



## FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

# SÍNTESIS DE PERILENODIIMIDAS CON APLICACIÓN COMO BIOMARCADORES FLUORESCENTES

Memoria de Trabajo Fin de Grado

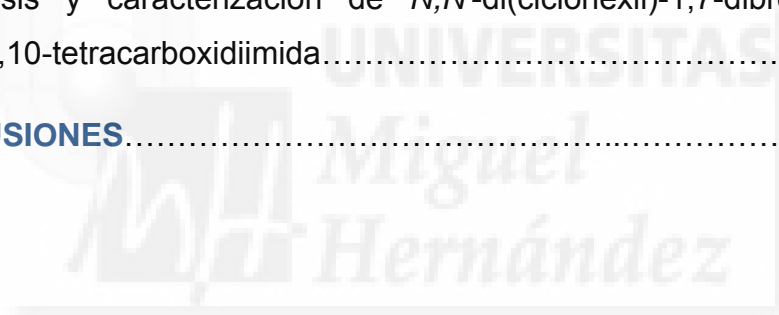
Sant Joan d'Alacant

Junio 2015

**Autor:** Samira Hussein Plaza  
**Modalidad:** Experimental  
**Tutor/es:** Enrique Font Sanchis  
Fernando Fernández Lázaro

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b> .....	3
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	4
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	11
<b>4. TÉCNICAS EXPERIMENTALES</b> .....	13
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	17
1. Síntesis y caracterización de 1-hexilheptiloxima.....	17
2. Síntesis y caracterización de 1-hexilheptilamina.....	20
3. Síntesis y caracterización de <i>N,N'</i> -bis(1'-hexilheptil)perileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida.....	24
4. Síntesis y caracterización de <i>N,N'</i> -di(ciclohexil)perileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida.....	29
5. Síntesis y caracterización de <i>N,N'</i> -di(ciclohexil)-1,7-dibromoperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida.....	33
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	37

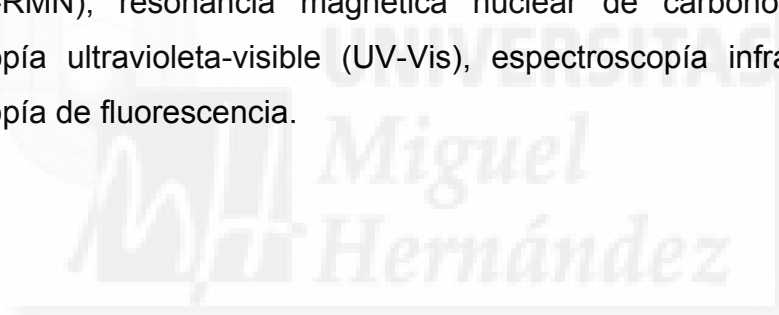


## 1. RESUMEN.

Los perilenos son compuestos formalmente constituidos por dos naftalenos unidos por sus posiciones  $\alpha$ . La diimida del ácido perilenotetracarboxílico (PDI) es un derivado con gran estabilidad fotoquímica y altamente fluorescente. Distintos estudios han comprobado su aplicación biológica, ya que son moléculas biocompatibles y no tóxicas. Es por ello que las PDI son candidatas a precursoras de biomarcadores moleculares.

En este trabajo se han sintetizado distintas moléculas con estructura de PDI mediante reacciones de adición-eliminación. El seguimiento de las reacciones y separación de los productos se ha llevado a cabo por cromatografía en capa fina y cromatografía en columna, respectivamente.

Los productos se han caracterizado por resonancia magnética nuclear de protón ( $^1\text{H-RMN}$ ), resonancia magnética nuclear de carbono ( $^{13}\text{C-RMN}$ ), espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), espectroscopía infrarroja (IR) y espectroscopía de fluorescencia.



## 2. ANTECEDENTES.

Las moléculas pueden absorber luz ultravioleta-visible para generar un estado excitado en el que se alteran las interacciones entre los átomos de la molécula. Este estado excitado tiene propiedades diferentes al estado fundamental, dando lugar al desarrollo de distintos procesos fotofísicos y/o fotoquímicos.

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.

Los marcadores fluorescentes son esenciales para poder conocer procesos biológicos como la catálisis enzimática, o aspectos relacionados con la conformación, transporte y función de proteínas, así como interacciones entre moléculas, entre otros. Es por ello que en los últimos años se ha expandido su uso, tanto para células, como anticuerpos o ADN.<sup>1,2,3,4,5</sup>

Un biomarcador ideal debe cumplir, al menos, con los siguientes requisitos: tener buena solubilidad en agua y buena biocompatibilidad, carecer de toxicidad, tener altas estabilidades química y fotoquímica y alto rendimiento cuántico fluorescente.

