayoría de los derivados porfirínicos mostró una actividad antibacteriana moderada o baja frente a las cepas Gram-negativas *E. coli* y *K. pneumoniae*, con porcentajes de inhibición inferiores a los observados en las condiciones irradiadas (Figura 64). Este comportamiento indica que, a 5 μ M, el efecto bactericida intrínseco de los compuestos es limitado cuando no se activa su componente fotodinámico. En contraste, el control positivo gentamicina produjo inhibiciones superiores al 95 %, mientras que la ampicilina libre alcanzó inhibiciones cercanas al 40 %, lo que confirma la validez del sistema experimental y pone en contexto la menor potencia intrínseca de los derivados porfirínicos frente a antibióticos convencionales.

Los valores de CMI determinados en oscuridad para *E. coli* y *K. pneumoniae* fueron, en general, más altos que los obtenidos bajo irradiación, situándose en el intervalo de decenas de micromolar para la mayoría de los compuestos (Tabla 13). En *E. coli*, los derivados TCPP-Éster, Zn(II)-TCPP-Éster, Ni(II)-TCPP-Éster, Zn(II)-TCPP-GABA y Sn(IV)-TCPP-GABA presentaron CMI significativamente mayores en ausencia de luz, lo que se refleja en factores de fotoactivación (F.D.) entre ~ 1.2 y 2.1 cuando se comparan ambas condiciones. De forma similar, en *K. pneumoniae* se observaron CMI más elevadas en oscuridad para Zn(II)-TCPP-Éster, Ni(II)-TCPP-Éster, TCPP-GABA, Sn(IV)-TCPP-GABA, TCPP-Amp y Zn(II)-TCPP-Amp, evidenciando que su actividad intrínseca, si bien detectable, es claramente menor que la actividad bajo irradiación.

En el caso de las cepas Gram-positivas, el comportamiento en oscuridad fue más heterogéneo. Para *S. aureus*, los derivados con grupos funcionales GABA y Ampicilina mostraron inhibiciones moderadas en ausencia de luz, pero sin alcanzar la eficacia observada tras la irradiación (Figura 65A). Los valores de CMI en condición no irradiada fueron superiores a los de

la condición irradiada para TCPP-Éster, TCPP-GABA, Sn(IV)-TCPP-GABA, TCPP-Amp, Zn(II)-TCPP-Amp y Sn(IV)-TCPP-Amp, con reducciones entre 1.5 y 2.5 veces tras la activación luminosa (F.D. $\approx$ 1.5–2.5). Esto refuerza la idea de que, en *S. aureus*, la contribución del mecanismo puramente químico (porfirina/híbrido sin fotoactivación) es secundaria frente al componente fotodinámico.

Por el contrario, *S. epidermidis* se mostró notablemente más susceptible a los derivados porfirínicos incluso en oscuridad (Figura 65B). En esta cepa, la mayoría de los compuestos alcanzó porcentajes de inhibición elevados tanto con luz como sin luz ($\approx$ 85–100 % a 5 μ M), lo que indica una alta sensibilidad intrínseca a la serie TCPP y sus derivados (Figura 5.2B). Solo Zn(II)-TCPP-Éster presentó una diferencia estadísticamente significativa entre condiciones ($p = 0.0089$; 100 % vs 86.4 ± 5.4 %), mientras que los demás compuestos mantuvieron niveles comparables de inhibición en oscuridad e irradiación. Este patrón sugiere que, en *S. epidermidis*, la actividad antibacteriana está dominada por interacciones intrínsecas de las porfirinas con la envoltura bacteriana, posiblemente favorecidas por características estructurales de la pared celular (menor grosor del peptidoglicano o mayor permeabilidad a compuestos anfifílicos).

De esta forma, los datos en oscuridad muestran que:

- La actividad intrínseca de la mayoría de los compuestos es moderada frente a Gram-negativas y moderada a alta frente a Gram-positivas, especialmente *S. epidermidis*.
- Las CMI son sistemáticamente mayores sin irradiación, lo que indica que la fotoactivación es determinante para alcanzar niveles de inhibición comparables a antibióticos de referencia, particularmente en *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*.

5.2.2 Actividad fotodinámica antibacteriana (aPDT)

La irradiación con luz azul (400 ± 10 nm), bajo las condiciones descritas en el capítulo 3, produjo un incremento significativo en la inhibición del crecimiento bacteriano para un subconjunto de derivados porfirínicos, evidenciando su comportamiento como fotosensibilizadores eficaces.

En las cepas Gram-negativas *E. coli* y *K. pneumoniae*, la irradiación condujo a un aumento claro de la inhibición a 5 μ M, especialmente para los híbridos y complejos metalados más anfifílicos (Figura 64). Los compuestos Zn(II)-TCPP-Amp, TCPP-Amp, TCPP-Éster y Zn(II)-TCPP-Éster alcanzaron porcentajes de inhibición fotodinámica de aproximadamente 83, 78, 73 y 50 %, respectivamente, frente a *E. coli*, mientras que Zn(II)-TCPP-Amp y TCPP-Amp mostraron inhibiciones cercanas a 84 y 65 % frente a *K. pneumoniae*.

Este aumento en la inhibición se refleja en una disminución significativa de las CMI bajo irradiación. En *E. coli*, la luz redujo de manera estadísticamente significativa las CMI de TCPP-Éster, Zn(II)-TCPP-Éster, Ni(II)-TCPP-Éster, Zn(II)-TCPP-GABA y Sn(IV)-TCPP-GABA, con factores de fotoactivación entre 1.17 y 2.12 (IC95 % estrechos, Tabla 13), lo que indica una mejora consistente en la eficacia bactericida tras la exposición a luz. Para *K. pneumoniae*, los compuestos Zn(II)-TCPP-Éster, Ni(II)-TCPP-Éster, TCPP-GABA, Sn(IV)-TCPP-GABA, TCPP-Amp y Zn(II)-TCPP-Amp mostraron reducciones significativas de la CMI bajo irradiación; en particular, Zn(II)-TCPP-Amp exhibió el mayor efecto fotodinámico, con un factor de fotoactivación de 2.67 (IC95 %: 4.62–1.54, Tabla 13).

Figura 64

Inhibición fotodinámica e intrínseca de derivados porfirínicos y metaloporfirínicos frente a bacterias gran-negativas E. coli (A) y K. pneumoniae (B).

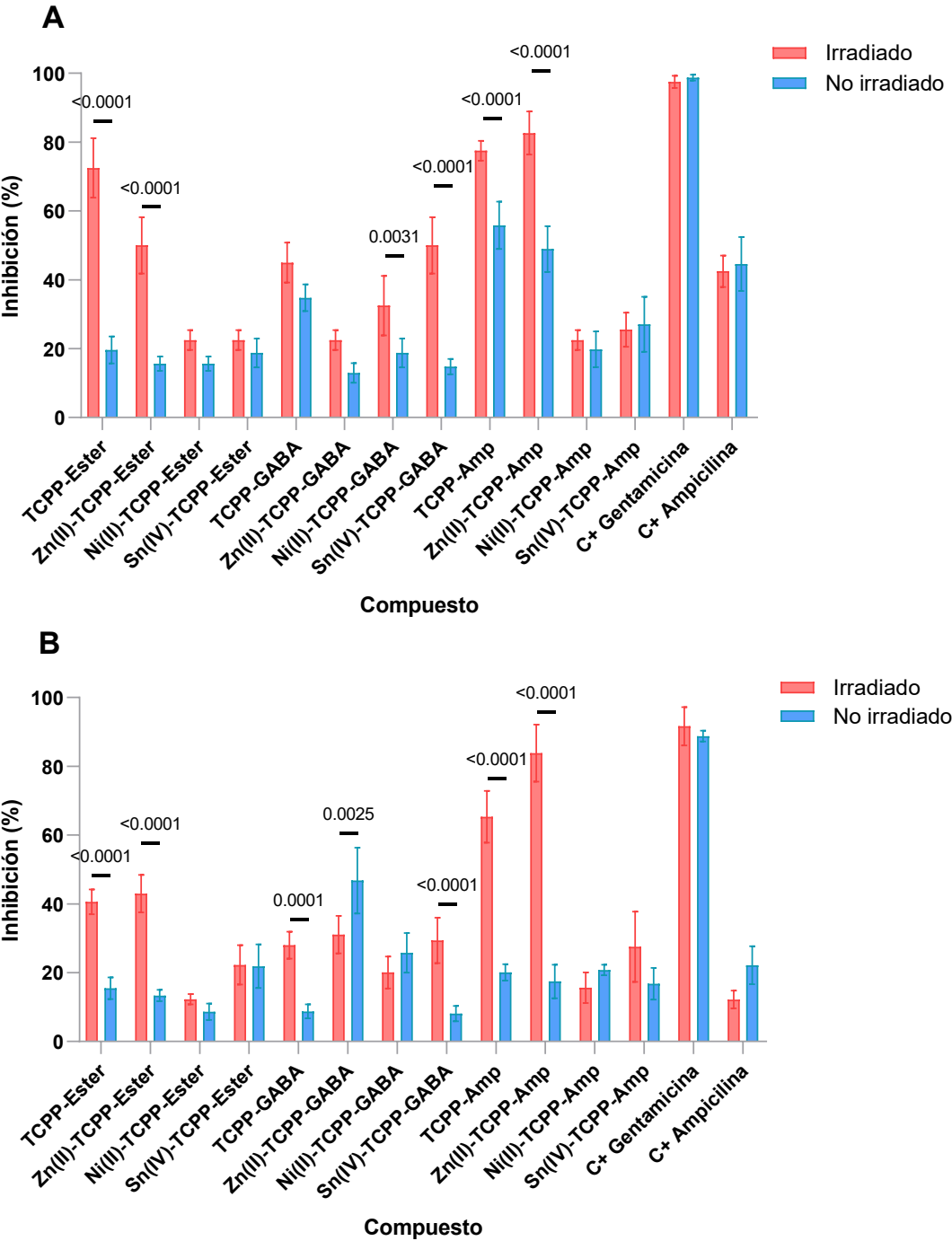


Tabla 13

Concentración mínima inhibitoria y factores de fotoactivación de derivados porfirínicos frente a E. coli y K. pneumoniae.

Bacteria	Compuesto	CMI (μM)			F.D. con IC 95 %
		Irradiado	No Irradiado	p-valor	
<i>E. Coli</i>	TCP-P-Ester	14.4	30.6	0.026	2.12
	TCP-P-Ester-Zn	19.2	33.7	0.035	1.75
	TCP-P-Ester-Ni	28.8	33.7	0.039	1.17
	TCP-P-Ester-Sn	28.8	31.2	0.404	1.08
	TCP-P-GABA	20.5	23.5	0.421	1.15
	TCP-P-GABA-Zn	28.8	36.4	0.010	1.26
	TCP-P-GABA-Ni	24.3	31.2	0.226	1.28
	TCP-P-GABA-Sn	19.2	34.4	0.030	1.79
	TCP-P-Amp	13.4	17.9	0.297	1.33
	TCP-P-Amp-Zn	12.3	19.5	0.168	1.58
	TCP-P-Amp-Ni	28.8	30.5	0.609	1.06
	TCP-P-Amp-Sn	27.3	26.5	0.879	0.97
<i>K. pneumoniae</i>	TCP-P-Ester	21.7	33.8	0.063	1.55
	TCP-P-Ester-Zn	21.0	35.9	0.032	1.70
	TCP-P-Ester-Ni	37.1	42.5	0.026	1.15
	TCP-P-Ester-Sn	29.0	29.2	0.932	1.01
	TCP-P-GABA	26.1	42.3	0.005	1.62
	TCP-P-GABA-Zn	24.9	20.0	0.053	0.81
	TCP-P-GABA-Ni	30.3	27.1	0.547	0.89
	TCP-P-GABA-Sn	25.5	43.7	0.018	1.71
	TCP-P-Amp	15.9	30.3	0.018	1.91
	TCP-P-Amp-Zn	12.1	32.2	0.005	2.67
	TCP-P-Amp-Ni	33.7	29.8	0.259	0.89
	TCP-P-Amp-Sn	26.4	32.7	0.237	1.24

Nota. CMI: concentración mínima inhibitoria; F.D.: factor de fotoactivación; IC 95 %: intervalo de confianza al 95 %.

En las cepas Gram-positivas, el efecto fotodinámico fue aún más marcado para *S. aureus*. El testeo inicial a 5 μ M reveló incrementos significativos de inhibición bajo irradiación para TCPP-Éster, Zn(II)-TCPP-Éster, TCPP-GABA, Sn(IV)-TCPP-GABA, TCPP-Amp, Zn(II)-TCPP-Amp y Sn(IV)-TCPP-Amp ($p < 0.001$ en todos los casos), en contraste con sus pares no irradiados (Tabla 14). Los valores de CMI confirmaron esta tendencia: los mismos derivados mostraron una reducción de 1.5–2.5 veces en sus CMI bajo irradiación (F.D. 1.5–2.5), mientras que los complejos metálicos de Ni(II) y Sn(IV) sin grupos funcionales Amp o GABA no presentaron diferencias significativas entre condiciones de luz y oscuridad.

En *S. epidermidis*, la fotoactivación tuvo un impacto menos evidente, ya que los niveles de inhibición eran elevados en ambas condiciones para la mayoría de los compuestos (≈ 90 –100 %). Solo Zn(II)-TCPP-Éster mostró una diferencia estadísticamente significativa entre irradiación y oscuridad (100 % vs 86.4 ± 5.4 %; $p = 0.0089$, Tabla 14), lo que sugiere un efecto fotodinámico adicional pero cuantitativamente menor que en *S. aureus*.

En síntesis, los resultados fotodinámicos indican que:

- La irradiación potencia de forma clara la actividad de los derivados frente a *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*, reduciendo las CMI y elevando los porcentajes de inhibición a 5 μ M.
- Los híbridos TCPP-Amp y sus complejos con Zn(II) y Sn(IV), así como los derivados TCPP-Éster/TCPP-GABA metalados con Zn(II) o Sn(IV), se comportan como los fotosensibilizadores más eficientes, especialmente frente a *K. pneumoniae* y *S. aureus*.

- En *S. epidermidis*, la respuesta a la PDT es limitada debido a una susceptibilidad intrínseca ya muy alta en oscuridad, de modo que el margen adicional aportado por la irradiación es relativamente pequeño.

Figura 65

Inhibición fotodinámica e intrínseca de derivados porfirínicos y metaloporfirínicos frente a bacterias gran-positivas S. aureus (A) y S. epidermidis (B).

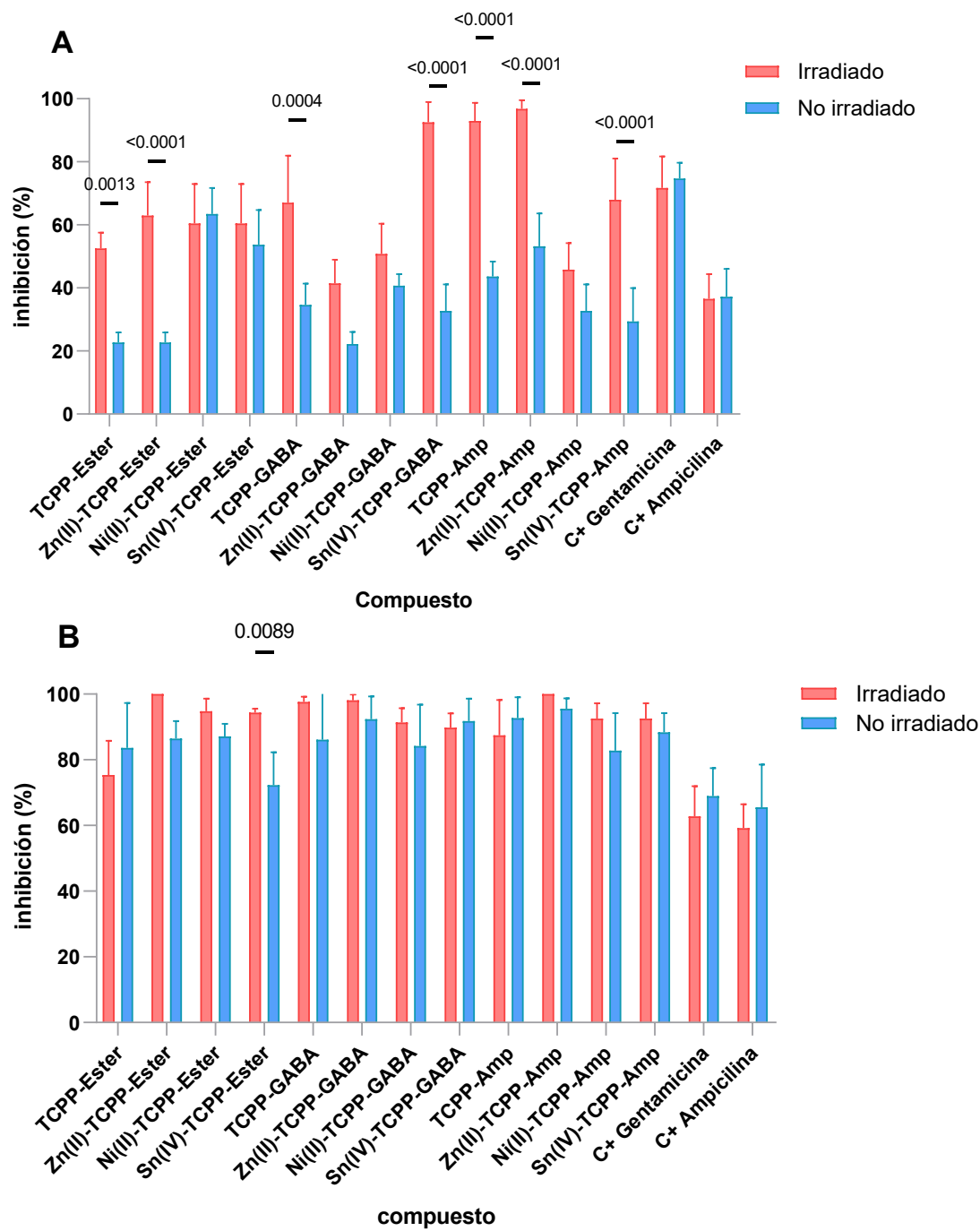


Tabla 14

Concentración mínima inhibitoria y factores de fotoactivación de derivados porfirínicos frente a S. aureus y S. epidermidis.

Bacteria	Compuesto	CMI (μM)			F.D. IC 95 %
		Irradiado	No Irradiado	p-valor	
<i>S. aureus</i>	TCPP-Ester	18.63	28.73	0.019	1.54
	TCPP-Ester-Zn	16.36	28.73	0.098	1.75
	TCPP-Ester-Ni	16.89	16.24	0.934	0.96
	TCPP-Ester-Sn	16.89	18.36	0.866	1.08
	TCPP-GABA	15.5	23.6	0.038	1.52
	TCPP-GABA-Zn	21.44	29.01	0.139	1.35
	TCPP-GABA-Ni	19.03	21.68	0.634	1.13
	TCPP-GABA-Sn	9.86	24.27	0.037	2.46
	TCPP-Amp	9.73	20.86	0.026	2.14
	TCPP-Amp-Zn	8.48	18.47	0.015	2.17
	TCPP-Amp-Ni	20.28	24.27	0.524	1.19
	TCPP-Amp-Sn	15.34	25.54	0.027	1.66
<i>S. epidermidis</i>	TCPP-Ester	13.82	12.08	0.847	0.87
	TCPP-Ester-Zn	3.29	11.46	0.057	3.48
	TCPP-Ester-Ni	9.09	11.3	0.448	1.24
	TCPP-Ester-Sn	9.27	14.45	0.377	1.55
	TCPP-GABA	7.82	11.53	0.650	1.47
	TCPP-GABA-Zn	7.51	9.89	0.547	1.31
	TCPP-GABA-Ni	10.21	11.97	0.806	1.17
	TCPP-GABA-Sn	10.62	10.07	0.897	0.94
	TCPP-Amp	11.23	9.8	0.828	0.87
	TCPP-Amp-Zn	3.29	8.82	0.041	2.68
	TCPP-Amp-Ni	9.86	12.28	0.714	1.24
	TCPP-Amp-Sn	9.86	10.98	0.775	1.11

Nota. CMI: concentración mínima inhibitoria; F.D.: factor de fotoactivación; IC 95 %: intervalo de confianza al 95 %.

5.2.3 Relación estructura–actividad en bacterias

La comparación sistemática entre las porfirinas libres, sus derivados funcionalizados y los complejos metálicos permite establecer varias relaciones estructura–actividad (SAR) relevantes para el diseño de agentes antimicrobianos y fotosensibilizadores duales.

En primer lugar, la funcionalización periférica del núcleo TCPP tiene un impacto directo en la actividad antibacteriana. Los derivados TCPP-Éster y TCPP-GABA muestran una mejora clara en comparación con la porfirina base, especialmente bajo irradiación, lo que se asocia a cambios en la hidrofobicidad y la carga global de la molécula, que favorecen su interacción con las membranas bacterianas. La introducción del fragmento GABA aporta carácter más hidrofílico y potencial de ionización, lo que mejora la biodistribución en medios acuosos y podría facilitar la aproximación a superficies cargadas negativamente.

Los híbridos TCPP-Amp representan la modificación más relevante desde el punto de vista biológico. Estos compuestos integran en una sola entidad molecular el farmacóforo porfirínico fotosensibilizador y el fragmento β -lactámico de la ampicilina, previamente descrito en el Capítulo 2 como inhibidor clásico de las proteínas fijadoras de penicilina (PBPs). Bajo irradiación, TCPP-Amp y, especialmente, Zn(II)-TCPP-Amp exhiben las menores CMI y los mayores factores de fotoactivación frente a *K. pneumoniae* y *S. aureus*, lo que sugiere una sinergia funcional entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el bloqueo de la síntesis de pared celular.

En segundo lugar, la metalación del macrociclo porfirínico modula tanto el comportamiento fotofísico como la eficacia antimicrobiana. Los complejos con Zn(II) se destacan de manera consistente (por ejemplo, Zn(II)-TCPP-Éster, Zn(II)-TCPP-GABA y, particularmente, Zn(II)-TCPP-Amp), mostrando mayores porcentajes de inhibición y reducciones más marcadas de

CMI bajo irradiación. Esto se atribuye al carácter diamagnético de Zn(II) y a su capacidad para favorecer la conversión intersistema hacia estados triplete eficientemente fotoactivos, incrementando el rendimiento cuántico de oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) y, en consecuencia, el daño oxidativo en membranas, proteínas y ADN bacteriano.

Los complejos con Sn(IV) también exhiben mejoras significativas en algunos casos (por ejemplo, Sn(IV)-TCPP-GABA en *E. coli* y *K. pneumoniae*, Sn(IV)-TCPP-Amp en *S. aureus*), coherentes con la geometría fuera del plano y la posible reducción de la agregación del macrociclo, lo que favorece la interacción con la membrana y la eficiencia fotodinámica. En contraste, los complejos de Ni(II) muestran una respuesta fotodinámica más discreta; aunque ciertos derivados como Ni(II)-TCPP-Éster presentan una ligera reducción de CMI bajo irradiación, en general estos complejos exhiben factores de fotoactivación modestos y, en algunos casos, ausencia de diferencias significativas entre condiciones. Esto puede relacionarse con la capacidad de Ni(II) para favorecer procesos no radiativos y amortiguar la generación de $^1\text{O}_2$, disminuyendo así la contribución fotodinámica.

Finalmente, las diferencias observadas entre Gram-negativas (*E. coli*, *K. pneumoniae*) y Gram-positivas (*S. aureus*, *S. epidermidis*) resaltan el papel clave de la arquitectura de la envoltura celular. Las Gram-negativas, con su membrana externa rica en lipopolisacáridos, constituyen una barrera más exigente, por lo que tienden a requerir derivados más anfífilicos y/o funcionalizados (por ejemplo, Zn(II)-TCPP-Amp) para alcanzar una actividad PDT significativa. En cambio, las Gram-positivas, especialmente *S. epidermidis*, muestran una mayor susceptibilidad tanto en oscuridad como bajo irradiación, probablemente debido a una pared de peptidoglicano más accesible a moléculas cargadas y a una menor protección frente a ROS.

Los resultados de esta sección indican que:

- La funcionalización con GABA y, especialmente, con ampicilina mejora la interacción con las bacterias y potencia la respuesta fotodinámica.
- La metalación con Zn(II) es el factor que más contribuye al incremento de la eficacia PDT, mientras que Ni(II) tiende a atenuarla.
- El híbrido Zn(II)-TCPP-Amp emerge como el sistema más prometedor por combinar baja CMI, altos factores de fotoactivación y actividad relevante frente a bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, alineándose con el objetivo de desarrollar agentes duales con potencial para el control de coinfecciones bacterianas en leishmaniasis cutánea.

5.3 Comparación entre actividad antileishmania y antibacteriana

La evaluación paralela de los derivados porfirínicos funcionalizados (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) y sus complejos metálicos permite comparar su desempeño frente a dos sistemas biológicos con arquitecturas celulares marcadamente diferentes: bacterias (Gram-positivas y Gram-negativas) y el parásito de *Leishmania amazonensis*. En ambos casos, la irradiación incrementa la eficacia de un subconjunto de compuestos, consistente con un mecanismo fotodinámico mediado por especies reactivas de oxígeno (ROS), principalmente oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), cuyos blancos incluyen envolturas celulares, proteínas y ácidos nucleicos.

5.3.1 Similitudes en susceptibilidad: efecto transversal de ROS y dependencia de biodisponibilidad

En bacterias y *Leishmania*, la PDT depende de tres factores comunes: (i) absorción efectiva en la ventana espectral usada, (ii) rendimiento de formación del estado triplete y de ROS, y (iii)

biodisponibilidad del fotosensibilizador en el microambiente celular (acercamiento/adhesión, internalización y localización en sitios vulnerables). En términos mecanísticos, la inactivación fotodinámica se explica por la oxidación de lípidos y proteínas de membrana, con disrupción de la integridad y pérdida de funciones esenciales (permeabilidad, transporte, homeostasis redox), fenómeno ampliamente descrito para PDT antimicrobiana (Hamblin & Hasan, 2004; Wainwright et al., 2017).

En *Leishmania*, además del daño de membrana, el impacto de ROS se manifiesta en blancos intracelulares característicos de protozoos, como la mitocondria única (y su potencial de membrana) y el kinetoplasto; por ello, el efecto observado bajo irradiación depende críticamente de la internalización y localización subcelular del fotosensibilizador, además de su eficiencia fotofísica (Aureliano et al., 2018; Basmaciyan & Casanova, 2019; Jiménez-Ruiz et al., 2010; Zangger et al., 2002).

5.3.2 Diferencias en susceptibilidad: barreras estructurales y blancos celulares predominantes

a) Bacterias: envoltura celular como blanco primario y diferencias Gram+ vs Gram–.

Los resultados del presente trabajo muestran, en general, mayor sensibilidad bacteriana que la observada en *Leishmania* (CMI en el rango de pocos a decenas de μM , frente a IC_{50} antileishmania predominantemente en decenas a centenas de μM ; Tabla 12 a Tabla 14). Esta tendencia es coherente con que, en PDT antimicrobiana, la envoltura celular es un blanco accesible y crítico: basta un daño oxidativo suficiente en membrana/pared para comprometer viabilidad (Hamblin, 2016; Maisch, 2015; Wainwright et al., 2017).

Las bacterias Gram-negativas presentan una barrera adicional (membrana externa rica en lipopolisacáridos) que restringe la penetración de compuestos hidrofóbicos o neutros, por lo que

la eficacia PDT tiende a depender más de anfifilicidad/carga y de estrategias que favorezcan permeación; esto se refleja en el conjunto de compuestos evaluados en la necesidad de derivados más “efectivos” (p. ej., híbridos/metalados) para obtener reducciones claras de CMI en *E. coli* y *K. pneumoniae* (Tabla 13 y Tabla 14). En cambio, las Gram-positivas (sin membrana externa) suelen ser más accesibles a fotosensibilizadores y, en este caso, *S. epidermidis* mostró susceptibilidad intrínseca muy alta incluso en oscuridad, dejando poco margen adicional a la irradiación (do Prado-Silva et al., 2022; Hamblin, 2016; Wainwright et al., 2017).

Además, la composición de la pared celular y la densidad de grupos cargados influyen en la adsorción inicial del fotosensibilizador. En las Gram-positivas, la presencia de ácidos teicoicos y lipoteicoicos facilita la interacción electrostática con compuestos aniónicos o neutros, mientras que en las Gram-negativas la capa de lipopolisacáridos actúa como filtro selectivo. La generación de ROS en la superficie bacteriana produce peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas de membrana y daño en el ADN por difusión de radicales, lo que explica la rápida pérdida de viabilidad tras la irradiación. Asimismo, la capacidad de algunos complejos metálicos para alterar la permeabilidad o inducir estrés oxidativo basal podría potenciar el efecto fotodinámico, generando sinergias entre toxicidad química y fotoquímica (Acosta et al., 2025; Hamblin, 2016; Hamblin & Abrahamse, 2020; Subash et al., 2025).

b) *Leishmania*: membrana + organelos como blancos y mayor complejidad eucariota.

En *Leishmania*, además del daño de membrana, la eficacia depende de alcanzar blancos intracelulares (mitocondria/kinetoplasto), y de superar fenómenos como agregación del fotosensibilizador en medio acuoso, distribución subcelular heterogénea y posibles mecanismos antioxidantes. Esto contribuye a que, aun observándose incremento bajo irradiación (reflejado

como P.I. > 1 en 5.1, por ejemplo, Zn(II)–TCPP–GABA, Tabla 12), el rango de IC₅₀ permanezca más alto que las CMI antibacterianas.

La membrana plasmática del parásito, rica en esteroides y glicoconjugados, constituye una barrera más compleja que la bacteriana, y su composición puede modular la inserción del fotosensibilizador. Una vez internalizado, el compuesto debe localizarse en organelos sensibles a ROS; la mitocondria, por su alto contenido en lípidos insaturados y su papel en la producción de energía, es un blanco preferente (Miranda et al., 2017; Uliana et al., 2018; Ullah et al., 2024). La oxidación de componentes mitocondriales conduce a la pérdida del potencial de membrana, liberación de citocromo c y, finalmente, apoptosis o necrosis del parásito. Adicionalmente, *Leishmania* posee sistemas antioxidantes (triptanotona, superóxido dismutasa, peroxidasas) que pueden neutralizar parcialmente las ROS generadas, reduciendo la eficacia fotodinámica. Por ello, la optimización de la PDT en este modelo requiere no solo maximizar la generación de ROS, sino también favorecer la acumulación selectiva del fotosensibilizador en sitios vulnerables y minimizar su agregación en el medio biológico.

5.3.3 Influencia de la metalación: ROS, permeabilidad y selectividad biológica

La metalación del núcleo porfirínico modula simultáneamente (i) las propiedades fotofísicas asociadas a la eficiencia fotoquímica —población y vida media del estado triplete, así como el rendimiento de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS)— y (ii) propiedades fisicoquímicas determinantes para la interacción con sistemas biológicos, como la carga efectiva, la anfifilicidad, la tendencia a la agregación, la posibilidad de coordinación axial y la rigidez conformacional del macrociclo. En conjunto, estos factores controlan no solo cuánta ROS se

genera, sino también la biodisponibilidad y la localización del fotosensibilizador, determinantes directos de la selectividad biológica.

- **Zn(II):** los complejos de Zn(II) emergen como los moduladores más consistentes de la respuesta bajo irradiación en ambos modelos biológicos evaluados, pero con indicadores diferentes según el sistema. En *Leishmania amazonensis*, Zn(II)–TCPP–GABA presenta el mayor índice de fotoirritación (P.I.) dentro del conjunto propio del estudio, reflejando un balance favorable entre toxicidad en oscuridad y aumento del efecto bajo irradiación. En bacterias, por su parte, Zn(II)–TCPP–Amp destaca especialmente frente a *K. pneumoniae* y cepas Gram-positivas, lo cual sugiere una combinación óptima de desempeño fotodinámico y acceso a la envoltura bacteriana (Amos-Tautua et al., 2019; Andrade et al., 2018; De Oliveira De Siqueira et al., 2017; Subash et al., 2025).
- **Ni(II):** los complejos de Ni(II) muestran tendencia a atenuar el efecto bajo irradiación (en bacterias, F.D. moderados o ausencia de mejora; y en *Leishmania* varios IC₅₀ no alcanzados, con P.I. no determinable). Este comportamiento es consistente con una menor contribución fotoquímica efectiva atribuible a desactivación no radiativa del estado excitado, lo que reduce la producción neta de ROS disponibles para daño biológico (Maisch, 2015; Subash et al., 2025). En términos fotofísicos, la inserción de Ni(II) en el núcleo porfirínico suele inducir una desactivación eficiente del estado triplete debido a procesos de conversión interna y acoplamiento espín-órbita que facilitan la disipación no radiativa de la energía excitada. Como consecuencia, la generación de oxígeno singlete y otras ROS se ve significativamente reducida, lo que explica la baja fotopotenciación observada.

- **Sn(IV):** se observa un comportamiento intermedio y dependiente del sistema/funcionalización. En bacterias, Sn(IV) mejora algunos derivados (por ejemplo, Sn(IV)–TCPP–GABA y Sn(IV)–TCPP–Amp en ciertas cepas), mientras que en *Leishmania* varios complejos Sn(IV) no alcanzan el 50% bajo las condiciones empleadas (Tabla 12). Una explicación plausible es que la coordinación axial y la geometría fuera del plano modulen agregación y acoplamiento con la membrana de manera distinta en bacterias. Sin embargo, en sistemas eucariotas como *Leishmania*, estas mismas características pueden limitar la internalización eficiente o la localización subcelular en organelos sensibles, disminuyendo el efecto fotoinducido observado. Así, Sn(IV) actúa como un modulador selectivo cuya contribución depende críticamente del equilibrio entre accesibilidad, permeabilidad y localización intracelular. (Lovins et al., 2025; Maisch, 2015; Subash et al., 2025).

Estos patrones indican que la selectividad biológica no depende solo de “producir más ROS”, sino de dónde y cómo se generan: en bacterias, la proximidad a la pared celular basta para un efecto letal; en *Leishmania*, la respuesta mejora cuando el fotosensibilizador logra un balance entre baja toxicidad oscura y acceso eficiente a blancos intracelulares (ej., Zn(II)–TCPP–GABA).

5.4 Predicción *in silico* del perfil farmacocinético y toxicológico

Con el fin de obtener una primera aproximación al comportamiento farmacocinético y al perfil de seguridad de la serie porfirínica sintetizada, se realizaron estudios *in silico* de ADME y ADMET utilizando de manera complementaria las plataformas SwissADME, ADMETlab 2.0 y Deep-PK. SwissADME permitió estimar parámetros clásicos de “*drug-likeness*”, permeabilidad y absorción para los derivados TCPP–Éster, TCPP–GABA y sus complejos metálicos de Zn(II),

Ni(II) y Sn(IV), mientras que ADMETlab 2.0 y Deep-PK se emplearon para predecir propiedades ADME y múltiples parámetros toxicológicos para TCPP-Éster, TCPP-GABA y el híbrido TCPP-Amp, este último no admisible en SwissADME por la longitud de su cadena SMILES. En el caso de los complejos metálicos, ADMETlab 2.0 y Deep-PK solo aceptaron las estructuras sin estaño, de modo que los complejos de Sn(IV) únicamente pudieron ser evaluados en SwissADME. Los resultados numéricos integrados de las tres plataformas se resumen en las Tabla 15–Tabla 18.

5.4.1 Propiedades fisicoquímicas y espacio de “drug-likeness”

Los tres ligandos porfirínicos evaluados (TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp) se caracterizan por pesos moleculares muy elevados, superficies polares topológicas (TPSA) extensas y un elevado número de aceptores y donadores de enlace de hidrógeno, muy por encima de los valores típicamente recomendados por la regla de los cinco de Lipinski ($MW \leq 500$, $HBA \leq 10$, $HBD \leq 5$) y reglas relacionadas (GSK, *Golden Triangle*). Tanto ADMETlab 2.0 como Deep-PK coinciden en situar estos compuestos fuera del espacio químico habitual de fármacos orales, con múltiples violaciones simultáneas de dichas reglas y valores de QED muy bajos, indicativos de un perfil de “drug-likeness” poco favorable para uso oral. Los parámetros fisicoquímicos y de *drug-likeness* de los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp obtenidos mediante SwissADME, ADMETlab 2.0 y Deep-PK se resumen en la Tabla 15.

De acuerdo con ADMETlab 2.0, TCPP-GABA presenta pesos moleculares > 1000 Da, TPSA superior a $300 \text{ \AA}^2$ y múltiples violaciones simultáneas de Lipinski, GSK y *Golden Triangle*, con un QED de 0,025, que reflejan un perfil de “drug-likeness” poco favorable para un fármaco oral convencional. Un comportamiento análogo se observa para TCPP-Éster y TCPP-Amp, que también son rechazados por la regla de Lipinski y por los filtros de GSK y *Golden Triangle* y

muestran además varias alertas de reactividad (ALARM NMR, BMS). Estas tendencias globales son reproducidas por Deep-PK, que clasifica igualmente estos ligandos como moléculas de muy baja “*drug-likeness*”, confirmando que se alejan del espacio químico de compuestos “*lead-like*” o “*drug-like*” y se acercan más al de fotosensibilizadores macrocíclicos.

Adicionalmente, los complejos metálicos de Zn(II) y Ni(II) derivados de TCPP–Éster y TCPP–GABA muestran en SwissADME y Deep-PK aumentos adicionales de peso molecular y TPSA con respecto a los ligandos libres, así como un número igual o mayor de violaciones de las reglas de *drug-likeness* (Tabla 15). En el caso de los complejos de Sn(IV), solo se dispone de las predicciones de SwissADME, que muestran la misma tendencia cualitativa. Ello sitúa a toda la serie en un espacio químico más próximo al de fotosensibilizadores porfirínicos macromoleculares que al de fármacos orales clásicos, en concordancia con lo descrito para otros porfirinoides utilizados en terapia fotodinámica.

Tabla 15

Propiedades fisicoquímicas y parámetros de drug-likeness predichos por SwissADME, ADMETlab 2.0 y Deep-PK para los ligandos TCPP–Éster, TCPP–GABA y el híbrido TCPP–Amp.

Propiedad	TCPP–Éster	TCPP–GABA	TCPP–Amp	Plataforma principal
Fórmula	C ₆₄ H ₄₂ N ₈ O ₁₆	C ₆₄ H ₅₈ N ₈ O ₁₂	C ₁₂₈ H ₁₂₆ N ₂₀ O ₂₄ S ₄	SwissADME
Peso molecular (g·mol⁻¹)	1179.06	1131.19	2454.81	SwissADME / ADMETlab 2.0
Núm. átomos pesados	88	84	176	SwissADME
Fracción Csp³ (SwissADME)	0.12	0.19	–	SwissADME
Fsp³ (ADMETlab)	0.125	0.188	0.312	ADMETlab 2.0 / Deep-PK
Enlaces rotables	16	28	56	SwissADME / ADMETlab 2.0
Aceptores de H (HBA)	18	14	44	SwissADME / ADMETlab 2.0

Propiedad	TCPP-Éster	TCPP-GABA	TCPP-Amp	Plataforma principal
Donadores de H (HBD)	2	10	18	SwissADME / ADMETlab 2.0
TPSA (Å²)	311.02	321.90	637.00	SwissADME / ADMETlab 2.0
logP (octanol/agua)	6.221	5.174	9.301	ADMETlab 2.0
logS (solubilidad acuosa, log mol·L ⁻¹)	-3.124	-3.436	-0.868	ADMETlab 2.0
QED	0.109	0.025	0.012	ADMETlab 2.0 / Deep-PK
SA score (facilidad de síntesis)	6.131	5.651	9.162	ADMETlab 2.0
MCE-18	166.67	110.00	443.48	ADMETlab 2.0
Bioavailability Score	0.17	0.11	—	SwissADME
Regla de Lipinski	No; 2 violaciones (MW>500, NorO>10)	No; 3 violaciones (MW>500, NorO>10, NHorOH>5)	Rechazada (MW y TPSA muy fuera de rango)	SwissADME / ADMETlab 2.0

Nota: TPSA = Topological Polar Surface Area, QED = Quantitative Estimate of Drug-likeness, SAScore = Synthetic Accessibility Score, Fsp³ = fracción de carbonos sp³.

5.4.2 Absorción gastrointestinal y distribución

Los parámetros de absorción predichos por ADMETlab 2.0 indican una permeabilidad intestinal limitada para TCPP-Éster y TCPP-GABA. En ambos casos, la permeabilidad en Caco-2 se encuentra por debajo del umbral considerado óptimo (-5.15 log unidades), y la permeabilidad MDCK se sitúa en el rango de baja a media ($\approx 1 \times 10^{-5}$ – 3×10^{-6} cm·s⁻¹). Además, TCPP-GABA presenta una probabilidad relativamente alta de pertenecer a la categoría de baja absorción intestinal (HIA+; probabilidad 0.164), mientras que para TCPP-Éster la probabilidad de HIA+ es

intermedia (0.561) y, en ambos casos, la probabilidad de biodisponibilidad oral $< 20\text{--}30\%$ ($F_{20\%+}$ y $F_{30\%+}$) es elevada. Estos datos apuntan a una absorción oral limitada, coherente con su alto peso molecular y gran TPSA. Deep-PK reproduce este patrón de baja absorción oral, clasificando igualmente a TCPP-Éster y TCPP-GABA en rangos de permeabilidad reducida y baja probabilidad de biodisponibilidad elevada.

El híbrido TCPP-Amp muestra un comportamiento algo distinto: a pesar de su tamaño extremo y complejidad estructural, ADMETlab predice una absorción intestinal humana (HIA) alta (probabilidad 1.0), pero con probabilidad moderada de biodisponibilidad oral $< 30\%$ ($F_{30\%+} \approx 0.69$), lo que sugiere que la fracción realmente biodisponible tras administración oral seguiría siendo reducida. Deep-PK, si bien utiliza algoritmos diferentes, coincide en señalar una absorción intestinal no despreciable pero acompañada de una biodisponibilidad global limitada, de manera consistente con la combinación de tamaño elevado, alta polaridad y unión casi cuantitativa a proteínas plasmáticas. Los parámetros de absorción intestinal humana (HIA), permeabilidad Caco-2 y MDCK, biodisponibilidad oral ($F_{20\%}$ y $F_{30\%}$), unión a proteínas plasmáticas (PPB), fracción libre y volumen de distribución predichos por ADMETlab 2.0 y Deep-PK para los tres ligandos se presentan en la Tabla 16.

En todos los casos, ADMETlab 2.0 predice que los compuestos actúan como sustratos de la glicoproteína P (Pgp), y TCPP-Éster y TCPP-Amp se clasifican además como inhibidores de Pgp con probabilidades muy elevadas, lo que implica la existencia de un importante componente de transporte activo de eflujo y posible riesgo de interacciones farmacológicas mediadas por este transportador. Las predicciones de Deep-PK para el transporte por Pgp y parámetros relacionados son concordantes en términos cualitativos, reforzando la idea de que el transporte activo podría limitar aún más la fracción efectivamente absorbida y distribuir los compuestos de manera

preferente hacia compartimentos donde Pgp se expresa de forma abundante (intestino, barrera hematoencefálica, hígado).

En cuanto a la distribución, ADMETlab predice una unión a proteínas plasmáticas (PPB) extremadamente alta para TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp (valores calculados $> 100\%$ en el modelo, que reflejan prácticamente una fracción libre despreciable), con fracciones no ligadas (F_u) $< 1\%$ en todos los casos. El volumen de distribución (VD) se sitúa en el rango bajo-medio ($\approx 0.2\text{--}1.1\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$), compatible con una distribución preferente al compartimento vascular combinada con una fuerte retención ligada a proteínas séricas. Deep-PK predice también PPB muy elevadas, fracciones libres muy bajas y volúmenes de distribución moderados, lo que confirma que el comportamiento de estos compuestos estará fuertemente condicionado por la fracción ligada a proteínas.

De forma consistente, la probabilidad de penetración en barrera hematoencefálica (BBB+) es prácticamente nula (valor 0.0 para los tres ligandos en ADMETlab), lo que anticipa ausencia de distribución significativa al sistema nervioso central y un bajo riesgo de efectos adversos neurológicos centrales. Los resultados de SwissADME para los derivados TCPP-Éster, TCPP-GABA y sus complejos metálicos son congruentes con este comportamiento: la combinación de elevado TPSA y alto número de centros polares sitúa a todos los compuestos fuera de la región de alta absorción del modelo BOILED-Egg y predice ausencia de permeación significativa de BBB, en línea con lo esperado para porfirinas polianiónicas y fuertemente funcionalizadas.

Tabla 16

Parámetros de absorción y distribución predichos por ADMETlab 2.0, Deep-PK y SwissADME para los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.

