



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

SÍNTESIS DE PERILENODIIMIDAS COMO PRECURSORES DE BIOMARCADORES FLUORESCENTES

Memoria de Trabajo Fin de Grado

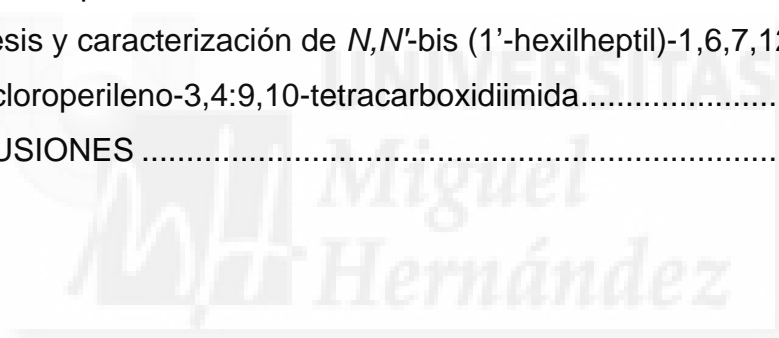
Sant Joan d'Alacant

Junio 2015

Autora: Agustina Ruiz Gómez
Modalidad: Experimental
Tutor/es: Dr. Enrique Font Sanchis
Dr. Fernando Fernández Lázaro

ÍNDICE

I. RESUMEN	1
II. ANTECEDENTES	2
III. OBJETIVOS	8
IV. EXPERIMENTAL	9
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
1. Síntesis y caracterización de <i>N,N'</i> -bis(1'-etilpropil)perileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida.....	14
2. Síntesis y caracterización de <i>N,N'</i> -bis(1'-etilpropil)-1,7-dibromoperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida	19
3. Síntesis y caracterización de <i>N,N'</i> -bis (1'-hexilheptil)-2,5,8,11-tetrabromoperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida	24
4. Síntesis y caracterización de <i>N,N'</i> -bis (1'-hexilheptil)-1,6,7,12-tetracloroperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida.....	29
VI. CONCLUSIONES	35



I. RESUMEN

Los marcadores fluorescentes son moléculas que pueden unirse a otras sin afectar a sus propiedades y reactividad, permitiéndonos conocer las interacciones de estas últimas con su entorno.

La diimida del ácido perilenotetracarboxílico (PDI) presenta una gran estabilidad fotoquímica y es altamente fluorescente, por lo que sus derivados podrían ser utilizados como precursores de marcadores fluorescentes.

En la presente memoria se describe la síntesis de distintos derivados de PDI mediante reacciones de adición-eliminación, así como la preparación de un derivado tetrabromado por catálisis con cobre (II).

El seguimiento de las reacciones y la separación de los productos se han llevado a cabo por cromatografía en capa fina y cromatografía en columna, respectivamente.

Todos los productos se han caracterizado por resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), espectroscopía infrarroja (IR) y espectroscopía de fluorescencia.

II. ANTECEDENTES

Dentro de los procesos fotofísicos encontramos el fenómeno de fluorescencia, que se podría definir como la propiedad de una molécula para emitir luz cuando es excitada. Además, existen moléculas cuya vía mayoritaria de desactivación, tras ser excitadas, es la emisión de luz.

Es por ello que si una molécula altamente fluorescente (marcador fluorescente) se une químicamente a una biomolécula que no lo es, sin afectar a sus propiedades y reactividad, vamos a poder conocer las interacciones de dicha biomolécula con su entorno.

En los últimos años, el uso de marcadores hidrosolubles fluorescentes para células, anticuerpos y ADN se ha expandido rápidamente.¹ Aunque hay gran variedad de cromóforos solubles en agua disponibles comercialmente hoy en día, la mayoría de ellos exhiben rendimientos cuánticos de fluorescencia y/o estabilidades fotoquímicas relativamente bajos.²

Los marcadores fluorescentes ideales deben tener las siguientes características:

1. Buena solubilidad en agua.
2. Alto rendimiento cuántico de fluorescencia.
3. Alta estabilidad química.
4. Fotoestabilidad.
5. Carencia de toxicidad.
6. Buena biocompatibilidad.
7. Posible viabilidad comercial y producción escalable.

¹ L. E. Guo, J. F. Zhang, X. Y. Liu, L. M. Zhang, H. L. Zhang, J. H. Chen et al, *Anal. Chem.* **2015**, *87*, 1196; A. Desvergne, Y. Cheng, S. Grosay-Gaudrel, X. Maréchal, M. Reboud-Ravaux, E. Genin et al, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9211; J. Luo, R. Uprety, Y. Naro, C. Chou, D. P. Nguyen, J. W. Chin et al, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 15551; M. V. Sednev, C. A. Wurm, V. N. Belov, S. W. Hell, *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 690; J. Xin, X. Zhang, J. Liang, L. Xia, J. Yin, Y. Nie et al, *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 1134.

² J. Qu, C. Kohl, M. Pottek, K. Müllen, *Angew. Chem. Int.* **2004**, *43*, 1528.

Debido a sus excelentes estabilidades química, térmica y fotoquímica, los perilenos son utilizados ampliamente como colorantes comerciales. Fueron sintetizados por primera vez en 1912, y están compuestos por dos naftalenos unidos por sus posiciones α . En la **Figura 1** se observa la estructura básica de un perileno y su derivado mucho más fotoestable, la diimida del ácido perileno-tetracarboxílico, también denominada como perilenodiimida (PDI).³

Por su brillante color, fuerte absorción y fluorescencia se han investigado en procesos de reprografía, células fotovoltaicas y diodos emisores de luz, entre otras aplicaciones. Dadas sus propiedades únicas, también deberían ser excelentes sondas biológicas. Sin embargo la retención de alta fluorescencia en medio acuoso es una cuestión crítica.

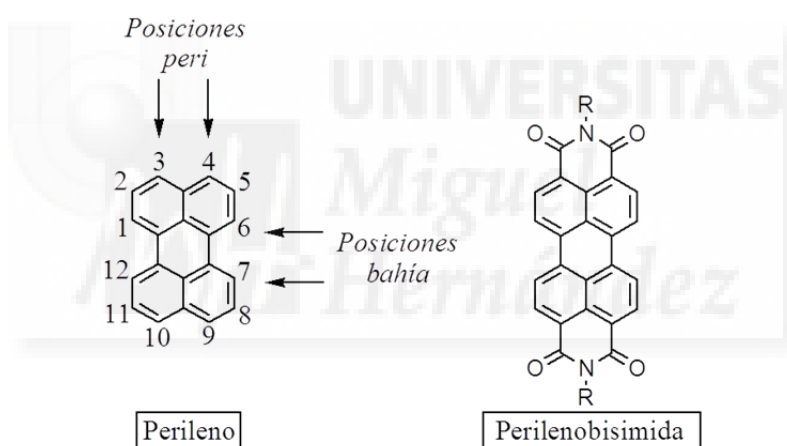


Figura 1. Estructura básica de los perilenos.

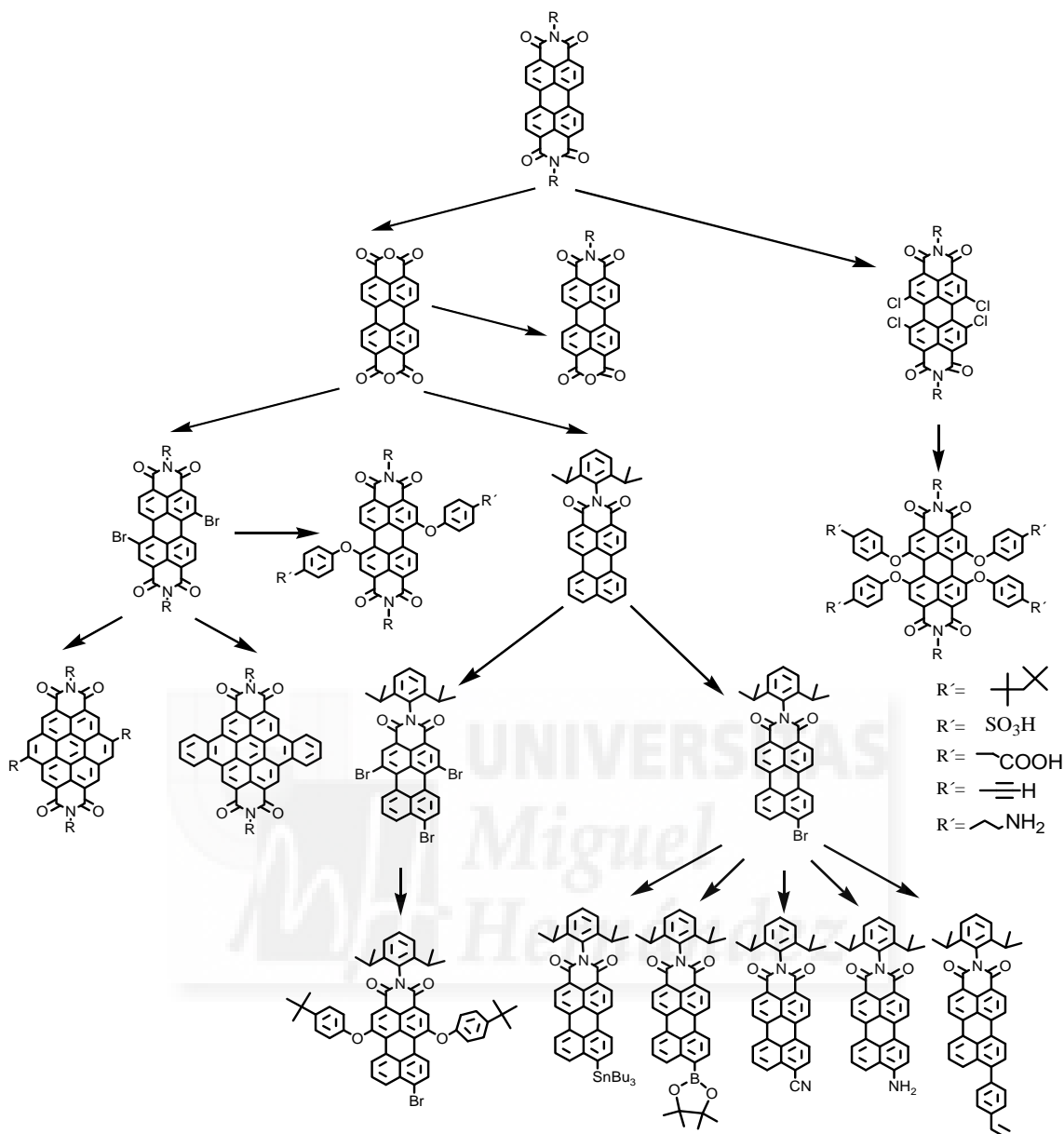
Los perilenos muestran gran tendencia al apilamiento (fenómeno de π -stacking), haciéndolos insolubles en disolventes orgánicos. Este apilamiento puede evitarse si se utilizan sustituyentes sobre las imidas especialmente voluminosos, debido al impedimento estérico que originan.⁴

La perilenodiimida presenta un color naranja brillante y una intensa fluorescencia con un rendimiento cuántico cercano al 100% en disolución.⁵

³ M. Kardos, D.R.P. 276357, 1913, [M. Kardos, *Chem. Abstr.* **1914**, 8, 22317]; M. Kardos, D.R.P. 276956, **1913**, [M. Kardos, *Chem. Abstr.* **1915**, 9, 6398].