A pesar de que existen un gran número de moléculas que han encontrado uso como marcadores fluorescentes (**Figura 1**), como es el caso de las

---

<sup>1</sup> Guo L, Feng J, Yi X, Mei L, Li H, Hua J, et al. Phosphate ion targeted colorimetric and fluorescent probe and its use to monitor endogenous phosphate ion in a hemichannel-closed cell. *Anal Chem.* 2015;87:1196-201.

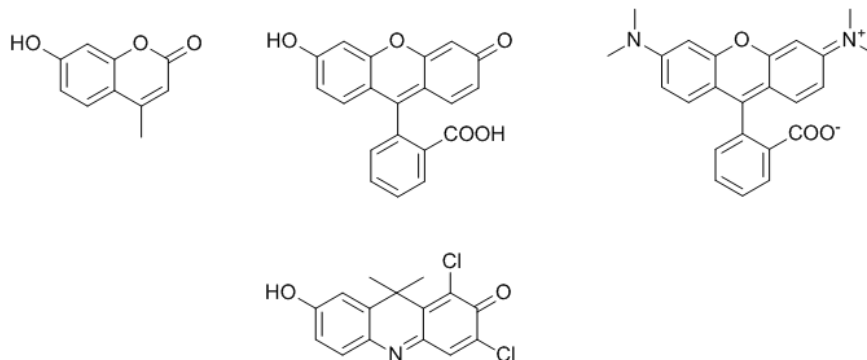
<sup>2</sup> Desvergne A, Cheng Y, Grosay-Gaudrel S, Maréchal X, Reboud-Ravaux M, Genin E, et al. Noncovalent fluorescent probes of human immuno- and constitutive proteasomes. *J Med Chem.* 2014; 57: 9211-17.

<sup>3</sup> Luo J, Uprety R, Naro Y, Chou C, Nguyen D, Chin J, et al. Genetically encoded optochemical probes for simultaneous fluorescent reporting and light activation of protein function with two-photon excitation. *J Am Chem Soc.* 2014; 136: 15551-8.

<sup>4</sup> Sednev M, Wurm C, Belov V, Hell S. Carborhodol: a new hybrid fluorophore obtained by combination of fluorescent and carbopyronine dye cores. *Bioconjugate Chem.* 2013; 24: 690-700.

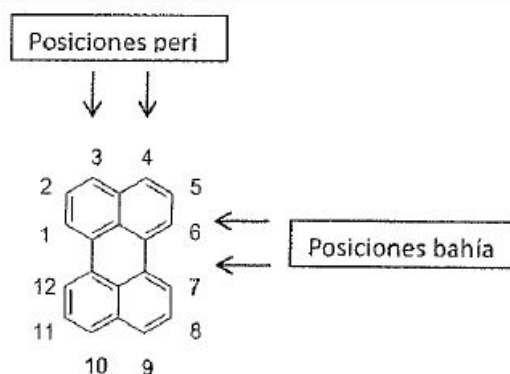
<sup>5</sup> Xin J, Zhang X, Liang J, Xia L, Yin J, Nie Y, et al. In vivo gastric cancer targeting and imaging using novel symmetric cyanine dye-conjugated GX1 peptide probes. *Bioconjugate Chem.* 2013; 24: 1134-43.

fluoresceínas, rodaminas, escuarinas o cianinas,<sup>6,7</sup> muchas de ellas presentan bajos rendimientos cuánticos de fluorescencia o baja estabilidad fotoquímica.



**Figura 1.** Moléculas usadas como marcadores fluorescentes.

Los perilenos (**Figura 2**) son compuestos formalmente constituidos por dos naftalenos unidos por sus posiciones  $\alpha$ , cuya síntesis industrial está basada en la patente de M. Kardos del año 1913. Inicialmente los perilenos se utilizaron como colorantes en pinturas industriales, pero hoy en día son candidatos a desarrollar otras aplicaciones de carácter más tecnológico.