Parámetro	TCPP-Éster	TCPP-GABA	TCPP-Amp	Origen principal
Caco-2 permeability (log Papp)	-5.387	-6.079	-6.826	ADMETlab 2.0
MDCK permeability (cm·s⁻¹)	1.0×10 ⁻⁵	3.0×10 ⁻⁶	3.0×10 ⁻⁶	ADMETlab 2.0 / Deep-PK
HIA (prob. HIA⁺)	0.561	0.164	1.000	ADMETlab 2.0
F30% (prob. F30%⁺, biodisp. < 30 %)	1.000	0.168	0.691	ADMETlab 2.0
GI absorption (alta/baja)	Low	Low	n.d.	SwissADME
Pgp-substrate (prob.)	0.958	1.000	1.000	ADMETlab 2.0
Pgp-inhibitor (prob.)	1.000	0.000	0.995	ADMETlab 2.0 / Deep-PK
P-gp substrate (Sí/No)	Si	Si	n.d.	SwissADME
PPB (% unión a proteínas plasmáticas)	103.5 %	105.9 %	111.5 %	ADMETlab 2.0 / Deep-PK
Fu (% fracción libre en plasma)	0.669 %	0.060 %	0.045 %	ADMETlab 2.0 / Deep-PK
VD (L·kg⁻¹)	0.222	1.193	1.092	ADMETlab 2.0 / Deep-PK
BBB penetration (prob. BBB⁺)	0.0	0.0	0.0	ADMETlab 2.0
BBB permeant (Sí/No)	No	No	n.d.	SwissADME
logKp piel (cm·s⁻¹)	-9.03	-8.27	n.d.	SwissADME

Nota: n.d.: no disponible (SwissADME no acepta TCPP-Amp por la longitud del SMILES); HIA⁺ y F30%⁺ son categorías de ADMETlab 2.0 (probabilidad de baja absorción intestinal y de biodisponibilidad oral < 30 %, respectivamente); PPB: *Plasma Protein Binding*; Fu:

fracción no ligada en plasma; VD: volumen aparente de distribución; BBB: penetración en barrera hematoencefálica; logKp: permeación cutánea.

En la Tabla 17 se resumen los parámetros fisicoquímicos y farmacocinéticos básicos predichos por SwissADME para los complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), que muestran la misma tendencia general que los ligandos libres pero con pesos moleculares y TPSA aún mayores.

Tabla 17

Propiedades fisicoquímicas y parámetros farmacocinéticos predichos por SwissADME para los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).

Propiedad / Compuesto	TCPP- Éster	Zn- TCPP- Éster	Ni- TCPP- Éster	Sn- TCPP- Éster	TCPP- GABA	Zn- TCPP- GABA	Ni- TCPP- GABA	Sn- TCPP- GABA
MW (g·mol⁻¹)	1179.06	1242.43	1235.74	n.d.	1131.19	1194.56	1187.87	1318.78
TPSA (Å²)	311.02	274.44	274.44	n.d.	321.90	285.32	285.32	292.24
Num. HBA	18	16	16	n.d.	14	12	12	12
Num. HBD	2	0	0	n.d.	10	8	8	8
Enlaces rotables	16	16	16	n.d.	28	28	28	28
Consenso (SwissADME)	logP 4.98	1.65	1.64	n.d.	5.82	2.57	2.57	4.59
GI absorption (alta/baja)	Baja	Baja	Baja	n.d.	Baja	Baja	Baja	Baja
BBB permeant (Sí/No)	No	No	No	n.d.	No	No	No	No
P-gp substrate (Sí/No)	Sí	Sí	Sí	n.d.	Sí	Sí	Sí	Sí
Bioavailability Score	0.17	0.11	0.11	n.d.	0.11	0.11	0.11	0.11
Lipinski (violaciones)	No (2)	No (2)	No (2)	n.d.	No (3)	No (3)	No (3)	No (3)

Nota: n.d.: no disponible (SwissADME no aceptó el SMILES del complejo Sn–TCPP–Éster, por lo que no se generan descriptores para este compuesto).

5.4.3 *Metabolismo y excreción*

En términos de metabolismo, ADMETlab 2.0 predice una participación relativamente limitada de la mayoría de las isoenzimas CYP estudiadas, con probabilidades bajas de inhibición o metabolismo por CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4 para los tres ligandos. No obstante, TCPP–Éster, TCPP–GABA y TCPP–Amp se predicen como sustratos probables de CYP2C9, con probabilidades entre moderadas y muy altas (0.59–0.99), lo que indica que esta isoenzima podría contribuir de forma relevante a su biotransformación y potencialmente convertirse en un punto de interacción farmacológica en caso de coadministración con inhibidores o inductores potentes de CYP2C9. Deep-PK reproduce la tendencia de baja implicación de la mayoría de las isoformas CYP y señala también a CYP2C9 como una de las rutas metabólicas más probables para estos sistemas, reforzando la necesidad de considerar esta isoenzima en futuros estudios de metabolismo y posibles interacciones. Los resultados detallados de metabolismo (interacción con isoenzimas CYP), aclaramiento y semivida de eliminación para los tres ligandos se presentan, junto con los principales *endpoints* toxicológicos, en la Tabla 18.

Las predicciones de aclaramiento total (CL) por ADMETlab son bajas para TCPP–Éster y TCPP–GABA ($\approx 0.8\text{--}1.6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$), con probabilidades bajas de presentar una semivida plasmática prolongada ($> 3\text{ h}$) en TCPP–Éster y moderadas en TCPP–GABA, lo que sugiere una eliminación relativamente lenta pero dominada por la fracción fuertemente ligada a proteínas. ADMETlab predice para TCPP–Amp un perfil de excreción similar, con aclaramiento bajo-moderado y semivida corta, coherente con su tamaño, alta polaridad y fuerte unión a proteínas

plasmáticas. Deep-PK coincide globalmente con este perfil de eliminación lenta y aclaramiento bajo-moderado, de manera coherente con la elevada unión a proteínas y el volumen de distribución moderado.

Tabla 18

Predicciones de metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) por ADMETlab 2.0 y Deep-PK para los ligandos TCPP-Éster, TCPP-GABA y TCPP-Amp.

Parámetro / <i>endpoint</i>	TCPP-Éster	TCPP-GABA	TCPP-Amp	Plataforma / codificación
Metabolismo				
CYP2C9 inhibidor (prob.)	0.031	0.515	0.104	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
CYP2C9 sustrato (prob.)	0.836	0.58	0.992	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
Excreción				
CL (mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)*	1.586 (bajo)	0.801 (bajo)	0.735 (bajo)	ADMETlab 2.0 (clasificación: CL < 5 = bajo)
T _{1/2} – prob. vida media larga > 3 h	0.032 (corta)	0.669 (tendencia más prolongada)	0.039 (corta)	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
Toxicidad cardiovascular / hepática				
hERG blockers (prob. bloqueo canal hERG)	0.053	0.230	0.002	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
H-HT (hepatotoxicidad humana, prob.)	0.941	0.999	0.999	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
DILI (lesión hepática inducida por fármacos)	0.987	0.997	1.000	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
Genotoxicidad y carcinogenicidad (ensayo Ames)				
AMES toxicity (prob. Ames positivo)	0.125	0.016	0.000	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
Toxicidad aguda y otras toxicidades				
Toxicidad aguda oral en rata (prob. alta toxicidad)	0.982	0.969	0.956	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK

Parámetro / <i>endpoint</i>	TCPP-Éster	TCPP-GABA	TCPP-Amp	Plataforma / codificación
FDAMDD (prob. FDAMDD (+))	0.918	0.936	0.003	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
Sensibilización cutánea (prob. sensibilizante)	0.981	0.026	0.000	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK
Toxicidad respiratoria (prob. tóxico respiratorio)	0.914	0.026	0.000	ADMETlab 2.0 + codificación Deep-PK

5.4.4 Perfil toxicológico *in silico*

En relación con la seguridad, ADMETlab 2.0 predice para TCPP-Éster y TCPP-GABA probabilidades muy elevadas de hepatotoxicidad humana (H-HT) y de lesión hepática inducida por fármacos (DILI), con valores cercanos a 1.0 en ambos casos (ver Tabla 18). Para TCPP-Éster se prevé además alta toxicidad aguda oral en rata, sensibilización cutánea, carcinogenicidad y toxicidad respiratoria con probabilidades igualmente altas, lo que señala la presencia de motivos estructurales potencialmente problemáticos desde el punto de vista toxicológico. De forma cualitativa, Deep-PK sitúa también a TCPP-Éster en un escenario de riesgo elevado para desenlaces hepatotóxicos y de DILI, corroborando la señal de alerta proporcionada por ADMETlab.

En contraste, TCPP-GABA, si bien mantiene una probabilidad muy alta de hepatotoxicidad y DILI, presenta valores muy bajos para la mayoría de los demás desenlaces toxicológicos (carcinogenicidad, sensibilización cutánea, toxicidad ocular y respiratoria), lo que sugiere un riesgo menos censurado en estos apartados. El híbrido TCPP-Amp, por su parte, combina una probabilidad alta de toxicidad aguda oral y de hepatotoxicidad/DILI con valores muy bajos para carcinogenicidad, sensibilización cutánea y mutagenicidad (AMES negativo), y muestra varias alertas de reactividad (ALARM NMR, BMS) asociadas a grupos funcionales

potencialmente electrofílicos. Las predicciones de Deep-PK para TCPP–GABA y TCPP–Amp son coherentes con este patrón general: riesgo elevado centrado en la esfera hepática (H-HT y DILI) y riesgo relativamente bajo en otros desenlaces toxicológicos, si bien con la presencia de algunas alertas estructurales que recomiendan prudencia en el diseño de formulaciones sistémicas.

Tal como se resume en la Tabla 18, TCPP–Éster y TCPP–GABA muestran probabilidades muy elevadas de hepatotoxicidad humana y DILI (valores > 0,94), mientras que TCPP–Amp combina un riesgo hepático alto con baja probabilidad de carcinogenicidad y mutagenicidad.

Estas predicciones deben interpretarse a la luz de los criterios internos de ADMETlab 2.0, que utiliza modelos de clasificación probabilísticos para H-HT, DILI y otros desenlaces, considerando valores > 0.7 como indicativos de riesgo elevado (++), así como de la escala de símbolos empleada en los informes (--- a +++ para probabilidades crecientes). En ese contexto, la serie porfirínica estudiada muestra un riesgo teórico alto de toxicidad hepática, que resulta especialmente relevante si se plantean formulaciones de administración sistémica repetida.

5.4.5 Implicaciones para el desarrollo de los híbridos porfirina–ampicilina

En conjunto, los estudios *in silico* de SwissADME, ADMETlab 2.0 y Deep-PK muestran que los derivados TCPP–Éster, TCPP–GABA, TCPP–Amp y sus complejos metálicos se sitúan claramente fuera del espacio químico típico de fármacos orales “*drug-like*”: presentan pesos moleculares y TPSA muy altos, múltiples violaciones de las reglas de *drug-likeness*, absorción intestinal limitada o moderada, unión a proteínas plasmáticas casi cuantitativa y ausencia de penetración en BBB. Estos rasgos apuntan a una biodisponibilidad oral baja y a un comportamiento farmacocinético dominado por la fracción ligada a proteínas, características compartidas con otros fotosensibilizadores porfirínicos utilizados en terapia fotodinámica.

Desde la perspectiva del diseño farmacológico, los resultados sugieren que la administración oral no es la vía más adecuada para esta familia de compuestos, mientras que formulaciones parenterales (intravenosas) o locales (tópicas, intralesionales) aparecen como opciones más realistas, especialmente en el contexto de aplicaciones fotodinámicas antimicrobianas y antiprotozoarias donde la entrega localizada del fotosensibilizador es factible. Por otra parte, las alertas de hepatotoxicidad y DILI predichas *in silico* indican que será esencial caracterizar experimentalmente el perfil de seguridad hepática y la posible dependencia de la dosis y del régimen de irradiación, así como estudiar el impacto de la fuerte unión a proteínas plasmáticas sobre la fracción libre disponible durante los ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Finalmente, estos resultados complementan los ensayos biológicos *in vitro* descritos en este capítulo al proporcionar una visión integrada del comportamiento ADME/ADMET de la serie y ayudan a priorizar estrategias futuras de formulación y optimización estructural (por ejemplo, reducción del tamaño, aumento de la fracción sp^3 o introducción de fragmentos más hidrófilos) para acercar estos híbridos porfirínicos a un perfil farmacocinético y toxicológico más compatible con su eventual desarrollo preclínico y clínico.

5.5 Discusión integradora y perspectivas terapéuticas

El análisis conjunto de la actividad antileishmania (Sección 5.1), la actividad antibacteriana (Sección 5.2), su comparación directa (Sección 5.3) y la predicción *in silico* del perfil farmacocinético y toxicológico (Sección 5.4) permite construir una visión integradora y coherente del comportamiento biológico de los derivados porfirínicos sintetizados. Esta aproximación global no solo facilita la identificación de tendencias claras de relación estructura-actividad (SAR), sino

que también permite delimitar las fortalezas y limitaciones de cada familia de compuestos y proyectar su potencial aplicación terapéutica en el contexto de la terapia fotodinámica (PDT)

En esta sección se discuten de manera integrada los efectos de las principales propiedades fisicoquímicas sobre la actividad biológica, se identifican las modificaciones estructurales más favorables y se analizan las implicaciones terapéuticas de los resultados obtenidos, con énfasis en el desarrollo de fotosensibilizadores con acción dual antileishmania y antibacteriana.

5.5.1 Relación entre propiedades fisicoquímicas y actividad biológica: SAR global

Los resultados obtenidos evidencian que la actividad biológica de los derivados porfirínicos no depende de un único parámetro estructural, sino del balance entre múltiples propiedades fisicoquímicas interrelacionadas, incluyendo solubilidad, tendencia a la agregación, hidrofobicidad, carga global, tamaño/volumen molecular y la naturaleza del metal central.

En términos de solubilidad y agregación, los derivados más hidrofóbicos, representados principalmente por la serie TCPP-Éster, mostraron una elevada actividad intrínseca en oscuridad, atribuible a su mayor afinidad por membranas biológicas y a su capacidad de acumulación celular. Sin embargo, esta misma característica favorece procesos de agregación supramolecular en medios acuosos, reduciendo la fracción monomérica fotoactiva y limitando la ganancia relativa obtenida bajo irradiación. En contraste, la introducción de grupos más polares, como GABA, disminuye la toxicidad basal y amplía la ventana terapéutica, permitiendo que la activación por luz sea el principal determinante de la eficacia biológica.

La hidrofobicidad y la carga juegan un papel diferencial según el sistema biológico evaluado. En bacterias, especialmente Gram-negativas, la eficacia fotodinámica se ve favorecida por un balance anfifílico que permita interacción con la envoltura celular y, al mismo tiempo,

superar la barrera de la membrana externa. En *Leishmania*, en cambio, la respuesta fotodinámica mejora cuando el fotosensibilizador combina una toxicidad oscura moderada con la capacidad de internalizarse y alcanzar blancos intracelulares sensibles a ROS, como la mitocondria y el kinetoplasto.

El tamaño y volumen molecular también condicionan la biodisponibilidad. Derivados voluminosos, como los híbridos TCPP–Amp, pueden presentar restricciones de difusión y mayor tendencia a la agregación; no obstante, en bacterias estos sistemas se benefician de la sinergia entre el farmacóforo antibiótico y la generación local de ROS, lo que compensa parcialmente estas limitaciones estructurales y traduciendo en una actividad antibacteriana potenciada bajo irradiación.

Finalmente, la coordinación metálica emerge como uno de los factores más determinantes en la SAR global. Los complejos de Zn(II) mostraron de forma consistente los mejores perfiles fotodinámicos, lo que se atribuye a su carácter diamagnético, a la eficiente población del estado triplete y a un mayor rendimiento de generación de oxígeno singlete. En contraste, los complejos de Ni(II) atenuaron sistemáticamente la respuesta PDT, coherente con procesos de desactivación no radiativa del estado excitado. Los complejos de Sn(IV) exhibieron un comportamiento intermedio y altamente dependiente de la funcionalización periférica y del sistema biológico evaluado, lo que sugiere que la geometría fuera del plano y la coordinación axial modulan la agregación y la interacción con membranas de manera diferencial.

Desde una perspectiva integradora, los resultados permiten identificar como modificaciones estructurales más favorables:

(i) la funcionalización con grupos polares que reduzcan la toxicidad en oscuridad sin comprometer la absorción y la generación de ROS;

(ii) la metalación con Zn(II) como estrategia óptima para maximizar la eficiencia fotodinámica; y

(iii) la incorporación de fragmentos bioactivos, como ampicilina, cuando se busca potenciar la actividad antibacteriana mediante mecanismos duales.

En este contexto, Zn(II)–TCPP–GABA emerge como el derivado más prometedor frente a *Leishmania amazonensis*, mientras que Zn(II)–TCPP–Amp destaca como el sistema más eficiente frente a bacterias, especialmente Gram-negativas, consolidando dos familias de derivados con perfiles biológicos claramente diferenciados pero complementarios.

5.5.2 Implicaciones para aplicaciones terapéuticas y perspectivas

Los resultados del presente capítulo evidencian el potencial de los derivados porfirínicos estudiados como fotosensibilizadores duales, con actividad tanto antileishmania como antibacteriana. Esta característica resulta particularmente relevante en el contexto de la leishmaniasis cutánea, donde las coinfecciones bacterianas secundarias son frecuentes y complican el tratamiento convencional.

En bacterias, la elevada susceptibilidad observada —especialmente en cepas Gram-positivas— confirma que la PDT basada en porfirinas puede constituir una alternativa o complemento a los antibióticos clásicos, con la ventaja adicional de reducir la probabilidad de desarrollo de resistencias. En *Leishmania*, aunque la respuesta fotodinámica es más moderada, la identificación de sistemas con baja toxicidad en oscuridad y activación eficiente bajo luz abre la posibilidad de estrategias terapéuticas localizadas y selectivas.

Desde una perspectiva terapéutica, los híbridos porfirina–ampicilina representan un enfoque particularmente atractivo, ya que integran en una sola entidad molecular la inhibición

química de la síntesis de pared celular y el daño oxidativo inducido por ROS. Esta combinación sugiere posibles sinergias terapéuticas, donde la PDT podría potenciar la acción del antibiótico o restaurar su eficacia frente a cepas menos sensibles.

No obstante, el estudio presenta limitaciones inherentes. Los ensayos se realizaron exclusivamente *in vitro*, por lo que factores como biodistribución, estabilidad metabólica, penetración tisular y respuesta inmune del hospedero no han sido considerados. Asimismo, la agregación de los fotosensibilizadores en medios biológicos complejos podría limitar su eficacia *in vivo*, lo que resalta la necesidad de optimizar formulaciones, por ejemplo mediante sistemas de liberación controlada, nanopartículas o conjugación con vectores específicos.

En consecuencia, las perspectivas futuras incluyen:

- (i) estudios *in vivo* en modelos de leishmaniasis cutánea e infecciones bacterianas;
- (ii) evaluación de la selectividad frente a células del hospedero;
- (iii) optimización de formulaciones para mejorar solubilidad y biodisponibilidad; y
- (iv) estudios mecanísticos más profundos sobre localización subcelular y vías de muerte inducidas por PDT.

5.6 Conclusiones del capítulo

En este capítulo se demuestra que los derivados porfirínicos funcionalizados y sus complejos metálicos presentan perfiles biológicos diferenciados frente a *Leishmania amazonensis* y bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, con una contribución decisiva de la activación fotodinámica.

En el modelo antileishmania, la eficacia está fuertemente condicionada por la amplitud de la ventana terapéutica y la capacidad del fotosensibilizador para alcanzar blancos intracelulares,

destacándose Zn(II)–TCPP–GABA como el sistema con mejor balance entre baja toxicidad en oscuridad y aumento significativo del efecto bajo irradiación. En el modelo antibacteriano, la PDT mostró una mayor eficacia global, especialmente frente a bacterias Gram-positivas, y permitió identificar a Zn(II)–TCPP–Amp como el derivado con el perfil más prometedor, combinando bajas CMI y altos factores de fotoactivación.

La comparación entre ambos sistemas evidencia que la PDT es intrínsecamente más eficiente en bacterias, donde la envoltura celular constituye un blanco directo y accesible, mientras que en *Leishmania* la mayor complejidad eucariota exige un control más fino de las propiedades fisicoquímicas y de la localización subcelular del fotosensibilizador.

De esta forma, los resultados obtenidos respaldan el potencial de las porfirinas metaladas, en particular las de Zn(II), como plataformas versátiles para el desarrollo de terapias fotodinámicas contra infecciones parasitarias y bacterianas. Estos hallazgos sientan las bases para estudios *in vivo* y para el diseño racional de nuevos fotosensibilizadores con mayor selectividad, eficacia y proyección clínica.

6. Conclusiones y Perspectivas

El presente capítulo integra y sintetiza los principales hallazgos obtenidos a lo largo de la investigación, estableciendo una visión global del aporte científico del trabajo en relación con los objetivos planteados. A partir de los resultados experimentales y del análisis crítico desarrollado en los capítulos previos, se presentan las conclusiones generales sobre el diseño, la síntesis, la caracterización y la evaluación biológica de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos, así como las relaciones estructura–actividad identificadas en los modelos antileishmania y antibacteriano.

Asimismo, se discuten las principales limitaciones del estudio, necesarias para contextualizar el alcance de los resultados y evitar extrapolaciones no sustentadas, y se plantean perspectivas futuras orientadas a la optimización de estos sistemas como fotosensibilizadores y plataformas para terapias fotodinámicas. Este capítulo busca consolidar el aporte del trabajo al campo de la química bioinorgánica aplicada y a la investigación en terapias fotodinámicas, ofreciendo una base conceptual y experimental para desarrollos posteriores en contextos parasitarios y bacterianos.

6.1 Conclusiones generales

El presente trabajo permitió el diseño, síntesis, caracterización y evaluación biológica de una nueva serie de derivados porfirínicos funcionalizados y sus complejos metálicos, con énfasis en su potencial aplicación como fotosensibilizadores en terapias fotodinámicas (PDT) frente a *Leishmania amazonensis* y bacterias de relevancia clínica.

Desde el punto de vista químico y estructural, se logró exitosamente la obtención de los ligandos TCPP–Éster, TCPP–GABA y TCPP–Amp, así como de sus correspondientes complejos

metálicos con Zn(II), Ni(II) y Sn(IV). La caracterización espectroscópica y analítica confirmó la integridad del macrociclo porfirínico, la funcionalización periférica esperada y la correcta incorporación del metal central, evidenciando la versatilidad sintética del enfoque empleado. Este conjunto de resultados constituye un aporte sólido al campo de la química bioinorgánica aplicada, particularmente en el desarrollo de sistemas híbridos con potencial terapéutico dual.

En relación con la actividad antileishmania, los ensayos realizados en ausencia y presencia de irradiación permitieron diferenciar claramente la toxicidad intrínseca de la actividad inducida por luz. Los resultados muestran que la mayoría de los derivados presentan actividad basal moderada a baja en oscuridad, mientras que algunos sistemas exhiben una respuesta fotoinducida significativa, dependiente tanto de la funcionalización periférica como del metal central. En este contexto, Zn(II)–TCPP–GABA emergió como el derivado más prometedor frente a *Leishmania amazonensis*, al combinar una baja toxicidad intrínseca con una reducción significativa del IC₅₀ bajo irradiación, lo que se traduce en una ventana terapéutica más favorable.

En cuanto a la actividad antibacteriana, los resultados evidencian una mayor susceptibilidad bacteriana frente a la PDT en comparación con el modelo parasitario, especialmente en bacterias Gram-positivas. La irradiación produjo reducciones claras en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para varios derivados, destacándose los híbridos TCPP–Amp y, de manera consistente, Zn(II)–TCPP–Amp, que mostraron los mejores perfiles frente a *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Estos hallazgos respaldan el potencial de los híbridos porfirina–antibiótico como fotosensibilizadores duales, capaces de combinar mecanismos químicos clásicos con daño oxidativo inducido por luz.

El análisis comparativo entre ambos sistemas biológicos permitió establecer que la eficacia fotodinámica depende críticamente de la arquitectura celular del blanco biológico. Mientras que

en bacterias la generación de ROS cerca de la membrana celular es suficiente para inducir la muerte celular, en *Leishmania* la respuesta fotoinducida requiere un balance más fino entre biodisponibilidad, localización subcelular y eficiencia fotofísica, lo que explica los valores de IC₅₀ más elevados observados en el modelo parasitario.

Desde una perspectiva estructura–actividad (SAR), se concluye que:

- La metalación con Zn(II) es el factor más determinante para mejorar la eficiencia fotodinámica, debido a su efecto favorable sobre la población del estado triplete y la generación de especies reactivas de oxígeno.
- La funcionalización periférica con GABA favorece la selectividad antileishmania al reducir la toxicidad en oscuridad y mejorar la respuesta bajo irradiación.
- La conjugación con ampicilina potencia de manera notable la actividad antibacteriana, especialmente bajo condiciones PDT, aunque con un impacto más limitado frente a *Leishmania*.
- Los complejos de Ni(II) tienden a atenuar la respuesta fotodinámica, actuando más como sistemas de referencia para entender procesos de desactivación no radiativa que como candidatos terapéuticos.
- Los complejos de Sn(IV) presentan un comportamiento intermedio y altamente dependiente del sistema biológico y de la funcionalización periférica.

Estos resultados confirman que el centro metálico modula de manera decisiva las propiedades fotofísicas y la eficiencia fotodinámica de los sistemas estudiados, validando el análisis comparativo propuesto en los objetivos del trabajo.

Finalmente, los estudios *in silico* de perfil farmacocinético y toxicológico complementan los resultados experimentales y sugieren que, si bien estos sistemas no cumplen aún criterios

estrictos de fármacos sistémicos, poseen características compatibles con aplicaciones tópicas o locales, particularmente en el contexto de terapias fotodinámicas.

6.2 Limitaciones del estudio

A pesar de los aportes realizados en el diseño, síntesis, caracterización y evaluación biológica de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos, el presente estudio presenta una serie de limitaciones que deben ser consideradas para una correcta interpretación de los resultados y para orientar trabajos futuros.

- Las concentraciones necesarias para observar efectos biológicos significativos, especialmente en el modelo antileishmania, se sitúan en el rango de decenas a centenas de micromolar. Si bien este comportamiento es comparable al reportado para otros fotosensibilizadores porfirínicos en modelos parasitarios *in vitro*, limita la extrapolación directa de los resultados hacia aplicaciones terapéuticas sistémicas. Este aspecto sugiere que los sistemas estudiados deben considerarse, en su estado actual, como plataformas exploratorias más que como candidatos farmacológicos listos para aplicación clínica.
- Los estudios biológicos se realizaron exclusivamente en modelos *in vitro*, lo cual impide evaluar parámetros fundamentales asociados a la eficacia y seguridad en sistemas complejos, tales como biodistribución, metabolismo, estabilidad en fluidos biológicos, interacción con el sistema inmune y posibles efectos tóxicos en tejidos no diana. En particular, en el caso de *Leishmania amazonensis*, no se abordó el modelo intracelular (amastigotes en macrófagos), que representa una condición biológicamente más exigente y clínicamente relevante.

- Aunque la actividad fotodinámica observada se interpretó en términos de generación de especies reactivas de oxígeno, especialmente oxígeno singlete, no se realizaron mediciones experimentales directas de ROS, ni estudios de localización subcelular de los fotosensibilizadores. Por tanto, los mecanismos propuestos se sustentan en correlaciones entre comportamiento fotodinámico, relaciones estructura–actividad y antecedentes reportados en la literatura, lo que constituye una aproximación razonable pero indirecta.
- La tendencia a la agregación de algunos derivados porfirínicos, particularmente aquellos con mayor carácter hidrofóbico es otra limitación relevante. Aunque este fenómeno fue considerado en la interpretación de los resultados y discutido en términos de eficiencia fotodinámica, no se realizaron estudios fisicoquímicos específicos (por ejemplo, DLS, microscopía o espectroscopía dependiente de concentración) que permitieran cuantificar de manera directa el grado de agregación en medios biológicos.
- La evaluación del perfil farmacocinético y toxicológico se basó en predicciones *in silico*, las cuales, aunque útiles como herramienta de cribado temprano, no sustituyen estudios experimentales *in vivo* o *ex vivo*. Estas predicciones deben interpretarse como indicativas y no concluyentes respecto a la seguridad o viabilidad clínica de los compuestos.

Finalmente, el diseño del estudio priorizó la comparación sistemática entre funcionalización periférica y metalación, lo que implicó trabajar con un número limitado de estructuras. Si bien esta estrategia permitió establecer tendencias claras de relación estructura–

actividad, restringe la posibilidad de identificar optimizaciones más finas que podrían lograrse mediante bibliotecas moleculares más amplias o estrategias de diseño iterativo.

6.3 Perspectivas futuras

Los resultados obtenidos en el presente trabajo abren diversas líneas de investigación orientadas a la optimización y validación del potencial de los derivados porfirínicos y sus complejos metálicos como fotosensibilizadores con actividad biológica, particularmente en el contexto de terapias fotodinámicas aplicadas a infecciones parasitarias y bacterianas. Con base en esto, se proponen las siguientes líneas de trabajo futuro:

- Optimización estructural de los fotosensibilizadores, enfocada en mejorar la eficiencia fotodinámica y reducir las concentraciones requeridas para alcanzar efectos biológicos relevantes. En este sentido, modificaciones adicionales en la funcionalización periférica, tales como la introducción de grupos iónicos, zwitteriónicos o unidades anfífilas controladas, podrían contribuir a disminuir la agregación en medios acuosos, mejorar la biodisponibilidad y favorecer la localización en blancos celulares específicos. Asimismo, la exploración de otros metales diamagnéticos o de estados de coordinación alternativos podría permitir ajustar finamente las propiedades fotofísicas del macrociclo porfirínico.
- Desde el punto de vista biológico, resulta pertinente extender la evaluación hacia modelos más representativos, especialmente en el caso de *Leishmania*. Estudios futuros podrían considerar ensayos en el modelo intracelular (amastigotes en macrófagos), lo que permitiría valorar la capacidad de los fotosensibilizadores para atravesar barreras celulares adicionales y actuar en un entorno biológicamente más

complejo. No obstante, estas aproximaciones deberán ir acompañadas de una optimización previa de la potencia fotodinámica, dado que las concentraciones efectivas observadas en este trabajo aún limitan la aplicabilidad directa en modelos *in vivo*.

- Evaluación toxicológica experimental, tanto en condiciones irradiadas como no irradiadas, utilizando modelos celulares no diana. Esto permitiría establecer con mayor precisión la ventana terapéutica y diferenciar entre toxicidad intrínseca y fototoxicidad inducida, aspecto clave para cualquier aplicación futura. En paralelo, la medición directa de especies reactivas de oxígeno y estudios de localización subcelular aportarían evidencia más robusta para sustentar las correlaciones estructura–actividad propuesta.
- La optimización de formulaciones representa una perspectiva especialmente prometedora. Estrategias como la inmovilización de los fotosensibilizadores en matrices poliméricas, nanopartículas, hidrogeles o superficies sólidas podrían mejorar la estabilidad, controlar la agregación y favorecer aplicaciones tópicas o localizadas, particularmente relevantes para infecciones cutáneas asociadas a leishmaniasis o a colonización bacteriana. En este contexto, el uso de sistemas soportados permitiría aprovechar la actividad fotodinámica observada sin necesidad de incrementar significativamente la dosis sistémica.
- Profundización en el potencial de estos sistemas como plataformas para terapias combinadas, donde la acción fotodinámica podría complementarse con tratamientos convencionales, reduciendo la carga microbiana o parasitaria y disminuyendo la probabilidad de resistencia. Este enfoque es especialmente atractivo en escenarios de

coinfección o infecciones localizadas, donde la PDT puede actuar como terapia adyuvante más que como tratamiento único.

Por último, este trabajo aporta nuevos conocimientos en el diseño racional de porfirinas funcionalizadas y metaloporfirinas, demostrando cómo pequeñas modificaciones estructurales pueden modular de manera significativa la actividad fotodinámica y la selectividad biológica. Aunque los resultados no pretenden establecer aplicaciones clínicas, sí proporcionan una base sólida para el desarrollo futuro de fotosensibilizadores duales, particularmente en el contexto de infecciones parasitarias y bacterianas tratables mediante terapias fotodinámicas locales.

Referencias Bibliográficas

- Acosta, R. B., Durantini, E. N., & Spesia, M. B. (2025). Photodynamic Inactivation Enhances Antibiotic Efficacy Without Affecting Drug Stability: Insights into Photosensitizer–Antibiotic Combination Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(23). <https://doi.org/10.3390/ijms262311267>
- Ahmadi, E., Ramazani, A., Hamdi, Z., Mashhadi-Malekzadeh, A., & Mohamadnia, Z. (2015). 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin Covalently Bound to Nano-silica Surface: Preparation, Characterization and Chemosensor Application to Detect TNT. *Silicon*, 7(4), 323–332. <https://doi.org/10.1007/s12633-015-9304-9>
- Al-Alousy, N. W., & Al-Nasiri, F. S. (2025). Bacterial infections associated with cutaneous leishmaniasis in Salah Al-Din province, Iraq. *Microbial Pathogenesis*, 198. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.107144>
- Alvar, J., Croft, S., & Olliaro, P. (2006). Chemotherapy in the Treatment and Control of Leishmaniasis. In *Advances in Parasitology* (Vol. 61). [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)61006-8](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)61006-8)
- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., & de Boer, M. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. In *PLoS ONE* (Vol. 7, Issue 5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
- Al-Warhi, T. I., Al-Hazimi, H. M. A., & El-Faham, A. (2012). Recent development in peptide coupling reagents. *Journal of Saudi Chemical Society*, 16(2), 97–116. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.12.006>

- Amos-Tautua, B. M., Songca, S. P., & Oluwafemi, O. S. (2019). Application of porphyrins in antibacterial photodynamic therapy. *Molecules*, 24(13). <https://doi.org/10.3390/molecules24132456>
- Anand, D., Yadav, P. K., Patel, O. P. S., Parmar, N., Maurya, R. K., Vishwakarma, P., Raju, K. S. R., Taneja, I., Wahajuddin, M., Kar, S., & Yadav, P. P. (2017). Antileishmanial Activity of Pyrazolopyridine Derivatives and Their Potential as an Adjunct Therapy with Miltefosine. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(3), 1041–1059. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01447>
- Andrade, C. G., Figueiredo, R. C. B. Q., Ribeiro, K. R. C., Souza, L. I. O., Sarmiento-Neto, J. F., Rebouças, J. S., Santos, B. S., Ribeiro, M. S., Carvalho, L. B., & Fontes, A. (2018). Photodynamic effect of zinc porphyrin on the promastigote and amastigote forms of: *Leishmania braziliensis*. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 17(4), 482–490. <https://doi.org/10.1039/c7pp00458c>
- Astman, N., Arbel, C., Katz, O., Barzilai, A., Solomon, M., & Schwartz, E. (2024). Tolerability and Safety of Miltefosine for the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/tropicalmed9090218>
- Aureliano, D. P., Lindoso, J. A. L., de Castro Soares, S. R., Takakura, C. F. H., Pereira, T. M., & Ribeiro, M. S. (2018). Cell death mechanisms in *Leishmania amazonensis* triggered by methylene blue-mediated antiparasitic photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.05.005>
- Ayalew, G., Asmamaw, A., Wolde, M., Diriba, R., & Zerfu, B. (2025). Bacterial isolates and drug susceptibility patterns in infected lesions of cutaneous leishmaniasis patients at ALERT

- hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 25(1).
<https://doi.org/10.1186/s12879-024-10409-w>
- Babu, B., Amuhaya, E., Oluwole, D., Prinsloo, E., Mack, J., & Nyokong, T. (2019). Preparation of NIR absorbing axial substituted tin(IV) porphyrins and their photocytotoxic properties. *MedChemComm*, 10(1). <https://doi.org/10.1039/C8MD00373D>
- Bagus, P. S., Nelin, C. J., Brundle, C. R., Crist, B. V., Ilton, E. S., Lahiri, N., & Rosso, K. M. (2022). Main and Satellite Features in the Ni 2p XPS of NiO. *Inorganic Chemistry*, 61(45).
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.2c02549>
- Bakale, R. P., Naik, G. N., Mangannavar, C. V., Muchchandi, I. S., Shcherbakov, I. N., Frampton, C., & Gudasi, K. B. (2014). Mixed ligand complex via zinc(II)-mediated in situ oxidative heterocyclization of hydrochloride salt of 2-chlorobenzaldehyde hydralazine hydrazone as potential of antihypertensive agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 73.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.11.037>
- Baklanov, A., Kühle, J. T., Duncan, D. A., Ryan, P. T. P., Maurer, R. J., Schwarz, M., Rascon, E. C., Piquero-Zulaica, I., Ngo, H. T., Riss, A., Allegretti, F., & Auwärter, W. (2023). Zinc-Porphine on Coinage Metal Surfaces: Adsorption Configuration and Ligand-Induced Central Atom Displacement. *Journal of Physical Chemistry C*, 127(15).
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c00232>
- Basmacıyan, L., & Casanova, M. (2019). La mort cellulaire chez Leishmania. In *Parasite (Paris, France)* (Vol. 26, p. 71). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1051/parasite/2019071>
- Bernstein, J. (2002). *Polymorphism in Molecular Crystals* (1st ed., Vol. 14). Oxford University Press.

- Bianco, M., Ventura, G., Calvano, C. D., Losito, I., Cataldi, T. R. I., & Monopoli, A. (2024). Matrix Selection Strategies for MALDI-TOF MS/MS Characterization of Cyclic Tetrapyrroles in Blood and Food Samples. *Molecules*, 29(4). <https://doi.org/10.3390/molecules29040868>
- Blanco, L. M., González, L. T., Kharisov, B. I., Aguilera, E. N., Garnovskii, A. D., Longoria, F. E., Costamagna, J., Borodkin, G. S., & Korobov, M. S. (2008). Direct electrochemical synthesis of a nickel complex with 5,10,15,20-tetrakis(p-hydroxyphenyl) porphyrin. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 38(6), 503–513. <https://doi.org/10.1080/15533170802265145>
- Boles, M. O., & Girven, R. J. (1976). The structures of ampicillin: a comparison of the anhydrate and trihydrate forms. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 32(8). <https://doi.org/10.1107/s0567740876007590>
- Bonnett, R. (2000). Chemical Aspects of Photodynamic Therapy. In *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*. <https://doi.org/10.1201/9781482296952>
- Borbón, T. Y., Scorza, B. M., Clay, G. M., Nobre de Queiroz, F. L., Sariol, A. J., Bowen, J. L., Chen, Y., Zhanbolat, B., Parlet, C. P., Valadares, D. G., Cassel, S. L., Nauseef, W. M., Horswill, A. R., Sutterwala, F. S., & Wilson, M. E. (2019). Coinfection with leishmania major and staphylococcus aureus enhances the pathologic responses to both microbes through a pathway involving IL-17A. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(5), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007247>
- Bouicha, M. A., Mabrouk, C., Gassoumi, B., Barhoumi, H., Molton, F., Loiseau, F., Roisnel, T., Medina, A. S., Cornejo Bravo, J. M., Lopez-Maldonado, E. A., & Nasri, H. (2025). New zinc(ii) metalloporphyrin: molecular structure, spectroscopic characterization,

- electrochemical sensing of dopamine, and catalytic dye degradation. *RSC Advances*, 15(13), 9810–9827. <https://doi.org/10.1039/d5ra00762c>
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2023). Design and Synthesis of Novel Antimicrobial Agents. *Antibiotics*, 12(3), 628. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030628>
- Bremner, J. B., Ambrus, J. I., & Samosorn, S. (2007). Dual Action-Based Approaches to Antibacterial Agents. *Current Medicinal Chemistry*, 14(13), 1459–1477.
- Brittain, H. G. (2006). *Spectroscopy of Pharmaceutical Solids* (J. Swarbrick, Ed.). Taylor & Francis Group, LLC.
- Cabral, F. V., Cerone, M., Persheyev, S., Lian, C., Samuel, I. D. W., Ribeiro, M. S., & Smith, T. K. (2023). New insights in photodynamic inactivation of *Leishmania amazonensis*: A focus on lipidomics and resistance. *PLoS ONE*, 18(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289492>
- Carlucci, L., Ciani, G., Maggini, S., Proserpio, D. M., Ragaini, F., Gallo, E., Ranocchiari, M., & Caselli, A. (2010). Synthesis and characterization of new tetra-substituted porphyrins with exo-donor carboxylic groups as building blocks for supramolecular architectures. Catalytic and structural studies of their metalated derivatives. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 14(9), 804–814. <https://doi.org/10.1142/S1088424610002641>
- Carvalho, C. E. S., Sobrinho-Junior, E. P. C., Brito, L. M., Nicolau, L. A. D., Carvalho, T. P., Moura, A. K. S., Rodrigues, K. A. F., Carneiro, S. M. P., Arcanjo, D. D. R., Citó, A. M. G. L., & Carvalho, F. A. A. (2017). Anti-*Leishmania* activity of essential oil of *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All.: Composition, cytotoxicity and possible mechanisms of action. *Experimental Parasitology*, 175, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.02.012>

- Chakravarty, J., & Sundar, S. (2010). Drug resistance in leishmaniasis. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2(2), 167–176. <https://doi.org/10.4103/0974-777x.62887>
- Chang, K. P., Reynolds, J. M., Ng, D. K. P., Tu, Y. H., Fan, C. K., & Shiao, S. H. (2024). Molecular approaches to deploy singlet oxygen in a Leishmania model as an unassailable biocide for disease mitigation and vector control. *Frontiers in Tropical Diseases*, 5. <https://doi.org/10.3389/fitd.2024.1306429>
- Chen, J., Zhu, Y., & Kaskel, S. (2021). Porphyrin-Based Metal–Organic Frameworks for Biomedical Applications. *Angewandte Chemie - International Edition*, 60(10), 5010–5035. <https://doi.org/10.1002/anie.201909880>
- Chen, W. T., Hu, R. H., Luo, Z. G., & Chen, H. L. (2015). Hydrothermal synthesis and crystal structure of non-metallated porphyrin. *Asian Journal of Chemistry*, 27(1), 158–160. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2015.16821>
- Cherian, P. T., Deshpande, A., Cheramie, M. N., Bruhn, D. F., Hurdle, J. G., & Lee, R. E. (2017). Design, Synthesis and Microbiological Evaluation of Ampicillin Tetramic acid Hybrid Antibiotics. *Journal Antibiotic*, 70(1), 65–72. <https://doi.org/10.1038/ja.2016.52.Design>
- Corman, H. N., McNamara, C. W., & Bakowski, M. A. (2023). Drug Discovery for Cutaneous Leishmaniasis: A Review of Developments in the Past 15 Years. In *Microorganisms* (Vol. 11, Issue 12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122845>
- Craig, D. Q. M., & Reading, M. (2007). *Thermal Analysis of Pharmaceuticals*. CRC Press Taylor y Francis Group.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). ILOGP: A simple, robust, and efficient description of n-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *Journal*

of Chemical Information and Modeling, 54(12), 3284–3301.
<https://doi.org/10.1021/ci500467k>

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/srep42717>

Daina, A., & Zoete, V. (2016). A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*, 1117–1121.
<https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>

Das, R., Kumar Verma, P., & Nagaraja, C. M. (2024). Design of porphyrin-based frameworks for artificial photosynthesis and environmental remediation: Recent progress and future prospects. *Coordination Chemistry Reviews*, 514, 215944.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2024.215944>

De Muylder, G., Vanhollebeke, B., Caljon, G., Wolfe, A. R., McKerrow, J., & Dujardin, J. C. (2016). Naloxonazine, an Amastigote-Specific Compound, Affects Leishmania Parasites through Modulation of Host-Encoded Functions. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(12).
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005234>

De Oliveira De Siqueira, L. B., Da Silva Cardoso, V., Rodrigues, I. A., Vazquez-Villa, A. L., Dos Santos, E. P., Da Costa Leal Ribeiro Guimarães, B., Dos Santos Cerqueira Coutinho, C., Vermelho, A. B., & Junior, E. R. (2017). Development and evaluation of zinc phthalocyanine nanoemulsions for use in photodynamic therapy for Leishmania spp. *Nanotechnology*, 28(6).
<https://doi.org/10.1088/1361-6528/28/6/065101>

De Oliveira, V. E., Corrêa, C. C., Pinheiro, C. B., Diniz, R., & De Oliveira, L. F. C. (2011). Structural and spectroscopy studies of the zinc complex of p-hydroxyphenylporphyrin.