⁴ H. Langhals, *Chem. Ber.* **1985**, 118, 4641.

⁵ G. Seybold, G. Wagenblast, *Dyes Pigm.* **1989**, 11, 303.



Esquema 1. Resumen de las estrategias sintéticas de perilenos.

La PDI sin sustituyentes en las posiciones bahía representa la estructura clave para la formación de nuevos cromóforos.⁶ Como se observa en el **Esquema 1**, la PDI puede ser tetraclorada en las posiciones bahía y, por sustitución nucleofílica, puede reaccionar con derivados fenólicos, formando numerosos derivados tetrasustituidos. Otra vía para funcionalizar perilenos es introducir átomos de bromo en las posiciones bahía, pudiendo resultar en reacciones

⁶ A. Herrmann, K. Müllen, *Chem. Lett.* **2006**, 35, 978; Z. Chen, A. Lohr, C. R. Saha-Möller, F. Würthner, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 564; H. Langhals, *Helv. Chim. Acta.* **2005**, 88, 1309; M. J. Ahrens, L. E. Sinks, B. Rytchinski, W. Liu, B. A. Jones, J. M. Giaino, A. V. Gusev, A. J. Goshe, D. M. Tiede, M. R. Wasielewski. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8284.

de sustitución nucleofílica aromática o en reacciones de acoplamiento entre carbonos sp^2 .

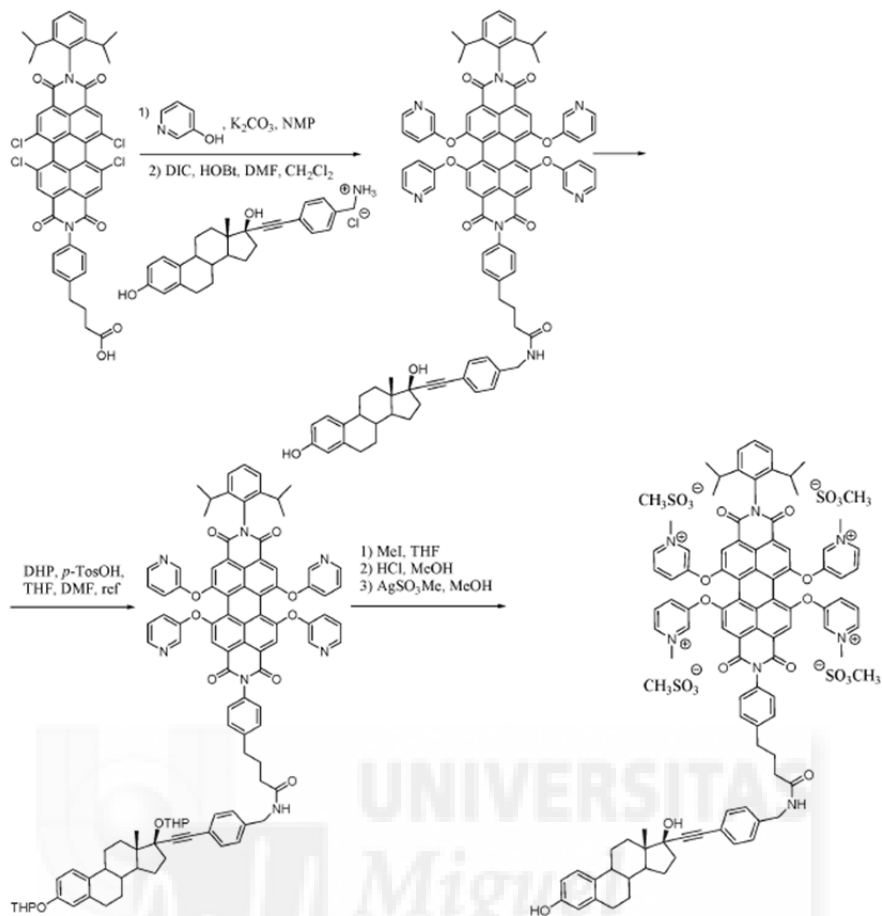
Hasta ahora, se han descrito pocos derivados de la PDI solubles en agua, mostrando escasa solubilidad y/o fluorescencia en este disolvente, con rendimientos cuánticos de fluorescencia del 10%, debido a la agregación de los perilenos.

Se puede aumentar la solubilidad de los derivados de PDI en disolventes orgánicos adicionando sustituyentes en las posiciones bahía. Por otro lado, la solubilidad en agua se logra mediante la introducción de grupos cargados. Si se combinasen ambas características estructurales, se podrían sintetizar PDIs fotoestables y altamente fluorescentes solubles en agua.

En este sentido, se han sintetizado conjugados PDI-estradiol para el estudio específico de los receptores estrogénicos.⁷

La ruta sintética del conjugado PDI-estradiol está representada en el **Esquema 2**. La tetracloroperilenodiimida reacciona con 3-hidroxipiridina para dar el derivado tetrapiridiloxi sustituido. La condensación con la molécula de estradiol en presencia de diisopropilcarbodiimida y 1-hidroxibenzotriazol produce el conjugado PDI-estrógeno. Finalmente, tras la protección con dihidropirano de los grupos hidroxilos y la metilación, seguida de desprotección e intercambio aniónico, se obtiene el conjugado PDI-estradiol.

⁷ F. J. Céspedes-Guirao, A. B. Roperó, E. Font-Sanchis, A. Nadal, F. Fernández-Lázaro, A. Sastre-Santos, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 8307-8308.



Esquema 2. Síntesis del conjugado PDI-estradiol.

Además, para demostrar la utilidad biológica del conjugado PDI-estradiol se estudió éste en células portadoras de receptores estrogénicos. MCF7 es una línea celular derivada del cáncer de mama humano, la cual expresa altos niveles de estos receptores. Según las imágenes obtenidas (**Figura 2**), se observó que el receptor se encontraba en citoplasma y núcleo (alta fluorescencia en estas zonas). El compuesto tiñó las células positivas para el receptor estrogénico mientras que en las negativas sólo aparecía una débil tinción.

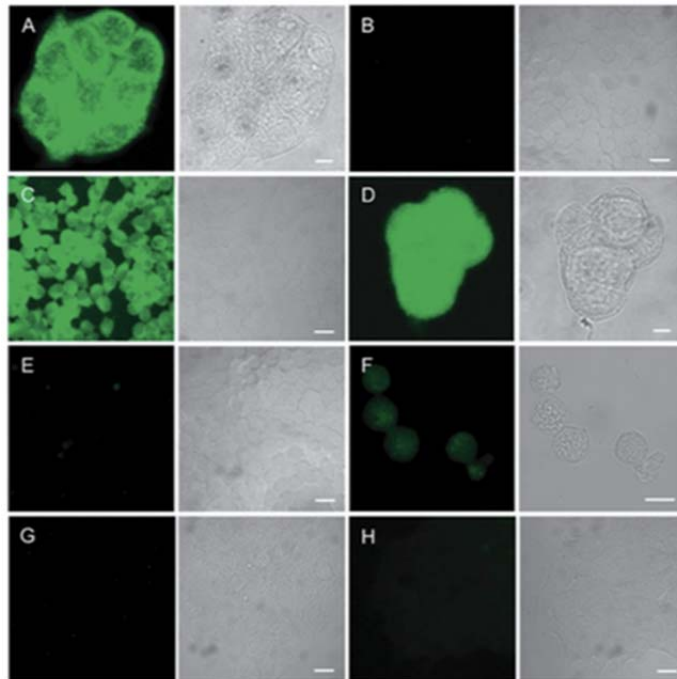


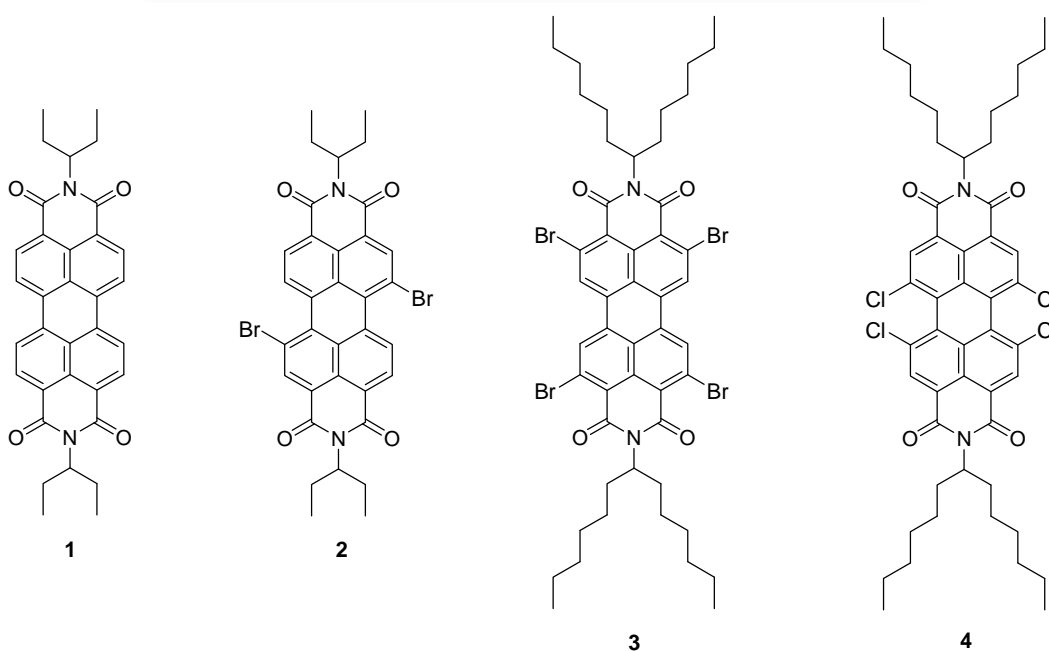
Figura 2. (A): Inmunocitoquímica de célula MCF7 positiva para receptor estrogénico (ER) usando anticuerpo anti-receptor estrogénico α (anti-ER α) unido a fluoróforo. (B): Control negativo en ausencia de PDI-estradiol en células MCF7. (C): Fluorescencia a concentración 100 nM de PDI-estradiol en células MCF7. (D): Célula MCF7 a mayor zoom. (E): Imagen a concentración 100 nM de estradiol libre. (F): Células β pancreáticas en presencia de PDI-estradiol a 100 nM. (G): Inmunocitoquímica usando un anticuerpo anti-ER α en células negativas para receptor estrogénico. (H): Células negativas para receptor estrogénico en presencia de PDI-estradiol.⁷

III. OBJETIVOS

El objetivo general de esta memoria es sintetizar y caracterizar PDIs, en los que se han introducido distintos sustituyentes, de manera que estas moléculas pueden ser utilizadas como precursores de biomarcadores moleculares.

Los objetivos concretos se describen a continuación:

1. Síntesis y caracterización del perileno **1** mediante una reacción de adición-eliminación de la 1-etilpropilamina y el perilenodianhídrido (PDA).
2. Síntesis y caracterización del perileno **2** mediante una reacción de adición-eliminación de la 1-etilpropilamina y el derivado dibromado del PDA.
3. Síntesis y caracterización del perileno **3** mediante intercambio boronato-bromo con cobre (II) como catalizador.
4. Síntesis y caracterización del perileno **4** mediante una reacción de adición-eliminación del derivado tetraclorado del PDA con la 1-hexilheptilamina.