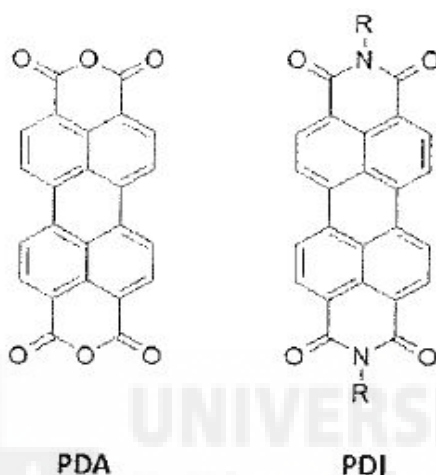


**Figura 2.** Estructura básica y numeración del perileno.

<sup>6</sup> Lavis L, Raines R. Bright building blocks for chemical biology. ACS Chem Biol. 2014; 9: 855-66.

<sup>7</sup> Gonçalves S. Fluorescent labeling of biomolecules with organic probes. Chem Rev. 2009; 109: 190-212.

La diimida del ácido perilenotetracarboxílico (PDI) (**Figura 3**) es un derivado de perileno conocido por sus estabilidades térmica, química y fotoquímica, así como por sus propiedades de captador de luz. Las PDI son compuestos altamente fluorescentes y, por tanto, potenciales candidatos a compuestos activos en procesos reprográficos, células fotovoltaicas, diodos emisores de luz, dispositivos fotónicos y también como biomarcadores.<sup>8</sup>



**Figura 3.** Estructura de PDA (perileno-3,4,9,10-tetracarboxidianhidrido) y PDI (perileno-3,4,9,10-tetracarboxidiimida).

Se han sintetizado derivados de PDI solubles en agua (**Figura 4**) cuya aplicación biológica ha sido demostrada en cultivos de células cardíacas.<sup>9</sup>

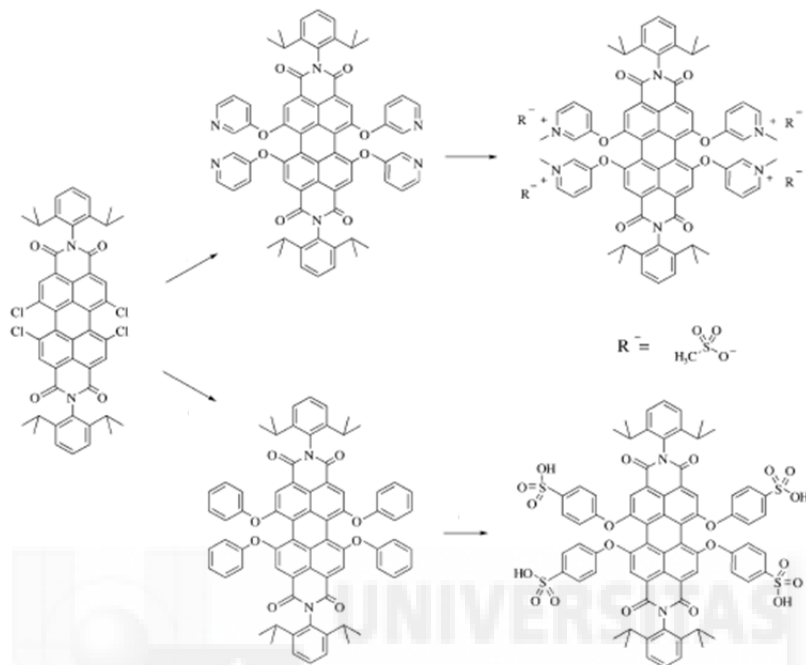
Para obtener dichos derivados, se hizo reaccionar el precursor tetraclorado con 3-piridinol en 1-metil-2-pirrolidona. A continuación, se trató con exceso de yoduro de metilo en metanol, seguido de metanosulfonato de plata, para finalmente obtener el PDI cargado positivamente.

Al poner en contacto concentraciones 3 mM del PDI cargado positivamente con las células cardíacas, se observó en éstas una intensa fluorescencia, sobre todo en la región perinuclear. Además se observó que las células seguían

<sup>8</sup> Cespedes-Guirao F, Roper A, Font-Sanchis E, Nadal A, Fernandez-Lazaro F, Sastre-Santos A. A wáter-soluble perylene dye functionalised with a 17 $\beta$ -estradiol: a new fluorescent tool for steroid hormones. Chem Commun. 2011; 47: 8307-09.

<sup>9</sup> Qu J, Kohl C, Pottel M, Müllen K. Ionic perylenetetracarboxydiimides: highly fluorescent and water-soluble dyes for biolabeling. Angew Chem Int Ed. 2004;43:1528-31.