- Journal of Molecular Structure*, 995(1–3), 125–129.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.04.002>
- de Vries, H. J. C., & Schallig, H. D. (2022). Cutaneous Leishmaniasis: A 2022 Updated Narrative Review into Diagnosis and Management Developments. In *American Journal of Clinical Dermatology* (Vol. 23, Issue 6). <https://doi.org/10.1007/s40257-022-00726-8>
- Decreto 780 de 2016 Sector Salud y Protección Social, Ministerio de Salud y Protección Social, República de Colombia 1 (2016).
- Dhimitruka, I., & SantaLucia, J. (2006). Investigation of the Yamaguchi esterification mechanism. Synthesis of a Lux-S enzyme inhibitor using an improved esterification method. *Organic Letters*, 8(1), 47–50. <https://doi.org/10.1021/ol0524048>
- Dinnebier, R. E., & Billinge, S. J. L. (2008). Powder Diffraction Theory and Practice. In *Powder Diffraction*. The Royal Society of Chemistry.
- do Prado-Silva, L., Brancini, G. T. P., Braga, G. Ú. L., Liao, X., Ding, T., & Sant’Ana, A. S. (2022). Antimicrobial photodynamic treatment (aPDT) as an innovative technology to control spoilage and pathogenic microorganisms in agri-food products: An updated review. In *Food Control* (Vol. 132). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108527>
- Dong, J., Wang, N. N., Yao, Z. J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., Lu, A. P., & Cao, D. S. (2018). Admetlab: A platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0283-x>
- Dong, Y., Morimoto, H., Lv, X., Mo, X., Chen, F., Wu, F., Aratani, N., Qiu, F., & Xue, S. (2024). Synthesis of Hybrid Porphyrin(2.1.2.1)s and Their Complexation. *The Journal of Organic Chemistry*, 89, 1626–1632. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c02294>

- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 15, Issue 2). <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>
- Dowson, C. G., Coffey, T. J., & Spratt, B. G. (1994). Origin and molecular epidemiology of penicillin-binding-protein-mediated resistance to β -lactam antibiotics. *Trends in Microbiology*, 2(10), 361–366.
- Eddahmi, M., Sousa, V., Moura, N. M. M., Dias, C. J., Bouissane, L., Faustino, M. A. F., Cavaleiro, J. A. S., Gomes, A. T. P. C., Almeida, A., Neves, M. G. P. M. S., & Mostapha Rakib, E. (2020). New nitroindazole-porphyrin conjugates: Synthesis, characterization and antibacterial properties. *Bioorganic Chemistry*, 101. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103994>
- El Abiad, C., Radi, S., El Massaoudi, M., Lamsayah, M., Figueira, F., Faustino, M. A. F., Neves, M. G. P. M. S., & Moura, N. M. M. (2023). Porphyrin-silica gel hybrids as effective and selective copper(II) adsorbents from industrial wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(3). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110097>
- El-Faham, A., & Albericio, F. (2011). Peptide coupling reagents, more than a letter soup. *Chemical Reviews*, 111(11), 6557–6602. <https://doi.org/10.1021/cr100048w>
- Espitia-Almeida, F., Díaz-Urbe, C., Vallejo, W., Gómez-Camargo, D., & Romero Bohórquez, A. R. (2020). In vitro anti-leishmanial effect of metallic meso-substituted porphyrin derivatives against leishmania braziliensis and leishmania panamensis promastigotes properties. *Molecules*, 25(8), 1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules25081887>
- Espitia-Almeida, F., Diaz-Urbe, C., Vallejo, W., Gómez-Camargo, D., Romero Bohórquez, A. R., & Linares-Flores, C. (2021). Photophysical study and in vitro approach against

- Leishmania panamensis of dicloro-5,10,15,20-tetrakis(4-bromophenyl)porphyrinato Sn(IV). *F1000Research*, 10, 379. <https://doi.org/10.12688/f1000research.52433.1>
- Espitia-Almeida, F., Díaz-Urbe, C., Vallejo, W., Gómez-Camargo, D., Romero-Bohorquez, A. R., Schott, E., & Zarate, X. (2019). Synthesis and Characterization of 5,10,15,20-Tetrakis(4-ethylphenyl)porphyrin and (Zn²⁺, Mn²⁺, Sn²⁺, Ni²⁺, Al³⁺, V³⁺)-Derivatives: Photophysical and DFT study. *ChemistrySelect*, 4(20), 6290–6294. <https://doi.org/10.1002/slct.201900948>
- Espitia-Almeida, F., Valle-Molinares, R., Navarro Quiroz, E., Pacheco-Londoño, L. C., & Galán-Freyle, N. J. (2023). Photodynamic Antimicrobial Activity of a Novel 5,10,15,20-Tetrakis (4-Ethylphenyl) Porphyrin against Clinically Important Bacteria. *Pharmaceuticals*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/ph16081059>
- Espitia-Almeida, Meléndez, ;, Ochoa-Díaz, ;, Valle-Molinares, ;, Gutiérrez M, & Gómez, ; (2016). Antimicrobial and Degradative Bacterial DNA Effects of new 2-Alkyl (Tetrahydroquinoline-4-yl)formamide. *Pharmacology OnLine*, 1, 72–80. <http://pharmacologyonline.silae.it>
- Ethirajan, M., Chen, Y., Joshi, P., & Pandey, R. K. (2011). The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy. *Chemical Society Reviews*, 40(1), 340–362. <https://doi.org/10.1039/b915149b>
- Ezzayani, K., Alanazi, A. N., Khelifa, A. Ben, Mansour, A., Alanazi, R., Hussein, I. E. A., Hajlaoui, K., & Salih, M. A. N. (2023). Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of a new magnesium (II) porphyrin complex. *Journal of Molecular Structure*, 1287. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135702>

- Faustova, M., Nikolskaya, E., Sokol, M., Fomicheva, M., Petrov, R., & Yabbarov, N. (2020). Metalloporphyrins in Medicine: From History to Recent Trends. *ACS Applied Bio Materials*, 3(12), 8146–8171. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00941>
- Francis, S., Joy, F., Jayaraj, H., Sunny, N., & Rajith, L. (2024). Recent advances in porphyrin-based optical sensing. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 21(1), 13–70. <https://doi.org/10.1007/s13738-023-02912-9>
- Gao, J.-L., Kwan, A. H., Yammine, A., Zhou, X., Trewhella, J., Hugrass, B. M., Collins, D. A. T., Horne, J., Ye, P., Harty, D., Nguyen, K.-A., Gell, D. A., & Hunter, N. (2018). Structural properties of a haemophore facilitate targeted elimination of the pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Nature Communications*, 9(1), 4097. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06470-0>
- García Ortega, H. (2003). Porfirinas Solubles en Agua: Síntesis, Homoasociación y Propiedades Fotofísicas de Porfirinas Sulfonadas 5,15-Difenilsustituidas. In *Tesis*. Universitat de Barcelona.
- Giacovazzo, C., Monaco, H. L., Artioli, G., Viterbo, D., Milanesio, M., Gilli, G., Gilli, P., Zanotti, G., Ferraris, G., & Catti, M. (1998). Fundamentals of Crystallography. In C. Giacovazzo (Ed.), *Fundamentals of Crystallography*. International Union of Crystallography Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199573653.001.0001>
- Giannoudis, E., Benazzi, E., Karlsson, J., Copley, G., Panagiotakis, S., Landrou, G., Angaridis, P., Nikolaou, V., Matthaiaki, C., Charalambidis, G., Gibson, E. A., & Coutsolelos, A. G. (2020). Photosensitizers for H₂ Evolution Based on Charged or Neutral Zn and Sn Porphyrins. *Inorganic Chemistry*, 59(3). <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b01838>

- Gjuroski, I., Furrer, J., & Vermathen, M. (2021). Probing the interactions of porphyrins with macromolecules using NMR spectroscopy techniques. *Molecules*, 1942(26). <https://doi.org/10.3390/molecules26071942>
- Glowacka-Sobotta, A., Czarczynska-Goslinska, B., Ziental, D., Wysocki, M., Michalak, M., Güzel, E., & Sobotta, L. (2024). Versatile Porphyrin Arrangements for Photodynamic Therapy—A Review. *Nanomaterials*, 14, 1879. <https://doi.org/10.3390/nano14231879>
- Gonçalves, G., Campos, M. P., Gonçalves, A. S., Medeiros, L. C. S., & Figueiredo, F. B. (2021). Increased *Leishmania infantum* resistance to miltefosine and amphotericin B after treatment of a dog with miltefosine and allopurinol. *Parasites and Vectors*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-021-05100-x>
- Grössl, D. M., Hafner, A. V., Fischer, R. C., Saf, R., Torvisco, A., & Uhlig, F. (2023). Bis(chlorido)tin(IV)meso-substituted Porphyrins-Characterization and Solubility. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 26(28). <https://doi.org/10.1002/ejic.202300286>
- Grosvenor, A. P., Biesinger, M. C., Smart, R. S. C., & McIntyre, N. S. (2006). New interpretations of XPS spectra of nickel metal and oxides. *Surface Science*, 600(9). <https://doi.org/10.1016/j.susc.2006.01.041>
- Gutzeit, F., Dommaschk, M., Levin, N., Buchholz, A., Schaub, E., Plass, W., Näther, C., & Herges, R. (2019). Structure and Properties of a Five-Coordinate Nickel(II) Porphyrin. *Inorganic Chemistry*, 58(19). <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b00348>
- Haines, P. J. (2002). *Principles of Thermal Analysis and Calorimetry*. Royal Society of Chemistry.
- Hamblin, M. R. (2016). Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. In *Current Opinion in Microbiology* (Vol. 33). <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.06.008>

- Hamblin, M. R., & Abrahamse, H. (2020). Oxygen-independent antimicrobial photoinactivation: Type III photochemical mechanism? In *Antibiotics* (Vol. 9, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020053>
- Hamblin, M. R., & Hasan, T. (2004). Photodynamic therapy: A new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochemical and Photobiological Sciences*, 3(5). <https://doi.org/10.1039/b311900a>
- Han, J., Liu, Y., Peng, D., Liu, J., & Wu, D. (2023). Biomedical Application of Porphyrin-Based Amphiphiles and Their Self-Assembled Nanomaterials. *Bioconjugate Chemistry*, 34(12), 2155–2180. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.3c00432>
- Hashimoto, T., Choe, Y. K., Nakano, H., & Hirao, K. (1999). Theoretical study of the Q and B bands of free-base, magnesium, and zinc porphyrins, and their derivatives. *Journal of Physical Chemistry A*, 103(12), 1894–1904. <https://doi.org/10.1021/jp984807d>
- Herwaldt, B. L. (1999). Leishmaniasis. *The Lancet*, 354(9185), 1191–1199. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)10178-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)10178-2)
- Hiroto, S., Miyake, Y., & Shinokubo, H. (2017). Synthesis and Functionalization of Porphyrins through Organometallic Methodologies. *Chemical Reviews*, 117(4), 2910–3043. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00427>
- Imran, M., Ramzan, M., Qureshi, A. K., Azhar Khan, M., & Tariq, M. (2018). Emerging applications of porphyrins and metalloporphyrins in biomedicine and diagnostic magnetic resonance imaging. *Biosensors*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/bios8040095>
- Instituto Nacional de Salud. (2023). *Manual de bioseguridad para laboratorios de análisis y vigilancia en salud pública*.

- Instituto Nacional de Salud. (2024a). Boletín epidemiológico semanal 09 de 2024. In *Boletín epidemiológico semanal*. <https://doi.org/10.33610/23576189.2024.09>
- Instituto Nacional de Salud. (2024b). *Protocolo de vigilancia en salud pública de Leishmaniasis*. <https://doi.org/10.33610/IMYH4569>
- Jiang, L., Gan, C. R. R., Gao, J., & Loh, X. J. (2016). A Perspective on the Trends and Challenges Facing Porphyrin-Based Anti-Microbial Materials. *Small (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 12(27), 3609–3644. <https://doi.org/10.1002/sml.201600327>
- Jiménez-Ruiz, A., Alzate, J. F., MacLeod, E. T., Lüder, C. G. K., Fasel, N., & Hurd, H. (2010). Apoptotic markers in protozoan parasites. In *Parasites and Vectors* (Vol. 3, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-104>
- Joullié, M. M., & Lassen, K. M. (2010). Evolution of amide bond formation. *Arkivoc*, 2010(8), 189–250. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0011.816>
- Kadish, K. M., Smith, K. M., & Guillard, R. (2003). The Porphyrin Handbook: Inorganic, organometallic and coordination chemistry. *Elsevier*, 3.
- Kadish, K. M., Smith, K. M., & Guillard, R. (2013). Handbook of Porphyrin Science With Applications to Chemistry, Physics, Materials Science, Engineering, Biology and Medicine — Volume 26: Heme Biochemistry. In *Handbook of Porphyrin Science* (Vol. 26).
- Kiselev, A. N., Syrbu, S. A., Lebedeva, N. S., & Gubarev, Y. A. (2022). Functionalization of Porphyrins Using Metal-Catalyzed C-H Activation. *Inorganics*, 63(10), 63. <https://doi.org/10.3390/inorganics10050063>
- Kriechbaum, M., List, M., Himmelsbach, M., Redhammer, G. J., & Monkowius, U. (2014). Peptide coupling between amino acids and the carboxylic acid of a functionalized chlorido-

- gold(I)-phosphane. *Inorganic Chemistry*, 53(19), 10602–10610.
<https://doi.org/10.1021/ic5017142>
- Kumari, R., Khan, M. I., Bhowmick, S., Sinha, K. K., Das, N., & Das, P. (2017). Self-assembly of DNA-porphyrin hybrid molecules for the creation of antimicrobial nanonetwork. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 172, 28–35.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.05.010>
- Leggio, A., Belsito, E. L., De Luca, G., Di Gioia, M. L., Leotta, V., Romio, E., Siciliano, C., & Liguori, A. (2016). One-pot synthesis of amides from carboxylic acids activated using thionyl chloride. *RSC Advances*, 6(41). <https://doi.org/10.1039/c5ra24527c>
- Lembo, A., Demingo, M., Carbone, M., & Tagliatesta, P. (2025). Porphyrins functionalization by alkenyl compounds using the Heck cross-coupling reaction. Insights on methodologies and reaction products. *Inorganica Chimica Acta*, 581, 122598.
<https://doi.org/10.1016/j.ica.2025.122598>
- Li, L., Li, H., Shi, L., Shi, L., & Li, T. (2022). Tin Porphyrin-Based Nanozymes with Unprecedented Superoxide Dismutase-Mimicking Activities. *Langmuir*, 38(23).
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c00778>
- Lindsey, J. S. (2010). Synthetic routes to meso-patterned porphyrins. *Accounts of Chemical Research*, 43(2). <https://doi.org/10.1021/ar900212t>
- Liu, L., He, Y., & Chang, J. (2023). Efficacy of photodynamic therapy in cutaneous leishmaniasis: A systematic review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 43.
<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103627>
- Lovins, V., Farias Amorim, C., Robles, N., Murga-Garrido, S., Ting-Chun Pan, J., Singh, T. P., DeNardo, E., Carvalho, L. P., Carvalho, E. M., Scott, P., & Grice, E. A. (2025).

- Staphylococcus aureus* promotes strain-dependent immunopathology during cutaneous leishmaniasis through induction of IL-1 β . *Cell Reports*, 44(5). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.115624>
- Luo, H., Yu, W., Chen, S., Wang, Z., Tian, Z., He, J., & Liu, Y. (2022). Application of metalloporphyrin sensitizers for the treatment or diagnosis of tumors. *Journal of Chemical Research*, 46(2). <https://doi.org/10.1177/17475198221090914>
- Lyra, M. R., Passos, S. R. L., Pimentel, M. I. F., Bedoya-Pacheco, S. J., Valete-Rosalino, C. M., Vasconcellos, E. C. F., Antonio, L. F., Saheki, M. N., Salgueiro, M. M., Santos, G. P. L., Ribeiro, M. N., Conceição-Silva, F., Madeira, M. F., Silva, J. L. N., Fagundes, A., & Schubach, A. O. (2016). Pancreatic toxicity as an adverse effect induced by meglumine antimoniate therapy in a clinical trial for cutaneous leishmaniasis. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 58. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201658068>
- Maia-Elkhoury, A. N. S., Hernández, C. A., Ovalle-Bracho, C., Soto, J., & Valadas, S. (2020). *Atlas interactivo de leishmaniasis en las Américas: aspectos clínicos y diagnósticos diferenciales*. Organización Panamericana de la Salud.
- Maisch, T. (2015). Resistance in antimicrobial photodynamic inactivation of bacteria. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 14(8). <https://doi.org/10.1039/c5pp00037h>
- Makarani, N., Bharadava, K., Kaushik, A., Dave, A., Gangawane, A. K., & Kaushal, R. S. (2025). Leishmaniasis: A multifaceted approach to diagnosis, maladies, drug repurposing and way forward. *Microbe (Netherlands)*, 6, 100239. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100239>
- Mamardashvili, G. M., Kaigorodova, E. Y., Ivanova, K. A., Tomilova, I. K., Aleksakhina, E. L., Pakhrova, O. A., Likhonina, A. E., & Mamardashvili, N. Z. (2025). Design and antibacterial activity of a hybrid fluorophore where porphyrin and Rose Bengal moieties are linked through

- the carboxyl group of a xanthene dye. *Journal of Molecular Structure*, 1336. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2025.142147>
- Manathanath, M., Sasidharan, S., Saudagar, P., Gopalakrishna Panicker, U., & Sujatha, S. (2022). Photodynamic evaluation of triazine appended porphyrins as anti-leishmanial and anti-tumor agents. *Polyhedron*, 217, 115711. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2022.115711>
- Martínez-Carmona, M., Izquierdo-Barba, I., Colilla, M., & Vallet-Regí, M. (2019). Revised Manuscript submitted to Concanavalin A-targeted mesoporous silica nanoparticles for infection treatment. *Acta Biomaterialia*.
- Mazzeo, A. M. (2022). *Nitroxilo (HNO): complejos biomiméticos de porfirinas de hierro y nuevos métodos de generación*. Universidad de Buenos Aires.
- Meunier, B. (2008). Hybrid molecules with a dual mode of action: Dream or reality? *Accounts of Chemical Research*, 41(1), 69–77. <https://doi.org/10.1021/ar7000843>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2022a). *Plan Decenal de Salud Pública PDSP 2022-2031*. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/documento-plan-decenal-salud-publica-2022-2031.pdf>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2022b). *Protocolo de Vigilancia de Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en el ámbito hospitalario*. <https://doi.org/10.33610/infoeventos.70>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2022c). *Protocolo de Vigilancia de Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en el ámbito hospitalario*. <https://doi.org/10.33610/infoeventos.70>

- Miranda, N., Volpato, H., da Silva Rodrigues, J. H., Caetano, W., Ueda-Nakamura, T., de Oliveira Silva, S., & Nakamura, C. V. (2017). The photodynamic action of pheophorbide a induces cell death through oxidative stress in *Leishmania amazonensis*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 174. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.08.016>
- Mitsunobu, O. (1981). The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. In *Synthesis (Germany)* (Vol. 1981, Issue 1). <https://doi.org/10.1055/s-1981-29317>
- Moulder, J. F., Stickle, W. F., Sobol, P. E., & Bomben, K. D. (1995). *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy* (J. Chastain & R. C. Jr. King, Eds.). Physycal Electronics, INC.
- Myung, Y., De Sá, A. G. C., & Ascher, D. B. (2024). Deep-PK: deep learning for small molecule pharmacokinetic and toxicity prediction. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W469–W475. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae254>
- Nakamoto, Kazuo. (2009). *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. Part A Theory and applications in inorganic chemistry*. Wiley; [Wiley-Blackwell, distributor].
- Nayler, J. H. C. (1971). Structure-activity relationships in semi-synthetic penicillins. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 179(57), 357–367. <https://doi.org/10.1098/rspb.1971.0102>
- Nelson, D. E., & Young, K. D. (2001). Contributions of PBP 5 and DD-carboxypeptidase penicillin binding proteins to maintenance of cell shape in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 183(10). <https://doi.org/10.1128/JB.183.10.3055-3064.2001>
- Nepali, K., Sharma, S., Sharma, M., Bedi, P. M. S., & Dhar, K. L. (2014). Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer

- hybrids. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 77, pp. 422–487). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.03.018>
- Oliveira, L. F., Schubach, A. O., Martins, M. M., Passos, S. L., Oliveira, R. V., Marzochi, M. C., & Andrade, C. A. (2011). Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. In *Acta Tropica* (Vol. 118, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.02.007>
- O'Neill, J. (2016). The Review on Antimicrobial Resistance Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. In *London, United Kingdom: Review on Antimicrobial Resistance* (Issue December).
- Organización Panamericana de la Salud, & Organización Mundial de la Salud. (2019). *Manual de procedimientos para la vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas*. www.paho.org
- Ouyang, J., Li, D., Zhu, L., Liu, L., & Pan, H. (2024). Application and Challenge of Metalloporphyrin Sensitizers in Noninvasive Dynamic Tumor Therapy. *J Materials Applied Sci*, 5(1), 1008.
- Oyim, J., Omolo, C. A., & Amuhaya, E. K. (2021). Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy: Advancements in Porphyrin-Based Photosensitize Development. *Frontiers in Chemistry*, 9(635344). <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.635344>
- PAHO/WHO. (2024). *Leishmaniasis: Epidemiological Report on the Region of the Americas*.
- Park, J. T., & Strominger, J. L. (1957). Mode of action of penicillin: Biochemical basis for the mechanism of action of penicillin and for its selective toxicity. *Science*, 125(3238). <https://doi.org/10.1126/science.125.3238.99>

- Percástegui, E. G., & Jancik, V. (2020). Coordination-driven assemblies based on meso-substituted porphyrins: Metal-organic cages and a new type of meso-metallaporphyrin macrocycles. *Coordination Chemistry Reviews*, 407, 213165. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.213165>
- Pérez-Cadenas, M., Asedegbega-Nieto, E., Carter, J., Anderson, J. A., Rodríguez-Ramos, I., & Guerrero-Ruiz, A. (2021). Study of the interaction of an iron phthalocyanine complex over surface modified carbon nanotubes. *Materials*, 14(15). <https://doi.org/10.3390/ma14154067>
- Pijpers, J., Den Boer, M. L., Essink, D. R., & Ritmeijer, K. (2019). The safety and efficacy of miltefosine in the long-term treatment of post-kala-azar dermal leishmaniasis in South Asia – a review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007173>
- Pokrovskaya, V., & Baasov, T. (2010). Dual-acting hybrid antibiotics: A promising strategy to combat bacterial resistance. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 5(9), 883–902. <https://doi.org/10.1517/17460441.2010.508069>
- Pozzoli, A. (2018). *New Water-Soluble Porphyrins for Oxygen Sensing in Protein-Based Materials*. Liverpool John Moores University.
- Prati, F., Cavalli, A., & Bolognesi, M. L. (2016). Navigating the Chemical Space of Multitarget-Directed Ligands: From Hybrids to Fragments in Alzheimer's Disease. *Molecules*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/molecules21040466>
- Pucelik, B., Barzowska, A., Sułek, A., Werłos, M., & Dąbrowski, J. M. (2024). Refining antimicrobial photodynamic therapy: effect of charge distribution and central metal ion in fluorinated porphyrins on effective control of planktonic and biofilm bacterial forms.

- Photochemical and Photobiological Sciences*, 23, 539–560. <https://doi.org/10.1007/s43630-024-00538-1>
- Rafiee, F., Hassani Ardeshiri, H., Gholami, A., Ghafuri, H., & Rahimi, R. (2024). Synthesis and characterization of new photocatalyst-based tin (IV) 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-benzhydryl benzoate) porphyrin immobilized on Fe₃O₄ nanoparticles for removal of organic dye from wastewater. *Materials Science and Engineering: B*, 308. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2024.117574>
- Ren, T. (2008). Peripheral covalent modification of inorganic and organometallic compounds through C-C bond formation reactions. *Chemical Reviews*, 108(10), 4185–4207. <https://doi.org/10.1021/cr8002592>
- Resolución 8430 de 1993, Ministerio de salud, República de Colombia 1 (1993).
- Rice, L. B. (2012). Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. *Mayo Clinic Proceedings*, 87(2), 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2011.12.003>
- Saikia, S., & Chetia, P. (2024). Antibiotics: From Mechanism of Action to Resistance and Beyond. *Indian Journal of Microbiology*, 64(3), 821–845. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01285-8>
- Sarno, D. M., Matienzo, L. J., & Jones, W. E. (2001). X-ray photoelectron spectroscopy as a probe of intermolecular interactions in porphyrin polymer thin films. *Inorganic Chemistry*, 40(24). <https://doi.org/10.1021/ic010315v>
- Sekhar, A. R., Chitose, Y., Janoš, J., Dangoor, S. I., Ramundo, A., Satchi-Fainaro, R., Slavíček, P., Klán, P., & Weinstein, R. (2022). Porphyrin as a versatile visible-light-activatable

- organic/metal hybrid photoremovable protecting group. *Nature Communications*, 13(1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-31288-2>
- Shaveta, Mishra, S., & Singh, P. (2016). Hybrid molecules: The privileged scaffolds for various pharmaceuticals. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 500–536.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.039>
- Sheikh, S. Y., Hassan, F., Shukla, D., Bala, S., Faruqui, T., Akhter, Y., Khan, A. R., & Nasibullah, M. (2024). A review on potential therapeutic targets for the treatment of leishmaniasis. *Parasitology International*, 100. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2024.102863>
- Shi, Y., Zhang, F., & Linhardt, R. J. (2021). Porphyrin-based compounds and their applications in materials and medicine. *Dyes and Pigments*, 188.
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109136>
- Shimony, O., & Jaffe, C. L. (2008). Rapid fluorescent assay for screening drugs on Leishmania amastigotes. *Journal of Microbiological Methods*, 75(2).
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.05.026>
- Shokri, A., Emami, S., Fakhar, M., Teshnizi, S. H., & Keighobadi, M. (2017). In vitro antileishmanial activity of novel azoles (3-imidazolylflavanones) against promastigote and amastigote stages of Leishmania major. *Acta Tropica*, 167, 73–78.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.12.027>
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (D. Brennan, Ed.). John Wiley and Sons, INC.
- Singh, R., Kashif, M., Srivastava, P., & Manna, P. P. (2023). Recent Advances in Chemotherapeutics for Leishmaniasis: Importance of the Cellular Biochemistry of the

- Parasite and Its Molecular Interaction with the Host. In *Pathogens* (Vol. 12, Issue 5).
<https://doi.org/10.3390/pathogens12050706>
- Singha, M., Roy, S., Pandey, S. D., Bag, S. S., Bhattacharya, P., Das, M., Ghosh, A. S., Ray, D., & Basak, A. (2017). Use of Azido Naphthalimide Carboxylic Acids as Fluorescent Templates with a Built-in Photoreactive Group and a Flexible Linker Simplifies Protein Labeling Study: Applications in Selective Tagging of HCAII and Penicillin Binding Proteins. *Chemical Communications*, 53(97), 13015–13018. <https://doi.org/10.1039/c7cc08209f>
- Skoog, D. a., West, D. M., Holler, F. J., & Couch, S. R. (2005). Fundamentos de Química Analítica. *Fundamentos de Química Analítica*, 58.
- Souza, T. H. S., Sarmiento-Neto, J. F., Souza, S. O., Raposo, B. L., Silva, B. P., Borges, C. P. F., Santos, B. S., Cabral Filho, P. E., Rebouças, J. S., & Fontes, A. (2021). Advances on antimicrobial photodynamic inactivation mediated by Zn(II) porphyrins. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 49, 100454. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2021.100454>
- Stout, G. H. (1989). *X-Ray structure determination : a practical guide* (L. H. Jensen, Ed.; 2nd ed.) [Book]. John Wiley & Sons.
- Stredansky, M., Turco, E., Feng, Z., Costantini, R., Comelli, G., Verdini, A., Floreano, L., Morgante, A., Dri, C., & Cossaro, A. (2019). On-surface trapping of alkali atoms by crown ethers in ultra high vacuum. *Nanoscale Advances*, 1(5). <https://doi.org/10.1039/c9na00144a>
- Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). Antibioóticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(2), 116–129. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>
- Subash, M., Bijoy, R., Naykodi, A., Chorghade, M. S., & Thorat, B. N. (2025). Evaluation of Antibacterial Activity of Different Porphyrins Containing Transition Metals at the Core:

- Unveiling the Potent Metalloporphyrins as Antimicrobial Agents. *Applied Organometallic Chemistry*, 39(4). <https://doi.org/10.1002/aoc.70115>
- Sun, Z., Dare, D. K., Baraissov, Z., Muller, D. A., Thompson, M. O., & Liepe, M. U. (2023). Thermodynamic route of Nb₃Sn nucleation: Role of oxygen. *APL Materials*, 11(7). <https://doi.org/10.1063/5.0157659>
- Sundar, S., Singh, J., Singh, V. K., Agrawal, N., & Kumar, R. (2024). Current and emerging therapies for the treatment of leishmaniasis. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, 12(1), 19–32. <https://doi.org/10.1080/21678707.2024.2335248>
- Sutcliffe, J. G. (1978). Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of Escherichia coli plasmid pBR322. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(8). <https://doi.org/10.1073/pnas.75.8.3737>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outtersson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., ... Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Thermo Fisher Scientific. (n.d.). *Materials Science X-Ray Photoelectron Spectroscopy Learning Center XPS surface analysis references and resources*. N.d. Retrieved July 16, 2025, from <https://www.thermofisher.com/co/en/home/materials-science/learning-center/surface-analysis.html>

- Tipper, D. J., & Strominger, J. L. (1965). Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 54(4). <https://doi.org/10.1073/pnas.54.4.1133>
- Torres-Guerrero, E., & Arenas, R. (2018). Leishmaniasis. Alternativas terapéuticas actuales. *Dermatología Revista Mexicana*, 62(5), 400–409.
- Tsakos, M., Schaffert, E. S., Clement, L. L., Villadsen, N. L., & Poulsen, T. B. (2015). Ester coupling reactions-an enduring challenge in the chemical synthesis of bioactive natural products. *Natural Product Reports*, 32(4). <https://doi.org/10.1039/c4np00106k>
- Turner, J., Muraoka, A., Bedenbaugh, M., Childress, B., Pernot, L., Wiencek, M., & Peterson, Y. K. (2022). The Chemical Relationship Among Beta-Lactam Antibiotics and Potential Impacts on Reactivity and Decomposition. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.807955>
- Uliana, S. R. B., Trinconi, C. T., & Coelho, A. C. (2018). Chemotherapy of leishmaniasis: Present challenges. *Parasitology*, 145(4). <https://doi.org/10.1017/S0031182016002523>
- Ullah, N., Sagar, M., Abidin, Z. ul, Naeem, M. A., Din, S. Z. U., & Ahmad, I. (2024). Photodynamic therapy in management of cutaneous leishmaniasis: A systematic review. *Lasers in Medical Science*, 39(1), 226. <https://doi.org/10.1007/s10103-024-04174-0>
- Valdivieso, W., Paola Hernández, I., Martínez, F., Páez, E., & Escobar, P. (2008). Efecto fototóxico de la terapia fotodinámica en promastigotes de *Leishmania amazonensis*. *Salud UIS*, 40, 13–19.
- Vardanyan, R. S., & Hruby, V. J. (2006). Synthesis of Essential Drugs. In *Synthesis of Essential Drugs*. Elsevier Science. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52166-8.X5000-6>

- Varvarà, P., Calà, C., Maida, C. M., Giuffrè, M., Mauro, N., & Cavallaro, G. (2023). Arginine-Rich Peptidomimetic Ampicillin/Gentamicin Conjugate To Tackle Nosocomial Biofilms: A Promising Strategy To Repurpose First-Line Antibiotics. *ACS Infectious Diseases*, 9(4). <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00579>
- Vieira, N. I. D., Fonseca-Pinheiro, P., Bento, L. P., de Oliveira Silva, M., de Souza, C. E. M., de Lima, R. G., Diniz, R., deFreitas-Silva, G., de Souza-Fagundes, E. M., & da Silva Martins, D. C. (2025). Water-soluble porphyrins derived from 5,10,15,20-tetrakis(N-ethylpyridinium-3-yl)porphyrin: Metal center effect on the photodynamic activity against aggressive triple-negative breast cancer lineage. *Dyes and Pigments*, 245. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2025.113158>
- Volpato, H., Scariot, D. B., Soares, E. F. P., Jacomini, A. P., Rosa, F. A., Sarragiotto, M. H., Ueda-Nakamura, T., Rubira, A. F., Pereira, G. M., Manadas, R., Leitão, A. J., Borges, O., Nakamura, C. V., & Sousa, M. do C. (2018). In vitro anti-Leishmania activity of T6 synthetic compound encapsulated in yeast-derived β -(1,3)-D-glucan particles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 1264–1275. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.019>
- Wainwright, M., Maisch, T., Nonell, S., Plaetzer, K., Almeida, A., Tegos, G. P., & Hamblin, M. R. (2017). Photoantimicrobials—are we afraid of the light? In *The Lancet Infectious Diseases* (Vol. 17, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30268-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30268-7)
- Wan, J., Wang, H., Wu, Z., Shun, Y. C., Zheng, X., & Phillips, D. L. (2011). Resonance Raman spectroscopy and density functional theory calculation study of photodecay dynamics of tetra(4-carboxyphenyl) porphyrin. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(21), 10183–10190. <https://doi.org/10.1039/c0cp02933e>

- Wang, L., Liao, Z., Lin, P., Jia, Y., Liu, L., Xu, L., Zhou, M., Yin, B., Rao, Y., Nakai, A., Tanaka, T., Shimizu, D., Osuka, A., & Song, J. (2024). Synthesis of NiII porphyrin—NiII 5,15-diazaporphyrin hybrid tapes. *Chemical Science*, 15(26), 10207–10213. <https://doi.org/10.1039/d4sc01450b>
- Wang, Z. (2023). The chemistry and biology of beta-lactams. In *The Chemistry and Biology of Beta-Lactams*. <https://doi.org/10.1201/9781003330288>
- Waxman, D. J., & Strominger, J. L. (1983). Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of β -lactam antibiotics. *Annual Review of Biochemistry*, 52, 825–869. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.004141>
- WHO. (2024a). *Overview Vaccines and immunization*. World Health Organization.
- WHO. (2024b). *World health statistics 2024: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals*. World Health Organization.
- Wigman, L., Remarchuk, T., Gomez, S. R., Kumar, A., Dong, M. W., Medley, C. D., & Chetwyn, N. (2014). Byproducts of commonly used coupling reagents: Origin, toxicological evaluation and methods for determination. *American Pharmaceutical Review*, 17(1).
- Wijesekera, T. P., & Dolphin, D. (1985). Some Preparations and Properties of Porphyrins. *Plenum Press*, 229–6.
- Zangger, H., Mottram, J. C., & Fasel, N. (2002). Cell death in Leishmania induced by stress and differentiation: Programmed cell death or necrosis? *Cell Death and Differentiation*, 9(10). <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401071>
- Zhang, J., Song, J., Zhang, J., Chen, L., Zhang, J., Yuan, X., Li, H., Yu, L., Zhang, Y., Pang, K., Sun, C., Liu, Z., Li, J., Ma, L., & Song, J. (2024). Novel porphyrin derivative containing

cations as new photodynamic antimicrobial agent with high efficiency. *RSC Advances*, 14(5), 3122–3134. <https://doi.org/10.1039/d3ra07743h>

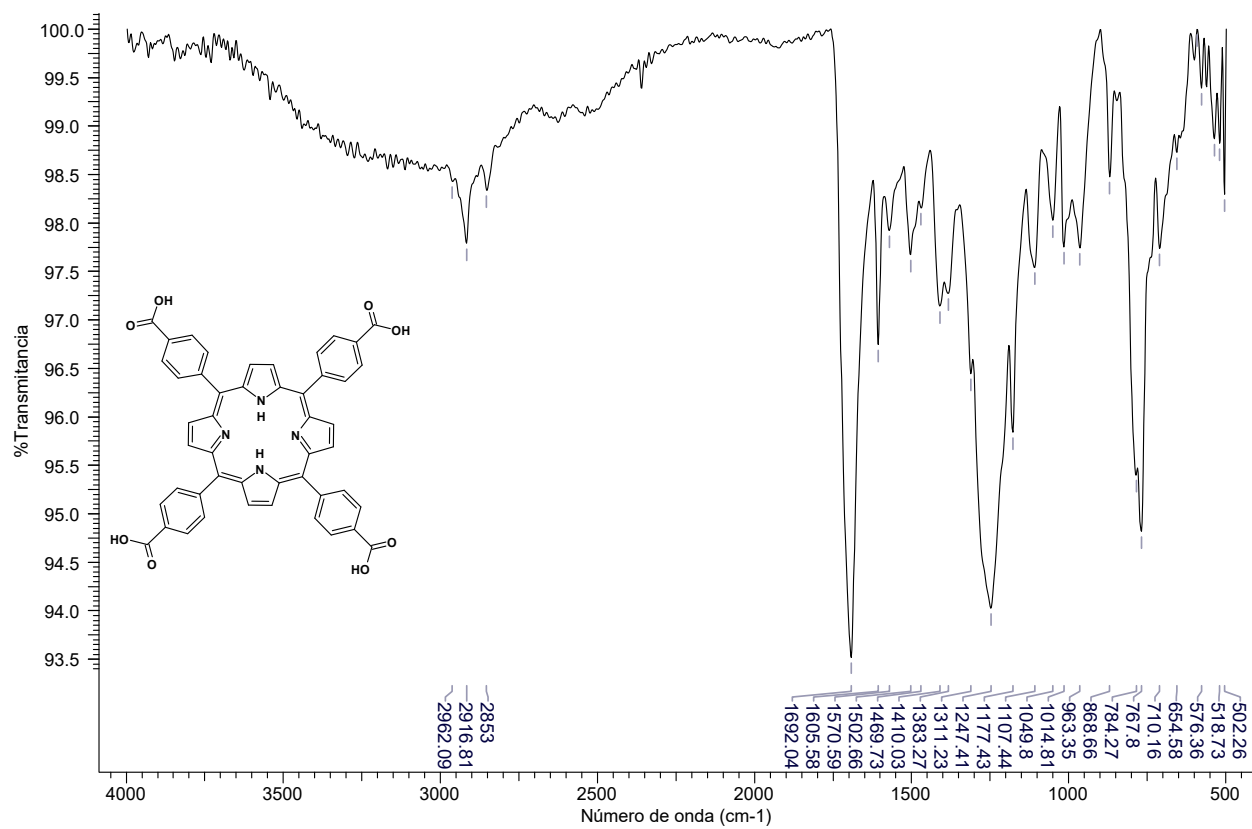
Zhao, Q., & Huang, G. (2017). Anticancer Hybrids. In *Design of Hybrid Molecules for Drug Development* (pp. 193–217). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101011-2.00007-6>

Zou, Y., Chen, J., Luo, X., Qu, Y., Zhou, M., Xia, R., Wang, W., & Zheng, X. (2024). Porphyrin-engineered nanoscale metal-organic frameworks: enhancing photodynamic therapy and ferroptosis in oncology. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1481168>

Apéndices

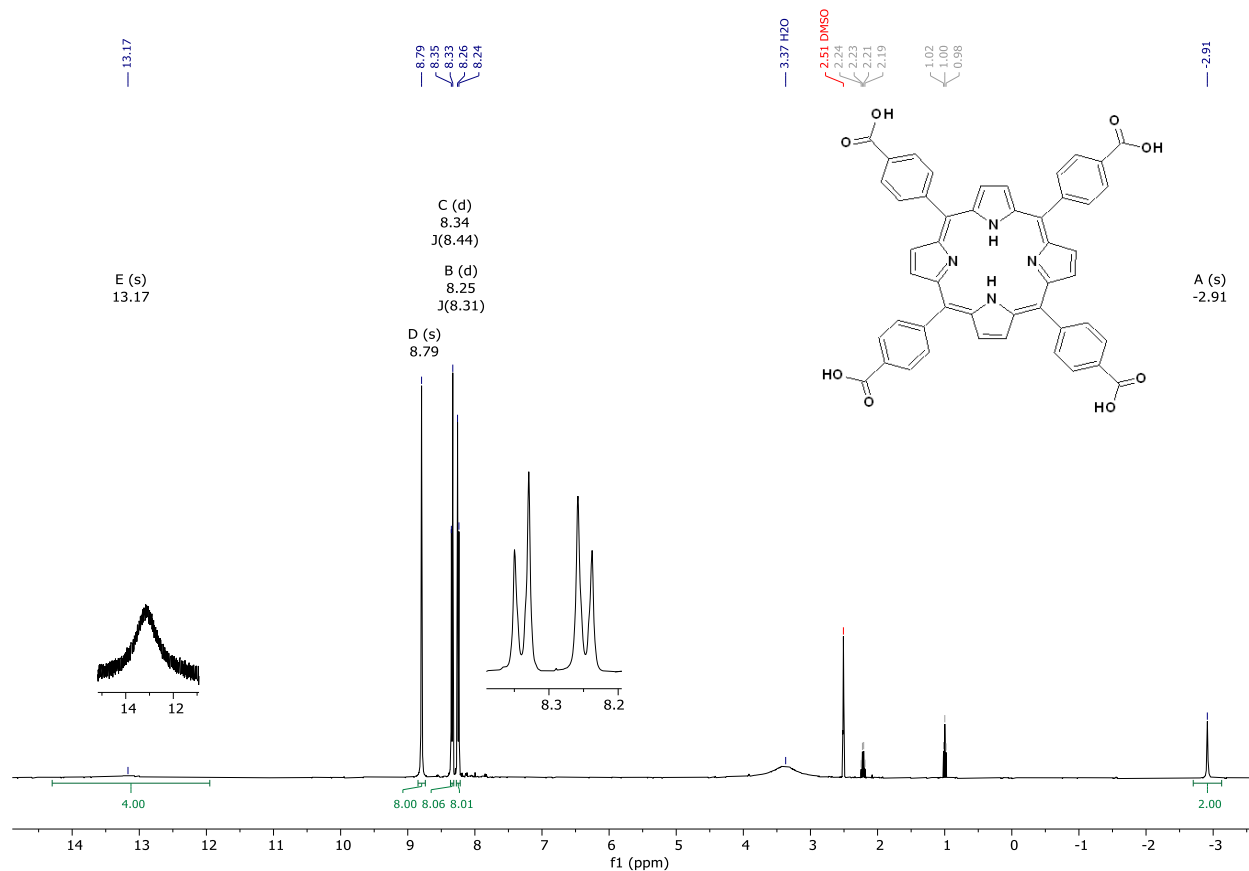
Apéndice 1

Espectro FTIR de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP.



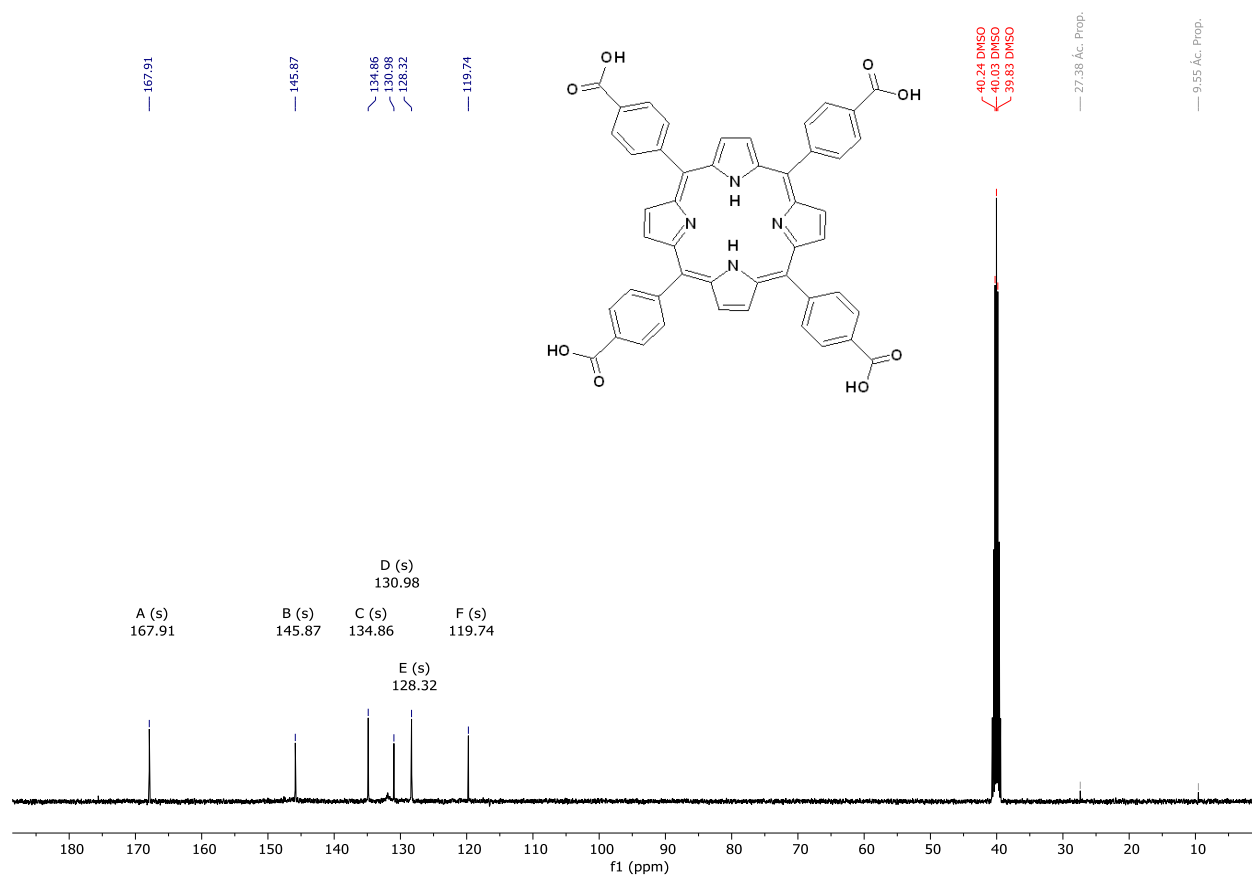
Apéndice 2

Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP.