IV. EXPERIMENTAL

Los reactivos y disolventes utilizados, orgánicos e inorgánicos, se obtuvieron de casas comerciales especializadas y se utilizaron sin ningún tipo de purificación adicional.

Los disolventes empleados se utilizaron en todas las reacciones en “grado síntesis”.

El seguimiento de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina analítica, utilizando cromatofolios de gel de sílice de tipo 60F254, con un espesor de 0,2 mm. Se visualizaron con una lámpara de UV (254 nm y 365 nm) modelo Vilder Lourmat.

La purificación y separación de los distintos productos mediante cromatografía en columna se realizó utilizando como fase estacionaria SiO₂ de tipo 60 A, con tamaño de partícula de 40-63 μm, indicándose el eluyente en cada caso.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (¹H-RMN) se registraron en un espectrofotómetro BRUKER AC-300. Los valores de los desplazamientos químicos se dan en unidades δ (ppm). Como referencia interna se usó tetrametilsilano (TMS).

Los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (IR-TF) se registraron en pastilla de bromuro de potasio (KBr), empleando un espectrofotómetro Nicolet Impact 400D.

Los espectros de absorción ultravioleta-visible (UV-vis) se obtuvieron en disolución, mediante un espectrofotómetro Helios Gamma, empleando disolventes de “grado espectroscópico”.

Los espectros de emisión fluorescente se registraron con un espectrofotómetro Perkin Elmer LS 55.

Técnicas experimentales

- Cromatografía en capa fina analítica:

La cromatografía es un método físico de separación de los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria (adsorbente) depositada sobre una lámina metálica, formando una capa fina, y una fase móvil (eluyente), la cual asciende a lo largo de la lámina por capilaridad, desplazando a los componentes de la mezcla a diferentes velocidades, debido a la polaridad de los componentes y a la naturaleza del disolvente, lo que provoca su separación.

Para llevar a cabo una cromatografía en capa fina se debe seguir el siguiente procedimiento:

1. Se traza con un lápiz una línea a 1 cm de la base de la lámina y tantos puntos sobre la línea como muestras se vayan a aplicar, dejando espacio suficiente entre ellos.
2. Se disuelven las muestras a analizar, preferiblemente en un disolvente volátil.
3. Con ayuda de un capilar se depositan alícuotas de las disoluciones sobre los puntos marcados previamente.
4. En la cubeta de cromatografía se añade el eluyente (fase móvil), el nivel de éste debe quedar por debajo de la línea trazada en la lámina.
5. Se introduce la lámina en posición vertical en la cubeta y se apoya contra la pared. La cubeta debe permanecer cerrada durante la elución.
6. El disolvente ascenderá por capilaridad. Cuando el frente esté próximo al borde superior de la lámina, ésta se saca y se marca con lápiz la distancia recorrida por el disolvente antes de que se evapore.
7. Se deja evaporar el disolvente.

- Cromatografía en columna:

Es utilizada para la purificación y separación de compuestos orgánicos. En este caso, la fase estacionaria (adsorbente) se deposita en el interior de una columna de vidrio que termina en un estrechamiento con una llave, y se impregna con la fase móvil (eluyente). La mezcla a separar se deposita sobre la parte superior de la fase estacionaria, y la fase móvil atraviesa el sistema. Los compuestos eluidos, disueltos en la fase móvil, van saliendo de la columna y se recogen en fracciones. Los menos polares, que son los que se retienen poco en el adsorbente, son los primeros en salir. Los polares quedan más retenidos y para su elución generalmente es necesario incrementar la polaridad del disolvente.

La elución de la cromatografía puede realizarse por gravedad o a media presión. En nuestro caso, hemos elegido la segunda opción, utilizando una línea de aire comprimido.

La elección del disolvente adecuado para optimizar la separación de los componentes de la mezcla se lleva a cabo mediante cromatografía analítica en capa fina.

El procedimiento experimental es el siguiente:

1. Se fija la columna a un soporte utilizando dos pinzas. Se añaden 1-2 cm de arena sobre la placa porosa de la parte inferior de la columna.
2. Se prepara una suspensión con el adsorbente y el disolvente, y se vierte en el interior de la columna, abriendo la llave para permitir la salida del disolvente.
3. Se añaden 1-2 cm de arena para proteger el frente del adsorbente. La superficie superior del adsorbente y la franja de arena deben quedar completamente horizontales. El disolvente debe quedar a la altura del nivel de arena para evitar la aparición de grietas y burbujas de aire en el adsorbente.

4. Se deposita con una pipeta la mezcla a separar, dejándola caer por las paredes e intentando conseguir una franja horizontal uniforme.
 5. Se añade el disolvente con cuidado por la pared de la columna hasta llenarla.
 6. Se abre la llave y se conecta el compresor a la cabeza de la columna. Los productos se recogen en fracciones con ayuda de erlenmeyers. Los componentes de la mezcla eluyen en orden de polaridad creciente.
 7. Las fracciones recogidas se analizan mediante cromatografía en capa fina para comprobar su contenido y pureza y para seguir el curso de la separación. Las fracciones que tienen el mismo contenido se juntan en el mismo matraz y se evapora el disolvente en el rotavapor.
- Espectroscopía infrarroja:
- Los espectros de las muestras a analizar se registrarán preparando una pastilla con un material inorgánico transparente en la región de interés, en este caso se utiliza bromuro de potasio.
1. En un mortero de ágata se pulveriza una pequeña cantidad de muestra con exceso de KBr.
 2. Se coloca una capa uniforme de la mezcla sobre el soporte de acero inoxidable y, sobre él, el émbolo.
 3. Se introduce el conjunto en la prensa y se hace presión durante 10 min.
 4. Se retira el émbolo del soporte, se saca la pastilla y se coloca en el soporte del espectrofotómetro para registrar su espectro.
- Espectroscopía ultravioleta-visible:
- El registro de un espectro ultravioleta requiere la preparación de una disolución de concentración 10^{-5} M. Se han utilizado cubetas de cuarzo de forma rectangular, con dos superficies transparentes y dos esmeriladas, colocadas en caras opuestas.

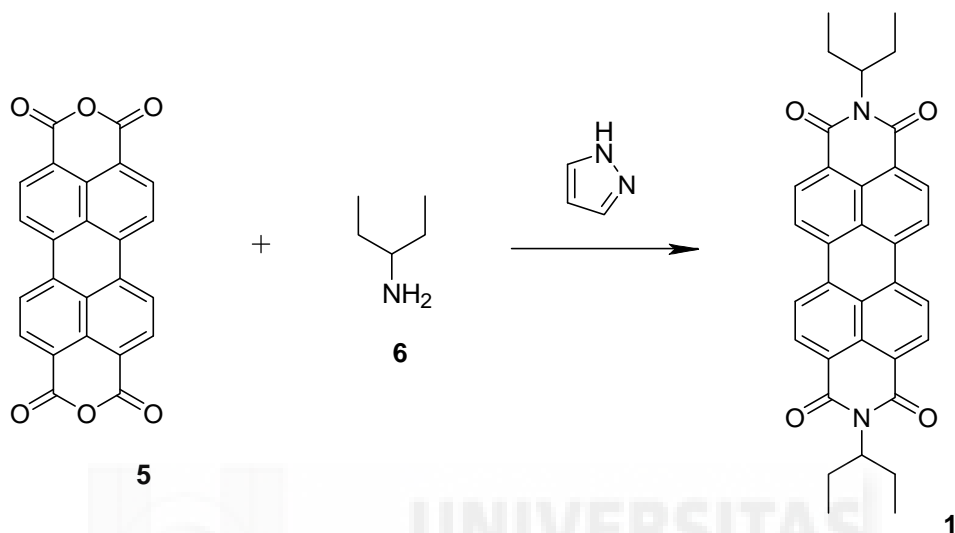
El procedimiento a seguir es el siguiente:

1. Se pesa la muestra a analizar y se disuelve en diclorometano.
2. Se realizan las diluciones adecuadas para obtener una disolución de concentración 10^{-5} M.
3. Con ayuda de una pipeta se introduce la disolución de la muestra en la cubeta, limpiando las caras transparentes, antes de introducirla en el espectrofotómetro. Se utiliza diclorometano como blanco.



V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Síntesis y caracterización de *N,N'*-bis(1'-etilpropil)perileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida.



Esquema 3. Ruta sintética del compuesto 1.

En un matraz se mezclan 3,8 g de PDA **5** (9,66 mmol), 2 g de la amina **6** (23 mmol) y 26 g de imidazol. Se calienta a 160°C bajo atmósfera de argón. Se origina una pasta que se disuelve con 20 mL de *N*-metilpirrolidona (NMP). Se deja agitando durante 24 h bajo las mismas condiciones.

Se vierte el crudo sobre 400 mL de HCl 2 M (ayudará a que precipite el producto) y se deja agitando en baño de hielo durante 24 h.

Se filtra el precipitado a vacío (se comprueba pH ácido), se lava con 100 mL de carbonato de potasio (K₂CO₃) al 10% (se comprueba pH neutro o básico) y, a continuación, con 100 mL de agua. Se deja secar, y se realiza cromatografía en capa fina (**Figura 3**).



Figura 3. Cromatografía en capa fina para elección del eluyente.

- Tolueno: es demasiado apolar.
- Diclorometano: es más polar que el tolueno y aumenta el factor de retención.
- Diclorometano-acetato de etilo 9:1: es el eluyente de elección. Interesa porque al realizar la cromatografía en columna para la purificación del compuesto, éste saldrá antes.

Se purifica el producto mediante cromatografía en columna con gel de sílice, obteniéndose 2,88 g (56 %).

En la **Figura 4** se muestran las fracciones obtenidas en la purificación del producto.

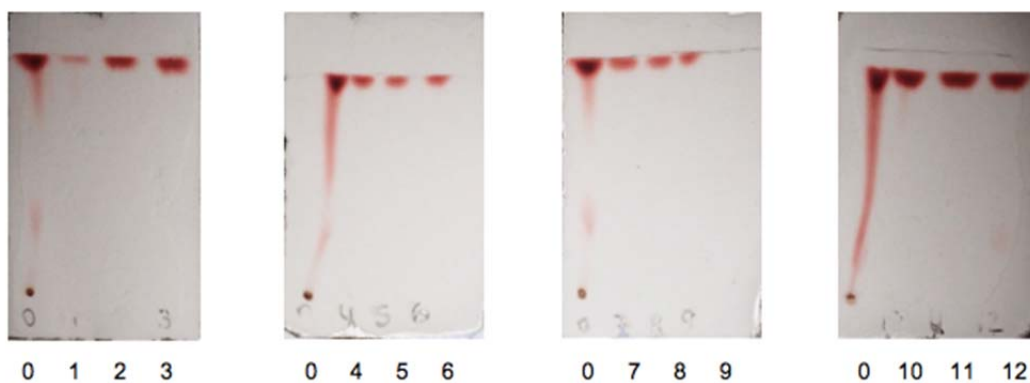


Figura 4. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas.

Con el objetivo de ahorrar disolvente, se lleva a cabo la misma reacción reduciendo la cantidad de disolvente a 4 g de imidazol. No obstante se comprueba que disminuye el rendimiento, obteniendo 2,08 g (41 %).