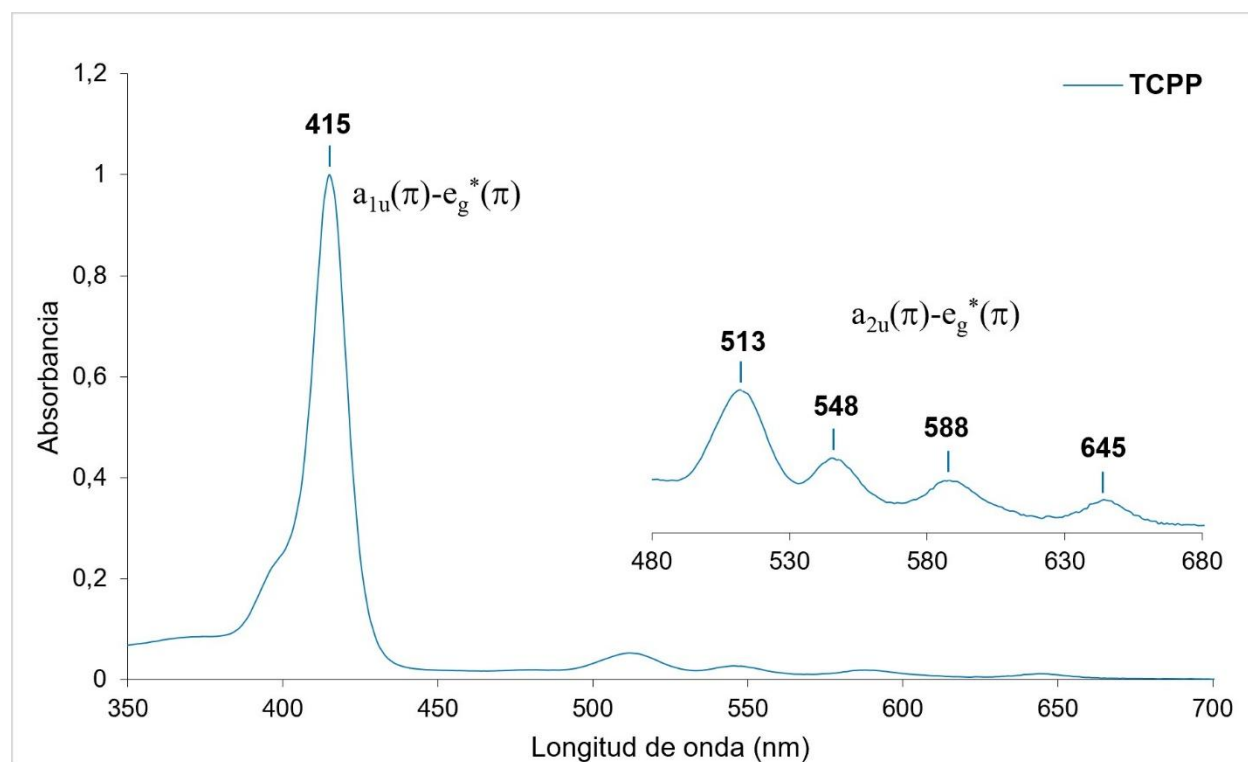
Apéndice 3

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO-d_6) de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP.

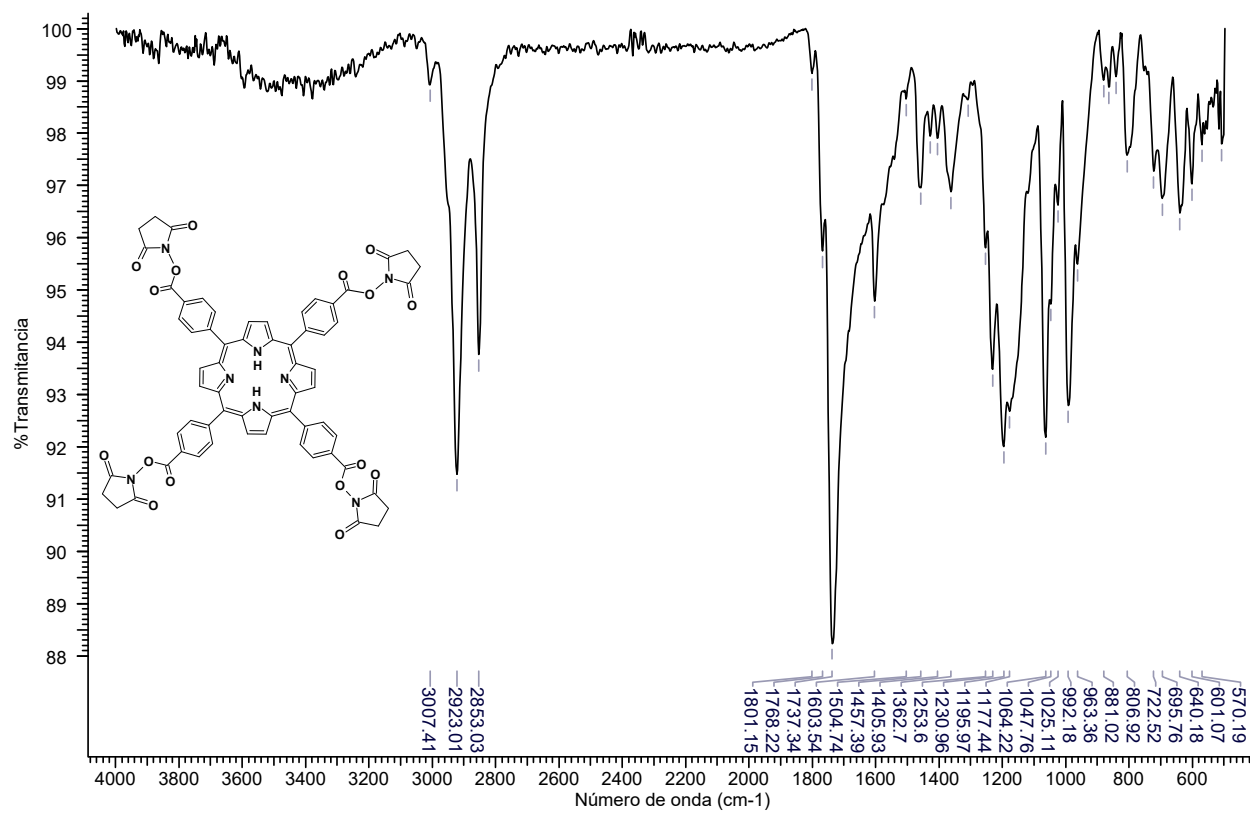


Apéndice 4

Espectro UV-Vis de la 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxifenil)porfirina, TCPP, registrado en metanol ($1 \times 10^{-5} M$).

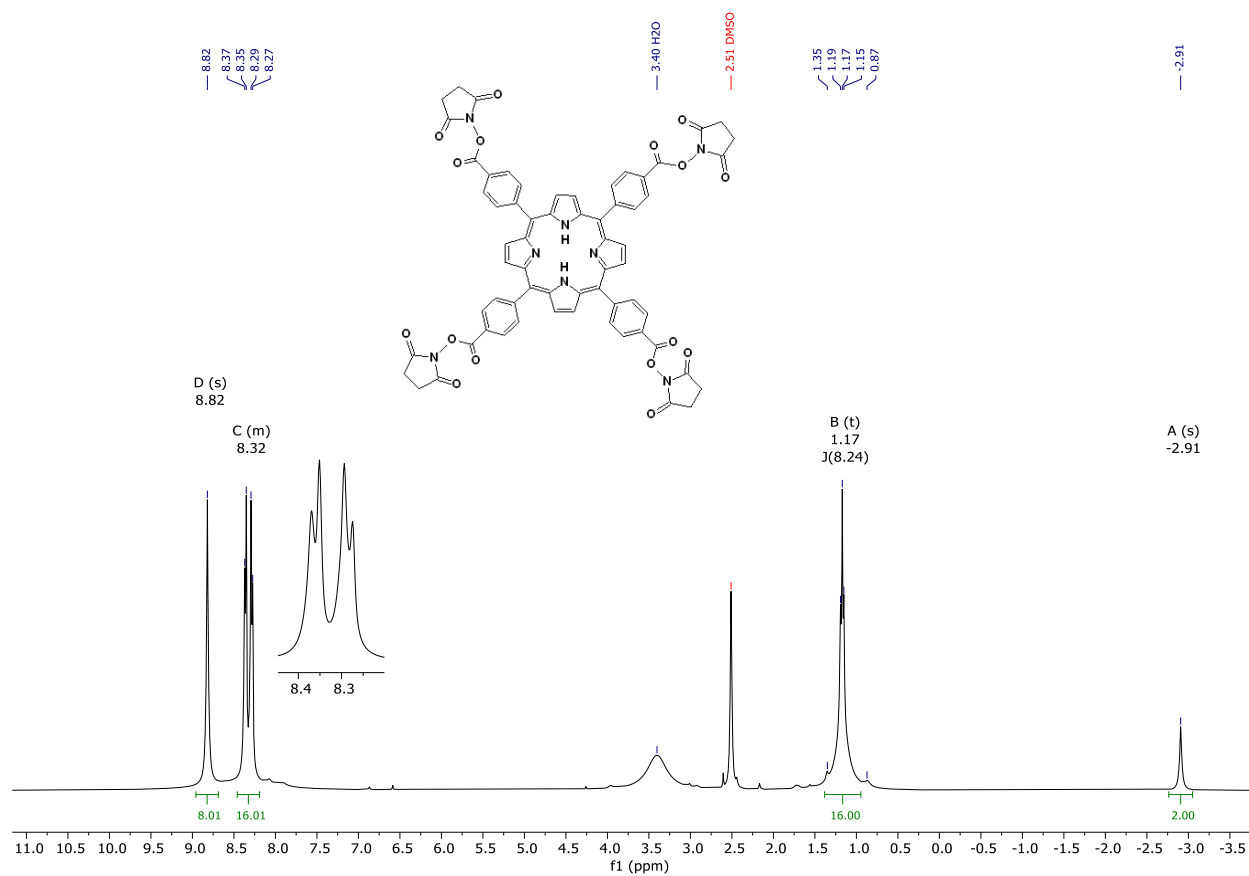


Apéndice 5

Espectro FTIR del derivado porfirínico TCPP-Éster.

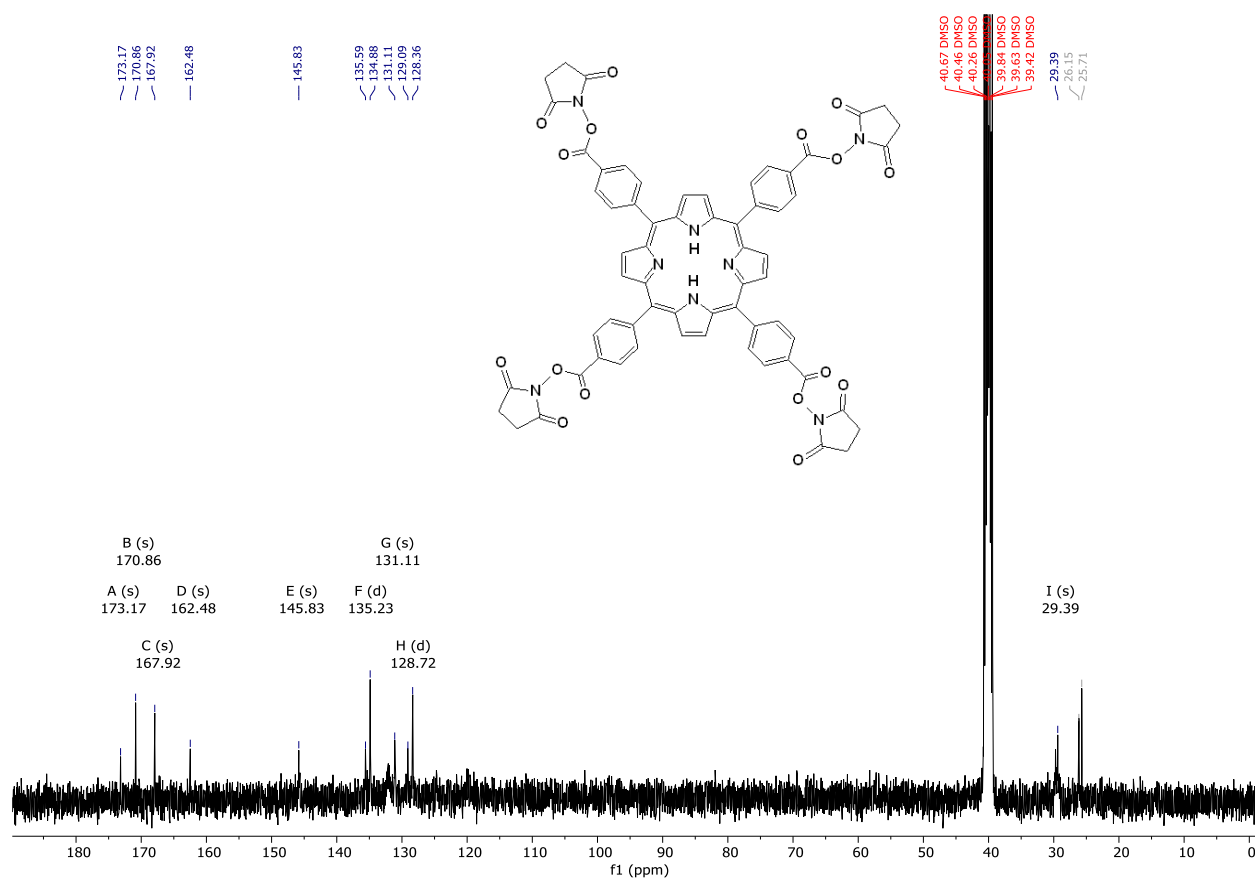
Apéndice 6

Espectro ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



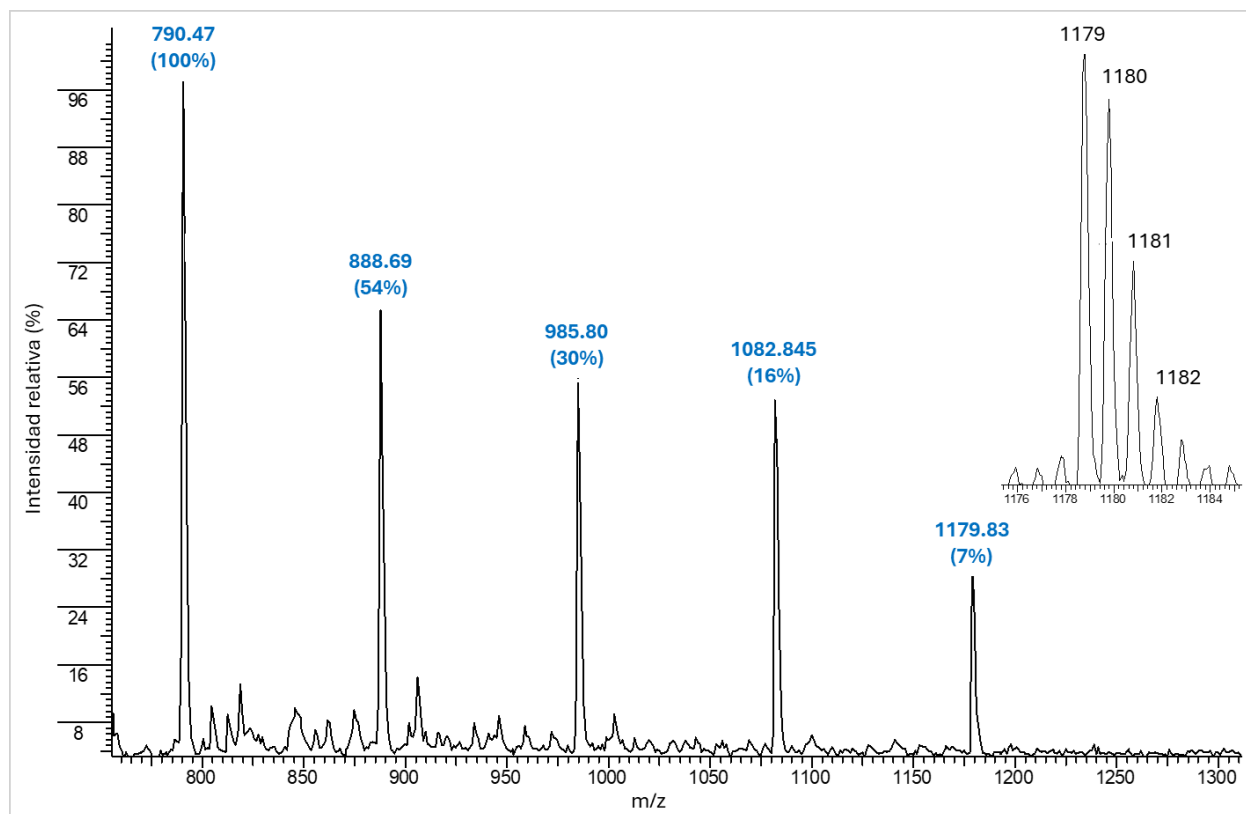
Apéndice 7

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



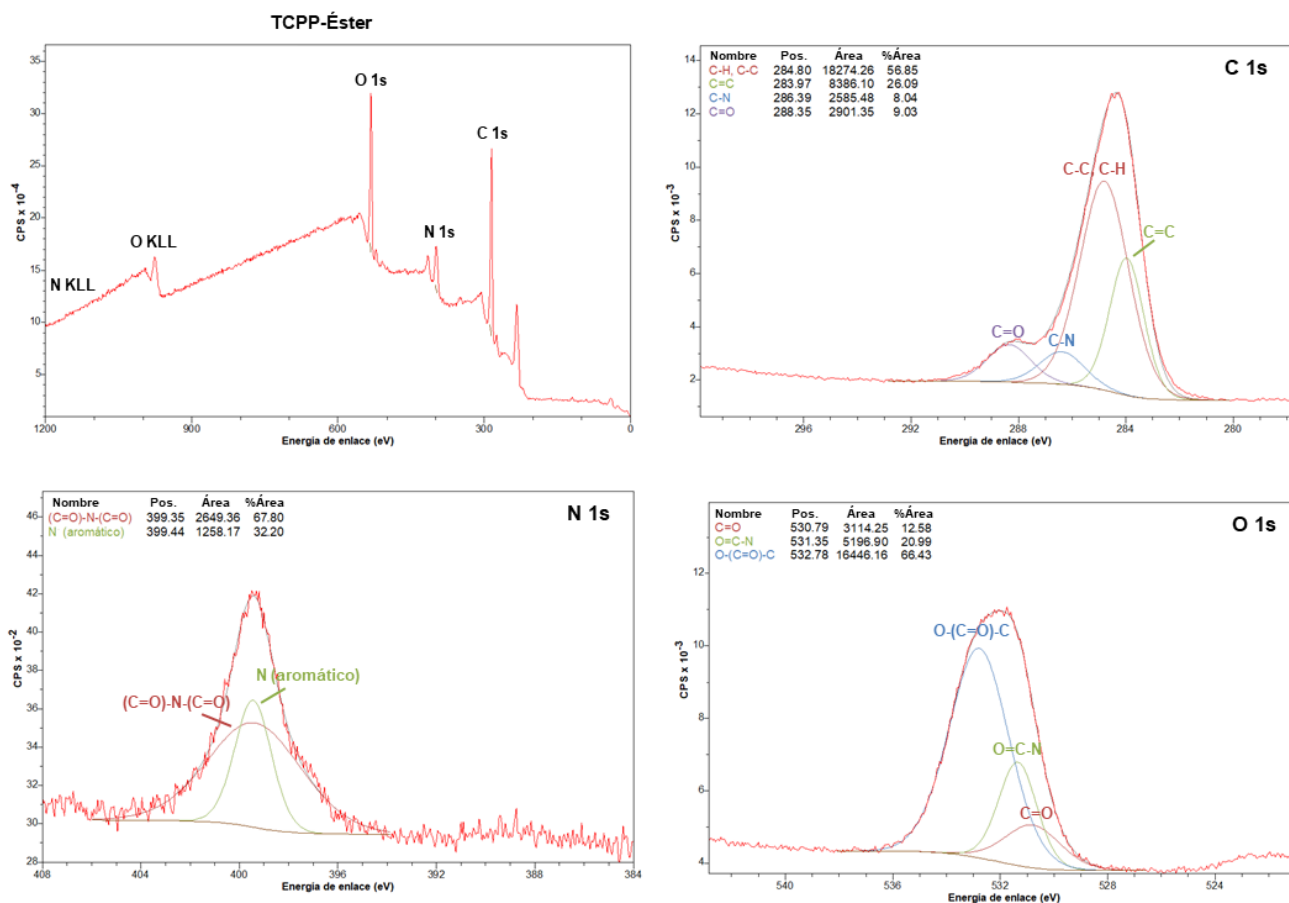
Apéndice 8

Espectro de masas del derivado porfirínico TCPP-Éster registrado en modo positivo en matriz de DHB.



Apéndice 9

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y O 1s del derivado porfirínico TCPP-Éster.



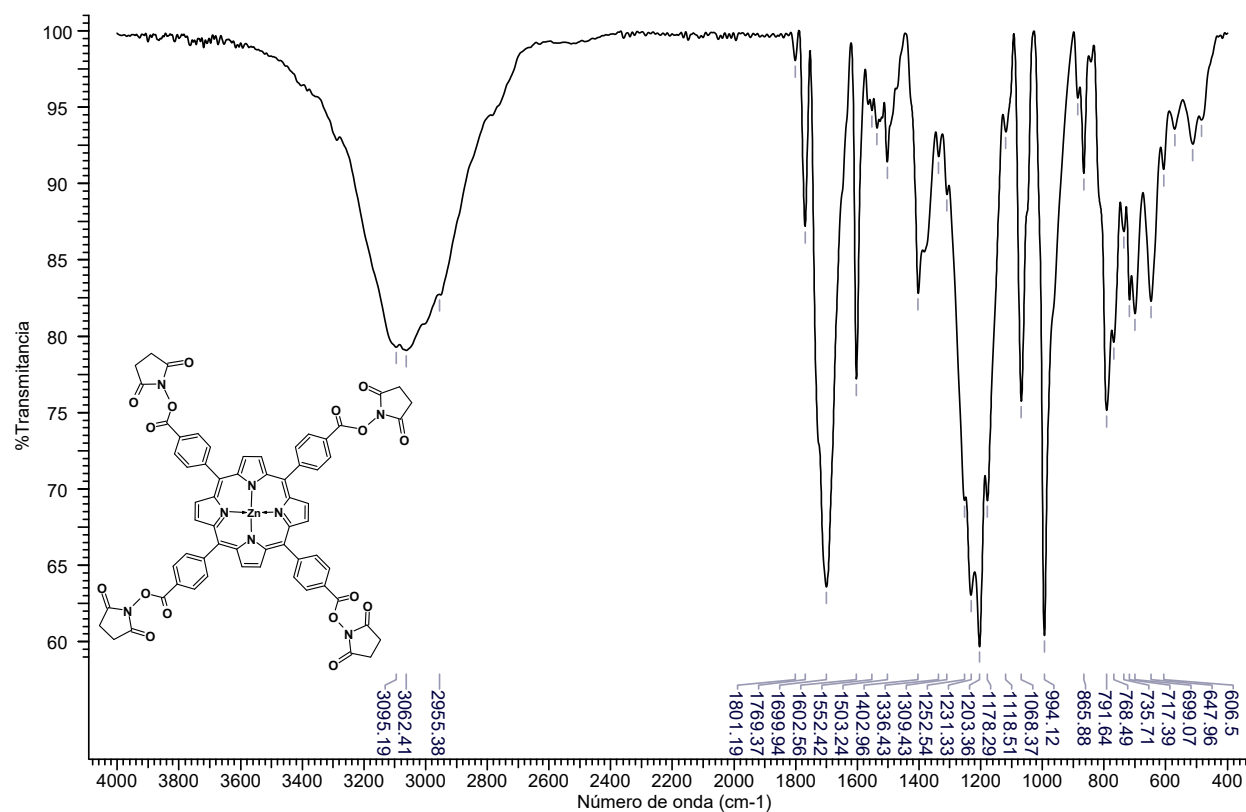
Apéndice 10

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del derivado porfirínico TCPP-Éster.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–H / C–C	284.80	56.85	Carbonos aromáticos/alifáticos del marco fenil-porfirínico.
	C=C (aromático)	285.37	26.09	Anillo aromático conjugado.
	C–N	286.39	8.04	Enlaces C–N pirrólicos / succinimida.
	C=O (éster / imida)	288.35	9.03	Carbonilos activados (N-succinimida).
N 1s	(C=O)–N–(C=O) (imida/éster activ.)	399.35	67.80	N en entorno imídico.
	N aromático (pirrólico)	399.44	32.20	N internos del macrociclo parcialmente protonados.
O 1s	C=O (carbonilo)	530.79	12.58	Carbonilos de TCPP-Éster.
	O–C–N	531.35	20.99	Oxígeno en entorno imida.
	O–(C=O)–C (éster)	532.78	66.43	Funciones éster periféricas sin coordinar.

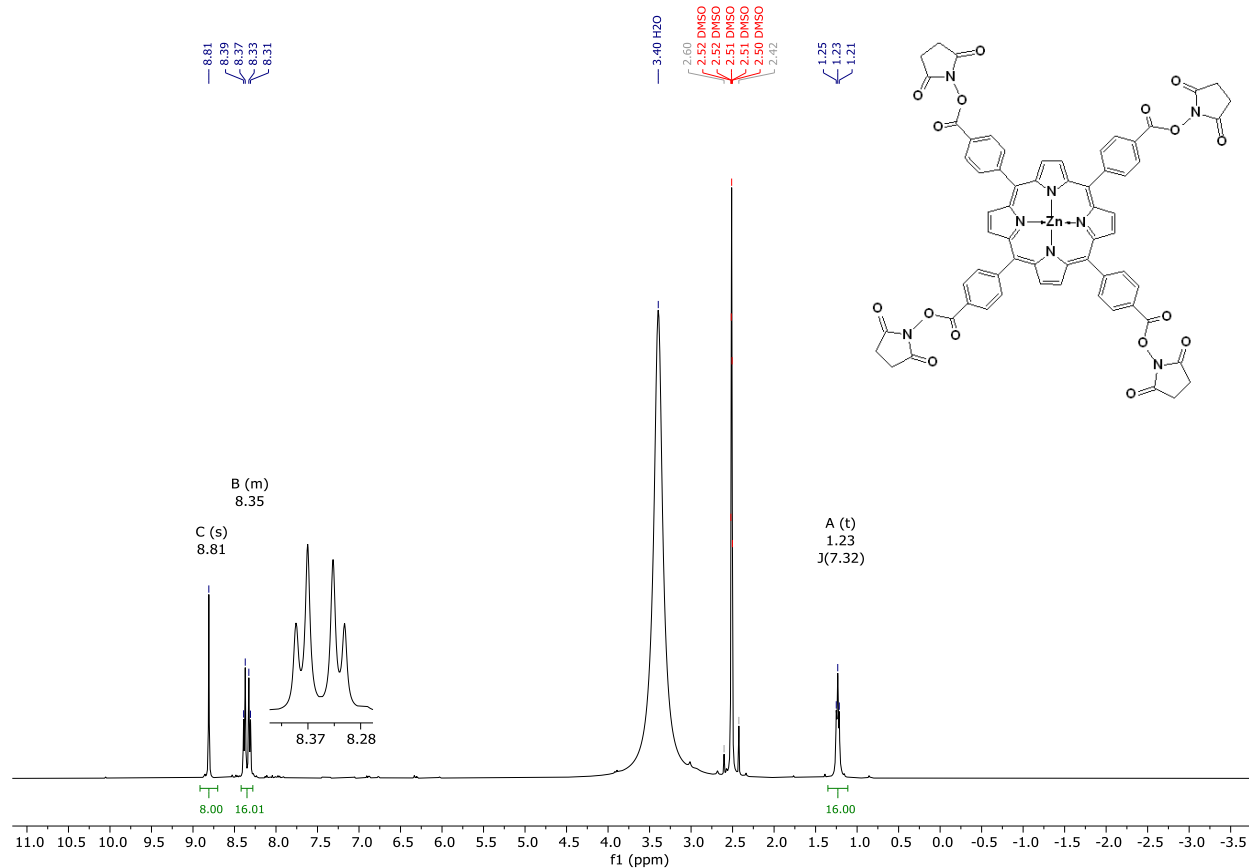
Apéndice 11

Espectro FTIR del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



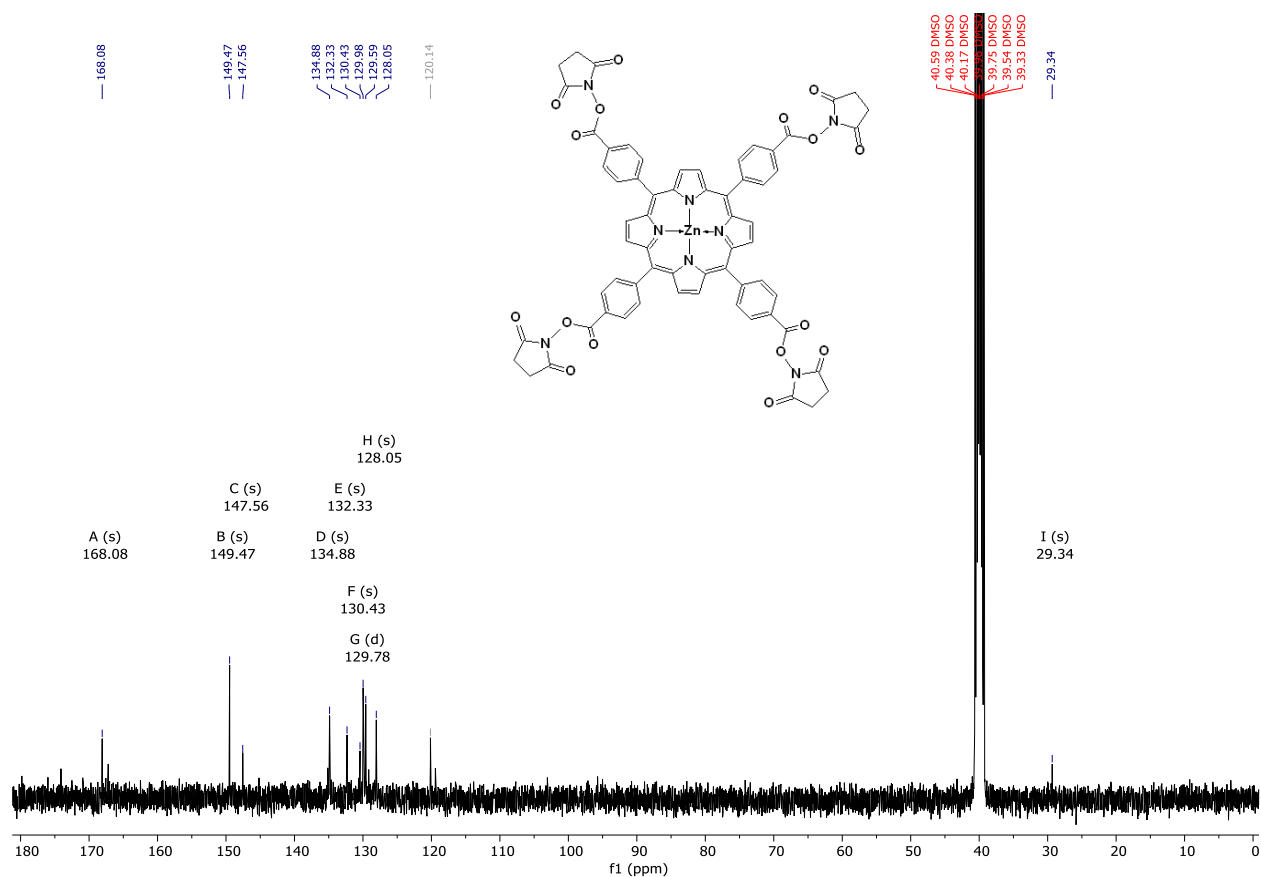
Apéndice 12

Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



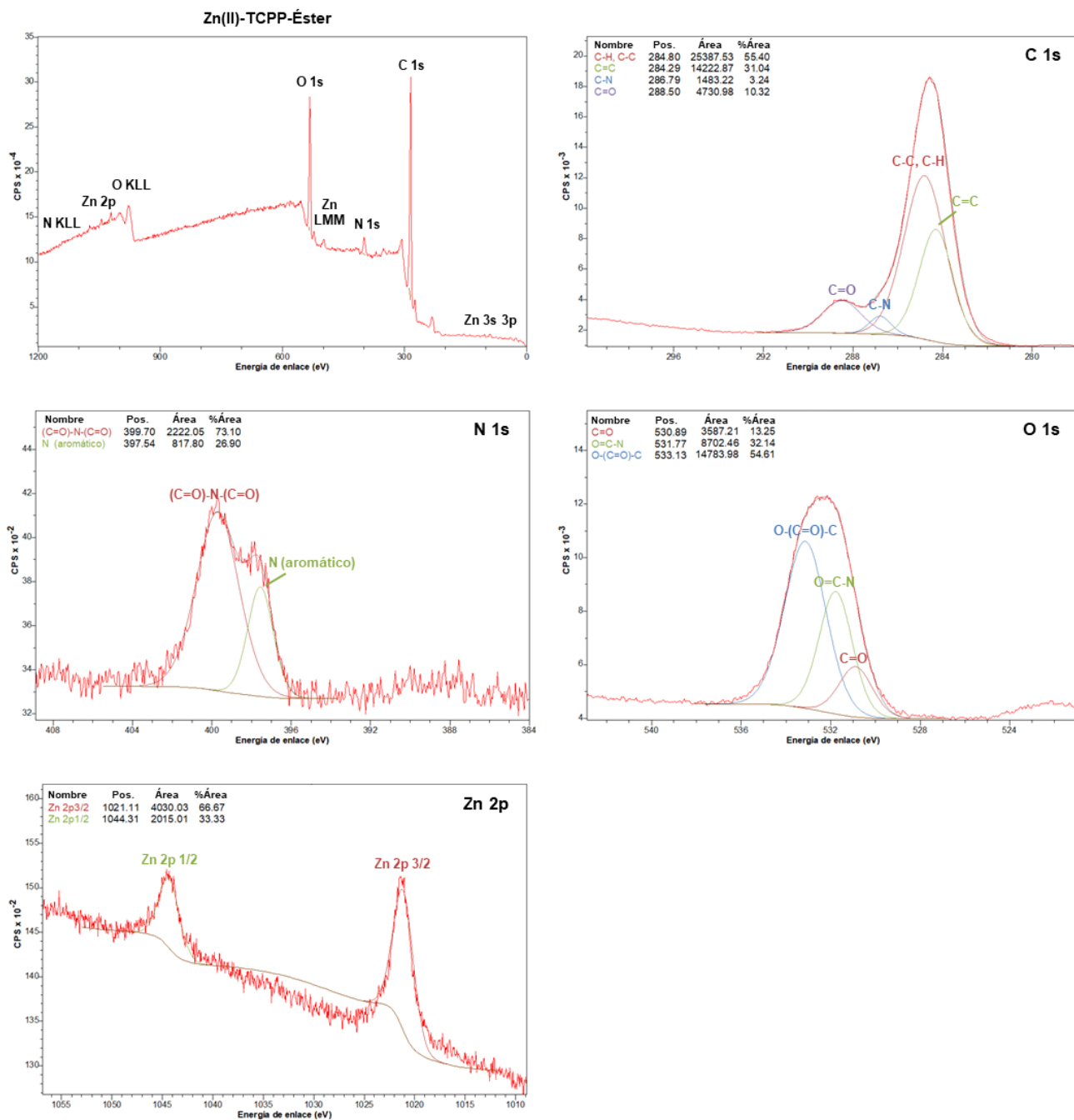
Apéndice 13

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



Apéndice 14

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y Zn 2p del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



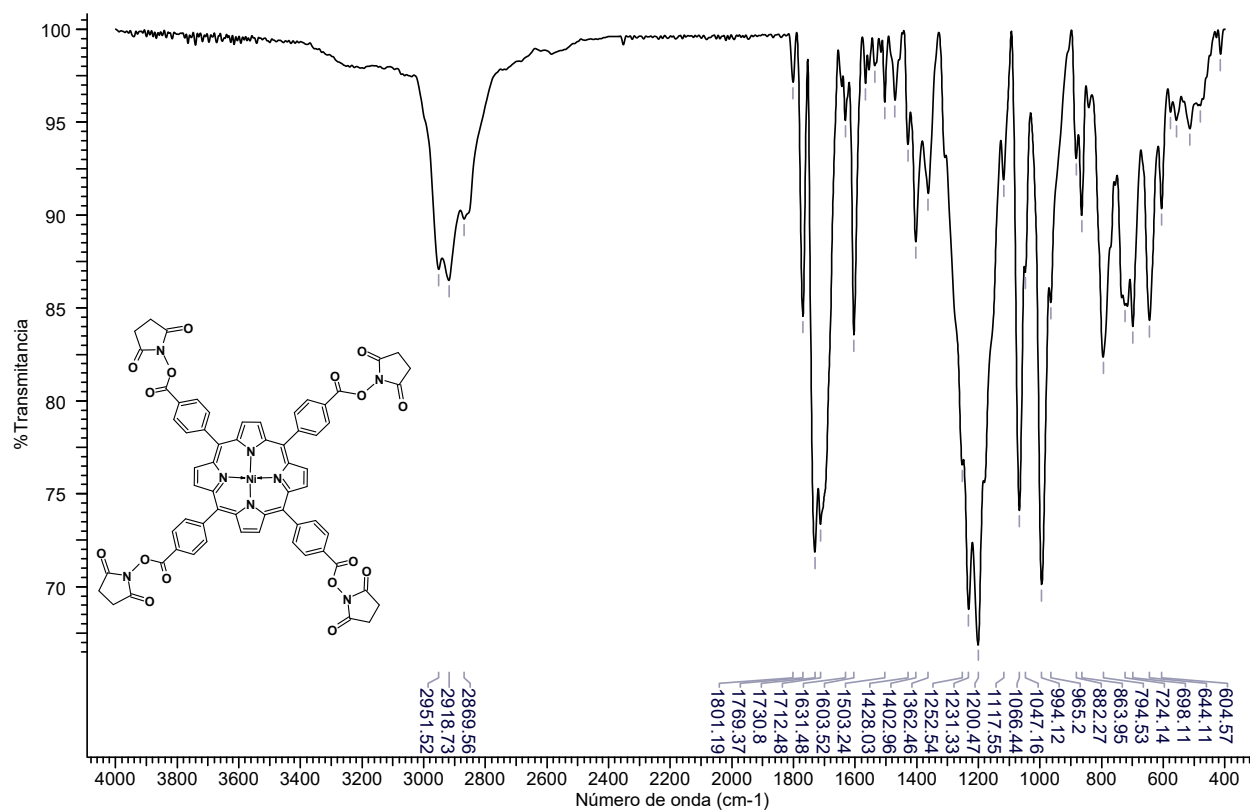
Apéndice 15

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–H / C–C	284.80	51.04	Estructura orgánica conservada.
	C=C	285.29	29.41	Sistema aromático conjugado.
	C–N	286.78	15.31	Mayor contribución C–N tras coordinar Zn(II).
	C=O	288.59	10.32	Carbonilos de éster/imida.
N 1s	(C=O)–N–(C=O)	399.70	73.10	Entorno imídico dominante.
	N aromático	399.54	26.90	N porfirínicos coordinados a Zn(II).
O 1s	C=O	530.89	13.25	Ligero ajuste por redistribución electrónica.
	O–C–N	531.77	22.41	Oxígeno en entorno imídico.
	O–(C=O)–C	533.13	54.61	Ésteres periféricos sin coordinar.
Zn 2p	Zn 2p _{3/2}	1021.11	66.67	Zn(II) coordinado al núcleo porfirínico.
	Zn 2p _{1/2}	1044.21	33.33	Doble espín-órbita característico.