Para caracterizar el producto se realizan espectros de ^1H -RMN, IR, UV y fluorescencia.

- ^1H -RMN (CDCl_3) δ 0,97 (t, 12H, $-\text{CH}_3$), 2,01 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 2,33 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 5,10 (m, 2H, N-CH), 8,57 (m, 8H, ArH).
- IR (KBr) (cm^{-1}): 2965, 1699, 1657, 1594, 1577, 1405, 1338, 1252, 808, 746.
- UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$ /nm: 457, 488, 524.

Se representa en la **Figura 5** el espectro ^1H -RMN de la perilenodiimida **1**, coincidiendo los resultados con los datos publicados en la literatura. Se pueden observar señales a 8,57 ppm (multiplete correspondiente a los protones aromáticos), a 5,10 ppm (multiplete correspondiente a los protones de los carbonos unidos al nitrógeno), a 2,33 y 2,01 ppm (multipletes correspondientes a los protones de los metilenos) y a 0,97 ppm (tripleto correspondiente a los protones de los metilos).

La **Figura 6** muestra los espectros de absorción y emisión del compuesto **1**. La $\lambda_{\text{máx}}$ de absorción de mayor intensidad de este producto es 524nm, siendo ésta la λ utilizada para obtener el espectro de fluorescencia. El espectro UV-vis es el esperable para una PDI sin sustituyentes en las posiciones bahía.

La **Figura 7** muestra el espectro de infrarrojo del compuesto **1**. Es característica la banda de tensión del enlace C=O a 1657 cm^{-1} .

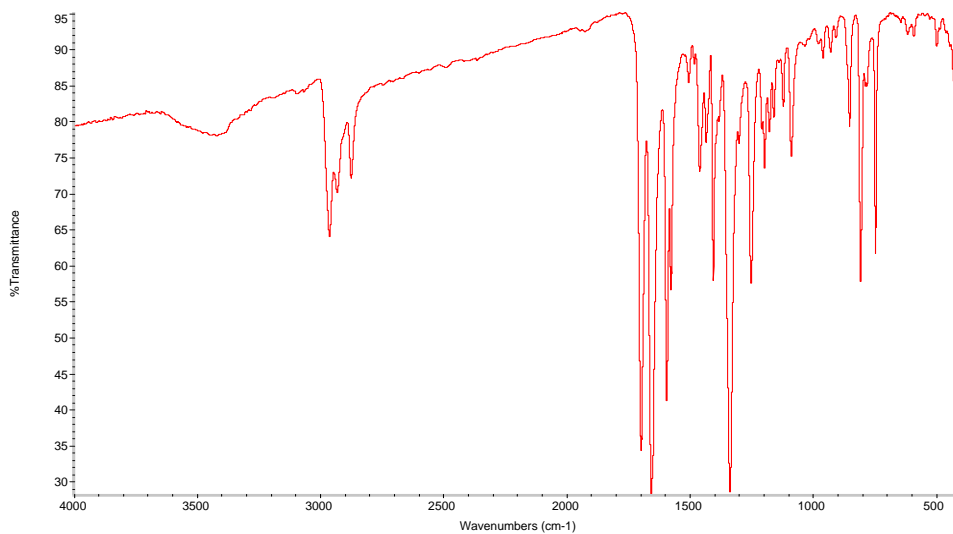
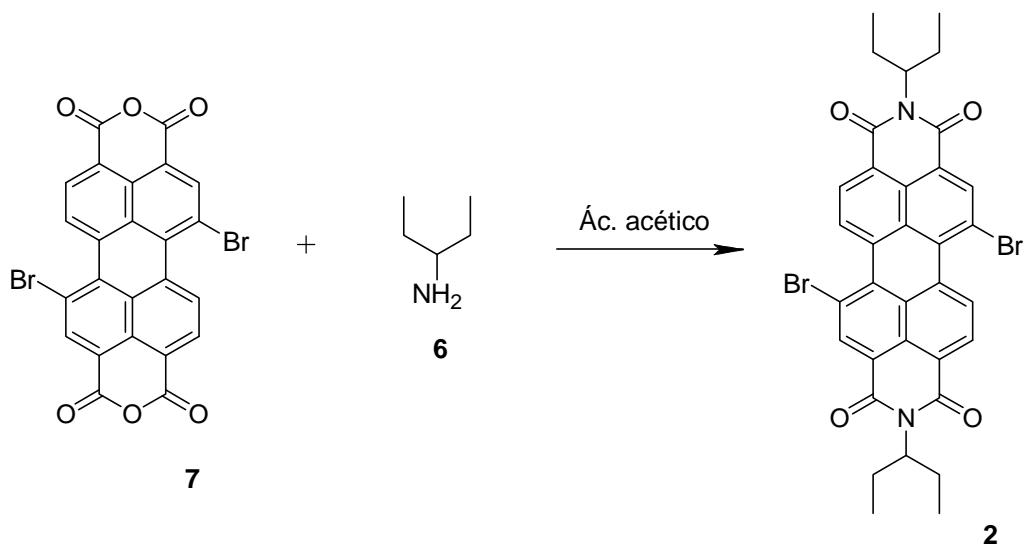


Figura 7. Espectro de infrarrojo del compuesto **1**.

Por tanto, se ha sintetizado el perileno **1** mediante una reacción de adición-eliminación de la 1-etilpropilamina y el perilenodianhídrido (PDA).



2. Síntesis y caracterización de *N,N'*-bis(1'-etilpropil)-1,7-dibromoperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida



Esquema 4. Ruta sintética del compuesto 2.

En un matraz se añaden 5 g del perileno **7** (0,009 mol), 2,35 g de la amina **6** (0,027 mol) y 4 mL de ácido acético. Se adicionan 40 mL de NMP y se deja agitando a 85°C bajo argón durante 24 h. Se deja enfriar, se filtra y se deja secar.

Se realiza cromatografía en capa fina para la elección del eluyente que utilizaremos en la purificación del producto (**Figura 8**).

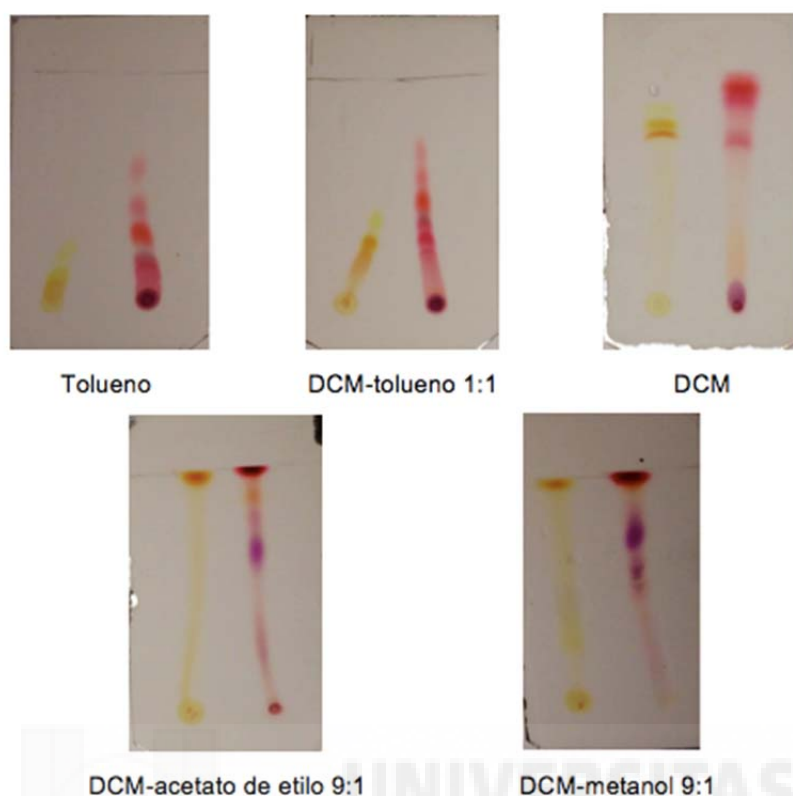


Figura 8. Cromatografía en capa fina para elección del eluyente.

Se purifica el producto mediante cromatografía en columna con gel de sílice y diclorometano como eluyente, ya que es el que mejor separa el producto, obteniéndose 1,72 g (28%).

En la **Figura 9** se muestran las fracciones obtenidas en la purificación del producto.

Para caracterizar el producto se realizan espectros de ^1H -RMN, IR, UV y fluorescencia.

- ^1H -RMN (CDCl_3) δ 0,92 (t, 12H, $-\text{CH}_3$), 1,98 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 2,31 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 5,05 (m, 2H, N-CH), 8.67-9,51 (6H, ArH).
- IR (KBr) (cm^{-1}): 2964, 1699, 1658, 1587, 1417, 1398, 1381, 1327, 1239.
- UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$ /nm: 457, 488, 523.

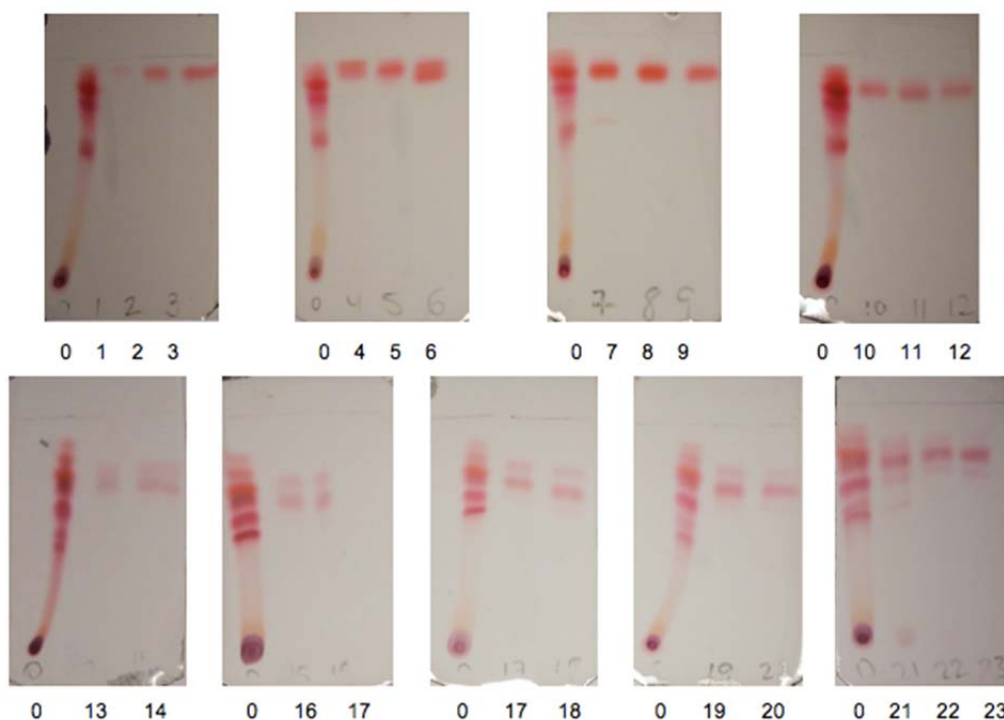


Figura 9. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas.