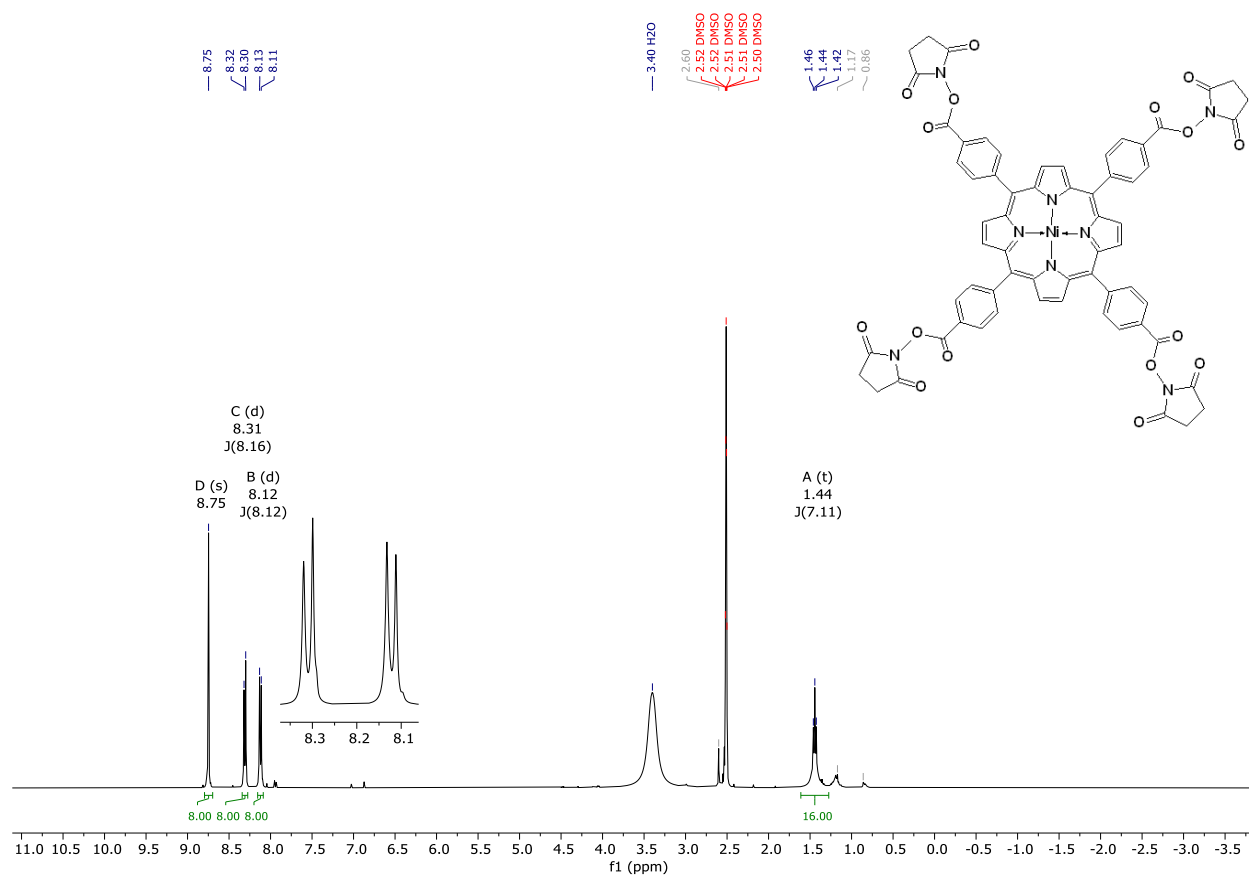
Apéndice 16

Espectro FTIR del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



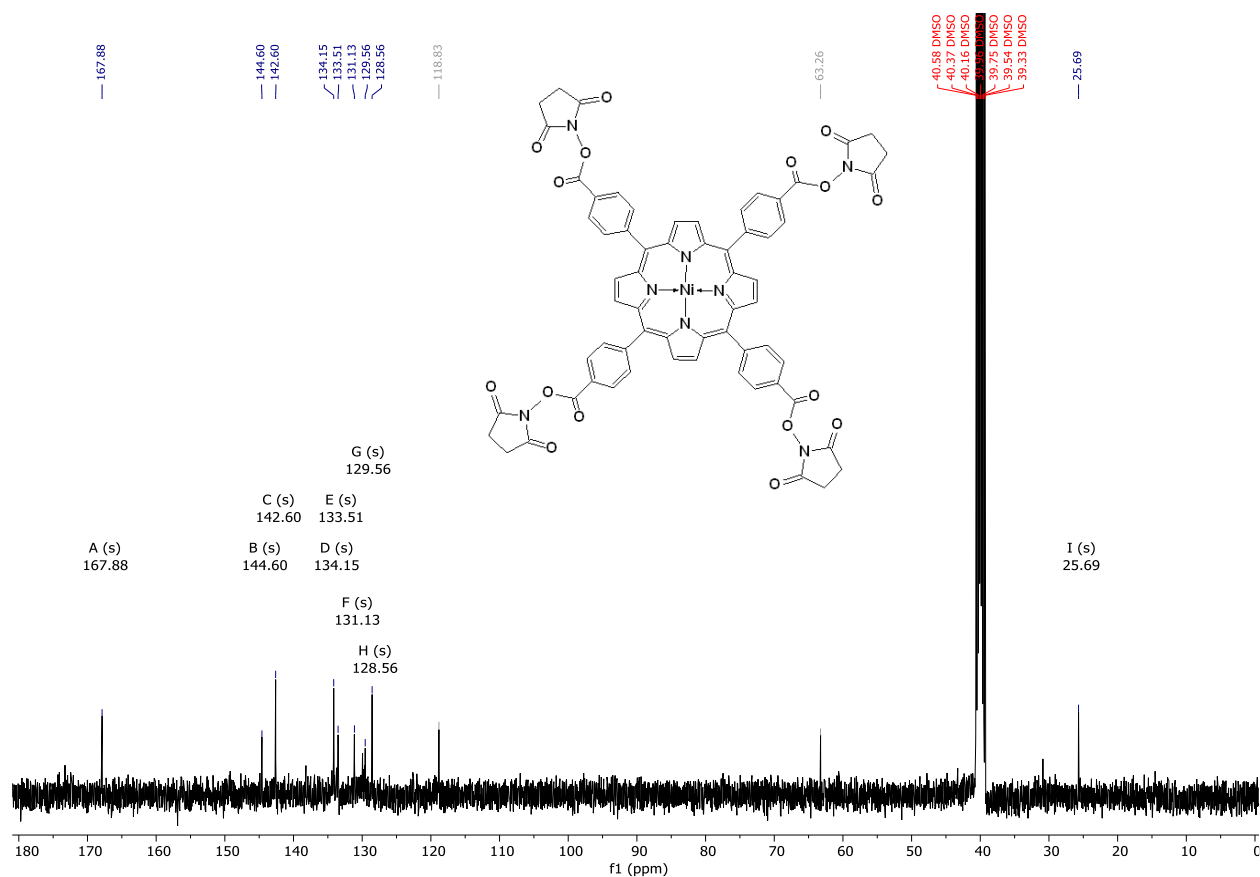
Apéndice 17

Espectro ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



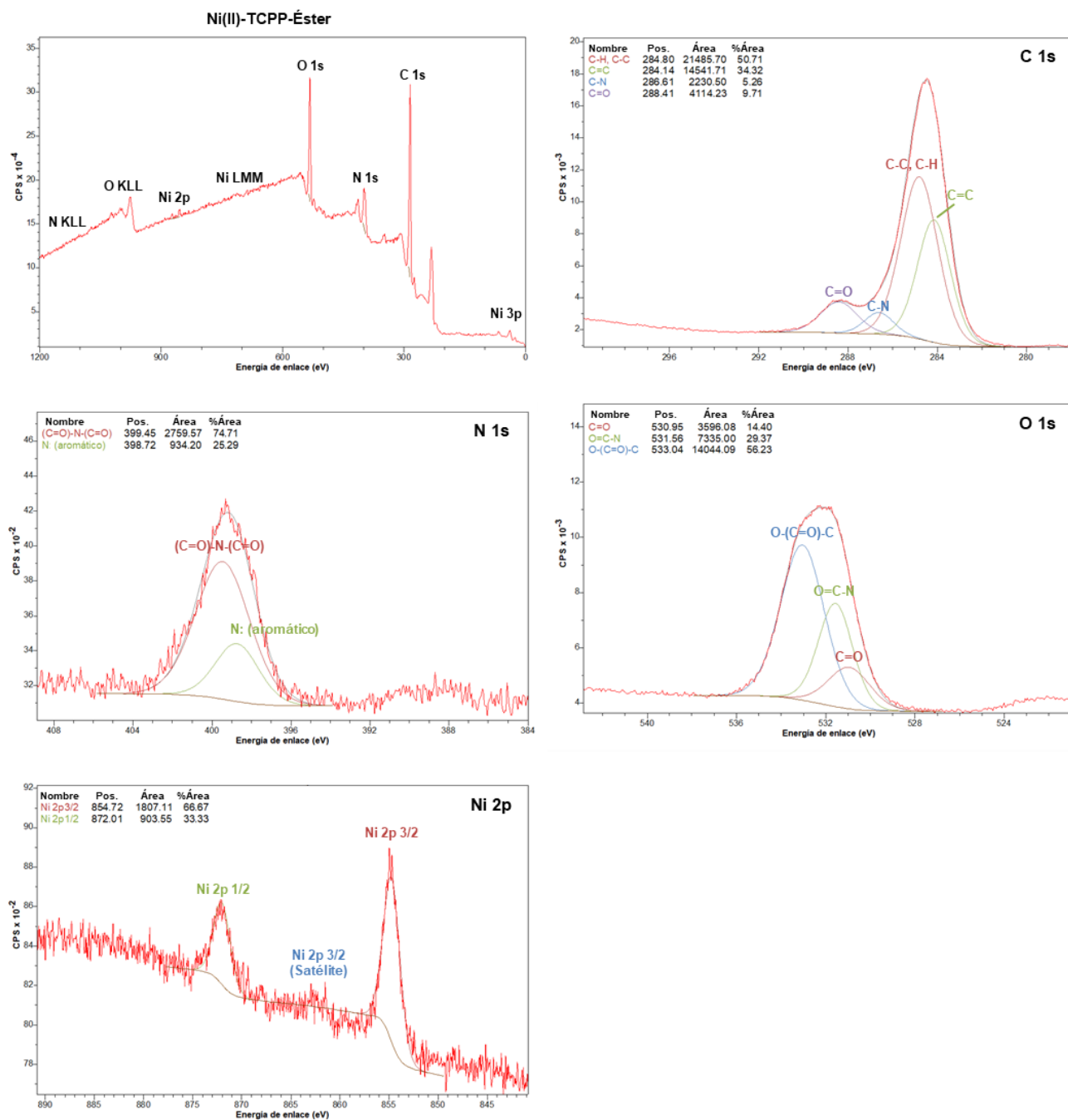
Apéndice 18

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



Apéndice 19

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y Ni 2p del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



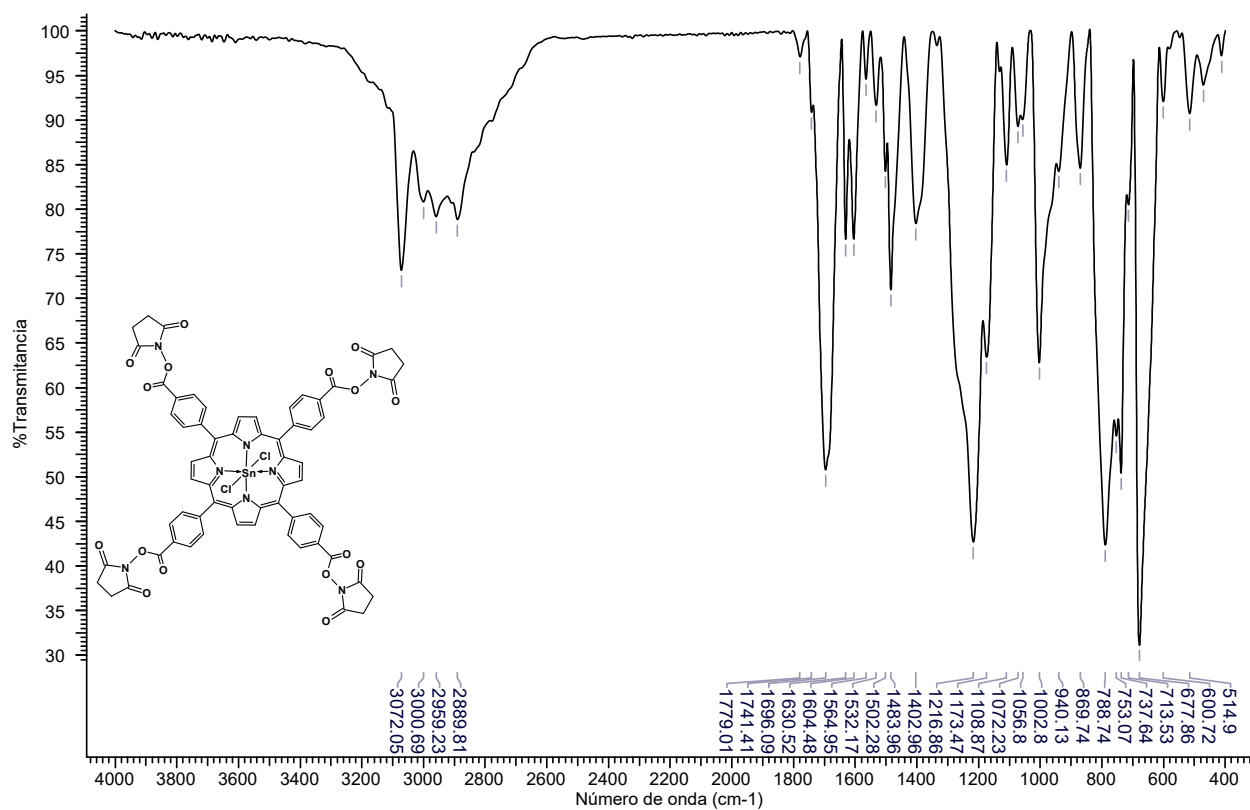
Apéndice 20

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-Éster.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–H / C–C	284.84	50.77	Marco aromático conservado.
	C=C	285.14	31.32	Conjugación π extendida.
	C–N	286.41	7.52	Contribución C–N pirrólica.
	C=O	288.41	9.71	Carbonilos de éster/imida.
N 1s	(C=O)–N–(C=O)	399.45	74.71	N imídico dominante.
	N aromático	398.72	25.29	N porfirínico coordinado a Ni(II).
O 1s	C=O	530.95	14.40	Carbonilos moderadamente afectados.
	O–C–N	531.36	18.37	Imida.
	O–(C=O)–C	533.04	68.23	Ésteres periféricos.
Ni 2p	Ni 2p _{3/2}	854.52	66.67	Ni(II)–N; satélite ≈ 861 eV.
	Ni 2p _{1/2}	872.01	33.33	Par espín-órbita típico d ⁸ .

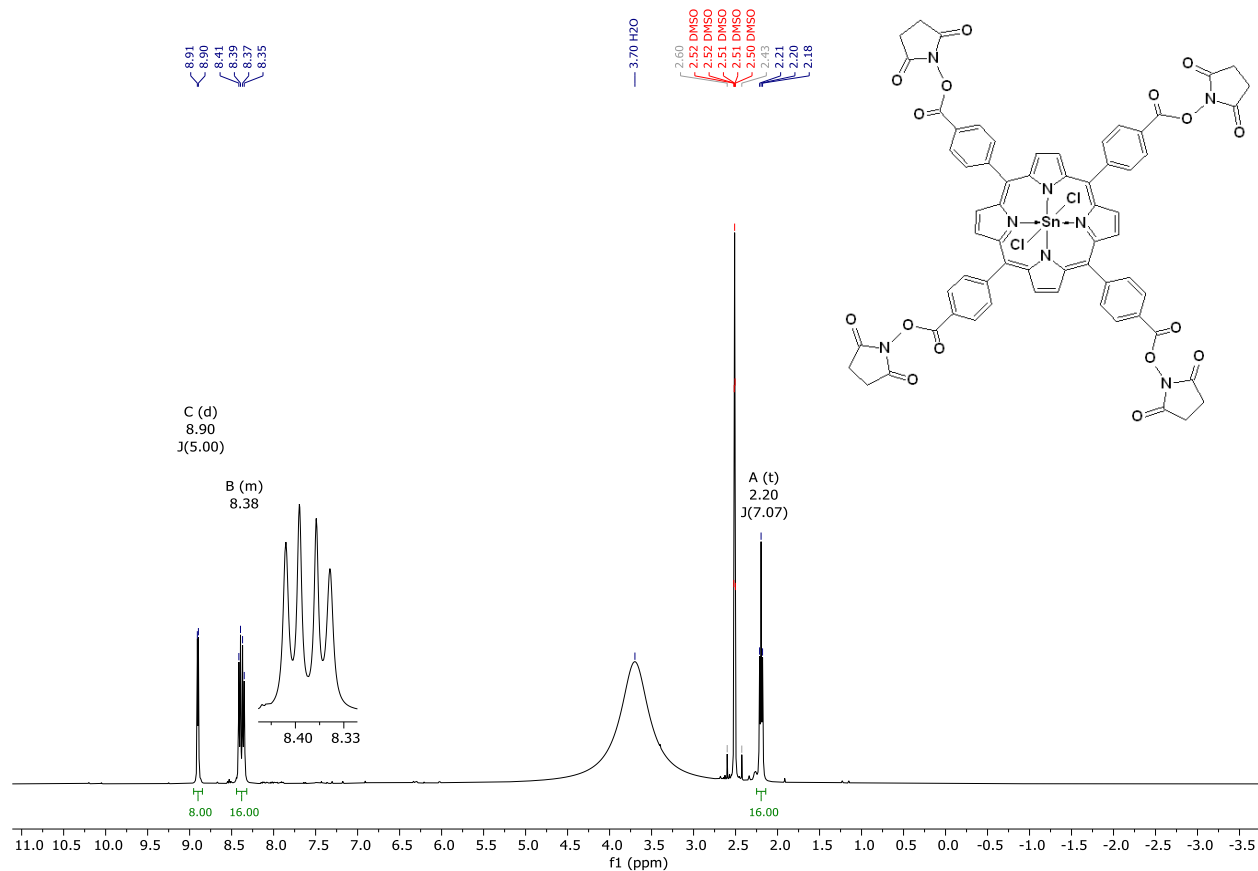
Apéndice 21

Espectro FTIR del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



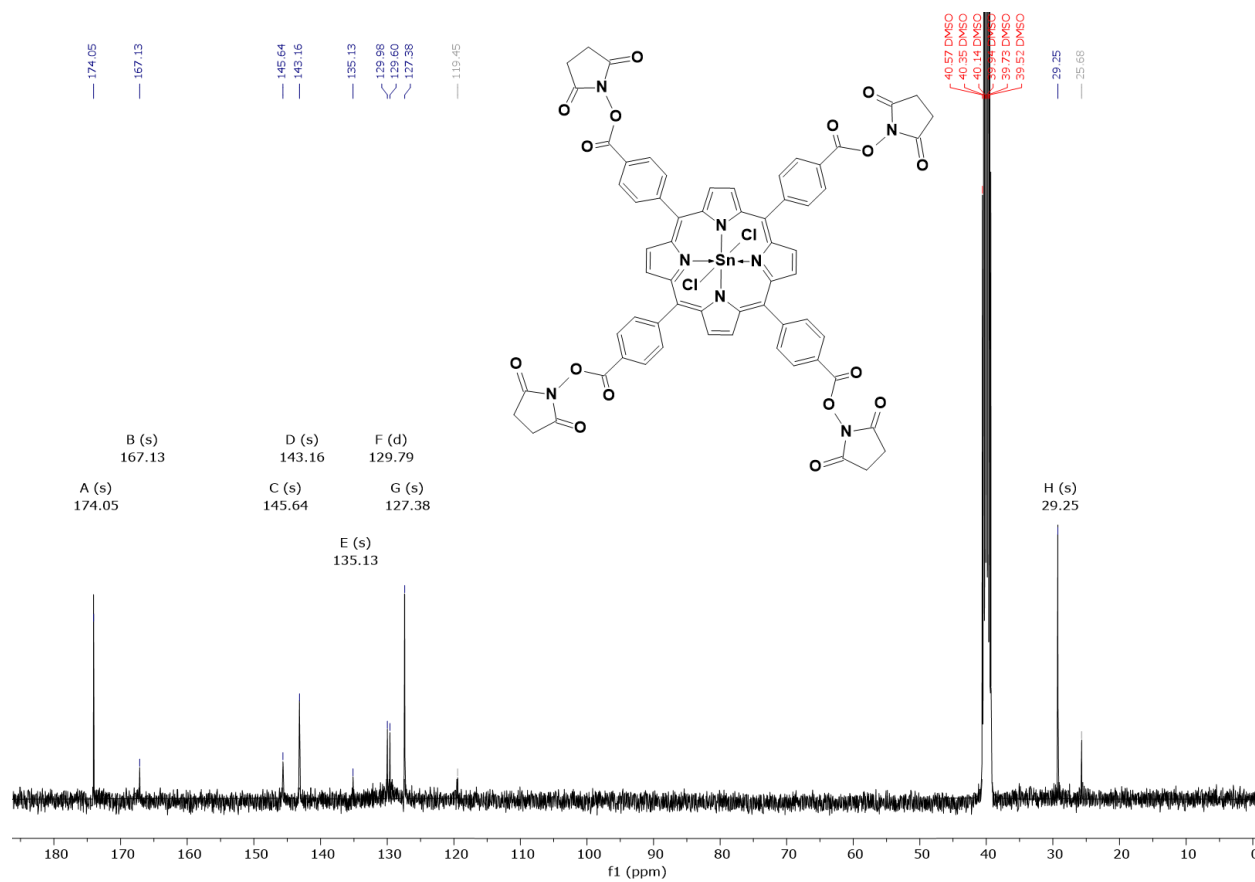
Apéndice 22

Espectro ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



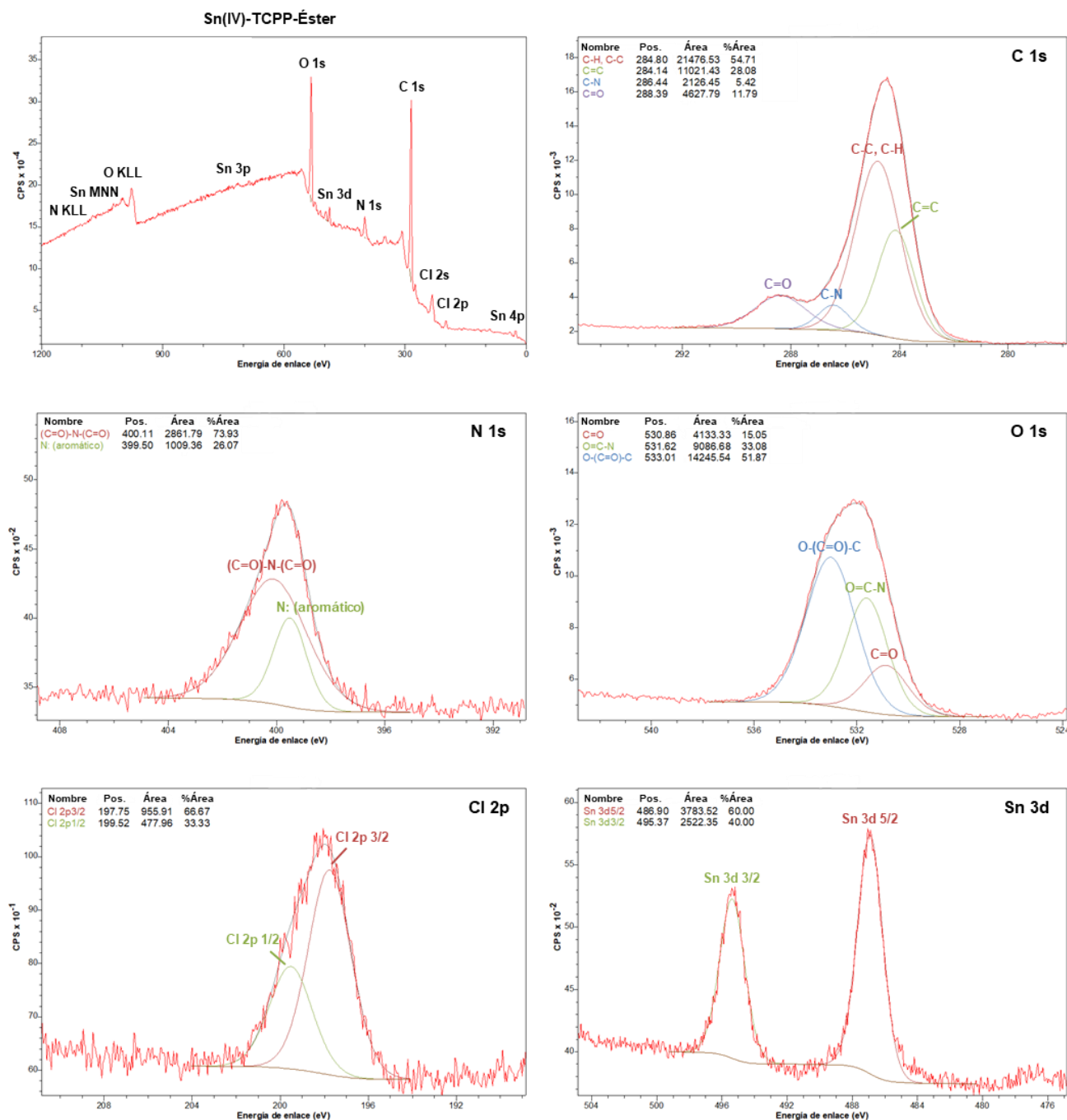
Apéndice 23

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



Apéndice 24

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s, Cl 2p y Sn 3d del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.



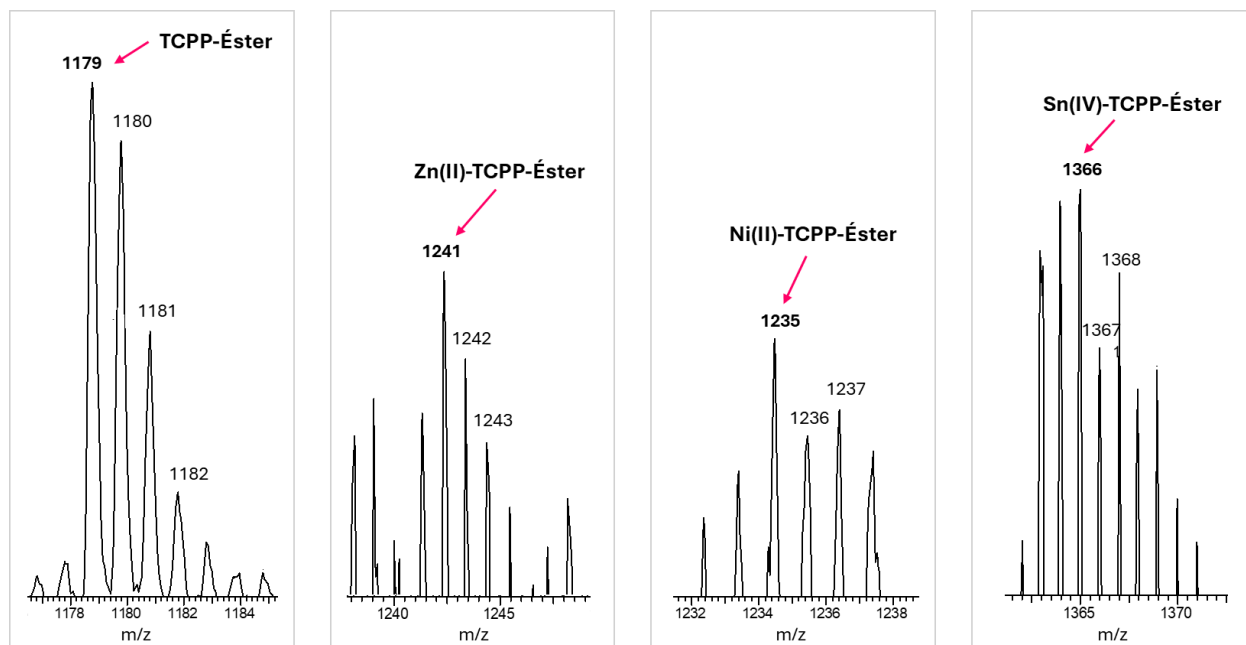
Apéndice 25

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-Éster.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–H / C–C	284.84	47.71	Aromaticidad preservada.
	C=C	285.14	26.28	Sistema del anillo.
	C–N	286.41	15.22	Entornos C–N más numerosos.
	C=O	288.39	11.79	Carbonilos periféricos.
N 1s	(C=O)–N–(C=O)	400.11	73.93	N imídico ligeramente despatallado.
	N aromático	399.50	26.07	N porfirínicos coordinados a Sn(IV).
O 1s	O–(C=O)–C	530.89	15.06	Carbonilos asociados a Sn–O/Sn–Cl.
	O–C–N	531.26	8.06	Oxígeno en entorno amida/imida.
	C=O	533.01	51.67	Oxígeno más deslocalizado / adsorbato.
Sn 3d	Sn 3d _{5/2}	486.59	60.00	Sn(IV) coordinado axialmente.
	Sn 3d _{3/2}	495.97	40.00	Separación espín-órbita típica.
Cl 2p	Cl 2p _{3/2}	198.55	66.67	Ligandos axiales Cl [–] .
	Cl 2p _{1/2}	199.52	33.33	—

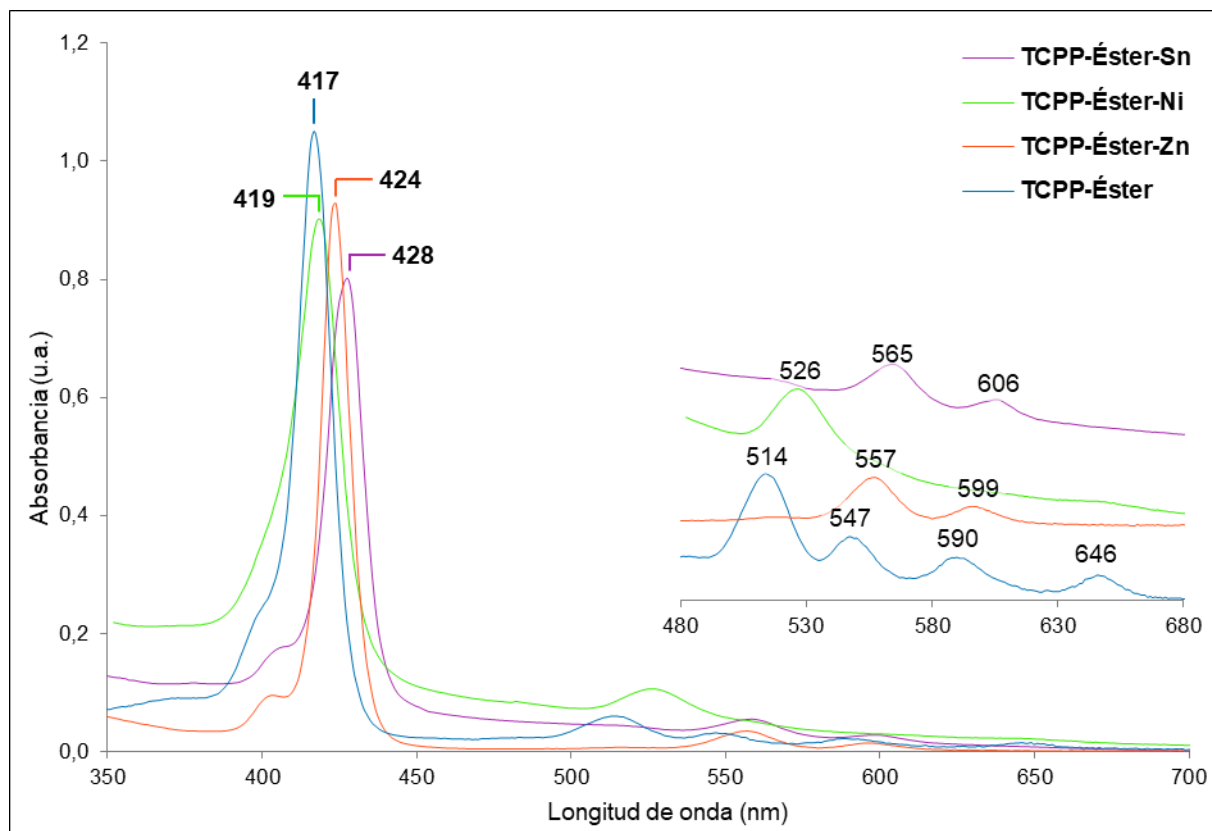
Apéndice 26

Espectros de masas del derivado porfirínico TCPP-Éster y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) registrados en modo positivo en matriz de CHCA y DHB.



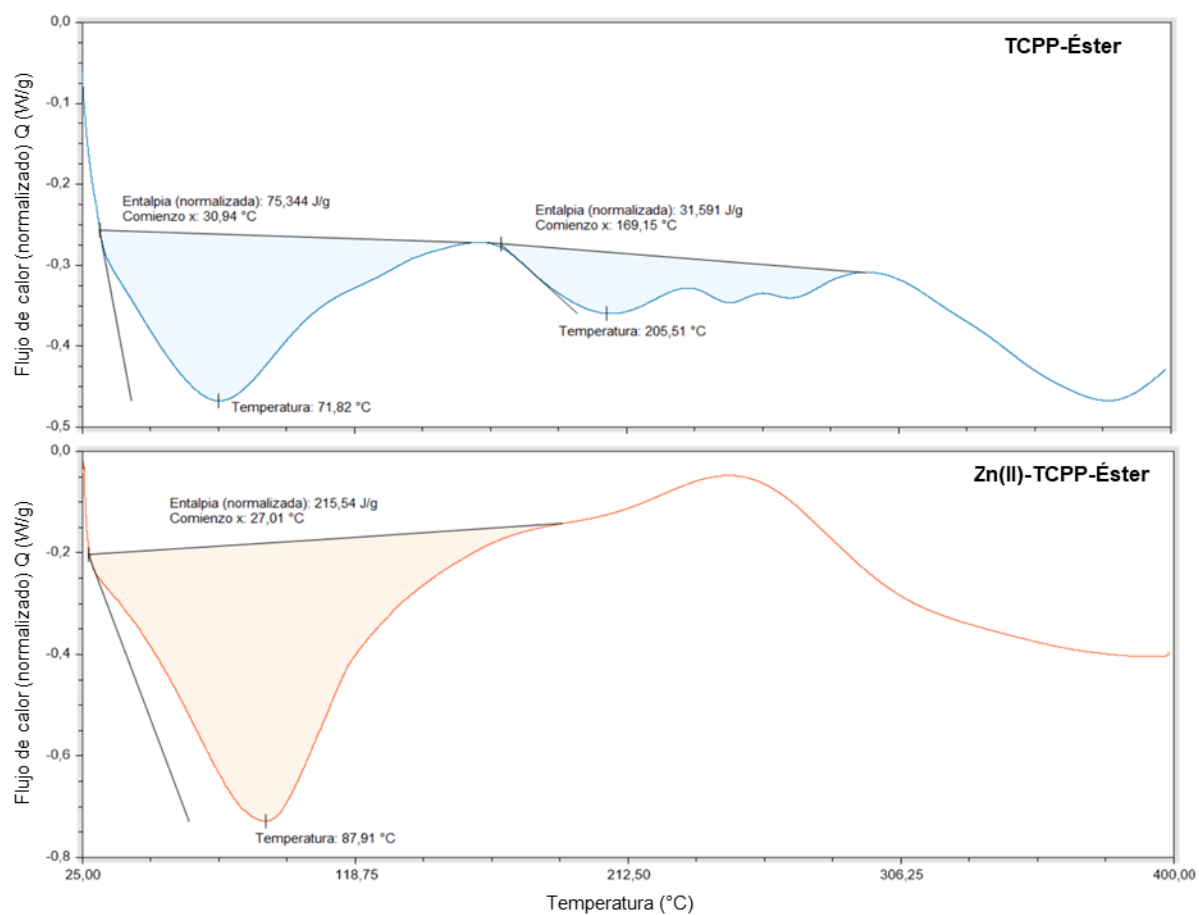
Apéndice 27

Espectros UV-Vis del derivado porfirínico TCPP-Éster y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), registrados en metanol (1×10^{-5} M).



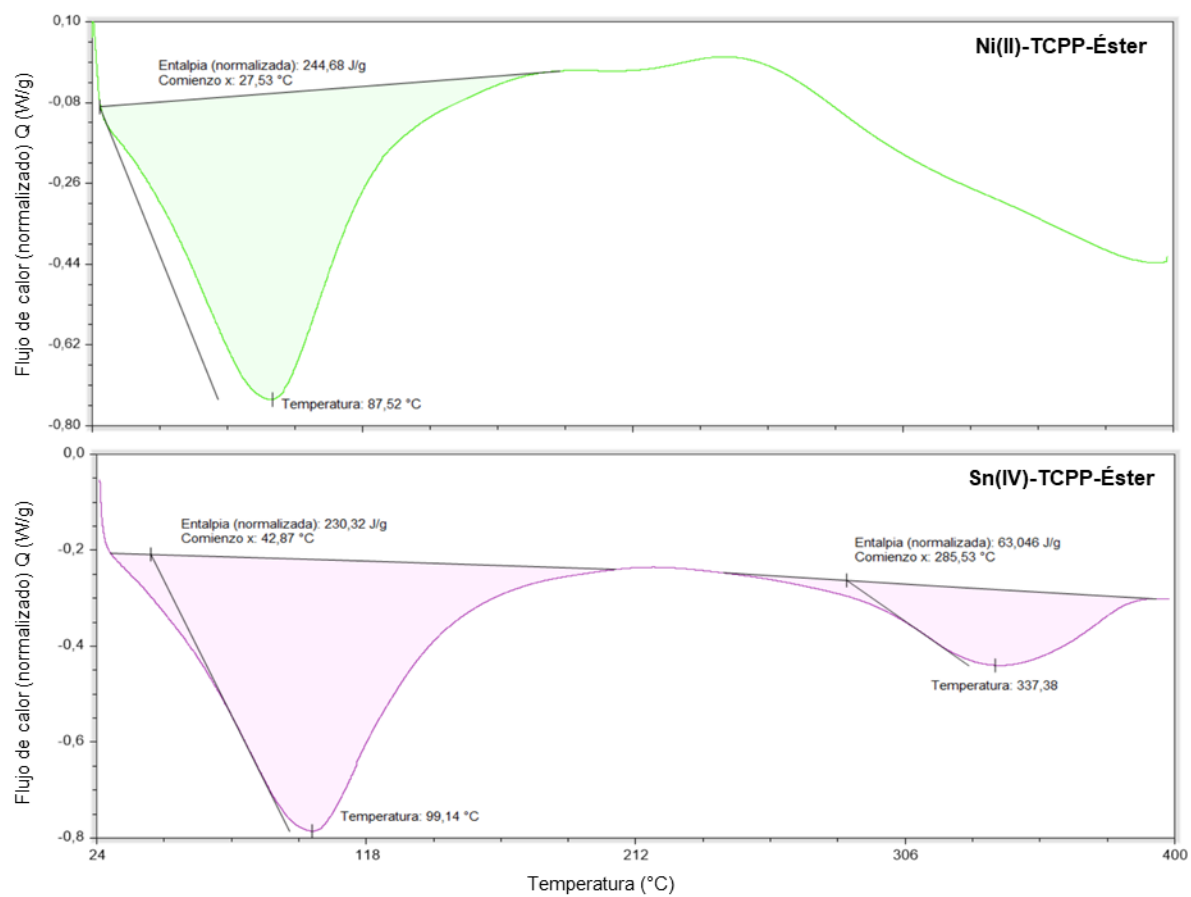
Apéndice 28

Curvas DSC del TCPP-Éster y el complejo metálico con Zn(II).



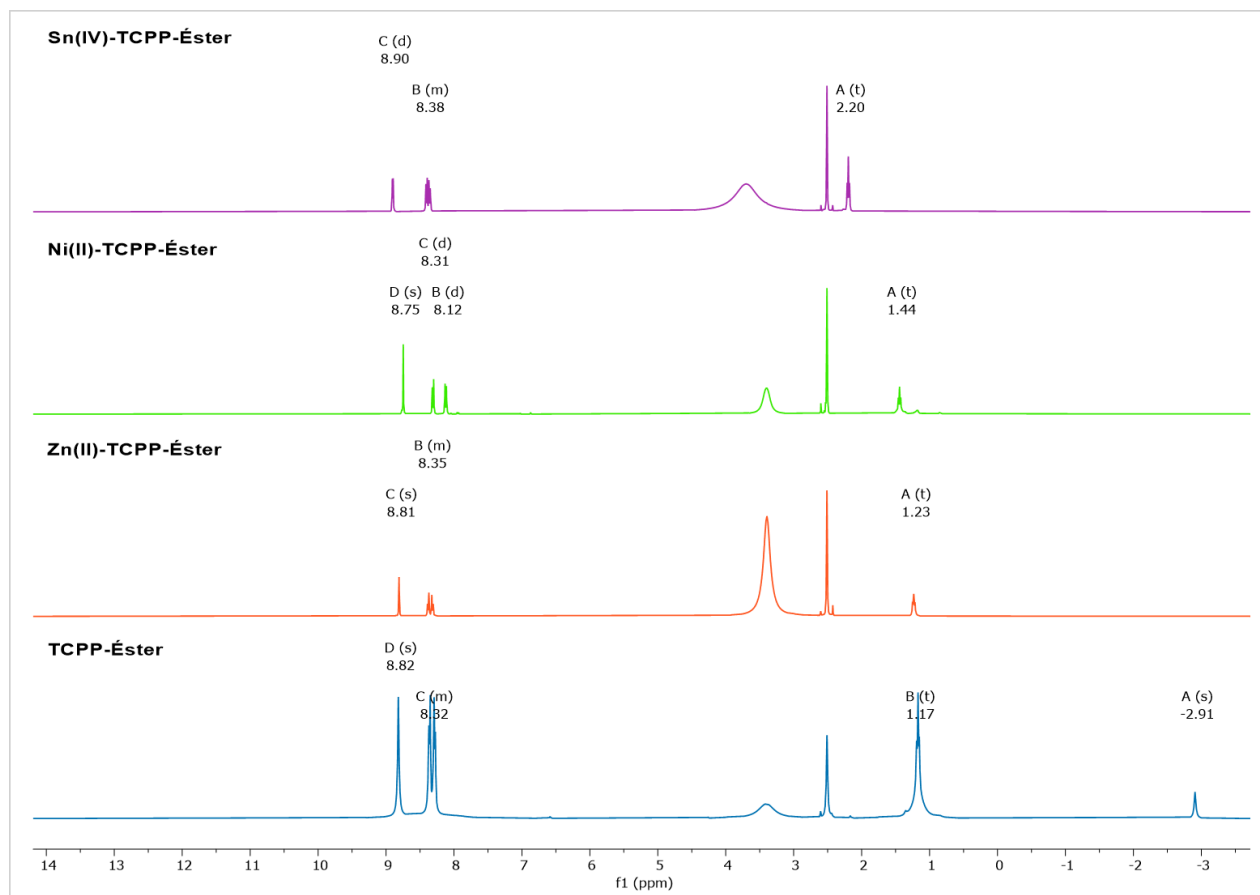
Apéndice 29

Curvas DSC de los complejos metálicos con Ni(II) y Sn(IV) del derivado TCPP-Éster.

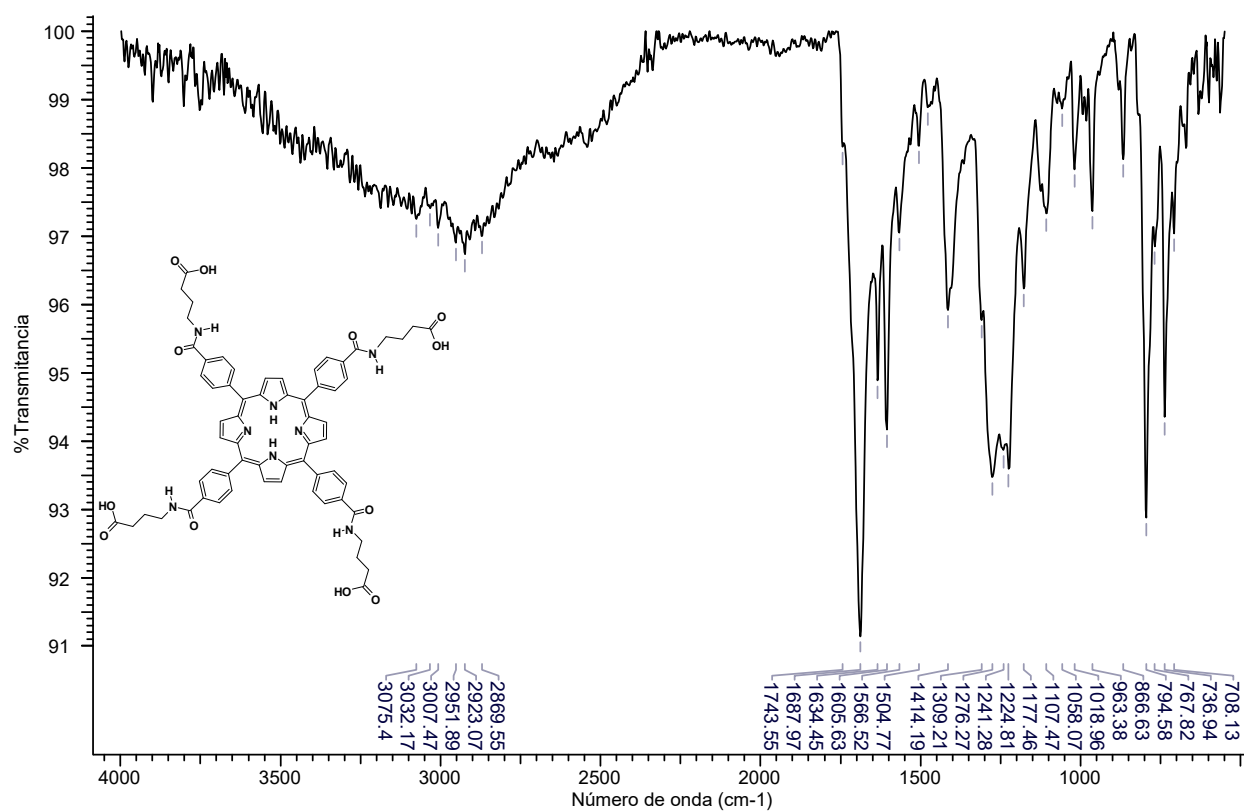


Apéndice 30

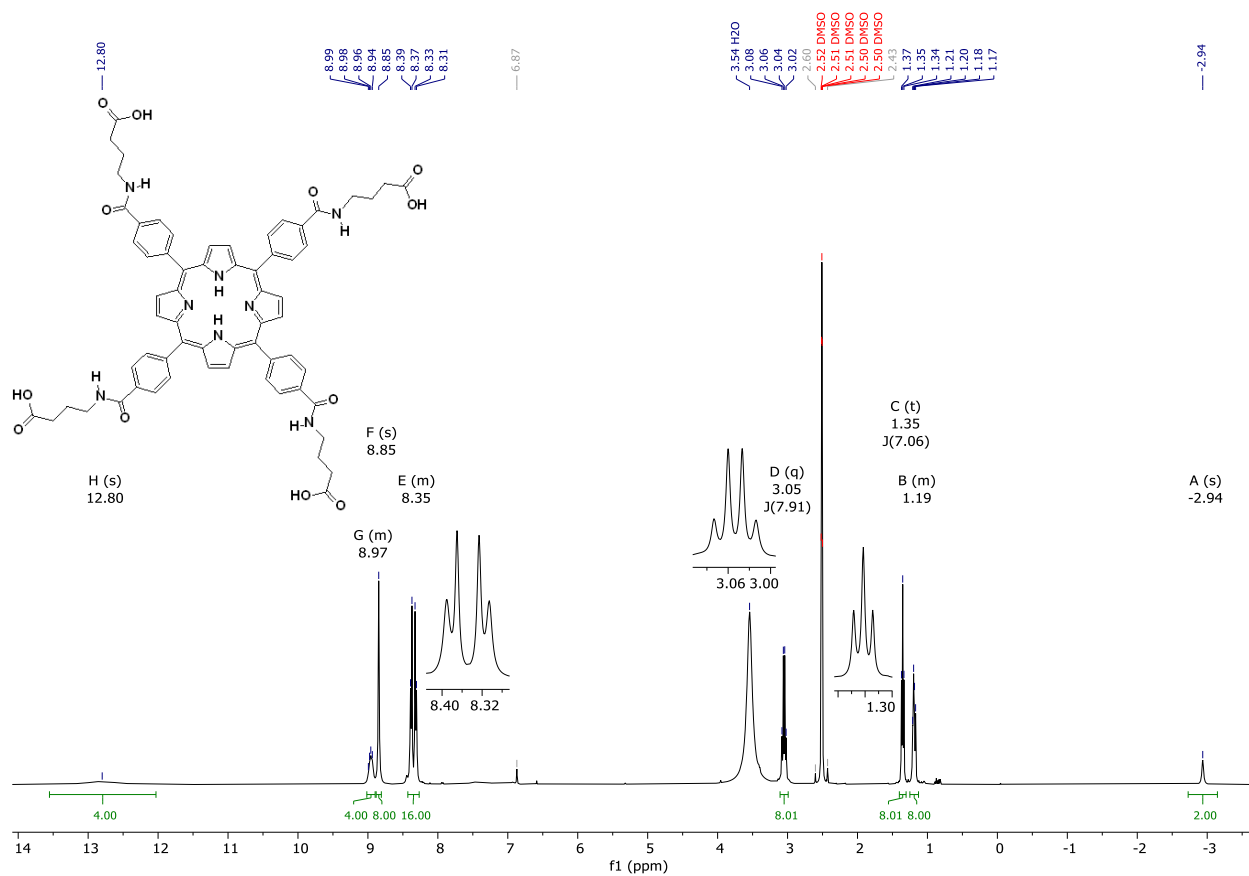
Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del derivado porfirínico TCPP-Éster y sus complejos metálicos de Zn(II) , Ni(II) y Sn(IV) .



Apéndice 31

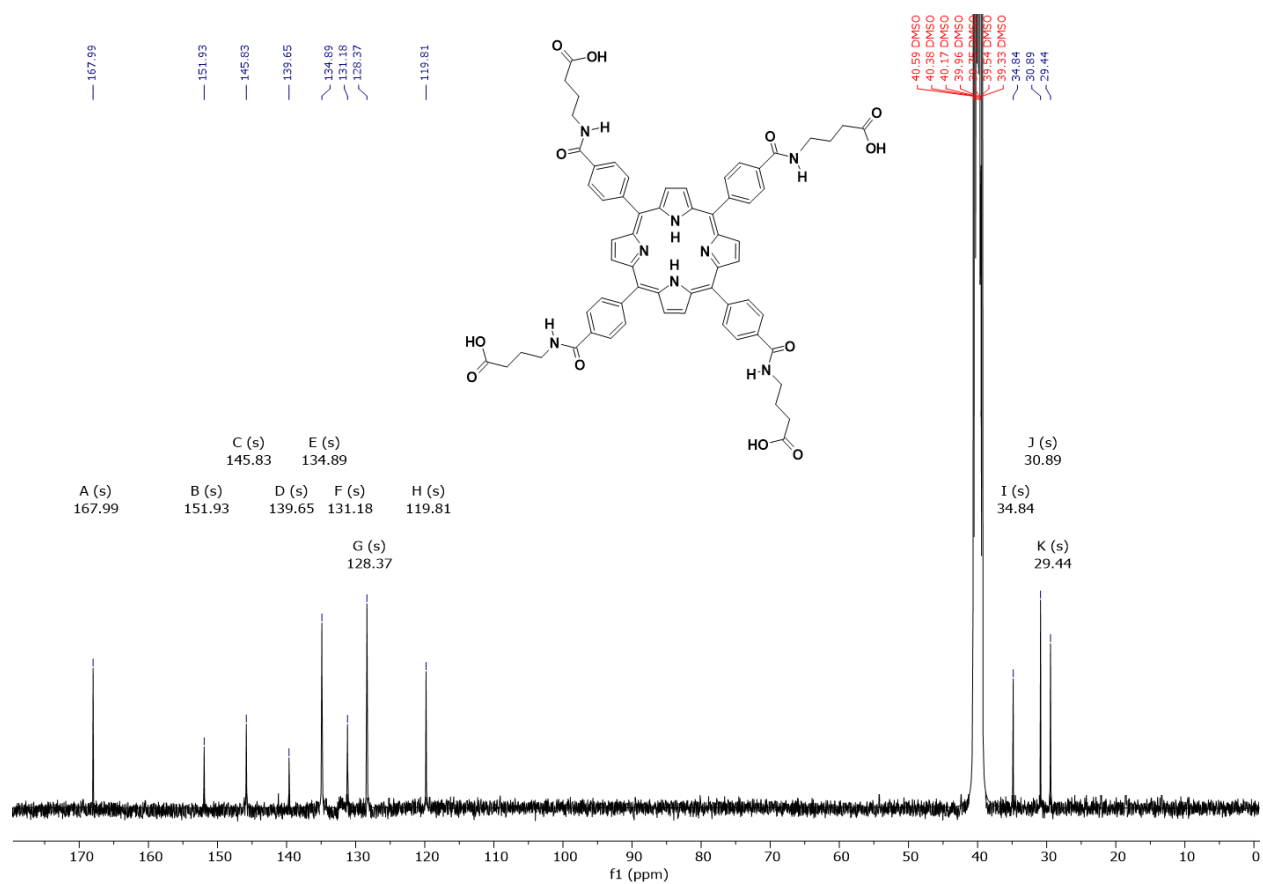
Espectro FTIR del derivado porfirínico TCPP-GABA.

Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



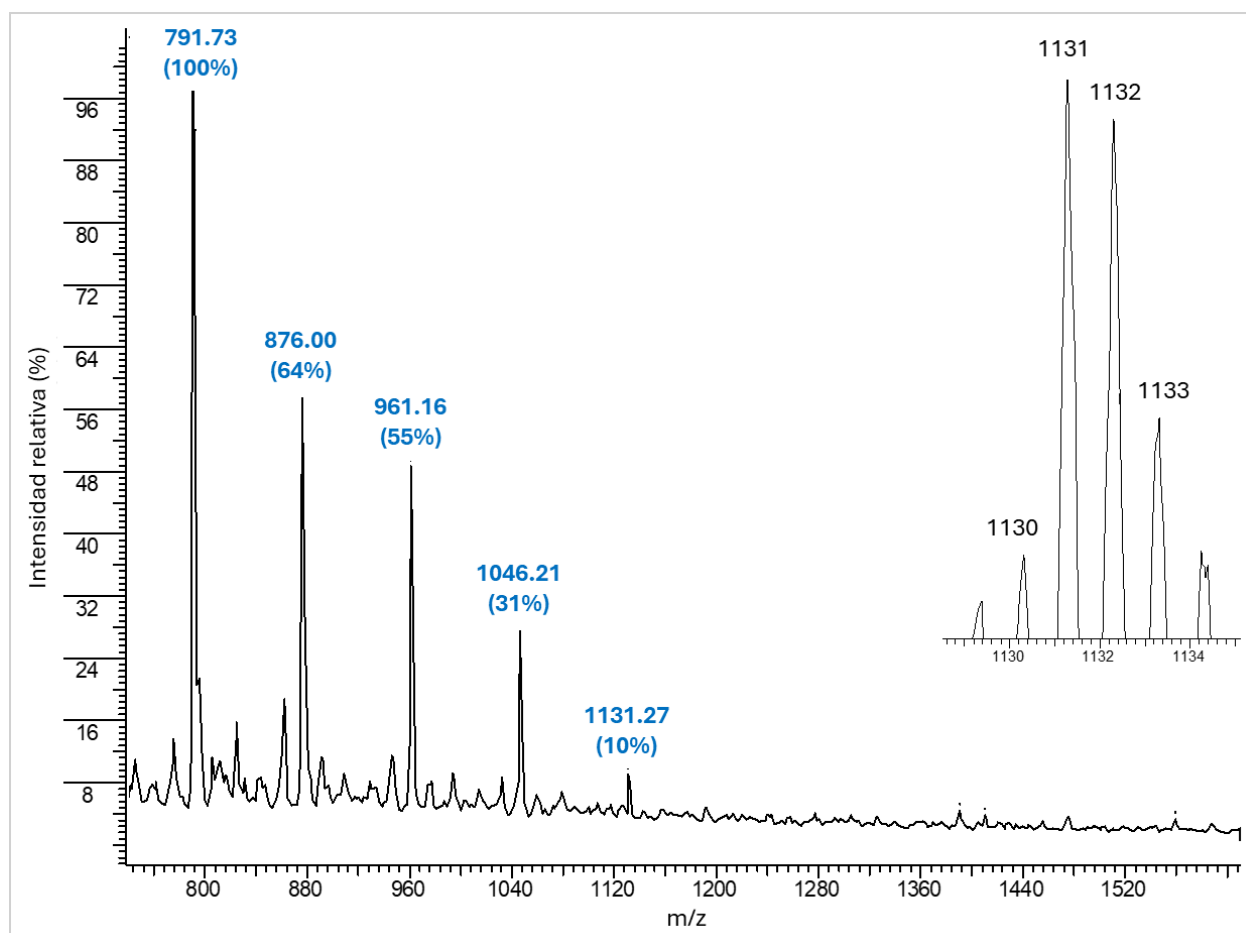
Apéndice 33

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO-d_6) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



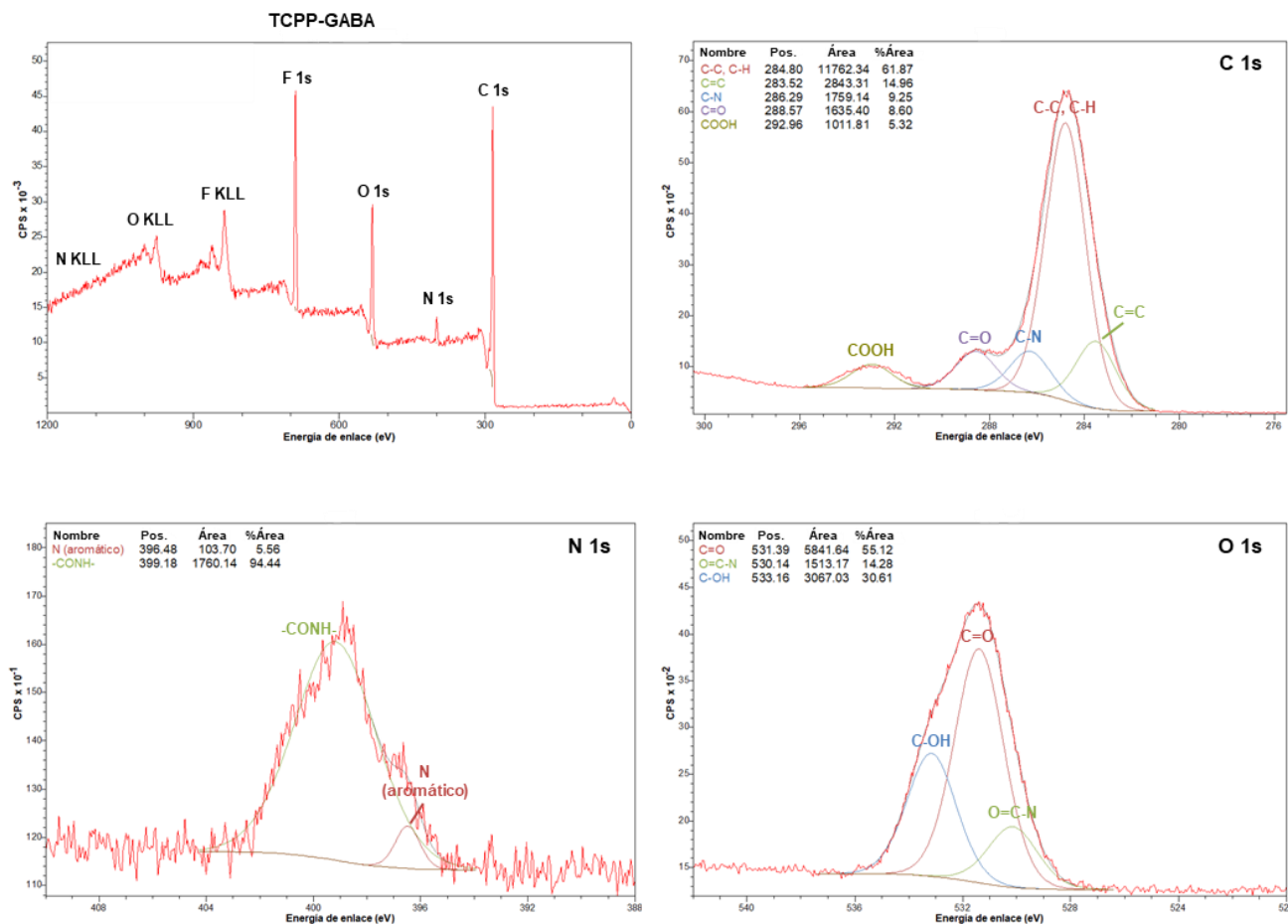
Apéndice 34

Espectro de masas del derivado porfirínico TCPP-GABA registrado en modo positivo en matriz de CHCA.



Apéndice 35

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y O 1s del derivado porfirínico TCPP-GABA.



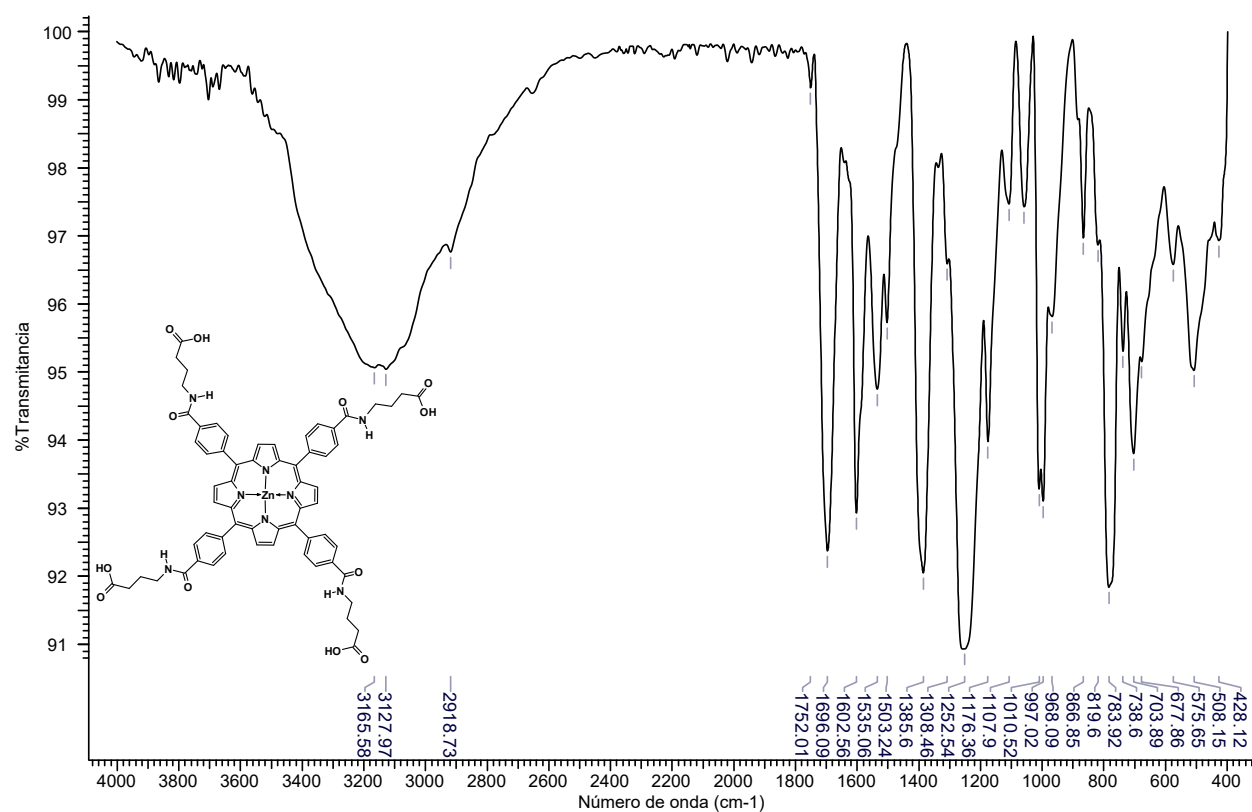
Apéndice 36

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del derivado porfirínico TCPP-GABA.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C-H / C-C	284.80	61.87	Carbono aromático y alifático del anillo tetrapirrólico.
	C=C	285.52	14.96	Aromaticidad central del macrociclo.
	C-N	286.29	9.25	Enlace C-N pirrólico y amídico.
	C=O	288.57	8.60	Carbonilo amídico (GABA).
	COOH	292.96	5.32	Grupo carboxílico terminal no coordinado.
N 1s	N aromático (pirrólico)	396.48	5.56	N interno parcialmente protonado.
	-CONH- (amida)	399.18	94.44	Dominante; contribución del enlace amida GABA.
O 1s	C=O	531.39	55.12	Carbonilos carboxílicos y amídicos.
	O-C-N	530.14	14.28	Oxígeno en entorno amídico.
	C-OH	533.16	30.61	Hidroxilos/carboxilos sin coordinar.

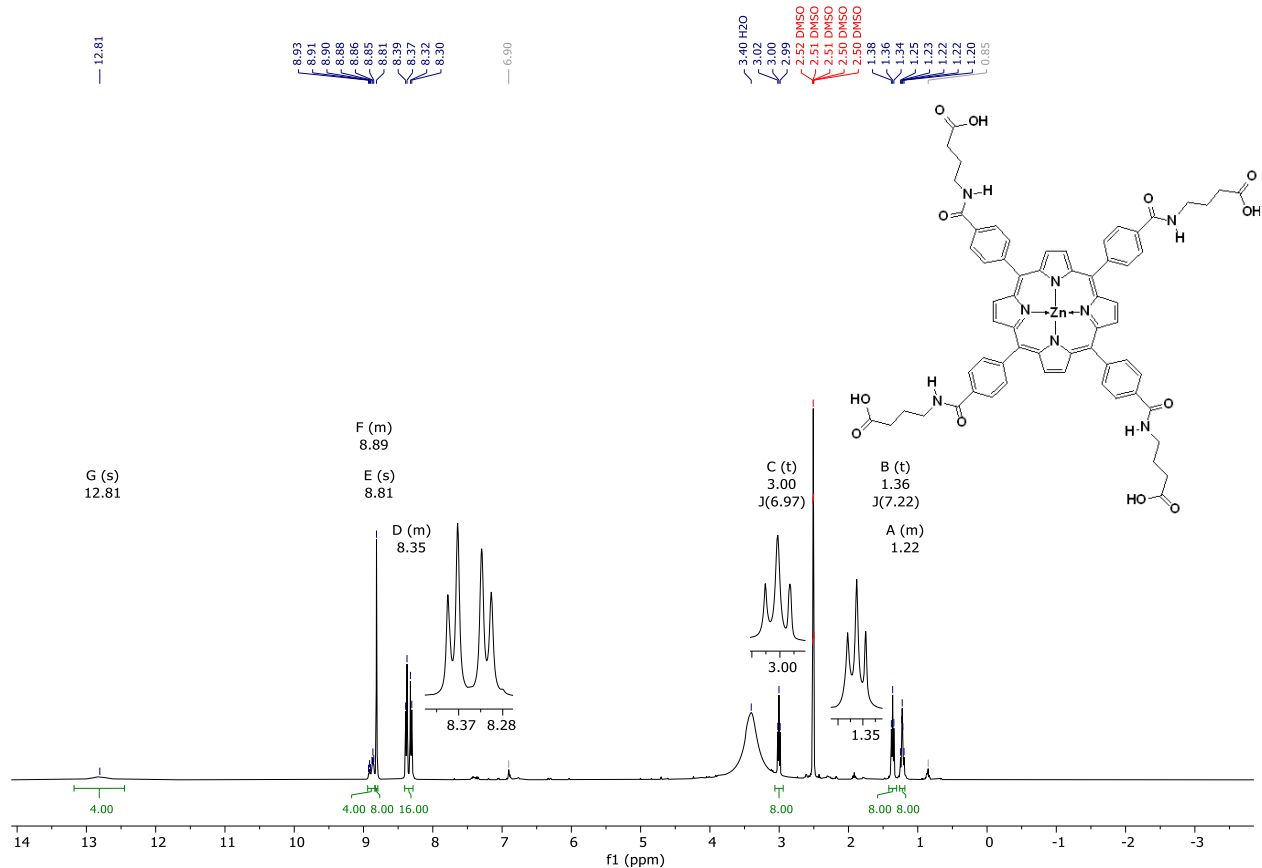
Apéndice 37

Espectro FTIR del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



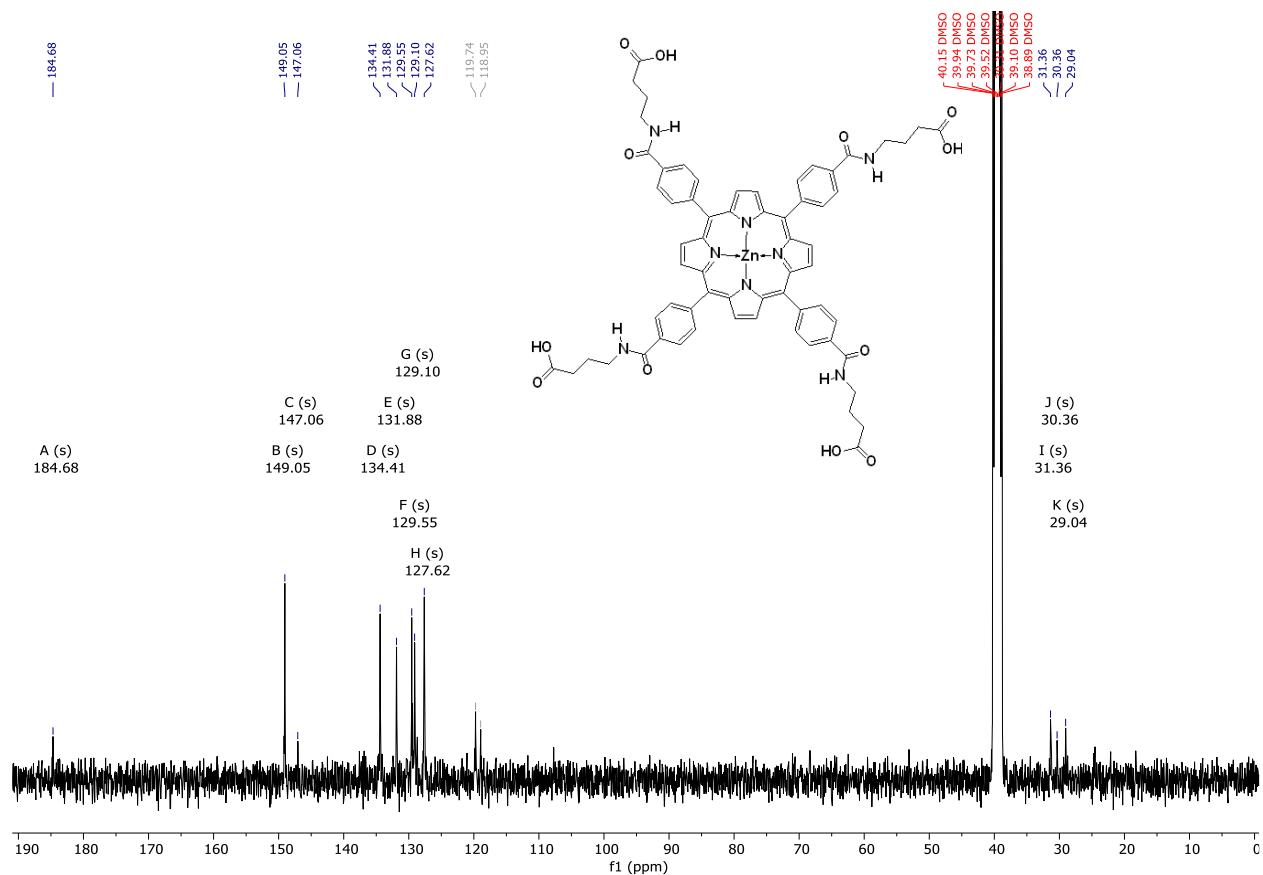
Apéndice 38

Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



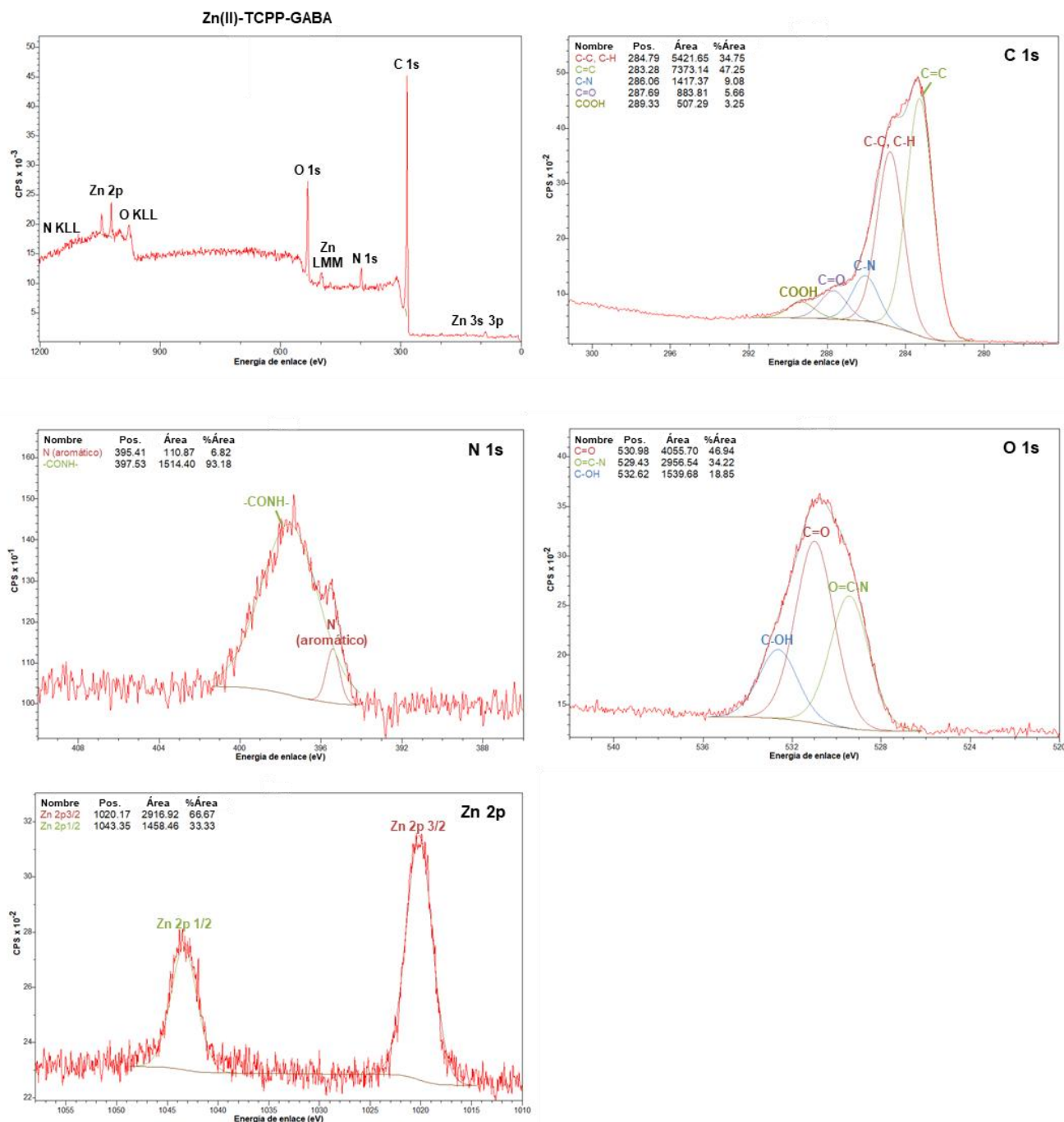
Apéndice 39

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



Apéndice 40

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Zn 2p del complejo Zn(II)-TCPP-GABA.



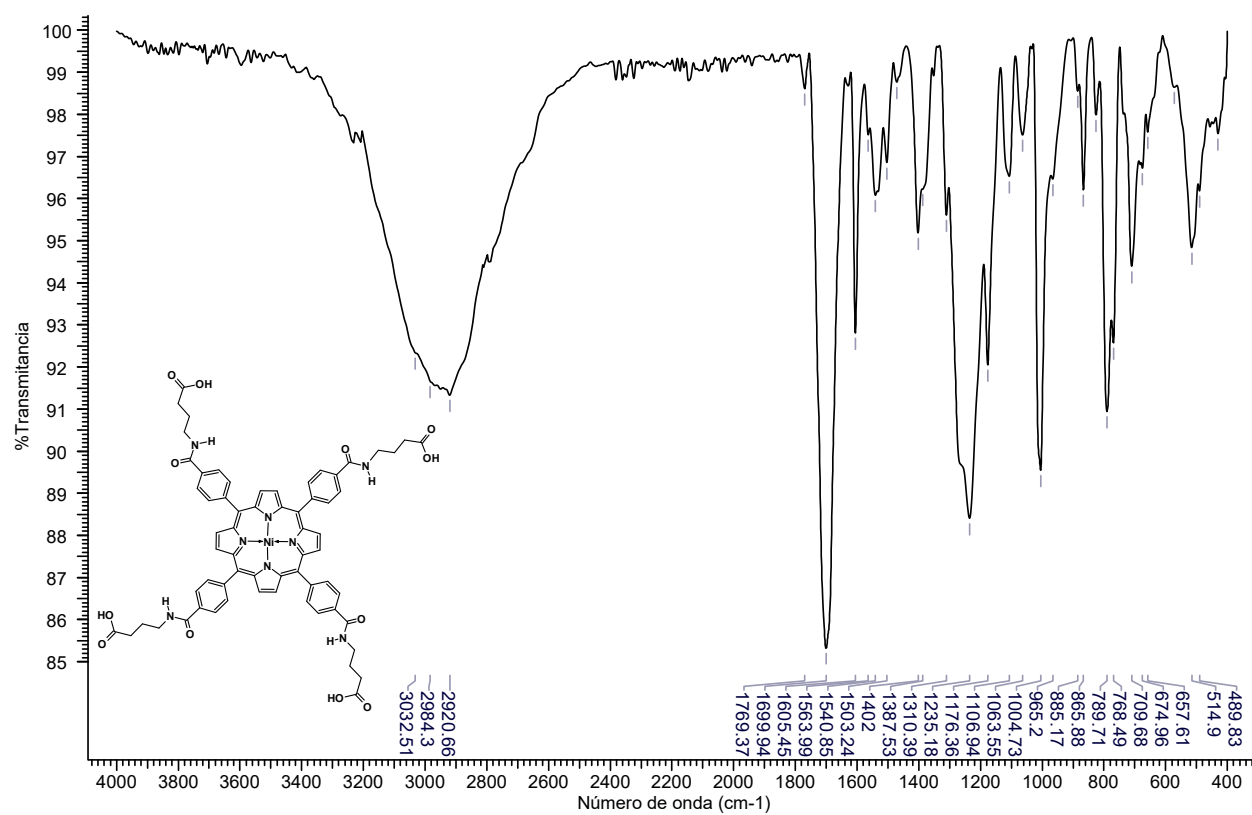
Apéndice 41

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Zn(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–H / C–C	284.79	37.45	Ligando orgánico conservado.
	C=C	285.36	37.23	Sistema conjugado estable.
	C–N	286.79	15.67	Aumento relativo, posible interacción M–N.
	C=O	288.53	6.39	Carbonilo amídico conservado.
	COOH	289.33	3.26	Carboxilo residual sin coordinar.
N 1s	N aromático	397.54	6.82	Componente N porfirínico.
	–CONH–	399.53	93.18	Desplazamiento menor, mantiene entorno amida.
O 1s	C=O	530.99	46.94	Carbonilo en entorno modificado.
	O–C–N	532.42	34.22	Evidencia de participación parcial de N/O.
	C–OH	533.62	18.85	Presencia de oxígenos residuales (adsorbatos).
Zn 2p	Zn 2p _{3/2}	1021.09	66.67	Zn(II) coordinado a N; sin evidencia de ZnO.
	Zn 2p _{1/2}	1044.35	33.33	Doble spin–órbita característico de Zn(II).

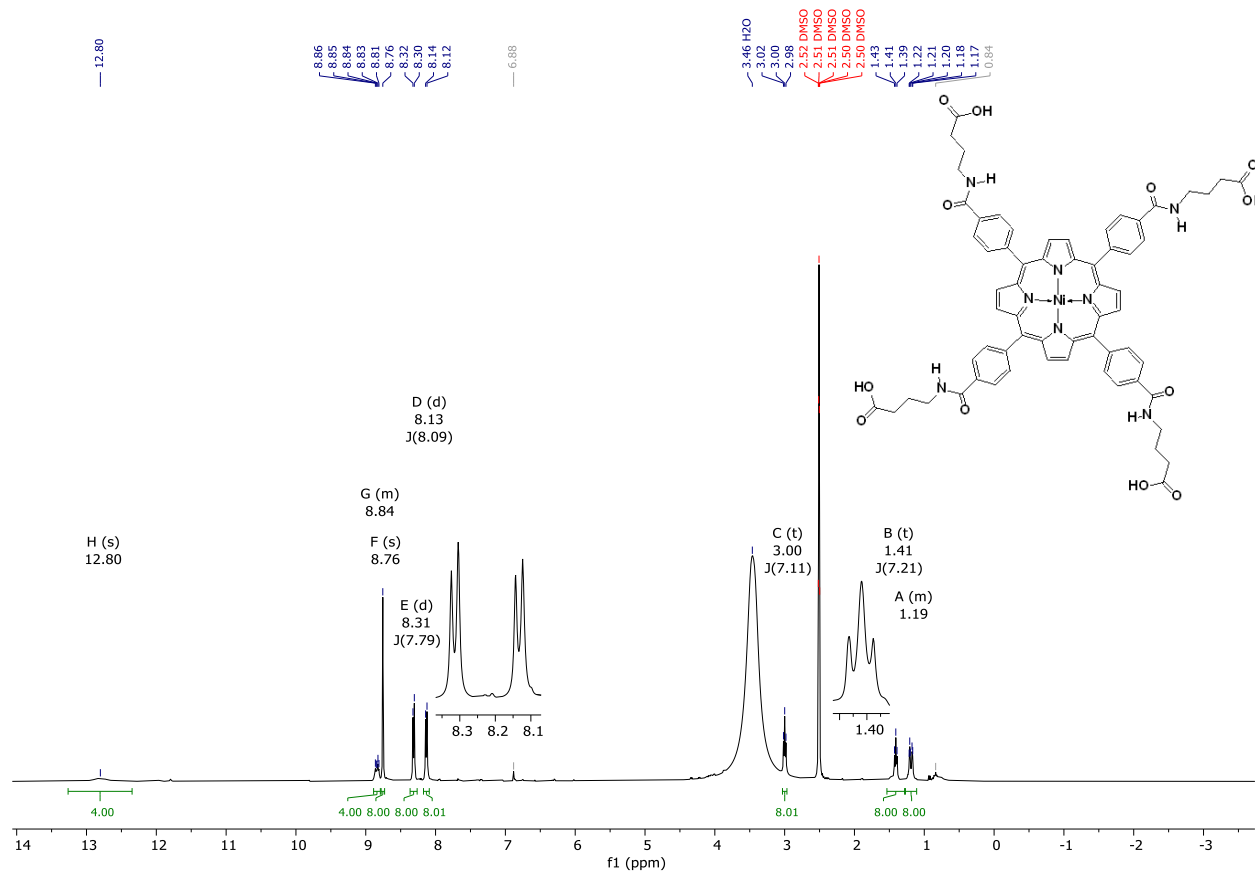
Apéndice 42

Espectro FTIR del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



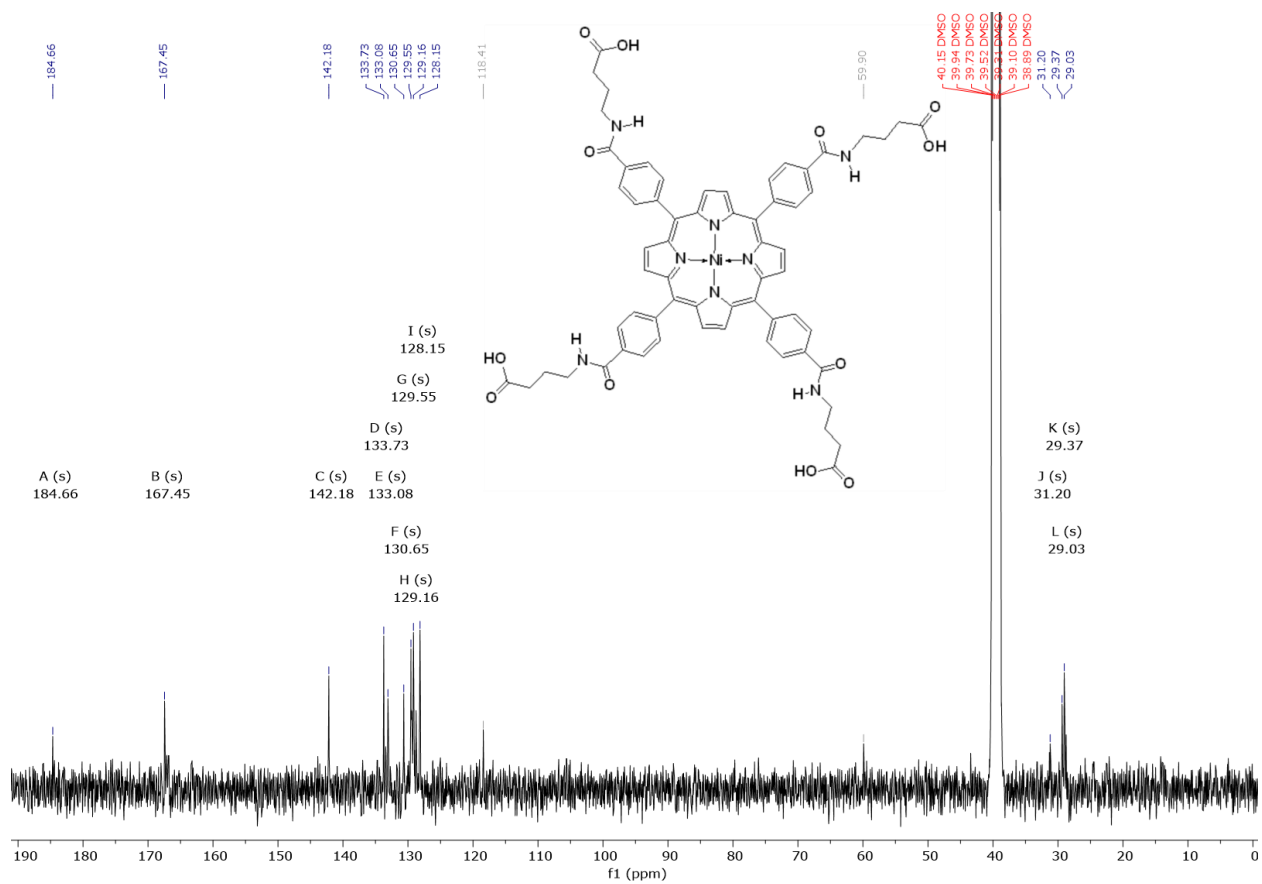
Apéndice 43

Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



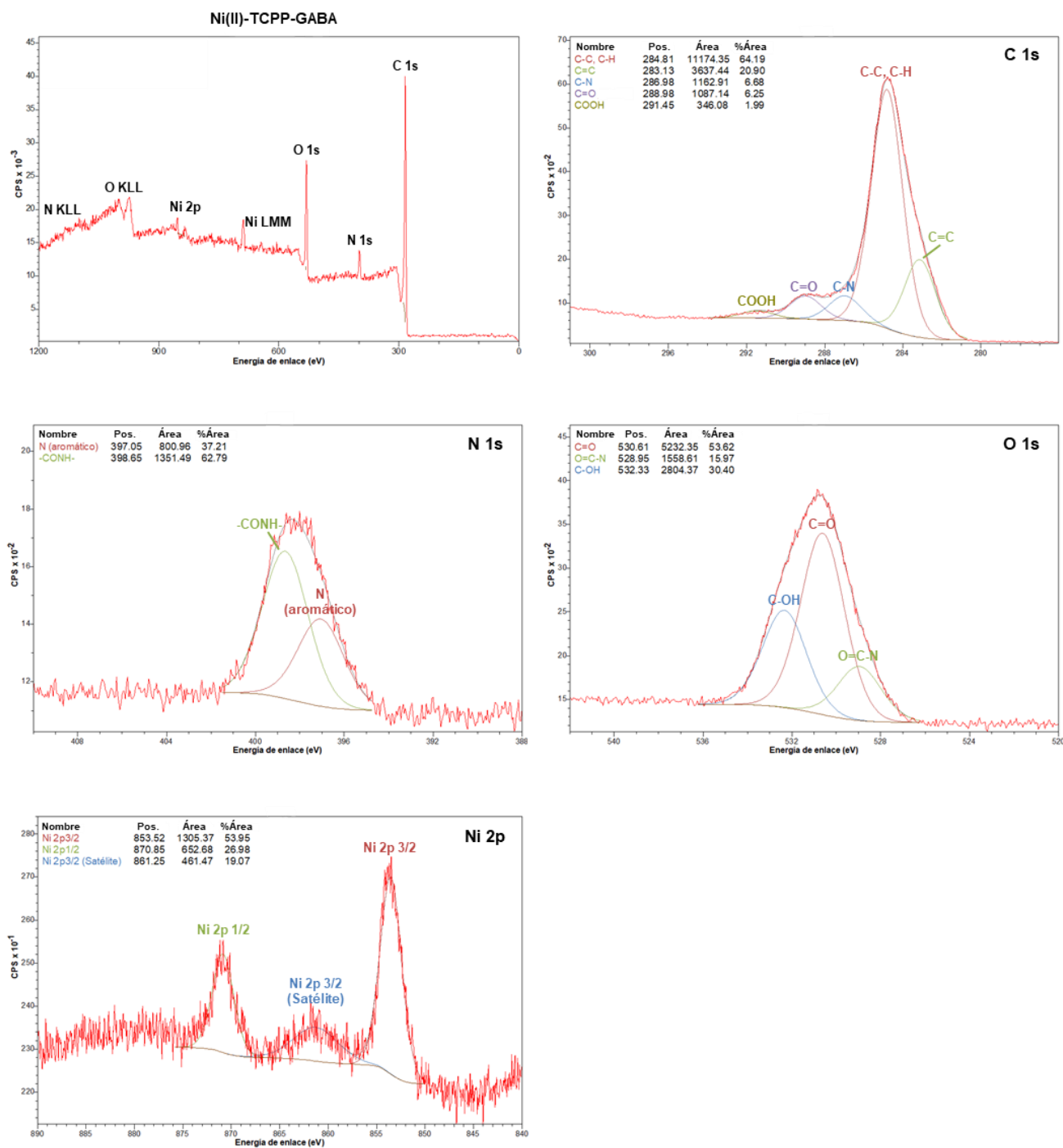
Apéndice 44

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



Apéndice 45

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y Ni 2p del complejo Ni(II)-TCPP-GABA.



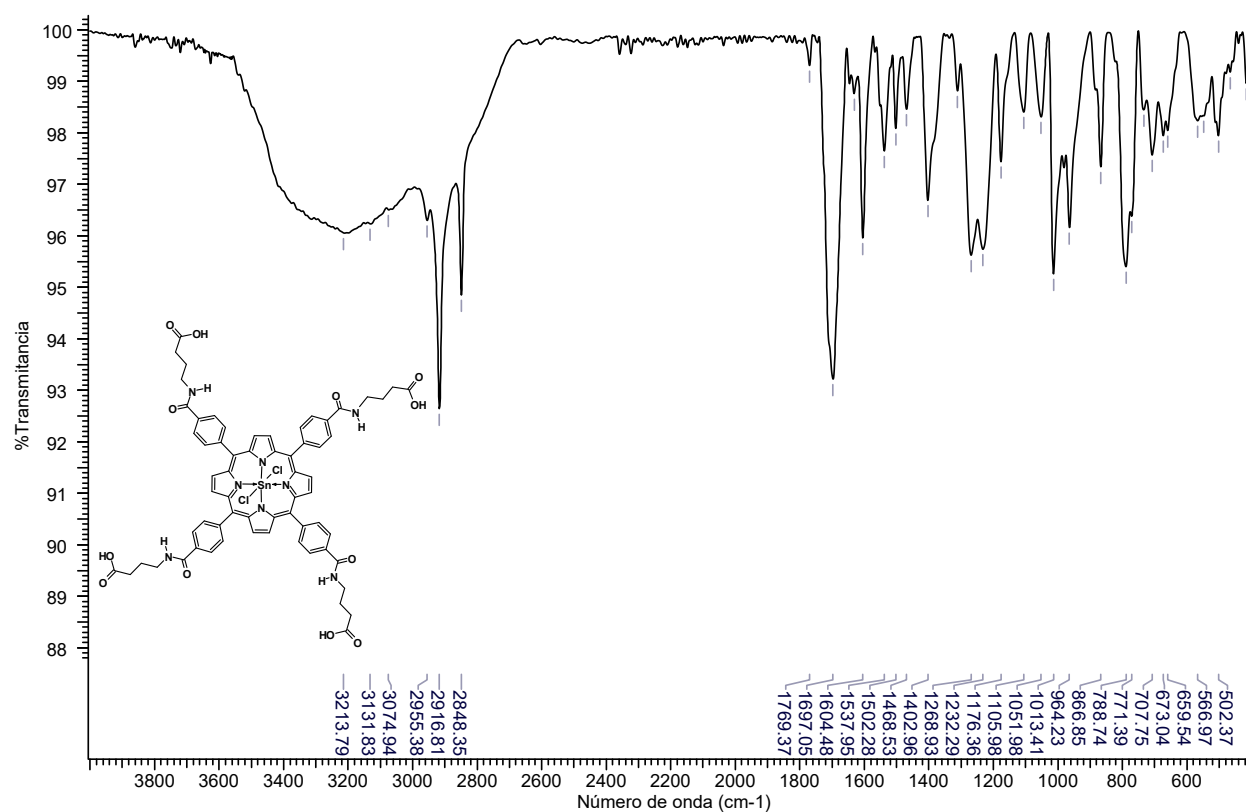
Apéndice 46

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Ni(II) del derivado porfirínico TCPP-GABA.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–H / C–C	284.81	54.19	Sin desplazamiento significativo.
	C=C	285.13	26.09	Estructura conjugada estable.
	C–N	286.18	6.25	Interacción amida-metal leve.
	C=O	288.68	11.48	Carbonilo amídico.
	COOH	291.45	1.99	Respuesta débil.
N 1s	N aromático	397.05	37.21	Disminución de intensidad relativa por coordinación.
	–CONH–	398.65	62.79	Desplazamiento a menor BE (–0.5 eV), indica coordinación M–N.
O 1s	C=O	530.61	35.62	Carbonilos ligados parcialmente al metal.
	O–C–N	531.88	15.97	Menor participación amídica.
	C–OH	532.33	30.40	Hidroxilos residuales.
Ni 2p	Ni 2p _{3/2}	854.52	61.47	Ni(II)–N coordinado, con satélite en 861 eV.
	Ni 2p _{1/2}	872.01	33.33	Pareja spin–órbita d ⁸ característica.
	Ni 2p _{3/2} (satélite)**	861.47	19.07	Transición shake-up típica de Ni(II).