Se representa en la **Figura 10** el espectro $^1\text{H-RMN}$ de la perilenodiimida **2**, obteniendo señales entre 9,51-8,67 ppm (correspondientes a los protones aromáticos), a 5,05 ppm (multiplete correspondiente a los protones de los carbonos unidos al nitrógeno) a 2,31 y 1,98 ppm (multipletes correspondientes a los protones de los metilenos) y a 0,92 ppm (tripleto correspondiente a los protones de los metilos). Los datos obtenidos en la caracterización coinciden con lo descrito en la bibliografía.

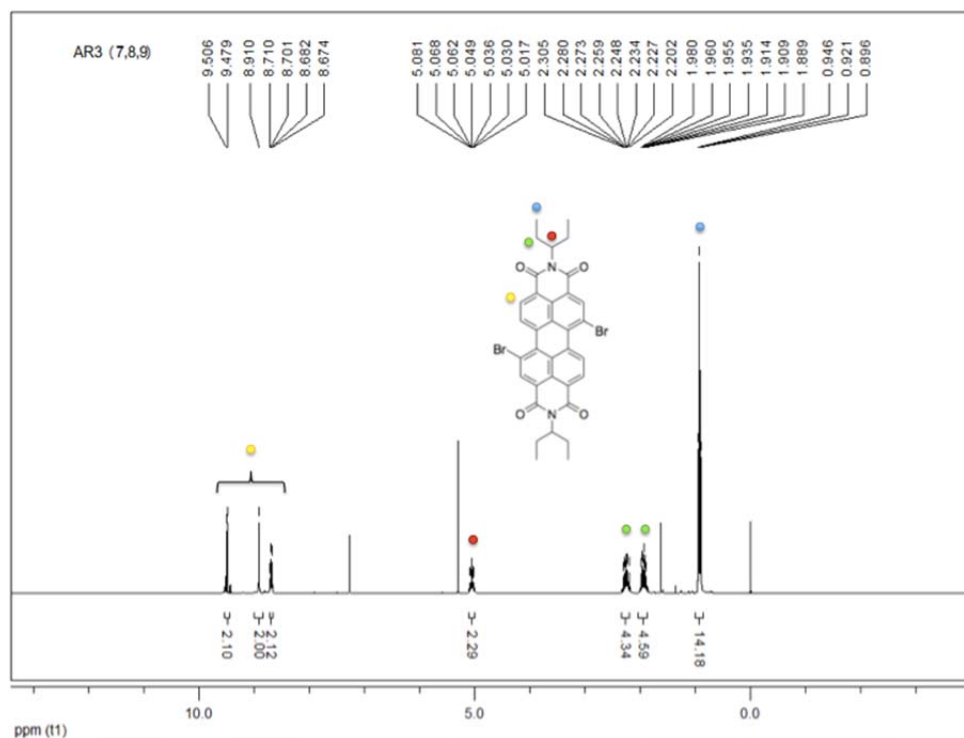


Figura 10. Espectro ^1H -RMN del compuesto **2**.

La **Figura 11** muestra los espectros de absorción y emisión del compuesto **2**. El espectro UV-vis es el esperable para una PDI sin sustituyentes en las posiciones bahía, lo cual indica que la presencia de grupos electrón-atractores como son los átomos de bromo no ejercen ningún efecto.

La **Figura 12** muestra el espectro de infrarrojo del compuesto **2**. Es característica la banda de tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$ a 1658 cm^{-1} .

Por tanto, se ha sintetizado el perileno **2** mediante una reacción de adición-eliminación de la 1-etilpropilamina y el derivado dibromado PDA **7**.

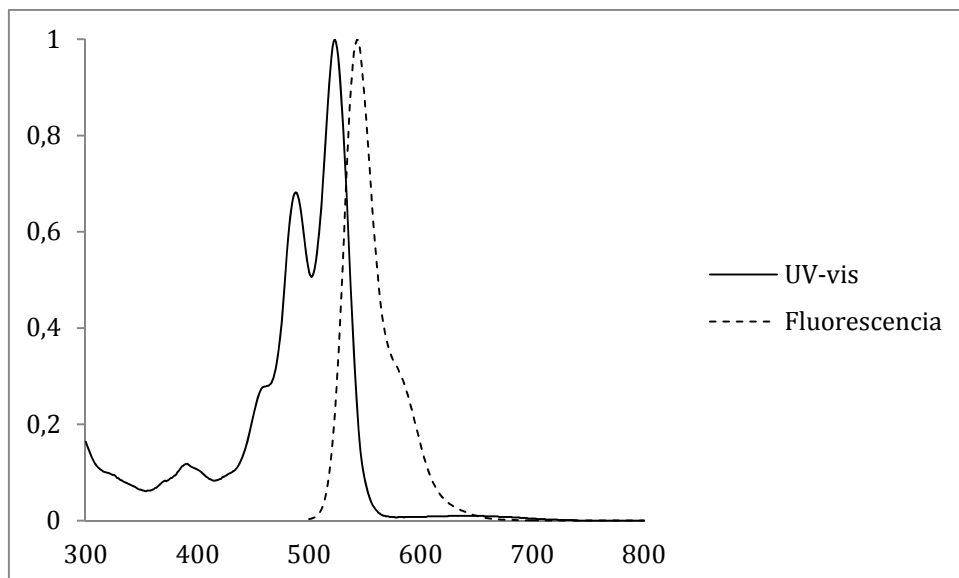


Figura 11. Espectro normalizado de absorción UV-vis y de emisión fluorescente del compuesto **2**.

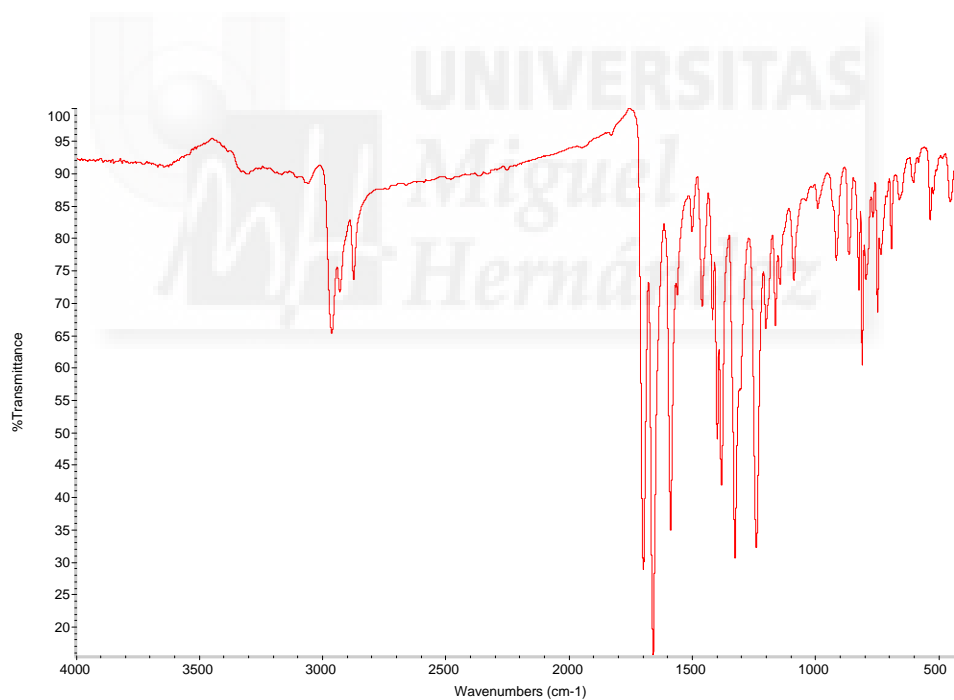
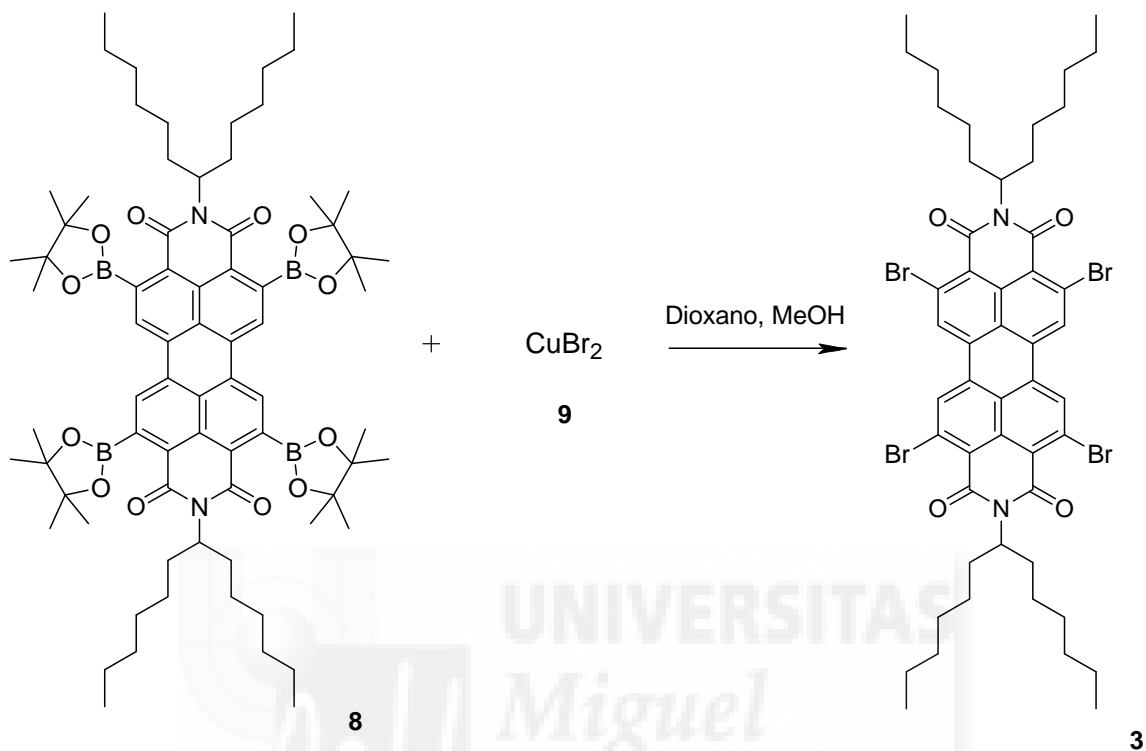


Figura 12. Espectro de infrarrojo del compuesto **2**.

3. Síntesis y caracterización de *N,N'*-bis(1'-hexilheptil)-2,5,8,11-tetrabromoperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida



Esquema 5. Ruta sintética del compuesto 3.

En un matraz de fondo redondo se pesan 0,5 g de PDI **8** (0,4 mmol) y 2,15 g de dibromuro de cobre **9** (9,6 mmol). Se añaden 100 mL de dioxano, 20 mL de metanol (MeOH) y 10 mL de agua destilada. Se deja agitando a 110 °C durante 24h.

Se extrae el producto con tolueno, se lava 3 veces con agua destilada y, por último, con una disolución de NaCl concentrada (para eliminar el agua que pueda quedar en la fase orgánica). La fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se elimina el disolvente en el rotavapor.

Se realiza cromatografía en capa fina para la elección del eluyente que utilizaremos en la purificación del producto (**Figura 13**).

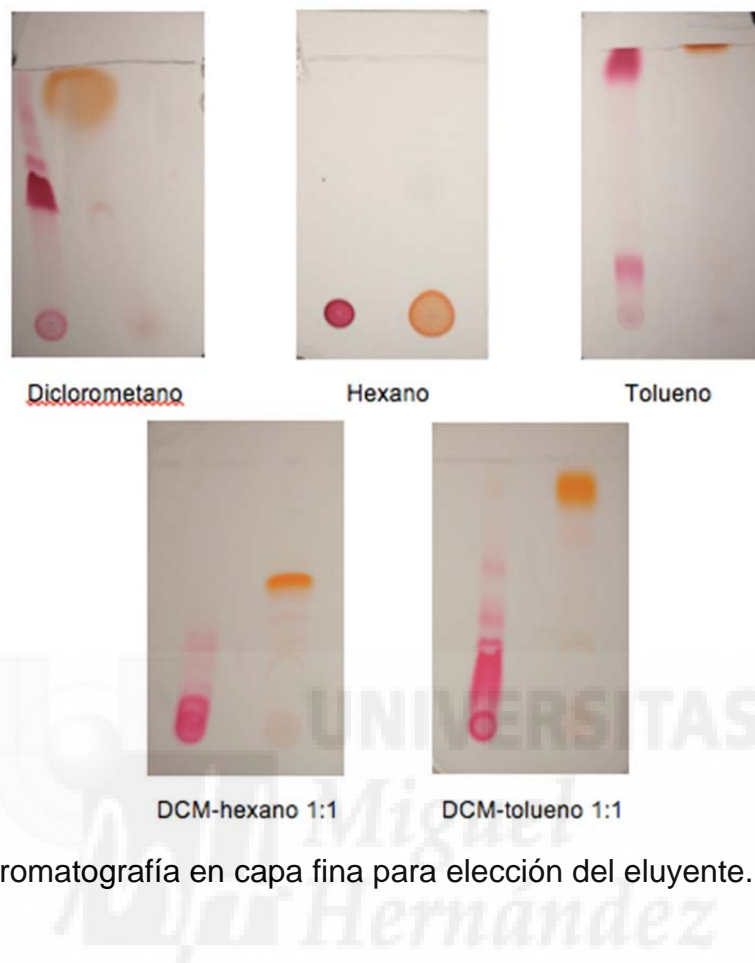


Figura 13. Cromatografía en capa fina para elección del eluyente.

- Diclorometano: no separa bien los componentes de la mezcla.
- Hexano: el disolvente no arrastra al producto.
- Tolueno: se mueve todo con el frente, y no sabemos si el producto está puro o si hay más componentes.
- Diclorometano-hexano 1:1: separa el producto pero el factor de retención no es muy alto y el producto tardaría bastante en salir de la columna cuando se hiciese la cromatografía en columna.
- Diclorometano-tolueno 1:1: es el eluyente de elección, ya que separa el el producto y el factor de retención es alto.

Se purifica mediante cromatografía en columna con gel de sílice, obteniéndose 0,3 g (70%).

En la **Figura 14** se muestran las fracciones obtenidas en la purificación del producto.

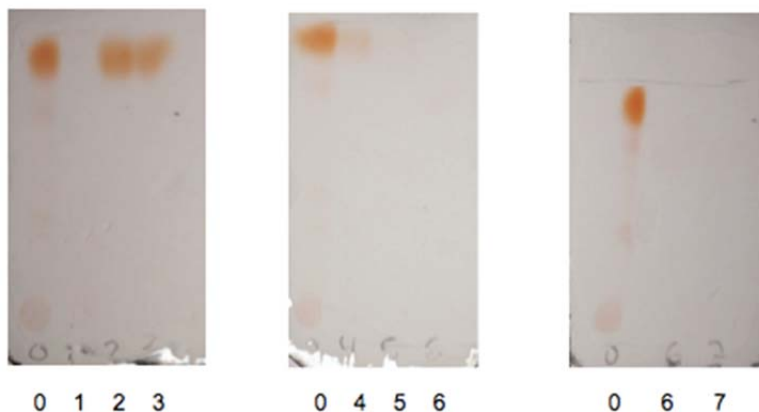


Figura 14. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas.

Para caracterizar el producto se realizan espectros de ^1H -RMN, IR, UV y fluorescencia.

- ^1H -RMN (CDCl_3) δ 0,87 (t, 12H, $-\text{CH}_3$), 1,27 (m, 32H, $-\text{CH}_2-$), 1,89 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 2,20 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 5,15 (m, 2H, N-CH), 8,74 (m, 4H, ArH).
- IR (KBr) (cm^{-1}): 2954, 2923, 2854, 1703, 1664, 1589, 1567, 1541, 1330, 1235.
- UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$ /nm: 443, 474, 508.

La **Figura 15** muestra el espectro de ^1H -RMN de la PDI **3**. Las señales características aparecen a 8,74 ppm (singulete correspondiente a los protones aromáticos), a 5,15 ppm (multiplete correspondiente a los protones de los carbonos unidos al nitrógeno) a 2,20, 1,89 y 1,27 ppm (multiplétes correspondientes a los protones de los metilenos de las cadenas alifáticas) y a 0,87 ppm (triplete correspondiente a los protones de los metilos).

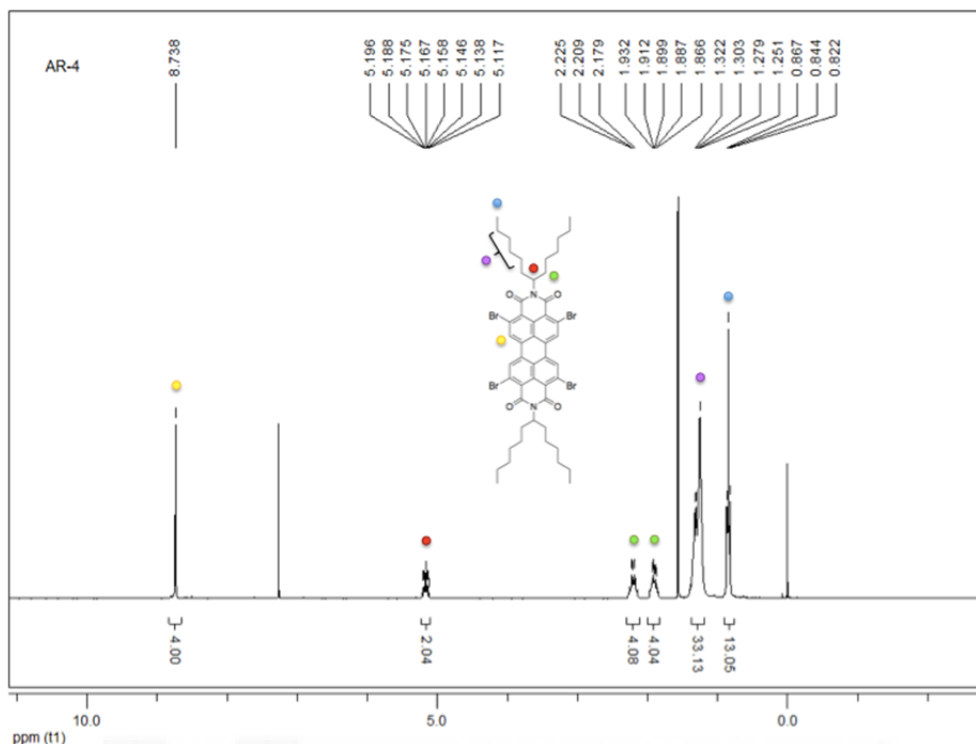


Figura 15. Espectro ^1H -RMN del compuesto **3**.

La **Figura 16** muestra los espectros de absorción y emisión del compuesto **3**. El espectro UV-vis muestra que la presencia de sustituyentes electrón-atractivos tipo bromo en las posiciones orto tienen un efecto hipsocrómico (se desplazan los máximos de absorción a longitudes de onda más cortas).

La **Figura 17** muestra el espectro de infrarrojo del compuesto **3**. Es característica la banda de tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$ a 1664 cm^{-1} .

Por tanto, se ha sintetizado el perileno tetrabromado **3** mediante una reacción de intercambio de boronato por bromo en el PDI **8**, utilizando cobre (II) como catalizador.

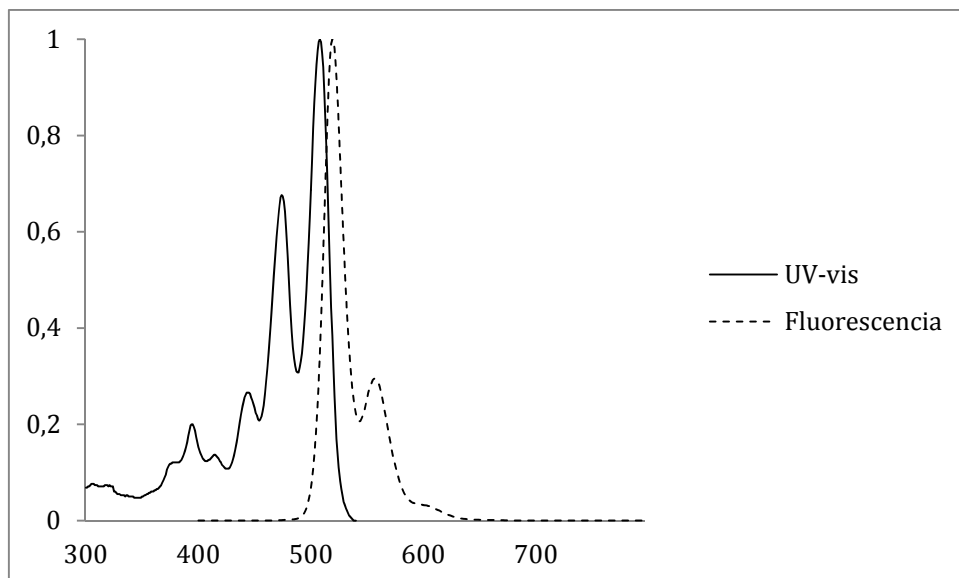


Figura 16. Espectro normalizado de absorción UV-vis y de emisión fluorescente del compuesto **3**.