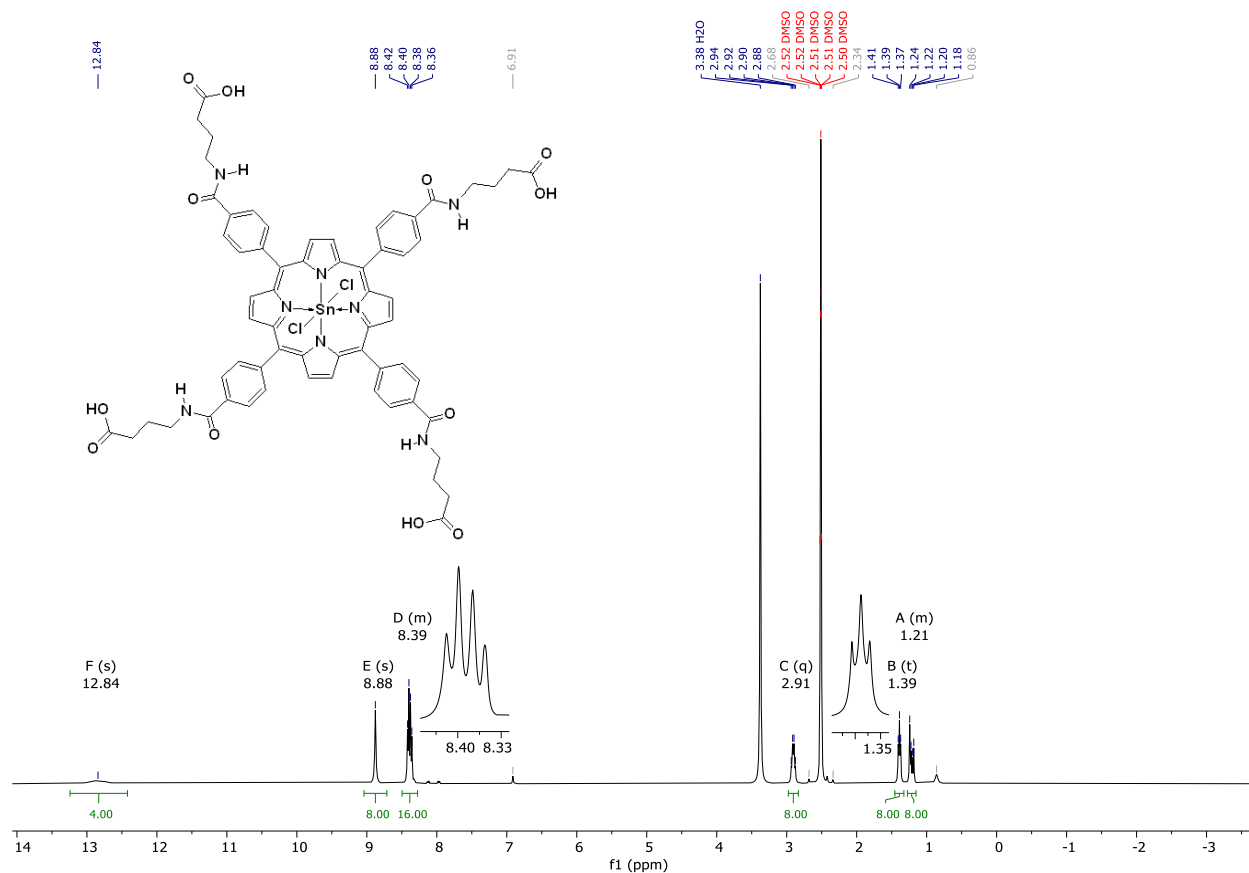
Apéndice 47

Espectro FTIR del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



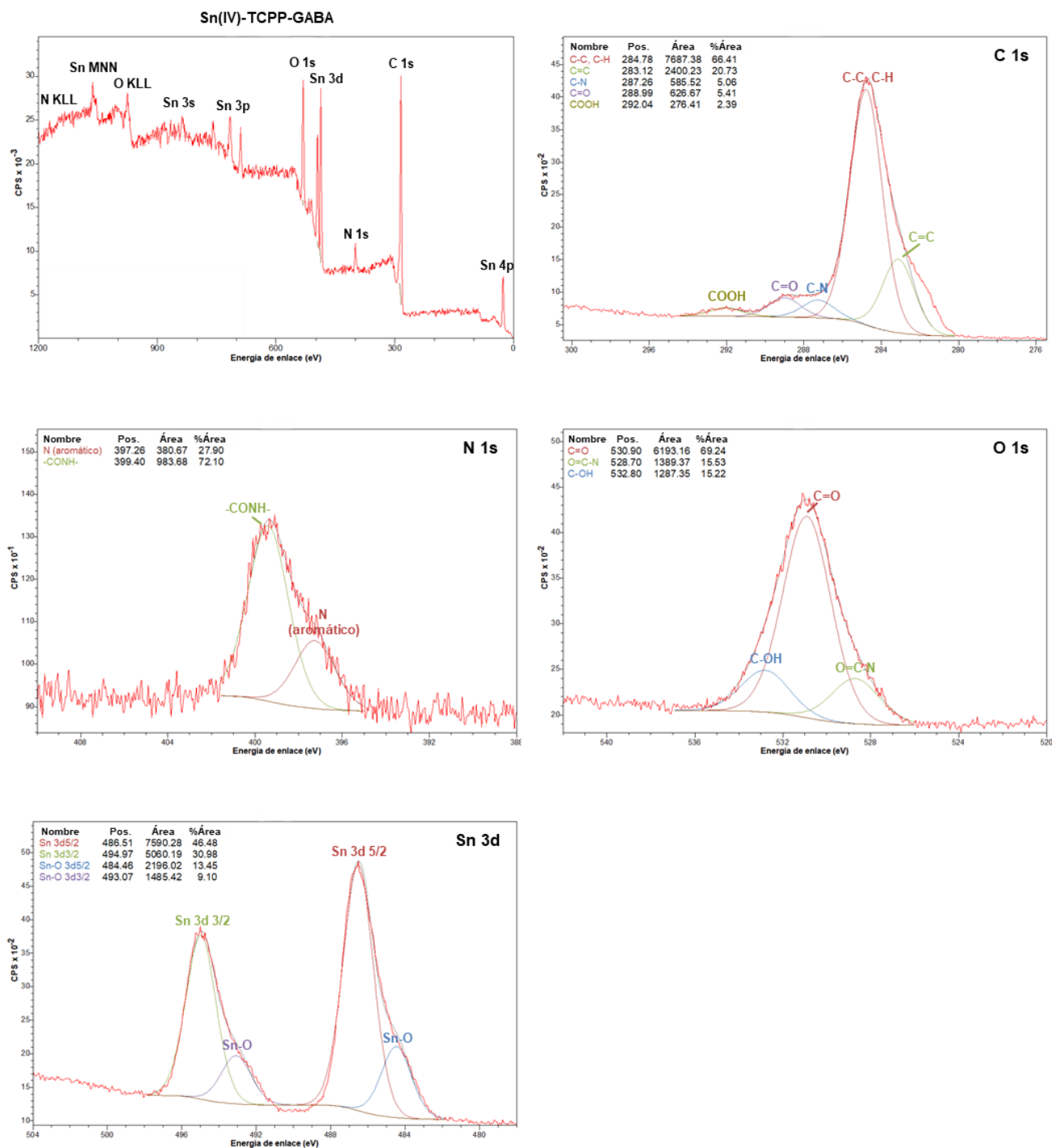
Apéndice 48

Espectro ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-GABA.



Apéndice 49

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s y Sn 3d del complejo Sn(IV)-TCPP-GABA.



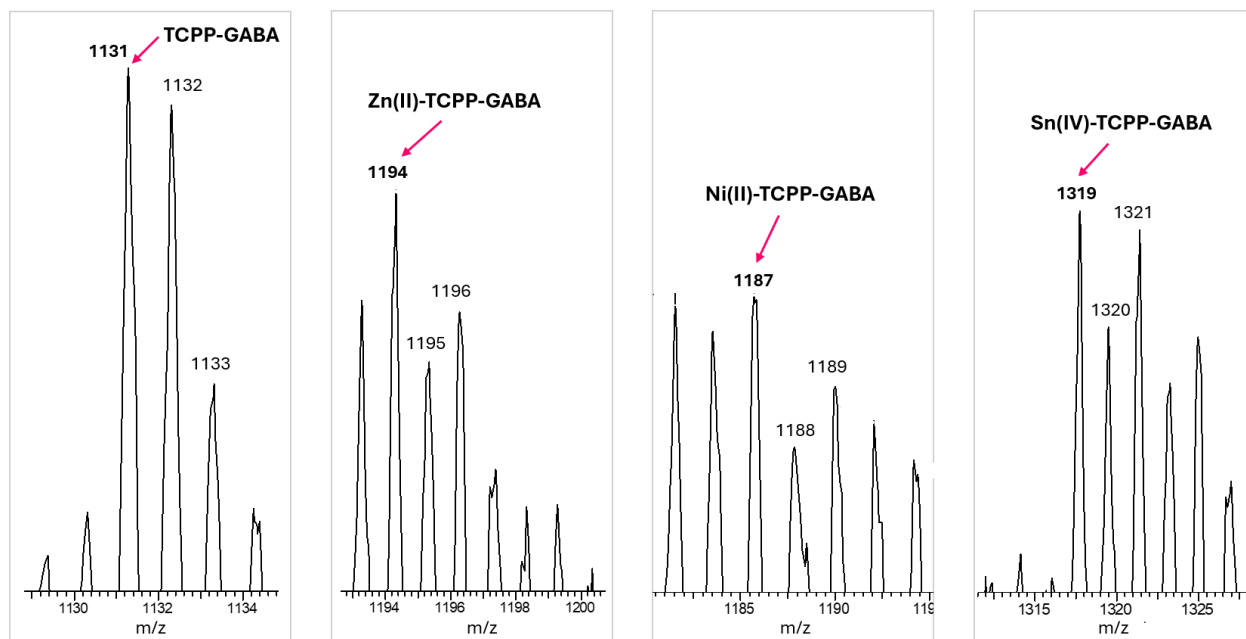
Apéndice 50

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Sn(IV) del derivado porfirínico TCPP-GABA.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–H / C–C	284.78	66.41	Carbonos aromáticos dominantes.
	C=C	285.10	27.73	Aromaticidad conservada.
	C–N	286.25	5.67	N amídico reducido.
	C=O	288.04	5.41	Carbonilo sin coordinar.
	COOH	292.04	2.39	Débil, residuo superficial.
N 1s	N aromático	397.26	27.90	N del macrociclo.
	–CONH–	399.40	72.10	Ligando amida dominante, ligeramente desplazado.
O 1s	C=O	530.99	69.24	Desplazamiento a menor BE; Sn–O coordinado.
	O–C–N	532.70	15.53	Participación parcial en ligación.
	C–OH	532.80	15.22	Adsorbato de superficie.
Sn 3d	Sn 3d _{5/2}	486.50	60.00	Sn(IV) coordinado; presencia de Sn–O.
	Sn 3d _{3/2}	495.97	40.00	Doble spin–órbita Sn(IV).

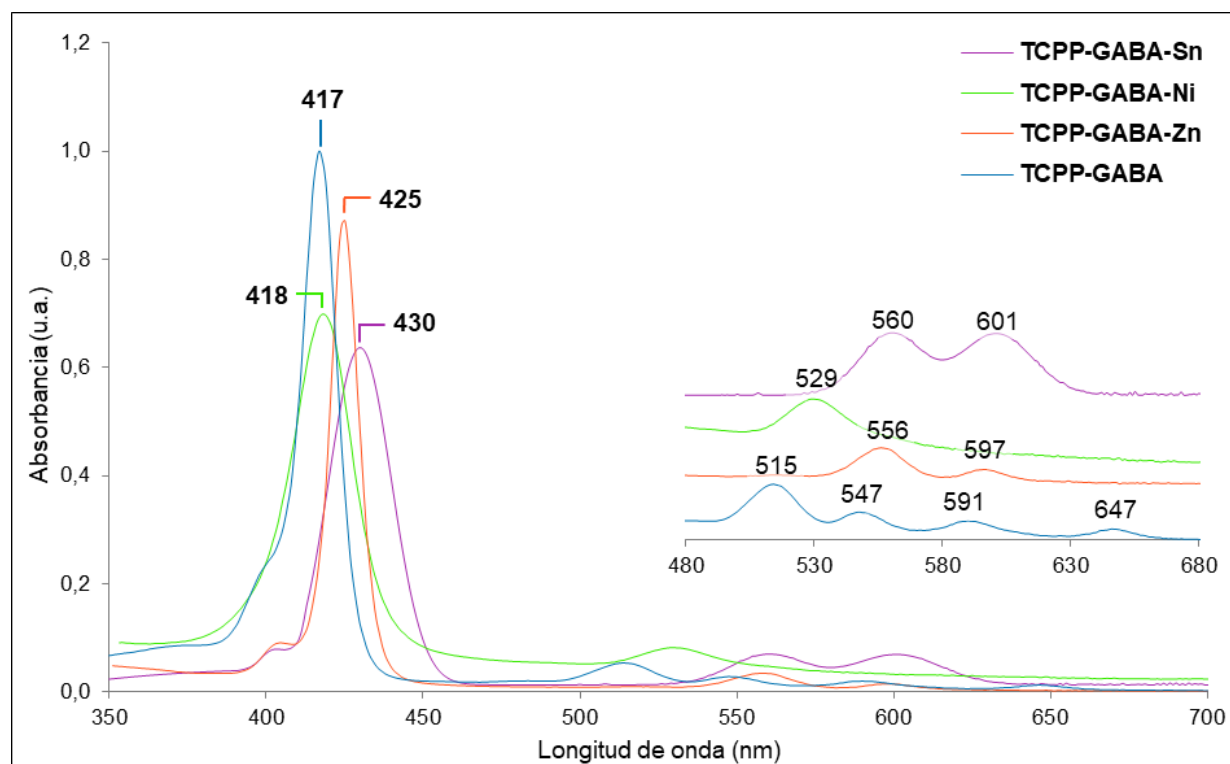
Apéndice 51

Espectros de masas del derivado porfirínico TCPP-GABA y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) registrados en modo positivo en matriz de CHCA y DHB.



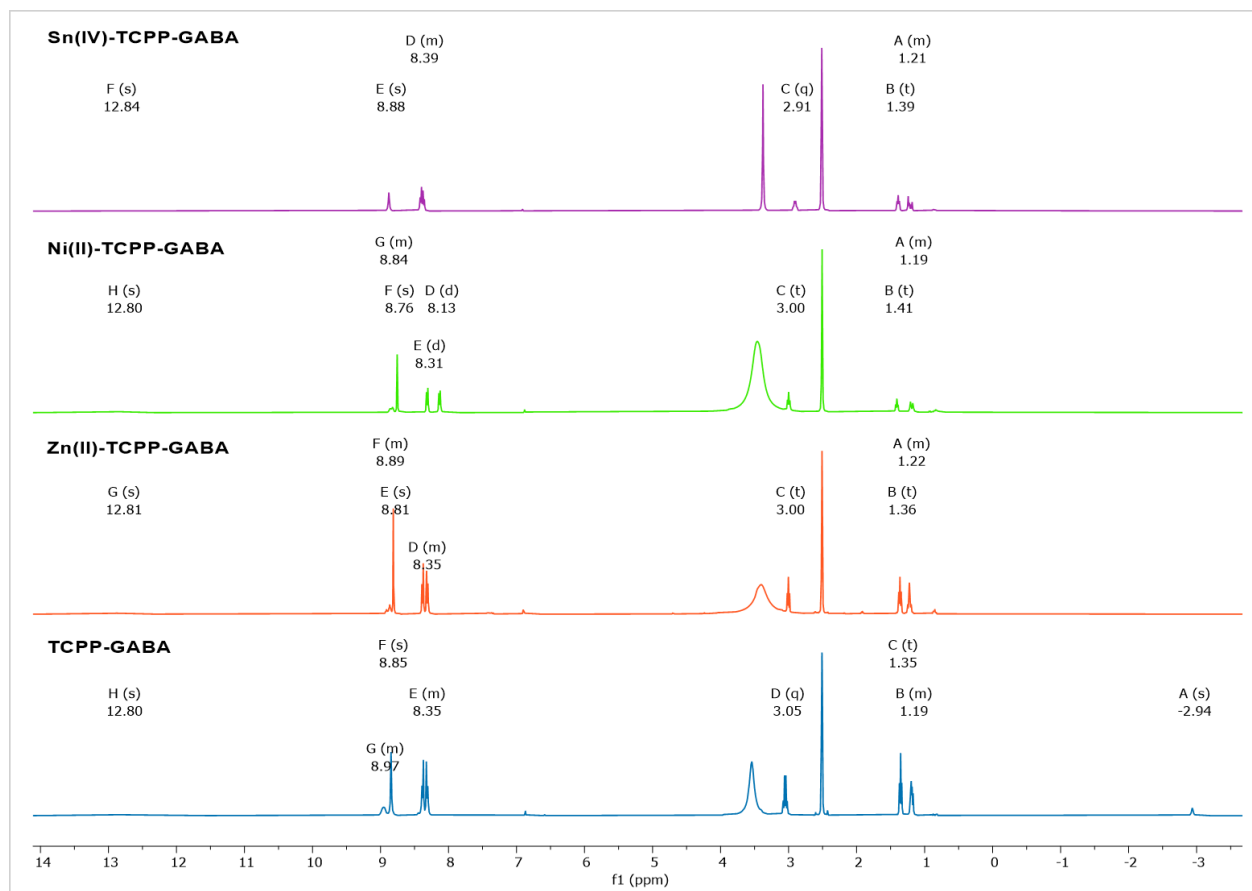
Apéndice 52

Espectros UV-Vis del derivado porfirínico TCPP-GABA y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), registrados en metanol (1×10^{-5} M).

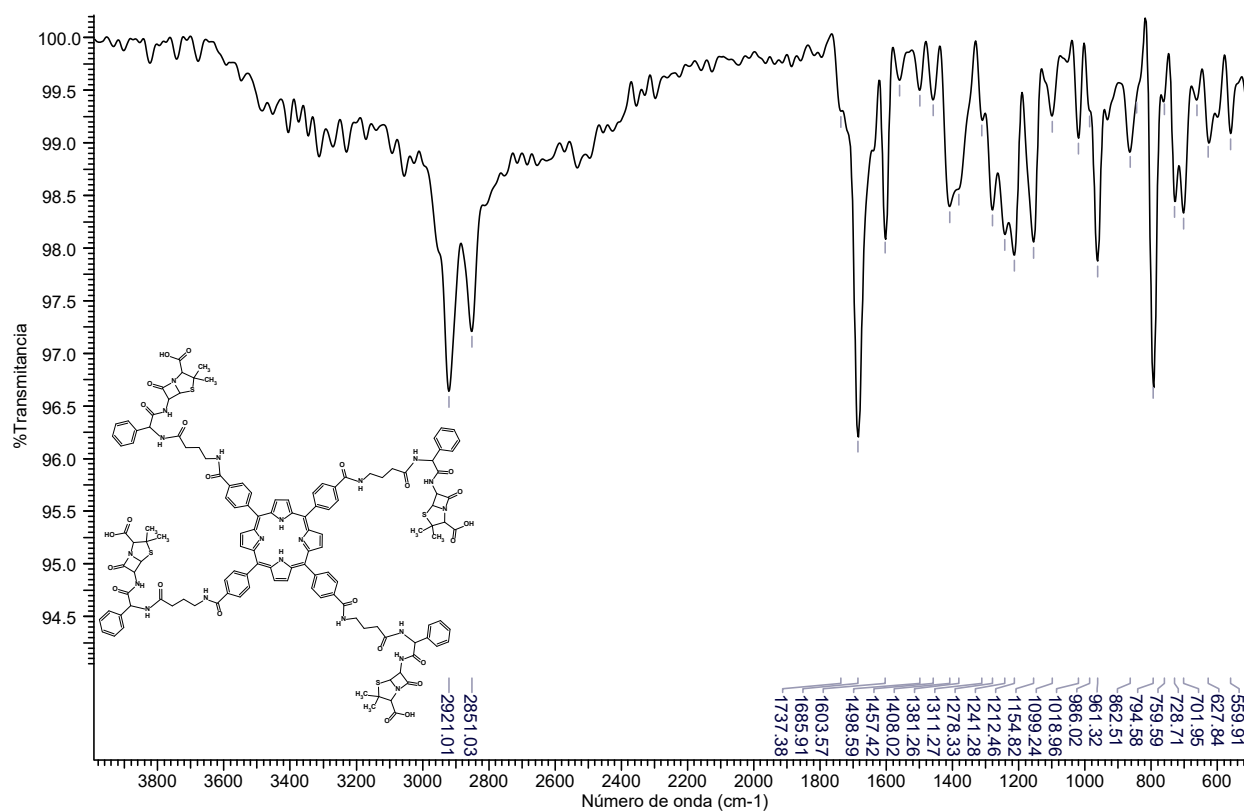


Apéndice 53

Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del derivado porfirínico TCPP-GABA y sus complejos metálicos de Zn(II) , Ni(II) y Sn(IV) .

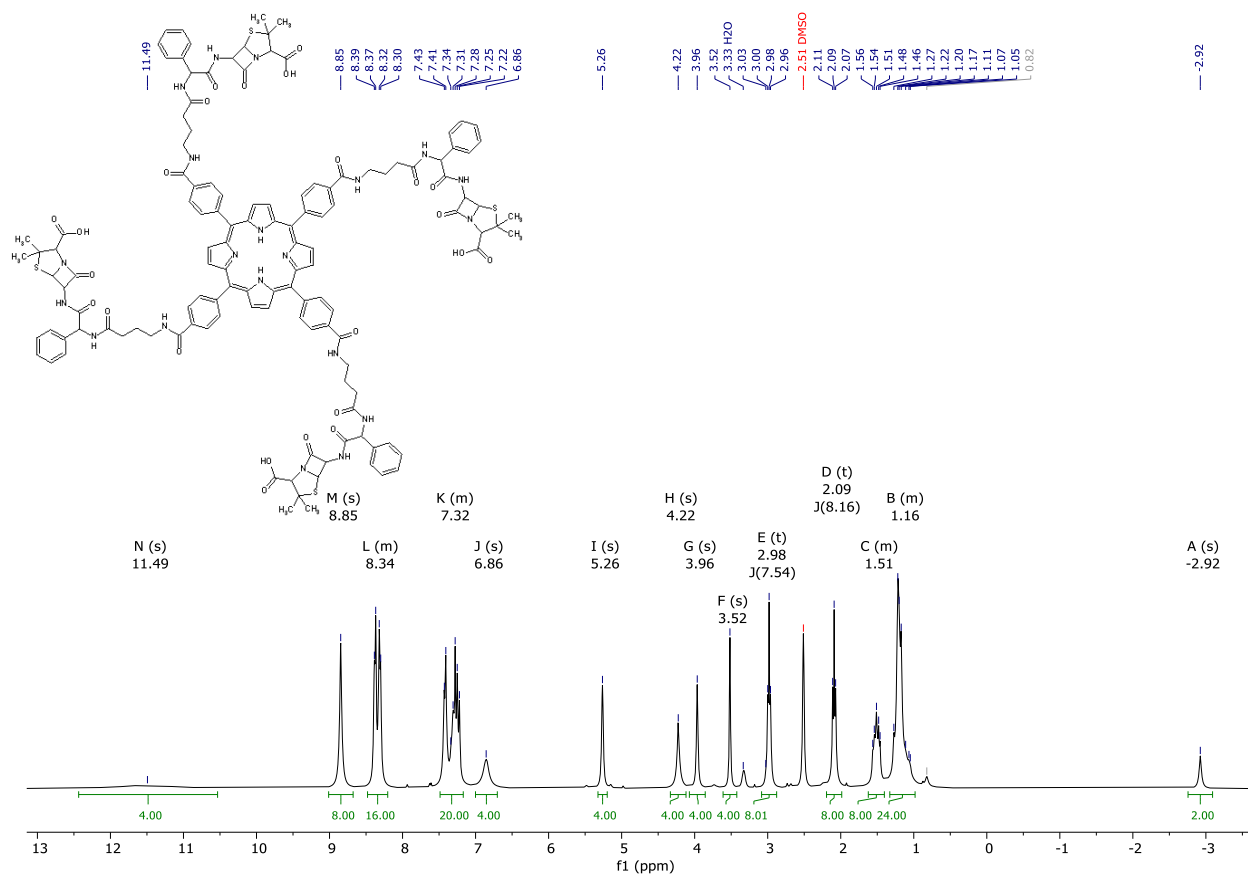


Apéndice 54

Espectro FTIR del híbrido porfirina-ampicilina TCPPP-Amp.

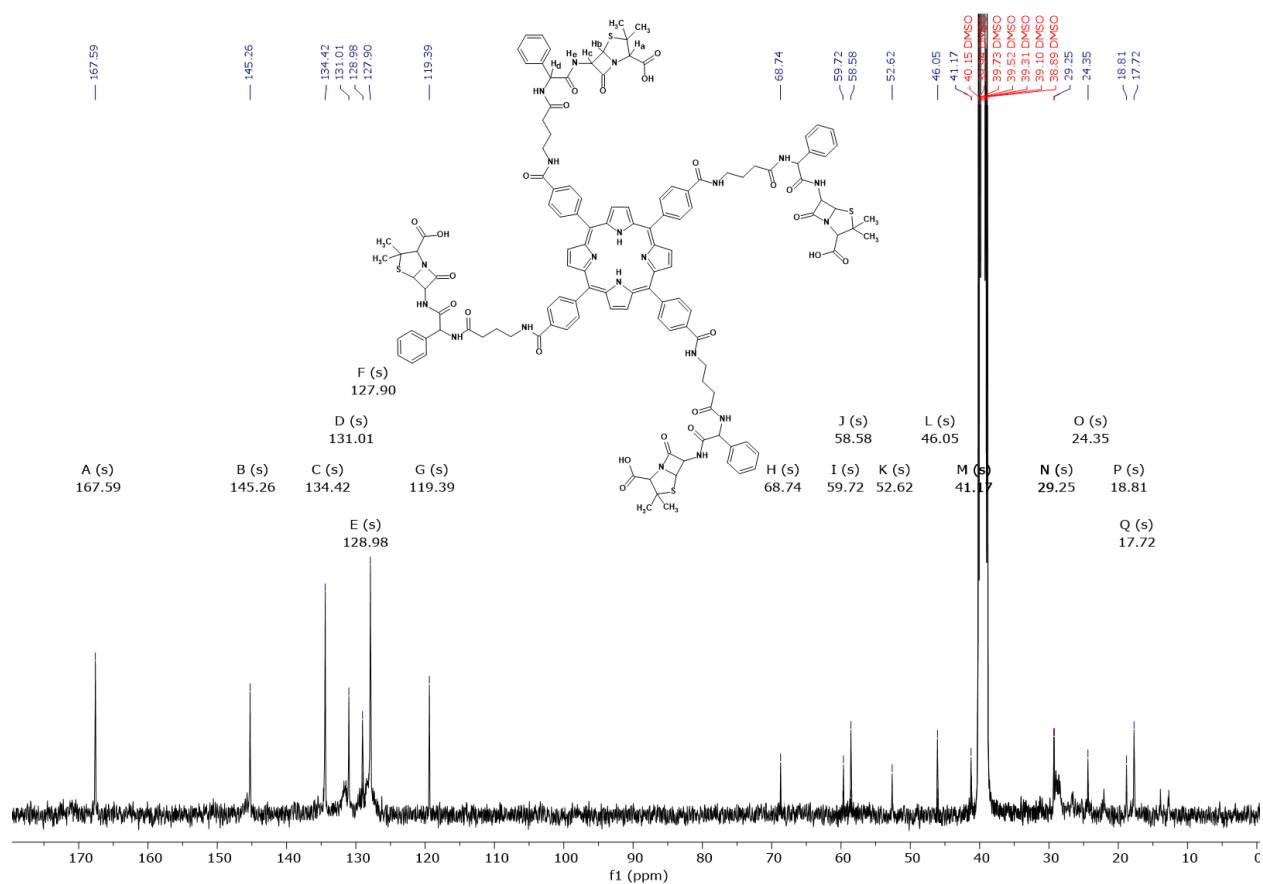
Apéndice 55

Espectro ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del híbrido TCPP-Amp.



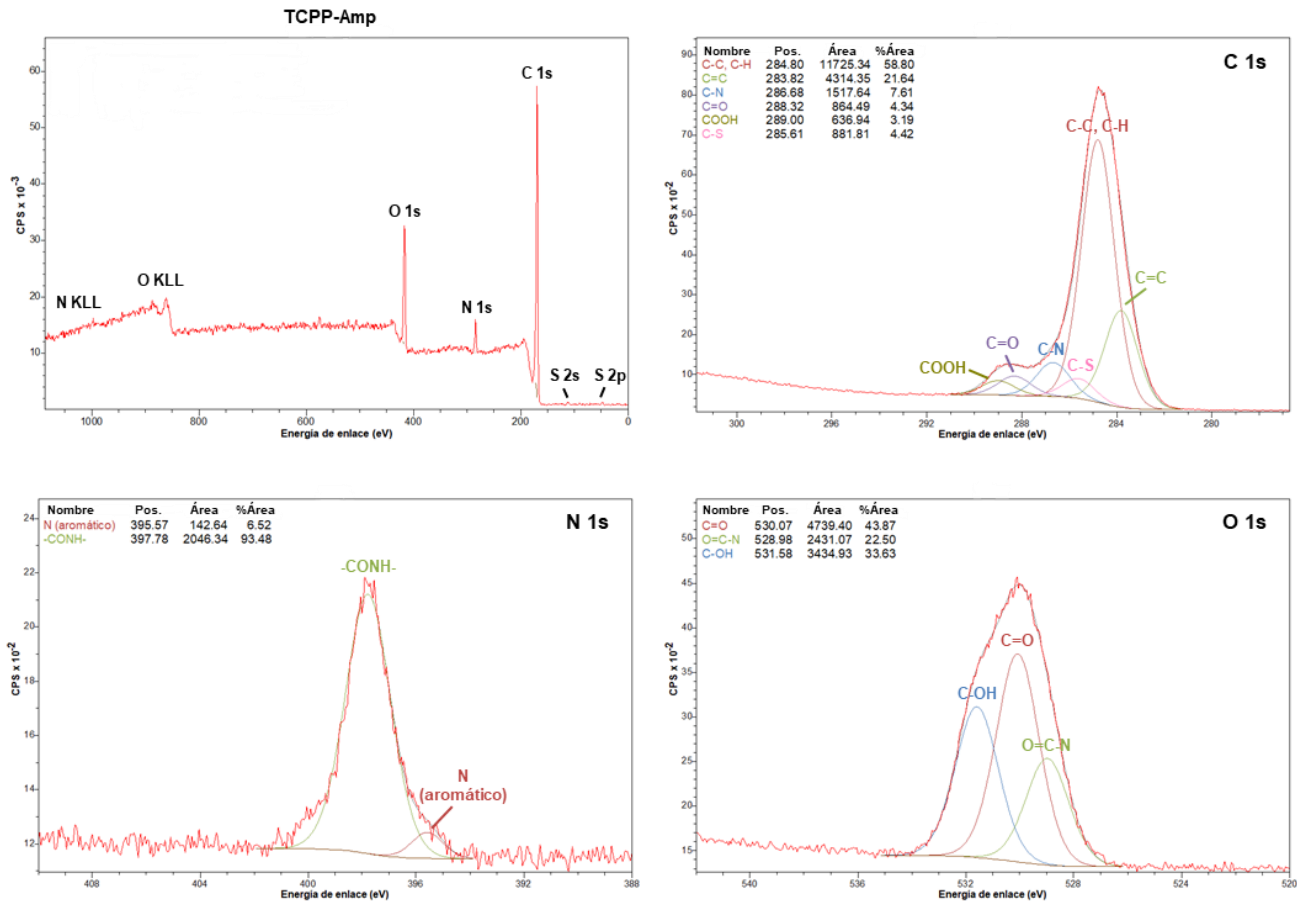
Apéndice 56

Espectro ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) del híbrido TCPP-Amp.



Apéndice 57

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y O 1s del híbrido TCPP-Amp.



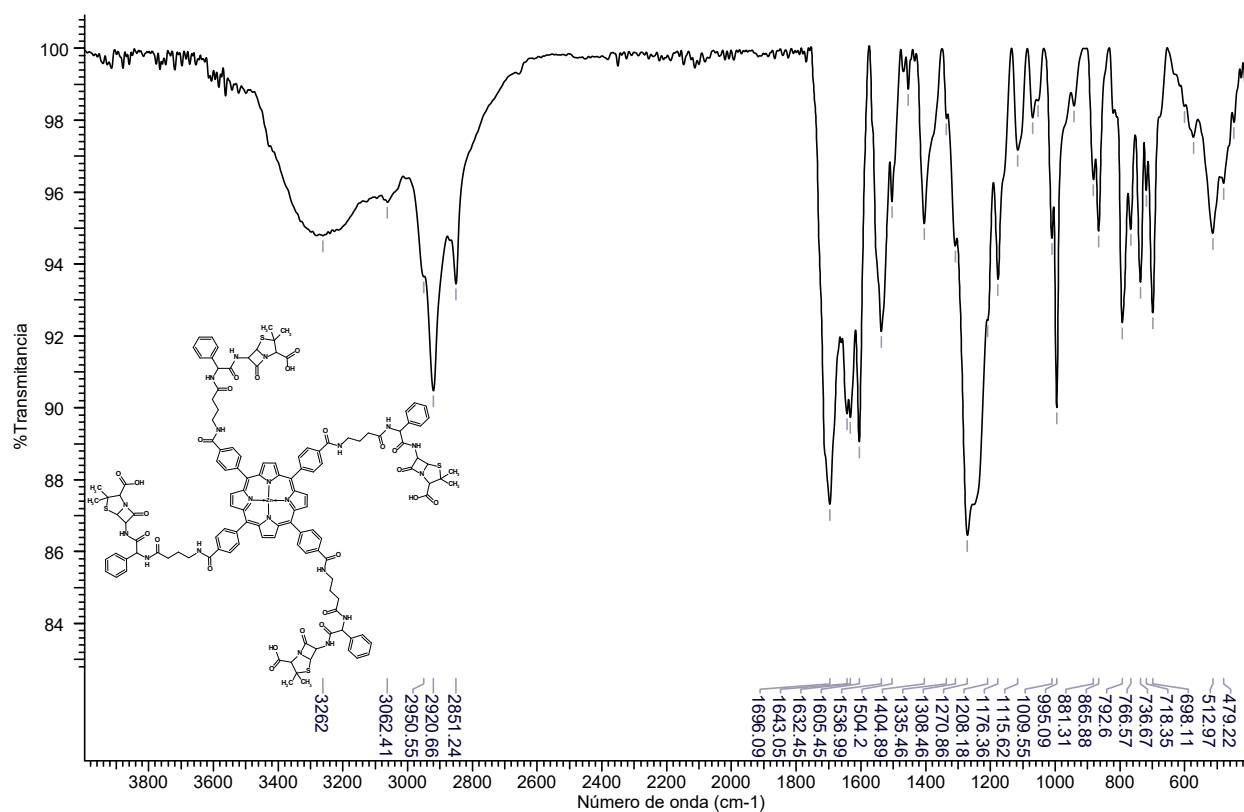
Apéndice 58

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del híbrido TCPP-Amp.

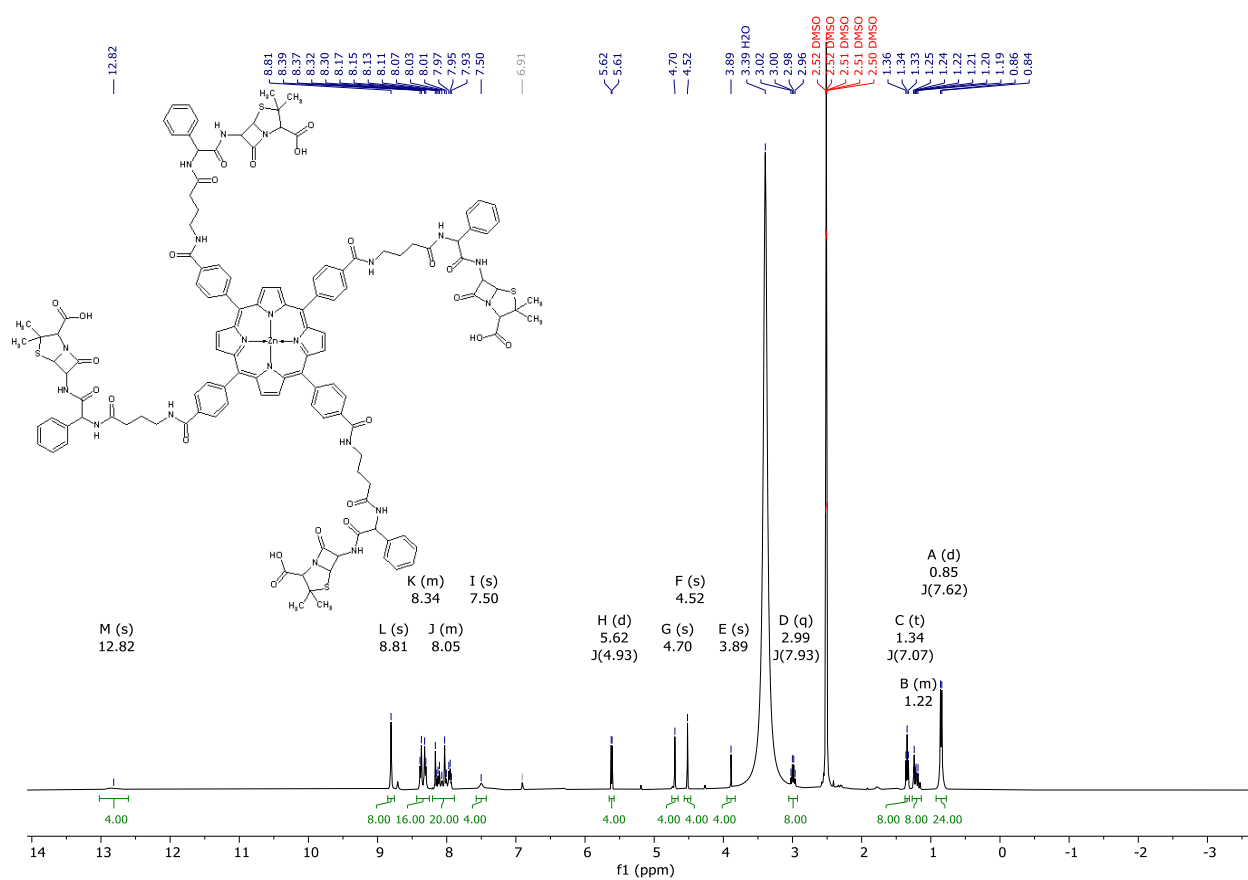
Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–C / C=C (aromático)	284.8	43.0	Esqueleto fenil-porfirina/anfipénico.
	C–S (β -lactámico)	285.6	6.2	Enlace C–S de la ampicilina.
	C–N / C–O	286.3	26.7	Amidas y alcoholes secundarios.
	C=O (amida / β -lactámico)	288.5	17.8	Carbonilos de amida y anillo β -lactámico.
	COOH / C=O adsorbido	290.1	6.3	Carboxilos terminales.
O 1s	C=O (amida/éster)	531.0	59.0	Carbonilos conjugados.
	O–C–N / O–S	532.5	34.5	Oxígenos en amida y entorno sulfonil.
	O adsorbido	533.3	6.5	Trazas de solvente (MeOH/DMF).
N 1s	N pirrólico	398.8	32.7	Núcleo tetrapirrólico.
	N amídico /	399.5	53.6	Amidas GABA/Amp y N del β -lactámico.
	N protonado / sales	401.1	13.7	Posibles especies protonadas.
S 2p	S 2p _{3/2} (C–S)	163.8	—	Integridad del anillo tiazolidico.

Apéndice 59

Espectro FTIR del complejo de Zn(II) del híbrido porfirina-ampicilina TCPPP-Amp.

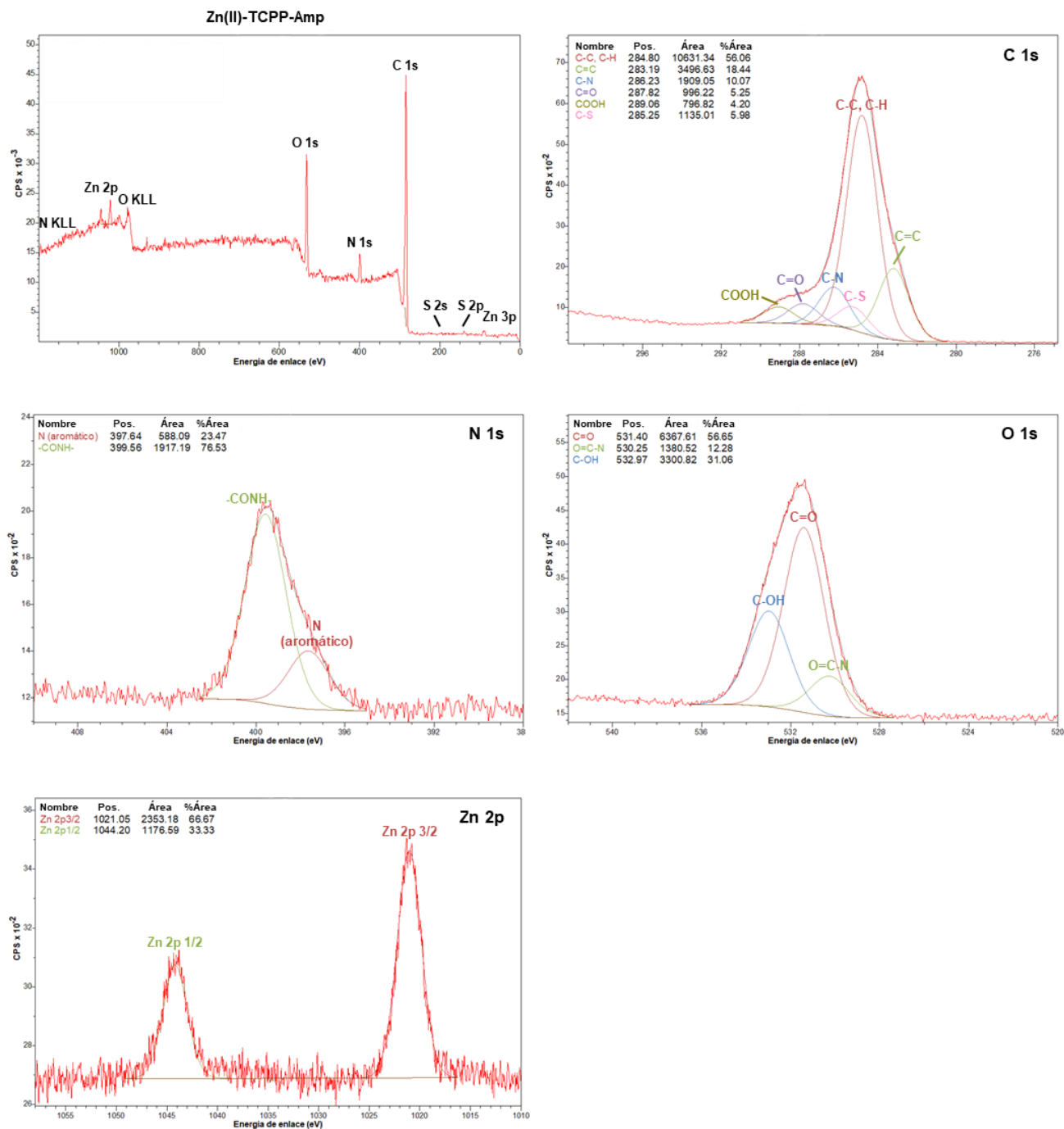


Espectro ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) del complejo de Zn(II) del híbrido TCPP-Amp.



Apéndice 61

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y Zn 2p del complejo de Zn(II) del híbrido TCPPP-Amp.



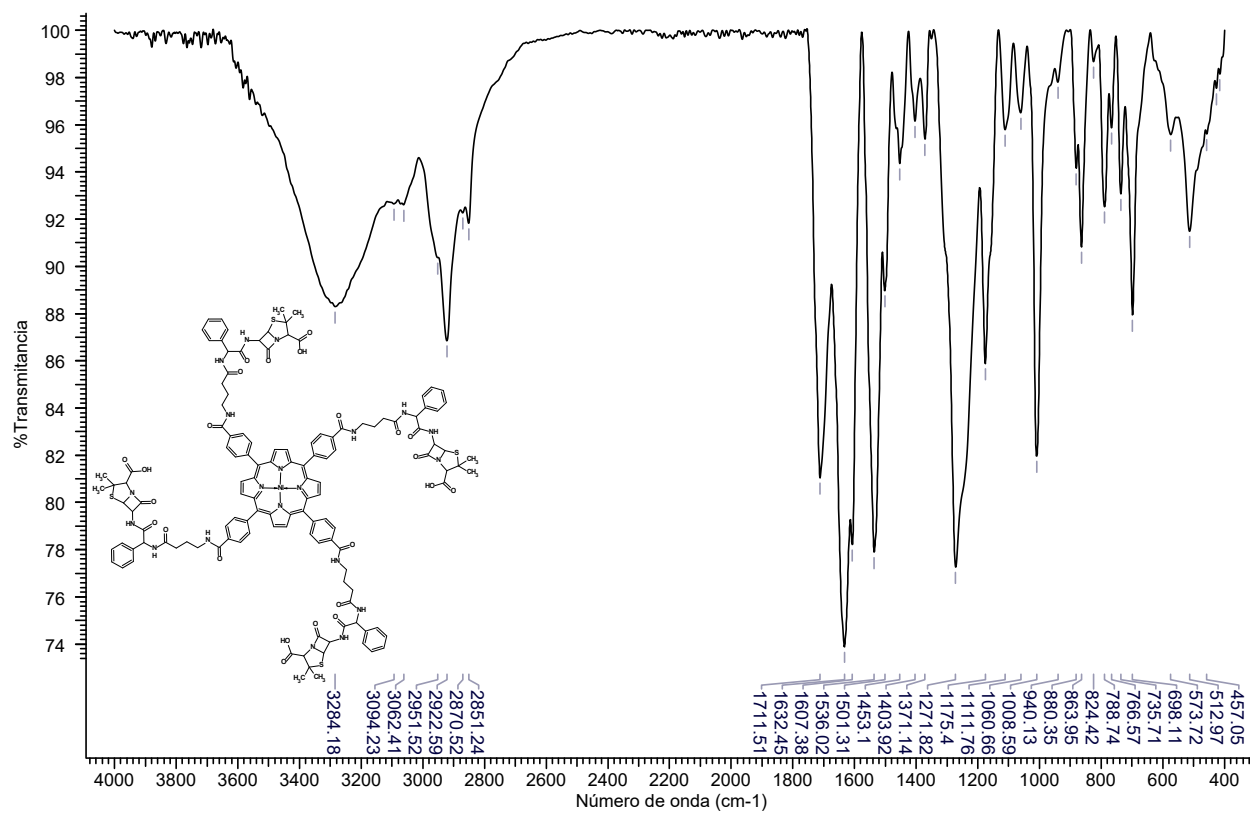
Apéndice 62

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Zn(II) del híbrido TCPP-Amp.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–C / C=C	284.8	41–44*	Estructura aromática conservada.
	C–S	285.6	≈6	Anillo β-lactámico intacto.
	C–N / C–O	286.4	≈28	Aumento ligero por interacción M–ligando.
	C=O	288.6	≈17	Carbonilos amida/β-lactámico.
O 1s	C=O	530.8–531.0	≈58	Ligera disminución de BE vs libre.
	O–C–N / O–S	532.4–532.6	≈35	Mayor participación de O en el entorno polar.
N 1s	N pirrólico	398.9	≈34	Coordinado a Zn(II).
	N amídico/lactámico	399.6	≈52	Desplazamiento leve (+0.1–0.2 eV).
	N protonado	401.0	≈14	Disminuye vs derivado libre.
S 2p	S 2p _{3/2}	163.8	—	Sin cambios apreciables.
Zn 2p	Zn 2p _{3/2}	1021.2	—	Zn(II)–N coordinado.
	Zn 2p _{1/2}	1044.3	—	Doble espín-órbita.