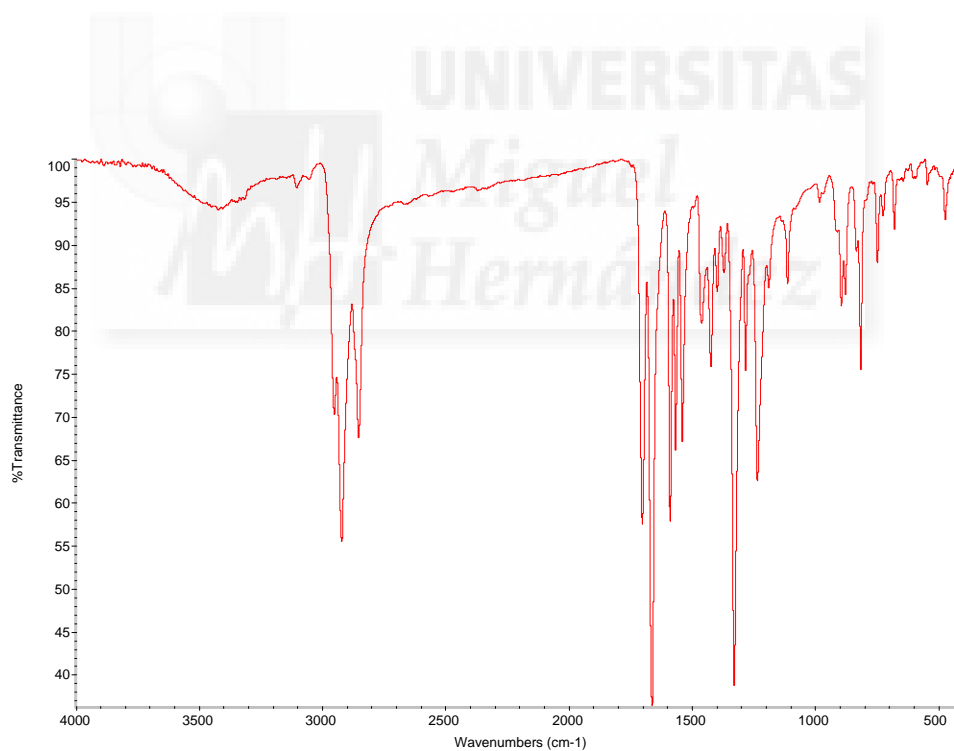
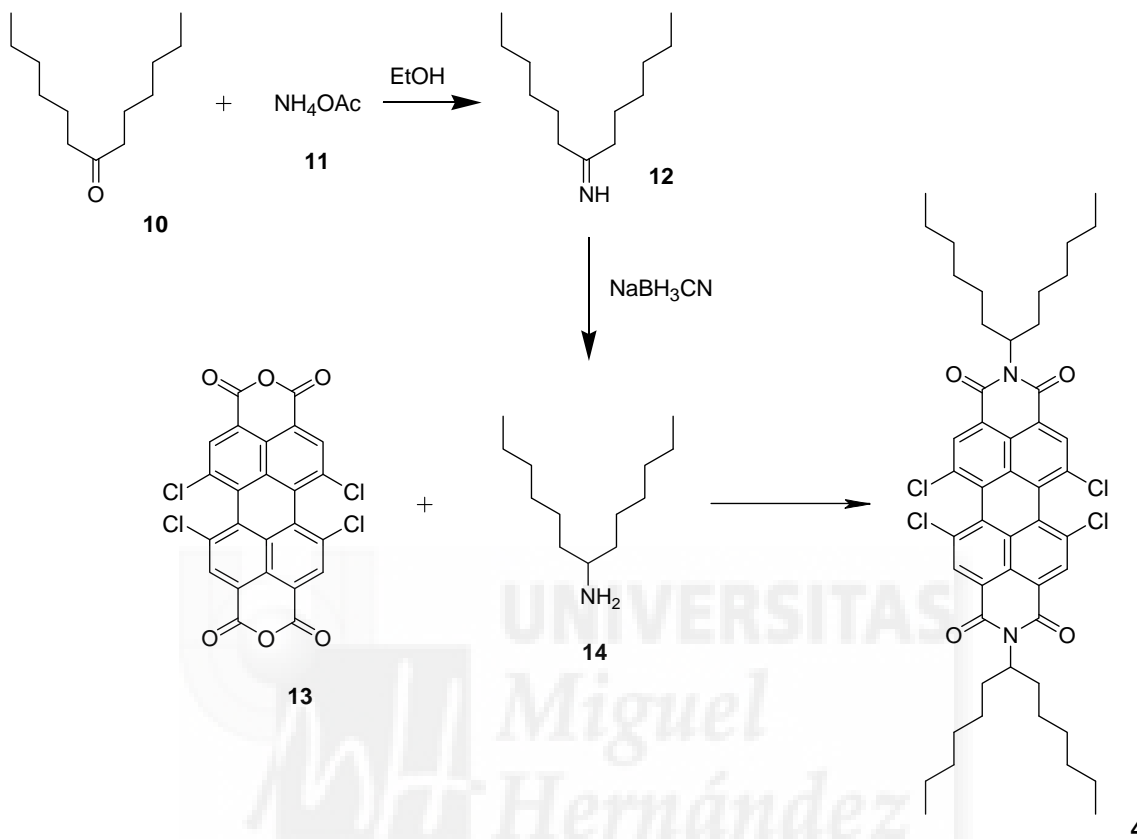


Figura 17. Espectro de infrarrojo del compuesto **3**.

4. Síntesis y caracterización de *N,N'*-bis(1'-hexilheptil)-1,6,7,12-tetracloroperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida



Esquema 6. Ruta sintética del compuesto 4.

Se mezclan 5 g de la cetona **10** (25 mmol), 20 g de acetato de amonio **11** (260 mmol) y 80 mL de etanol absoluto. Con cuidado, se añaden 1,12 g de cianoborohidruro de sodio (NaBH₃CN) (19 mmol). Se deja agitando a reflujo durante 24 h.

Se añaden, poco a poco, 8 mL de HCl. Se sigue agitando con la guillotina de la campana bajada hasta que deja de burbujear. Se origina un sólido blanco. Se elimina el disolvente en el rotavapor.

Se vierte el crudo sobre 400 mL de una disolución de KOH (pH = 10-12). El pH se vuelve neutro, se añade KOH sólido hasta conseguir un pH = 9-10. Se

extrae el producto con diclorometano. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se elimina el disolvente, obteniéndose 5,3 g. El peso obtenido es excesivo, se realiza una nueva extracción para purificar mejor, repitiendo el procedimiento anterior, y se obtienen 3,98 g (80%).

Para comprobar que la reacción se ha llevado a cabo, se realiza una cromatografía en capa fina del patrón (cetona) y del producto obtenido, utilizando cloroformo como disolvente (**Figura 18**). La amina, al ser básica, queda retenida en la sílice, que es polar y ácida. En cambio, la cetona, que es más apolar, avanza con el disolvente. Para visualizar la capa fina es necesario utilizar revelado con yodo.



Figura 18. Cromatografía en capa fina del patrón y el producto.

Con el objetivo de evitar la formación de productos secundarios no deseados, se repite la reacción, pero a temperatura ambiente durante 48 h. Se obtienen 4,8 g (96%), produciéndose una clara mejora en el rendimiento de la reacción.

El mecanismo de la reacción transcurre a través de la condensación de la cetona **10** con acetato de amonio para dar la imina **12** que, posteriormente, se reduce a la amina **14** con NaBH_3CN .

Se representa en la **Figura 19** el espectro ^1H -RMN de la amina **14**, coincidiendo los resultados con los datos publicados en la literatura. Se pueden

observar señales a 2,67 ppm (singulete correspondiente al protón del carbono unido al nitrógeno), a 1,36 (multiplete correspondiente a los protones metilénicos de las cadenas alifáticas) y a 0,88 ppm (triplete correspondiente a los protones de los metilos).

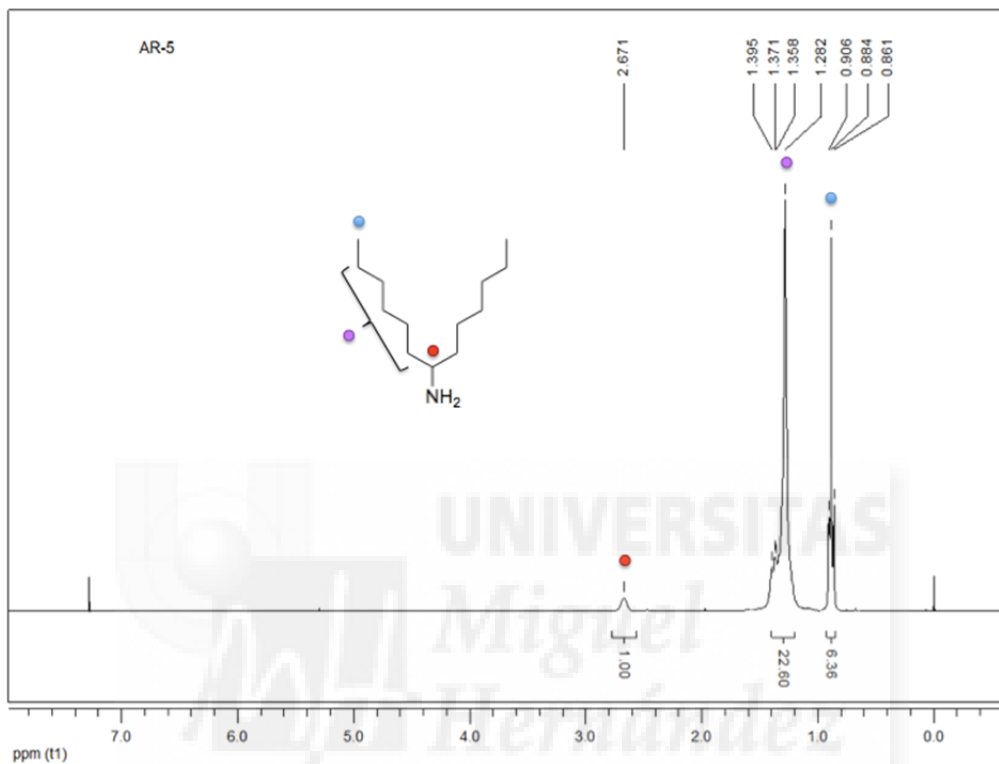


Figura 19. Espectro ^1H -RMN del compuesto **14**.

Una vez obtenida la amina **14**, se procede a la síntesis del perileno **4**. Así, se disuelven 6,93 g de PDA **13** (13,07 mmol) y 4,92 g de la amina **14** (28,77 mmol) en 50 mL de tolueno. Se deja agitando a reflujo y bajo argón durante 24h.

Se elimina el disolvente y se realiza cromatografía en capa fina para la elección del eluyente que utilizaremos en la purificación del producto.

Tras hacer pruebas con diclorometano, hexano y mezcla diclorometano:hexano 1:1, se observa que el mejor eluyente para separar el producto es la mezcla diclorometano:hexano.

Se purifica el producto mediante cromatografía en columna con gel de sílice, obteniéndose 5,76g (50%).

En la **Figura 21** se muestran las fracciones obtenidas en la purificación del producto.

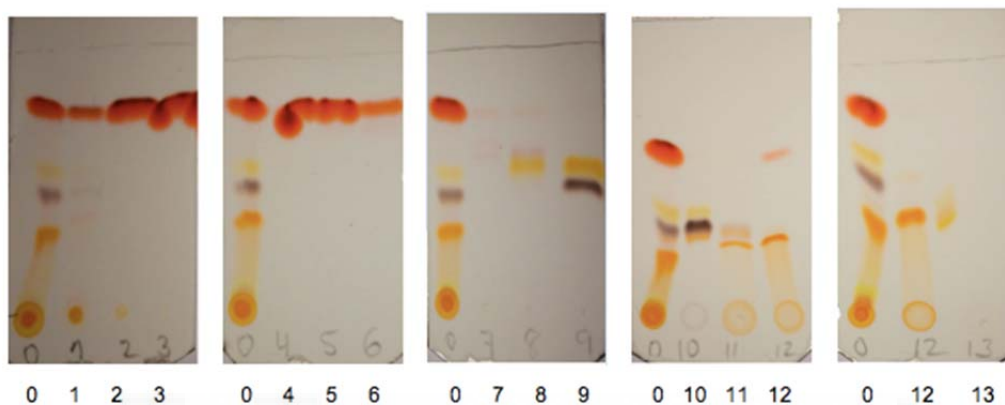


Figura 21. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas.

Para caracterizar el producto se realizan espectros de ^1H -RMN, IR, UV y fluorescencia.

- ^1H -RMN δ 0,83 (t, 12H, $-\text{CH}_3$), 1,29 (m, 32H, $-\text{CH}_2-$), 1,85 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 2,22 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 5,17 (s, 2H, N-CH), 8,66 (s, 4H, ArH).
- IR (KBr) (cm^{-1}): 2954, 2924, 2855, 1702, 1662, 1587, 1567, 1376, 1276, 1241.
- UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$ /nm: 425, 485, 518.

En el espectro de ^1H -RMN (**Figura 22**) del compuesto **4** se observan señales a 8,66 ppm (singulete correspondiente a los protones aromáticos), a 5,17 ppm (multiplete correspondiente a los protones de los carbonos unidos al nitrógeno), a 2,22, 1,85, y 1,29 ppm (multipletes correspondiente a los protones metilénicos) y a 0,83 ppm (triplete correspondiente a los protones de los metilos).

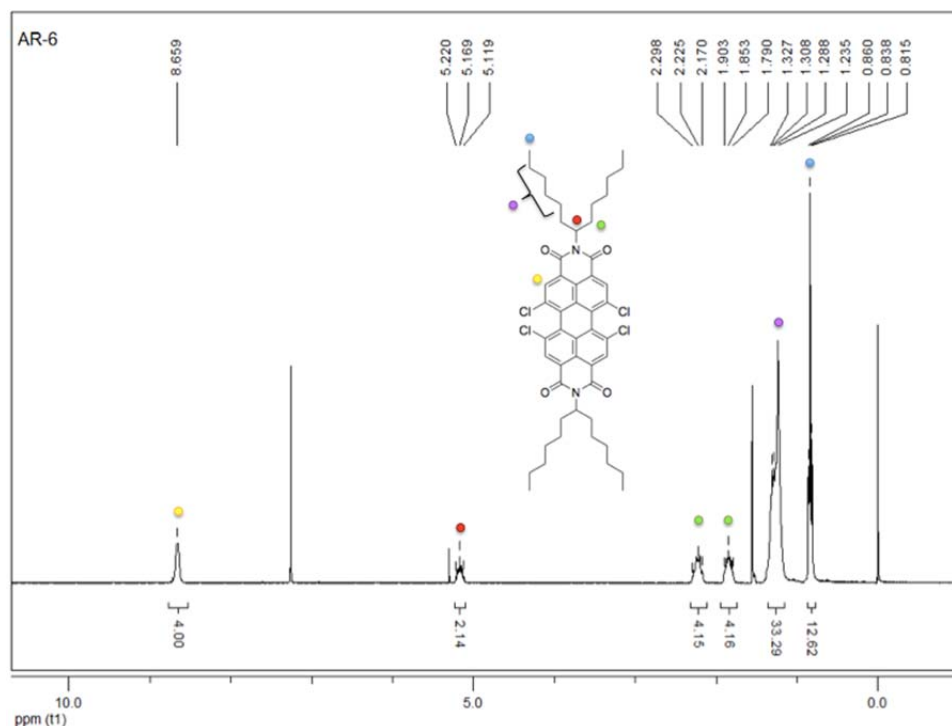


Figura 22. Espectro ^1H -RMN del compuesto **4**.

La **Figura 23** muestra los espectros de absorción y emisión del compuesto **4**. Al igual que se observa en el caso del derivado tetrabromado **3**, el espectro UV-vis muestra que la presencia de sustituyentes electrón-atradores tienen un efecto hipsocrómico. No obstante, se observa que el efecto es menor en el caso del compuesto **4**, donde los sustituyentes están en posición bahía.

La **Figura 24** muestra el espectro de infrarrojo del compuesto **4**. Es característica la banda de tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$ a 1662 cm^{-1} .

Por tanto, se ha sintetizado el perileno tetraclorado **4** mediante una reacción de adición-eliminación de la 1-hexilheptilamina y el derivado tetraclorado PDA **13**.

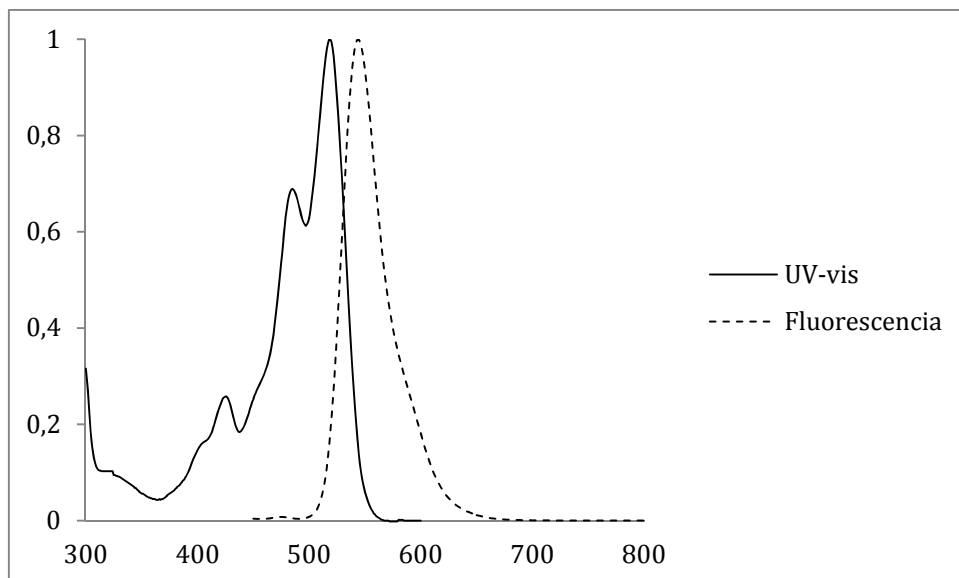


Figura 23. Espectro normalizado de absorción UV-vis y de emisión fluorescente del compuesto **4**.

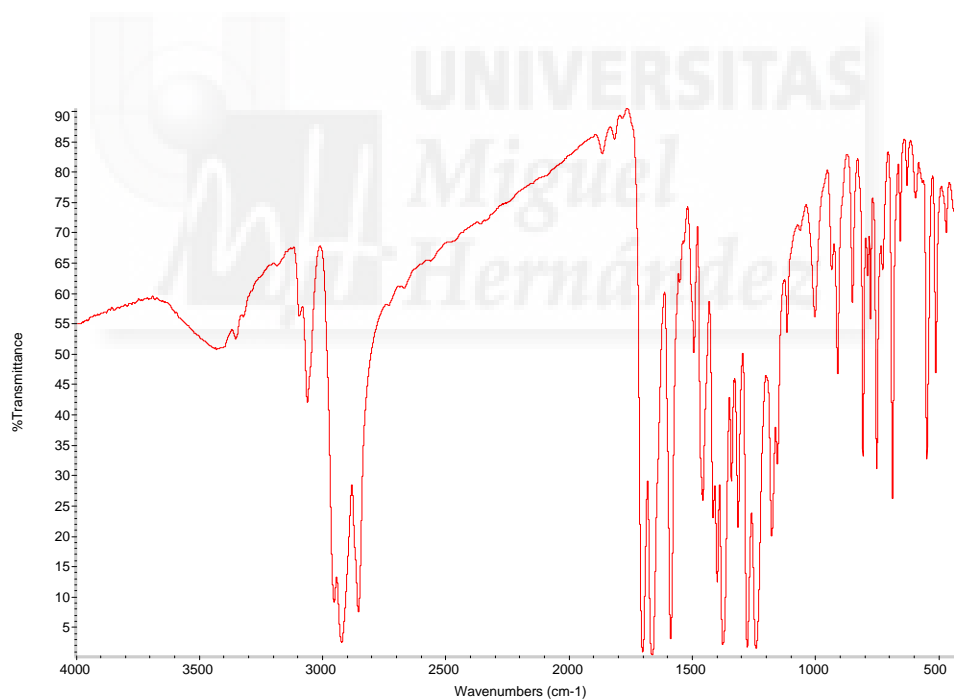
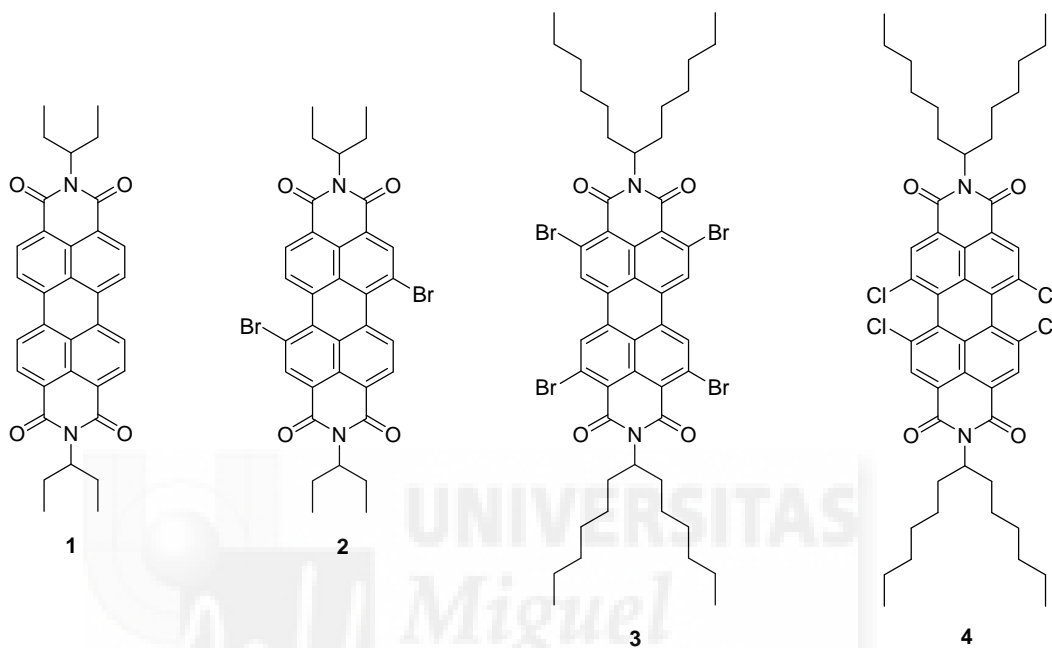


Figura 24. Espectro de infrarrojo del compuesto **4**.

VI. CONCLUSIONES

1. Se han sintetizado todas las moléculas objetivo propuestas, a saber **1**, **2**, **3** y **4**.



2. Todos los perilenos se han purificado por cromatografía en columna. Además, la técnica de resonancia magnética nuclear de protón demuestra ausencia de impurezas, por lo que las técnicas de purificación empleadas han sido las adecuadas.
3. Todos los perilenos sintetizados se han caracterizado a través de técnicas de resonancia magnética nuclear, espectroscopía ultravioleta y visible, espectroscopía de fluorescencia y espectroscopía infrarroja.
4. En la síntesis del perileno **1** se obtiene un mayor rendimiento utilizando una mayor cantidad de disolvente.
5. En el caso de los perilenos tetrahalogendos **3** y **4** se observa un efecto hipsocrómico en el espectro UV-vis respecto al perileno sin sustituyentes en posiciones bahía u orto.