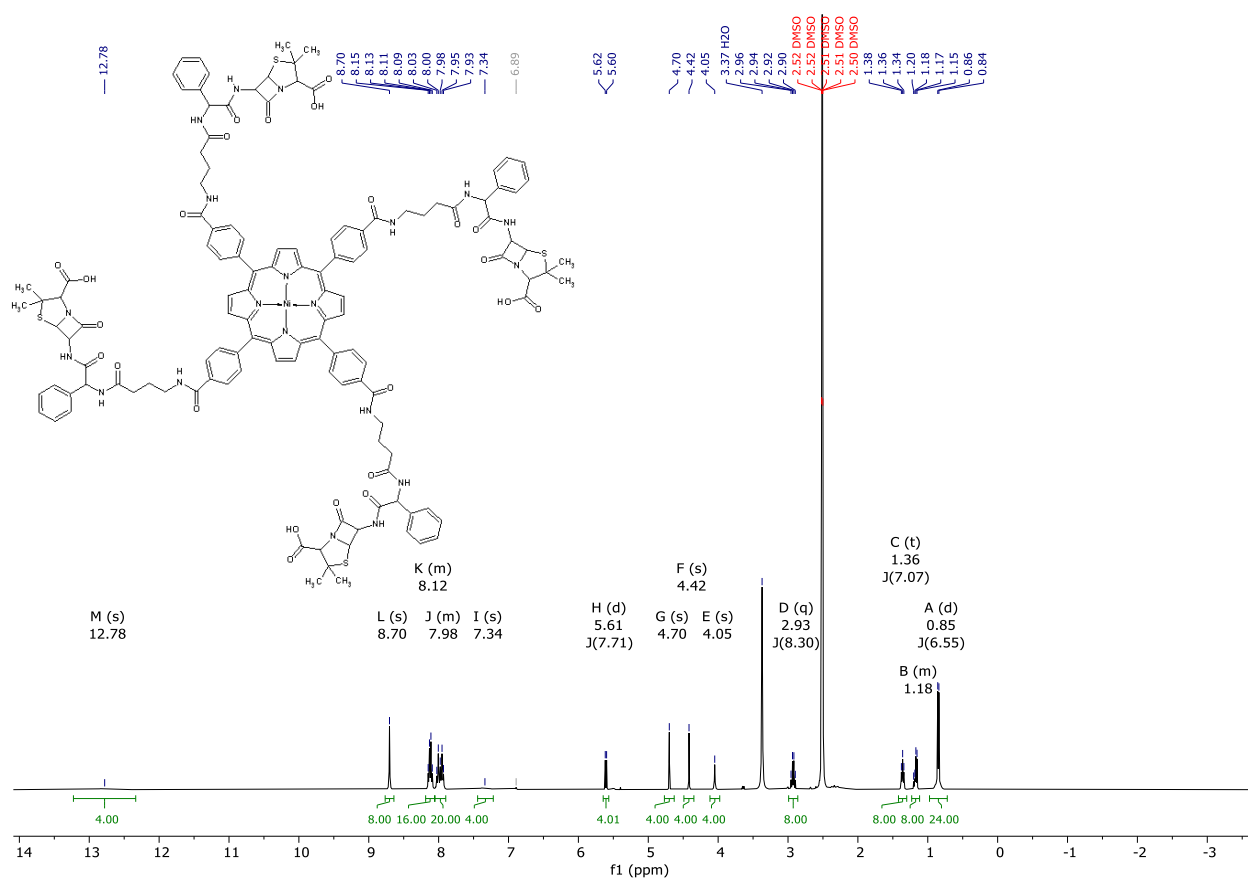
Apéndice 63

Espectro FTIR del complejo de Ni(II) del híbrido porfirina-ampicilina TCPPP-Amp.



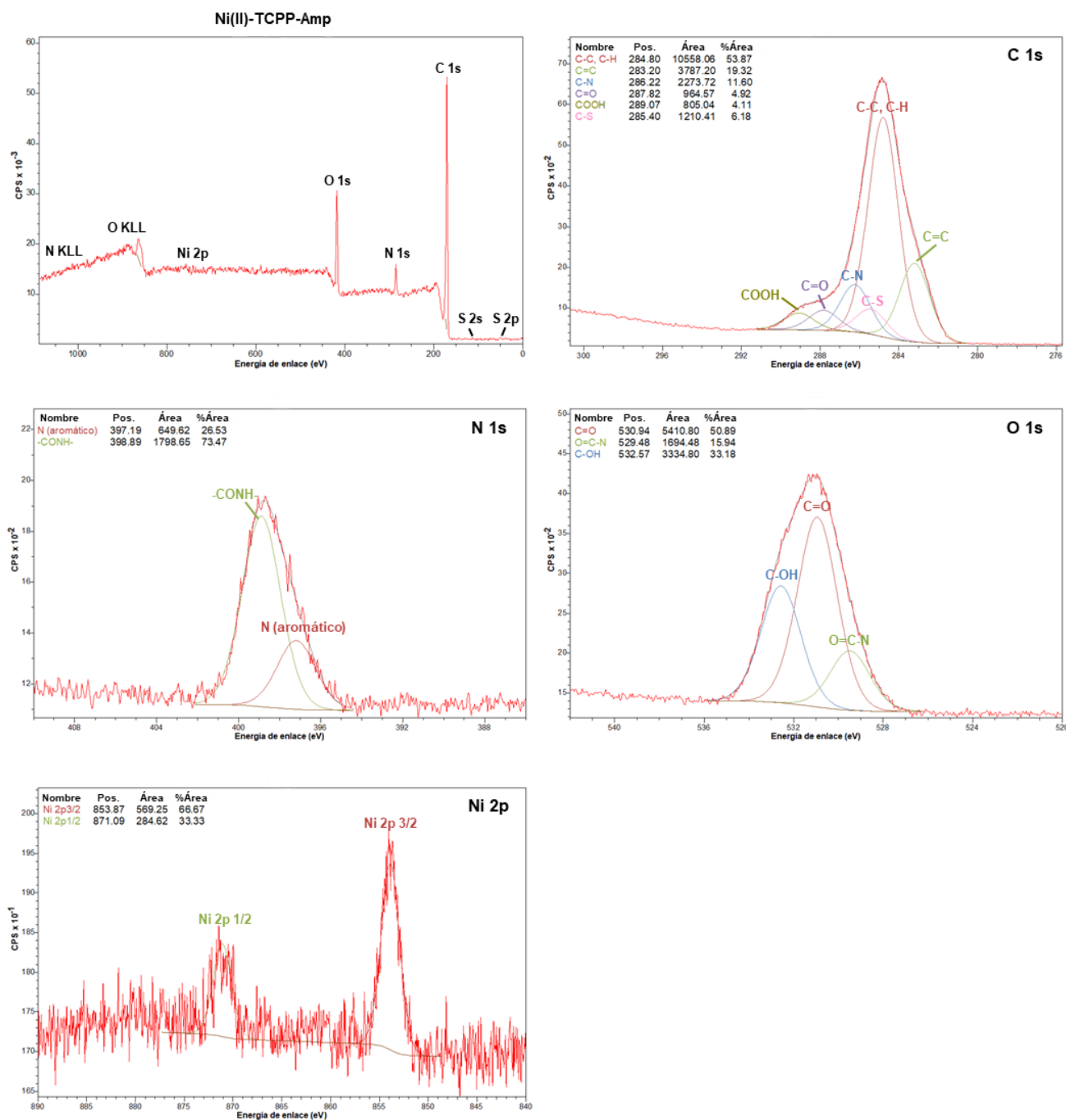
Apéndice 64

Espectro ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo de Ni(II) del híbrido TCPP-Amp.



Apéndice 65

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s y O 1s y Ni 2p del complejo de Ni(II) del híbrido TCPPP-Amp.



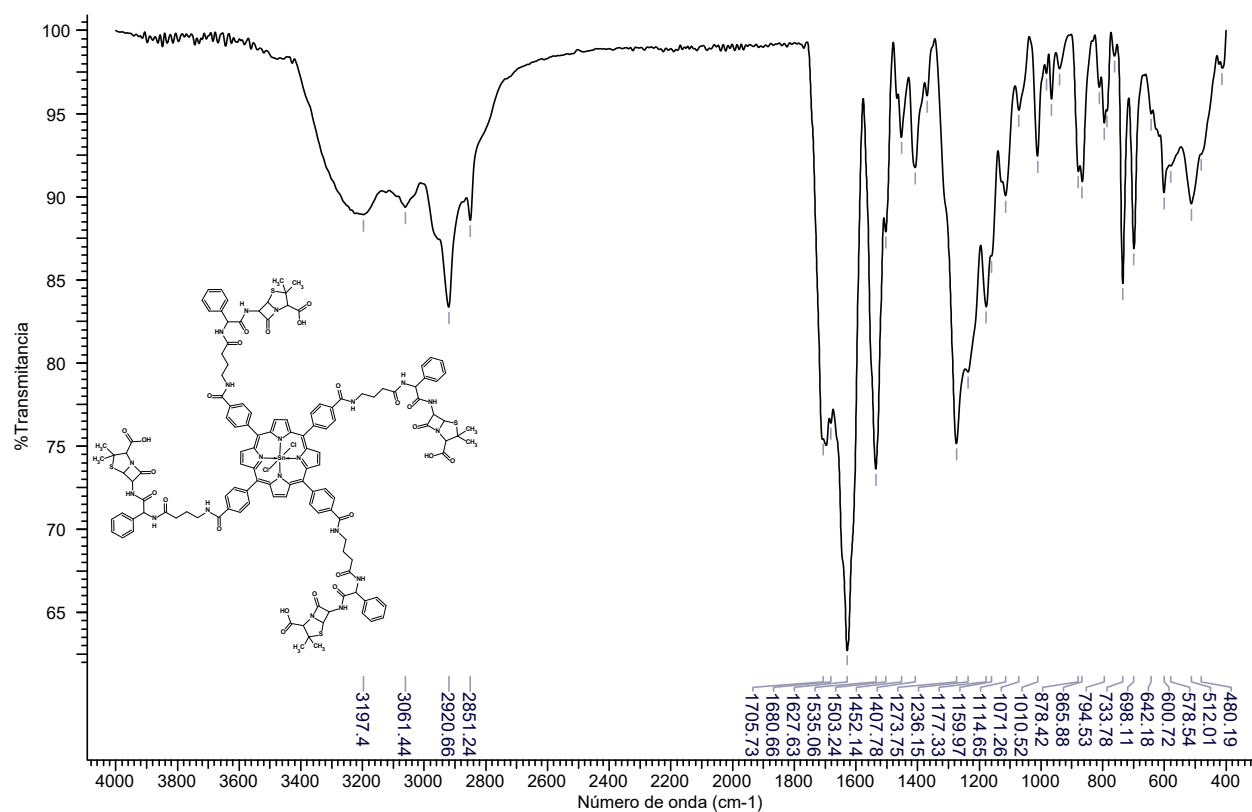
Apéndice 66

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Ni(II) del híbrido TCPP-Amp.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–C / C=C	284.8	~43	Marco aromático sin cambios mayores.
	C–S	285.6	~6	Anillo β -lactámico conservado.
	C–N / C–O	286.3– 286.4	~28	Leve incremento de contribución C–N.
	C=O	288.6– 288.7	~17	Carbonilos amida/lactámicos.
O 1s	C=O	530.9	~58	Ligeros ajustes por interacción Ni–ligando.
	O–C–N / O–S	532.4– 532.6	~35	—
N 1s	N pirrólico	398.8	~33	Coordinación Ni(II)–N.
	N amídico/lactámico	399.5	~54	Desplazamiento a mayor BE.
	N protonado	401.0– 401.1	~13	—
S 2p	S 2p _{3/2}	163.8	—	Integridad β -lactámica.
Ni 2p	Ni 2p _{3/2}	854.5	—	Ni(II)–N; satélite $\approx$ 861 eV.
	Ni 2p _{1/2}	872.0	—	—

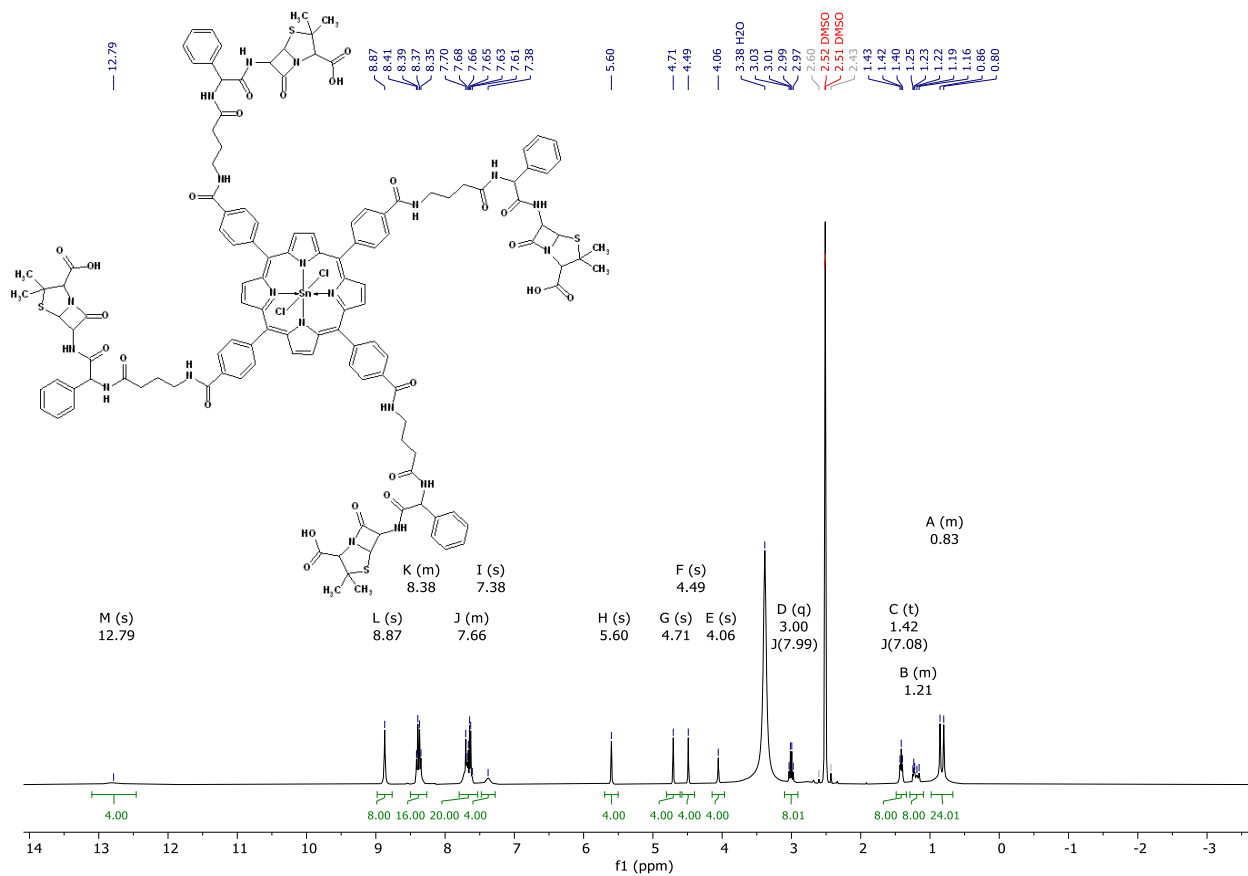
Apéndice 67

Espectro FTIR del complejo de Sn(IV) del híbrido porfirina-ampicilina TCPPP-Amp.



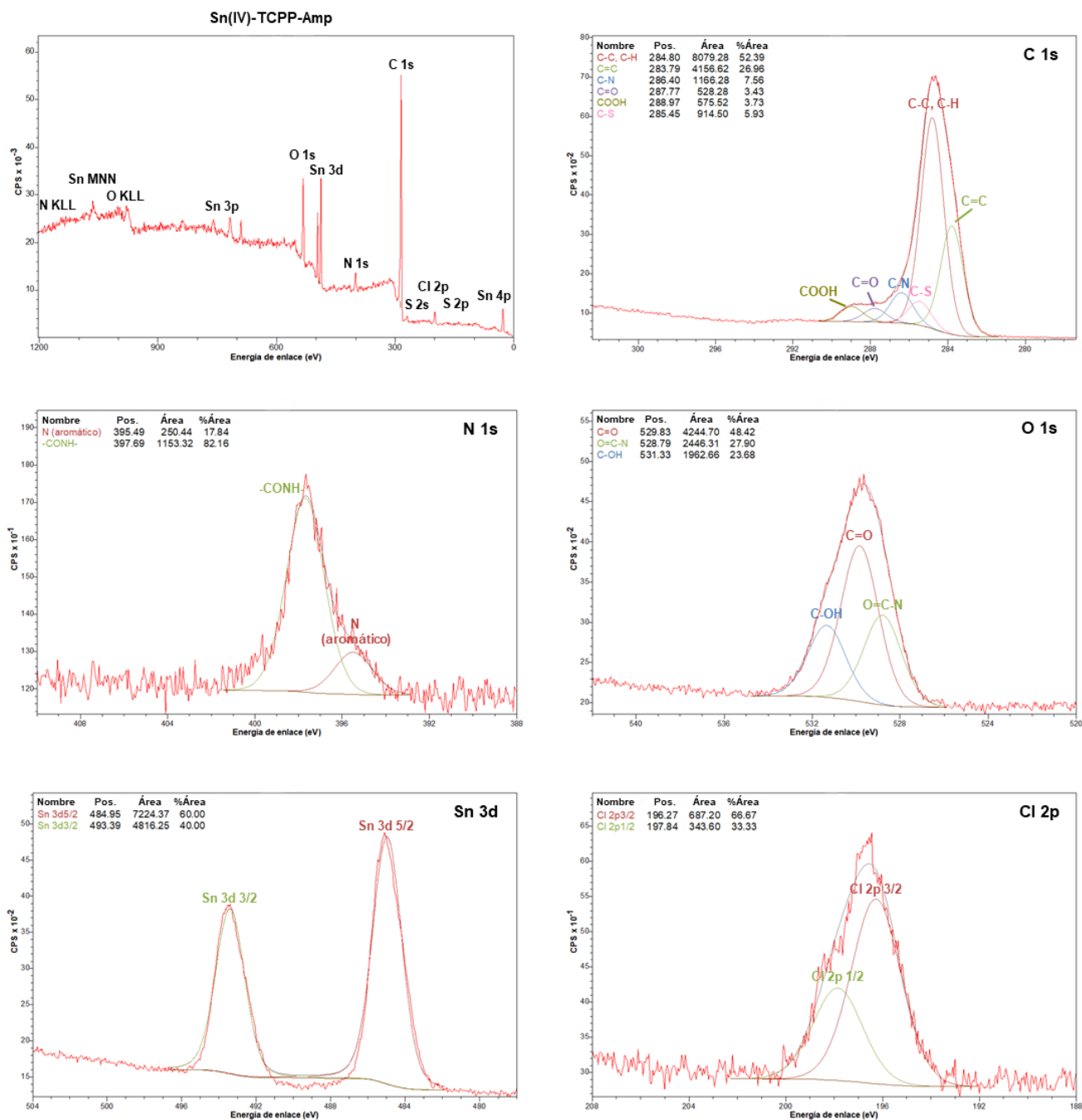
Apéndice 68

Espectro ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del complejo de Sn(IV) del híbrido TCPP-Amp.



Apéndice 69

Espectros XPS de barrido general y de alta resolución C 1s, N 1s, O 1s, Cl 2p y Sn 3d del complejo de Sn(IV) del híbrido TCPP-Amp.



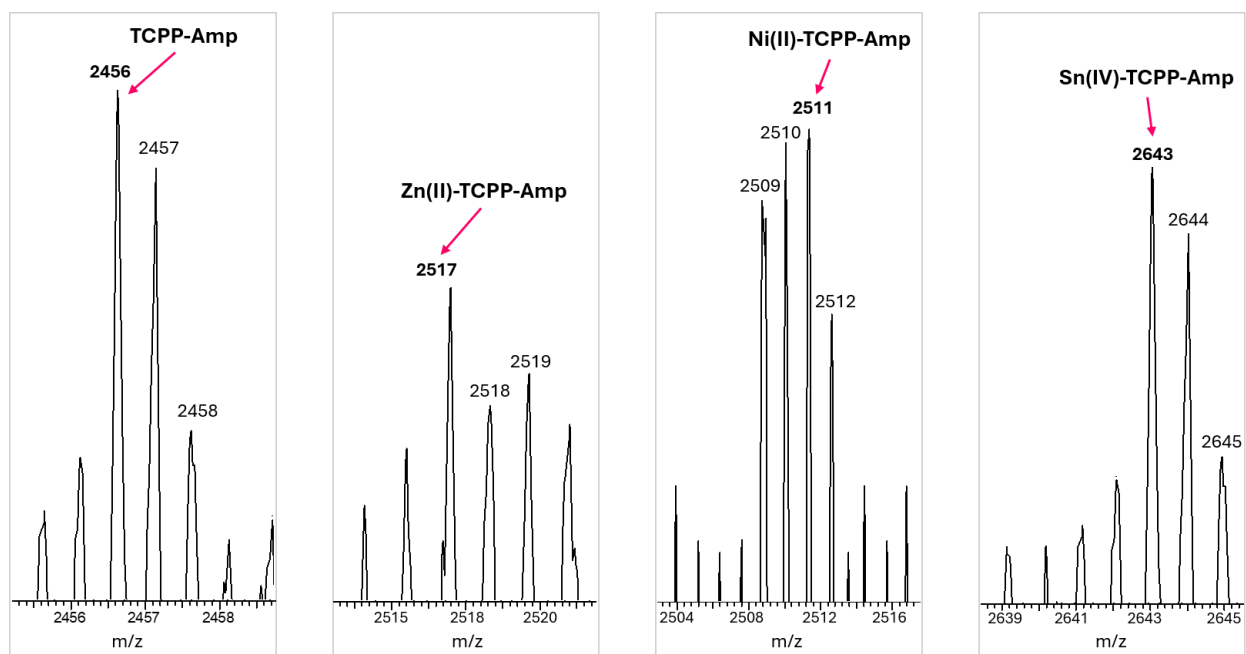
Apéndice 70

Valores de energías de enlace, área y observaciones generales de las componentes de los espectros XPS de alta resolución del complejo de Sn(IV) del híbrido TCPP-Amp.

Nivel	Componente / Asignación	BE (eV)	%Área	Observaciones
C 1s	C–C / C=C	284.8	~43	Esqueleto aromático.
	C–S	285.6	~6	C–S de ampicilina conservado.
	C–N / C–O	286.4	~28	Incremento leve por entorno más polar.
	C=O	288.6– 288.7	~17	Carbonilos amida/β-lactámico.
O 1s	C=O	530.9– 531.0	~59	Desplazamiento a menor BE (Sn–O axial).
	O–C–N / O–S	532.5	~34	Oxígeno en entorno mixto.
N 1s	N pirrólico	398.9	~33	Coordinado a Sn(IV).
	N amídico/lactámico	399.6– 399.7	~53	—
	N protonado	401.1	~14	—
S 2p	S 2p _{3/2}	163.8	—	Sin cambio.
Sn 3d	Sn 3d _{5/2}	487.0	—	Sn(IV)–N/O con entorno axial mixto.
	Sn 3d _{3/2}	495.4– 495.9	—	Separación espín-órbita típica.

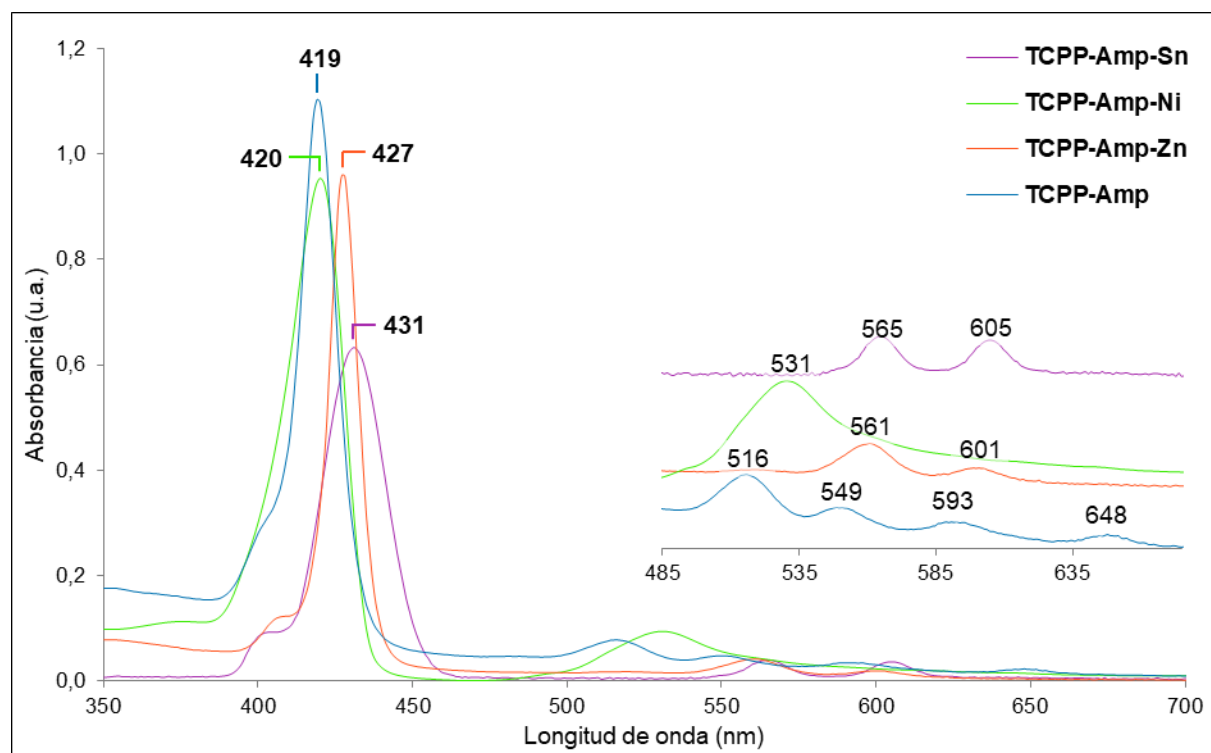
Apéndice 71

Espectros de masas del híbrido porfirina-ampicilina TCPPP-Amp y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV) registrados en modo positivo en matriz de CHCA y DHB.



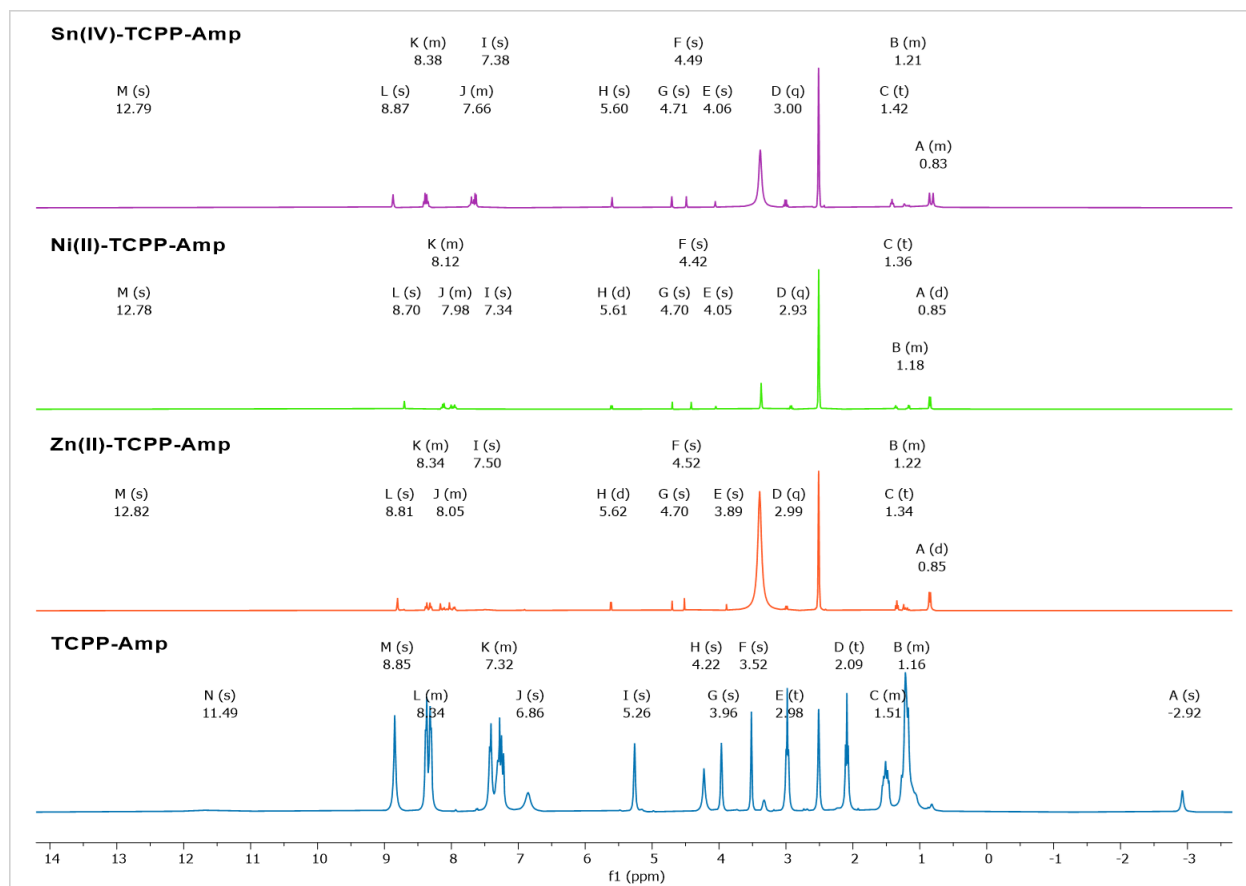
Apéndice 72

Espectros UV-Vis del híbrido TCPPP-Amp y sus complejos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV), registrados en metanol (1×10^{-5} M).



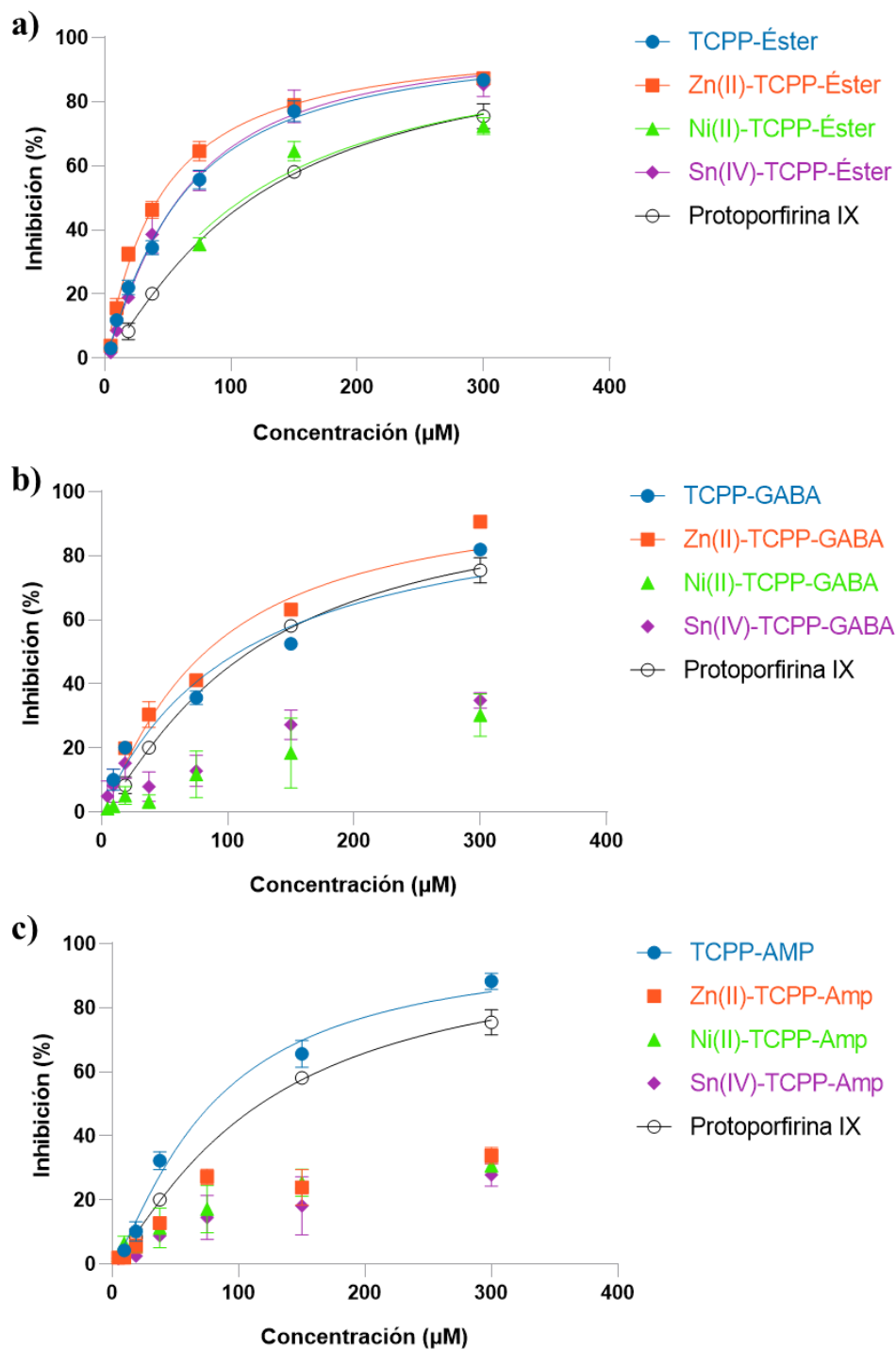
Apéndice 73

Espectros apilados de ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del híbrido TCPP–Amp y sus complejos metálicos de Zn(II), Ni(II) y Sn(IV).



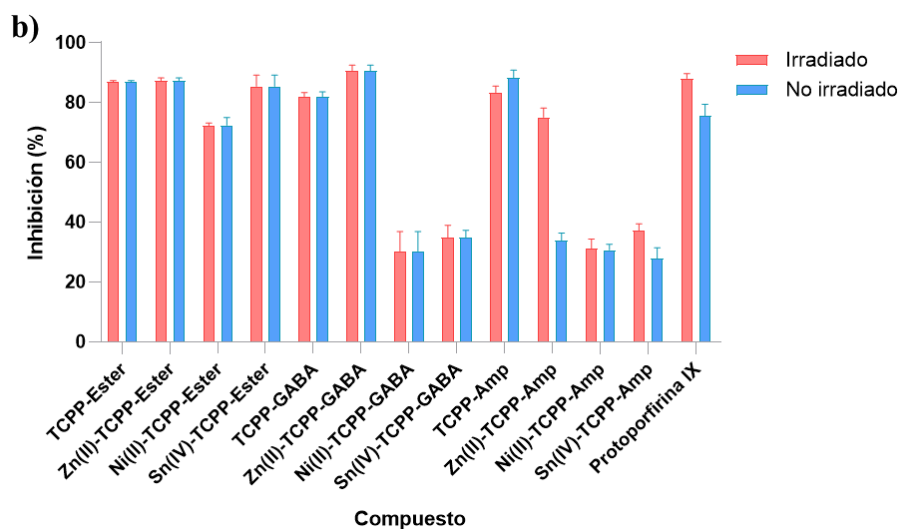
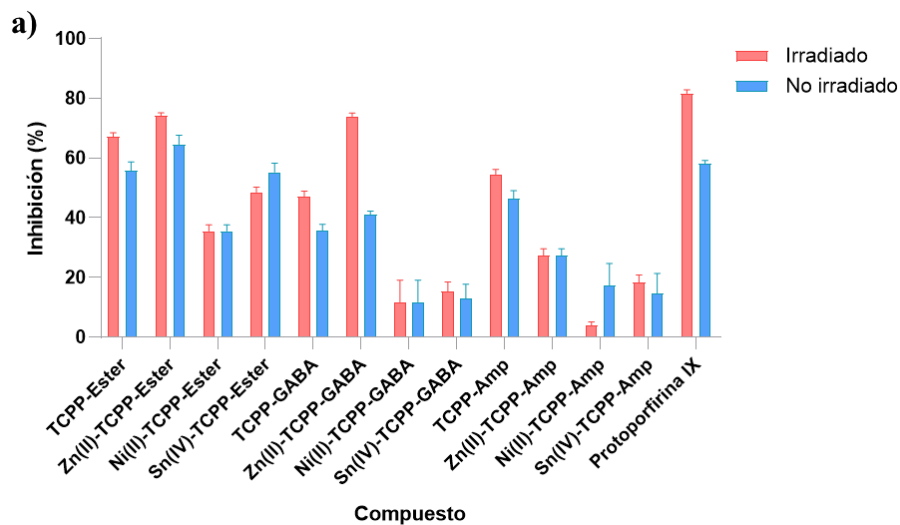
Apéndice 74

Curvas dosis-respuesta en ausencia de irradiación para las series a) TCPP-Éster, b) TCPP-GABA y c) TCPP-Amp y sus complejos metálicos frente a *Leishmania amazonensis*.



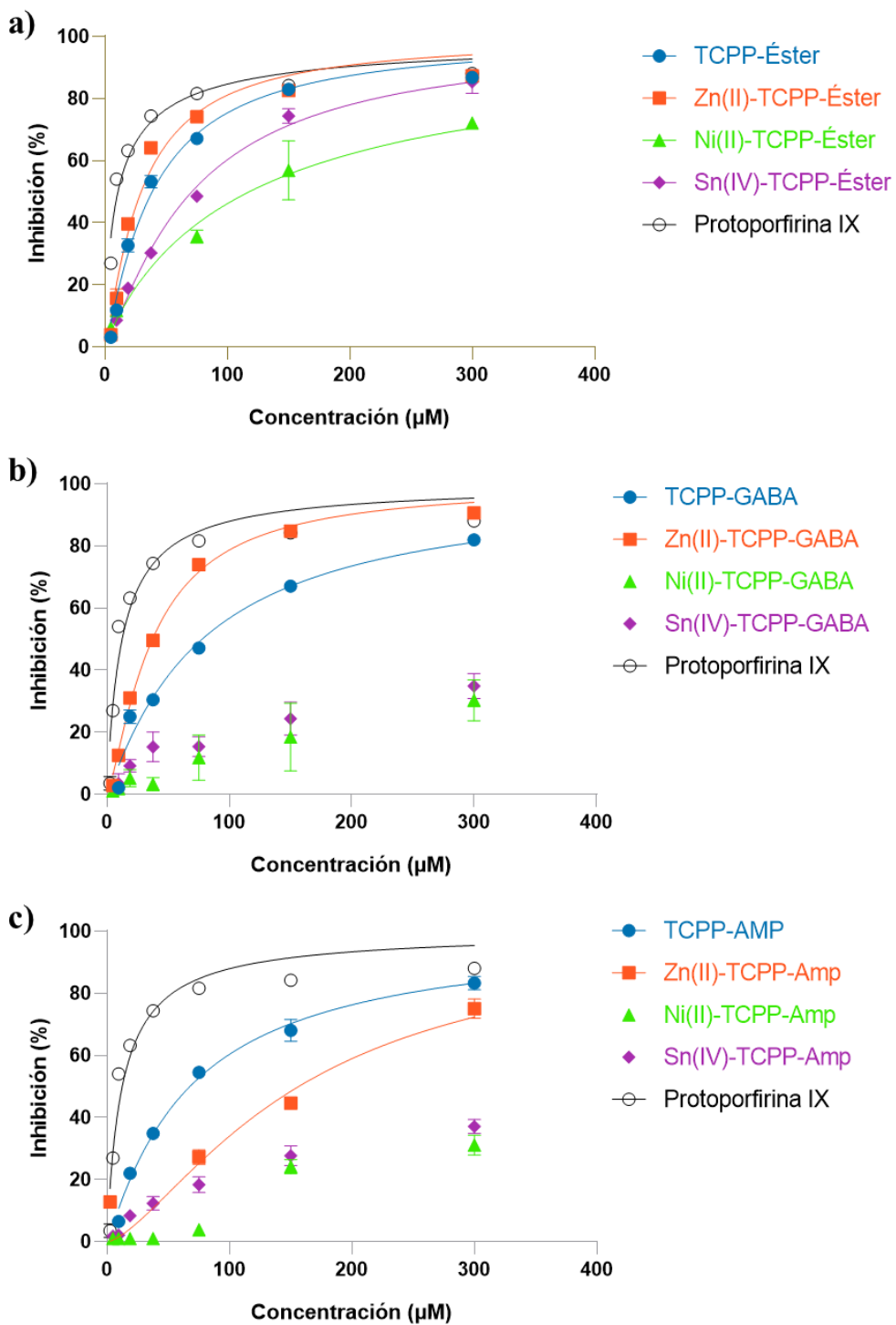
Apéndice 75

Comparación de la inhibición del crecimiento de *Leishmania amazonensis* en ausencia y presencia de irradiación ($\lambda = 597\text{--}752\text{ nm}$, $17\text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$) a $75\text{ }\mu\text{M}$ a) y $300\text{ }\mu\text{M}$ b).



Apéndice 76

Curvas dosis–respuesta con irradiación de luz para las series a) TCPP–Éster, b) TCPP–GABA y c) TCPP–Amp y sus complejos metálicos frente a *Leishmania amazonensis*.



Apéndice 77

Valores empleados para iniciar el tratamiento y ajuste de datos para las regiones de alta resolución de los espectros XPS.

Región	Componente	BE inicial (eV)	Ventana inicial de posición (eV)	FWHM inicial (eV)	Intervalo FWHM orientativo (eV)	Restricción de doblete	Observación
C 1s	C–C/C–H	284,80	Fijo como referencia	1,2–1,4	0,9–1,8	No aplica	Referencia de carga.
C 1s	C–N/C–O	286,1–286,6	±0,3 respecto al valor inicial	1,3–1,5	1,0–2,0	No aplica	Se separan los componentes solo si la resolución y la química lo permiten.
C 1s	C=O / O–C=O	287,8–289,1	±0,4 respecto al valor inicial	1,4–1,6	1,0–2,2	No aplica	La asignación depende de éster, amida, imida o ácido.
N 1s	N porfirínico coordinado M–N	398,2–399,0	±0,4	1,2–1,5	0,9–2,0	No aplica	Se uso la envolvente real y se comparó con la porfina libre.
N 1s	N–H/C=N porfirínico	399,0–400,2	±0,4	1,2–1,5	0,9–2,0	No aplica	En base libre pueden coexistir dos entornos de N.
N 1s	N amida/imida	399,7–401,0	±0,4	1,3–1,6	1,0–2,2	No aplica	Se aplicó a TCPP–GABA, TCPP–Amp y grupos imida.
O 1s	O carbonílico	530,8–532,0	±0,4	1,3–1,6	1,0–2,2	No aplica	Se revisó el solapamiento de carbonilos químicamente distintos.
O 1s	O–C / O–C=O	532,0–533,6	±0,4	1,4–1,7	1,0–2,3	No aplica	Asignación dependiente de éster/ácido y especies adsorbidas.
Zn 2p	2p _{3/2} / 2p _{1/2}	1021,1 / 1044,2	±0,3 para el pico principal	1,5–1,8	1,2–2,2	ΔSO ≈ 23,0 eV; áreas 2:1; FWHM ligados	El Zn 2p en su entorno Zn(II).
Ni 2p	2p _{3/2} / 2p _{1/2}	854,5–856,0 / 871,8–873,3	±0,5	1,5–2,0	1,2–2,8	ΔSO ≈ 17,3 eV; FWHM ligados pero no estrictas	Se incluyen satélites shake-up según los datos y el estado químico Ni(II).
Sn 3d	3d _{5/2} / 3d _{3/2}	486,5–487,2 / 494,9–495,6	±0,3	1,3–1,7	1,0–2,2	ΔSO ≈ 8,4–8,5 eV; áreas 3:2; FWHM ligados	Se revisó cualquier separación cercana a 9,4 eV.
Cl 2p	2p _{3/2} / 2p _{1/2}	198–202 / +1,6 eV	±0,4	1,1–1,5	0,9–2,0	ΔSO ≈ 1,6 eV; áreas 2:1; FWHM ligados	La posición concreta se ubicó si correspondía a cloruro, contraíón o Cl coordinado.