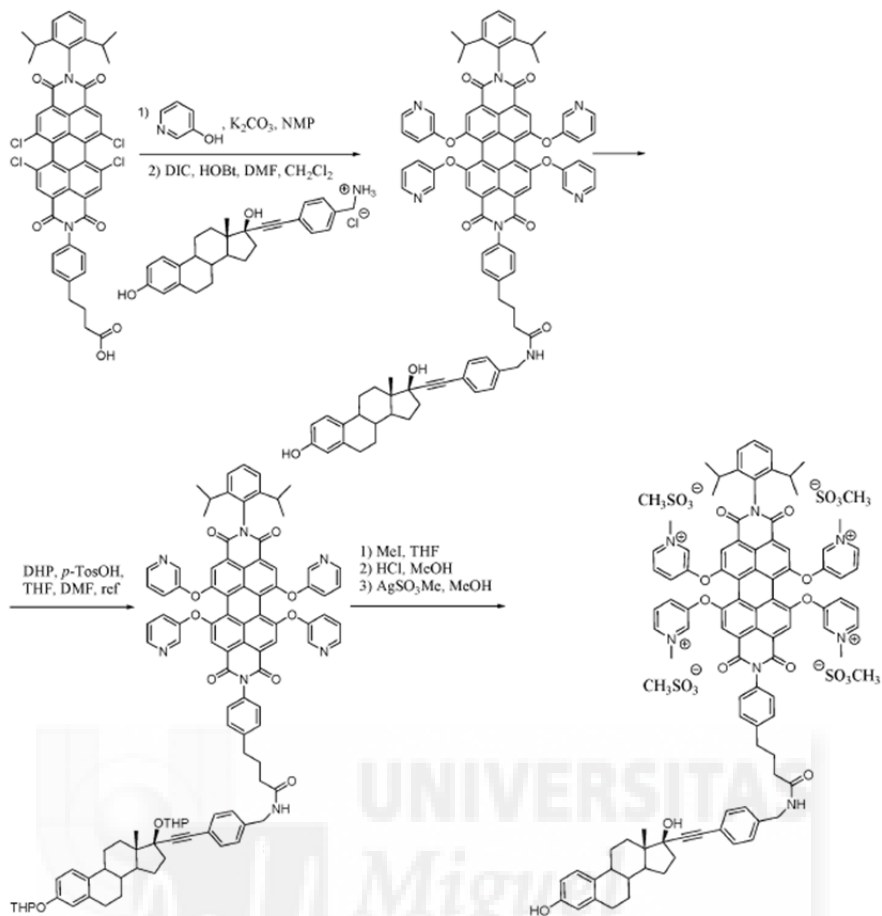
proliferando en presencia de PDI, lo que sugirió la carencia de toxicidad del compuesto.



**Figura 4.** Síntesis de PDIs con sustituyentes en posiciones bahía que aumentan la solubilidad en agua.

También se han sintetizado conjugados PDI-estradiol (**Figura 5**) para el estudio específico de los receptores estrogénicos.<sup>8</sup>

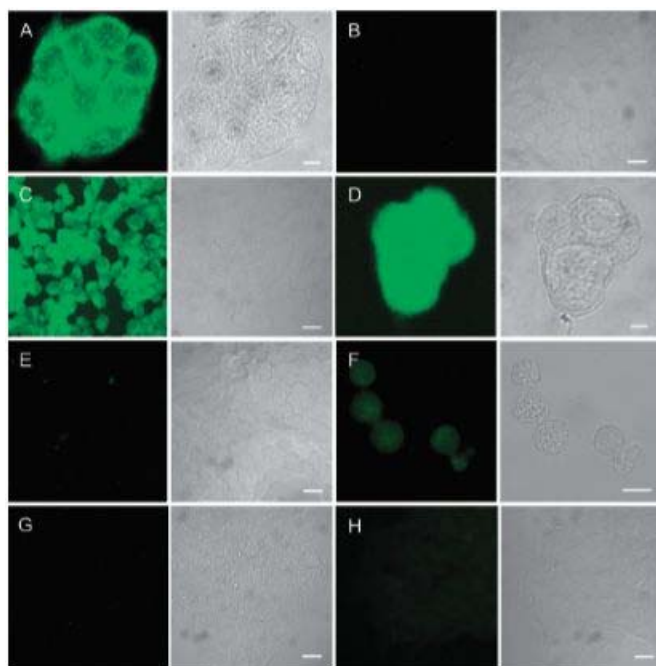
Para la síntesis del conjugado PDI-estradiol se hizo reaccionar tetracloroperilenodiimida con 3-hidroxipiridina para dar el derivado tetrapiridiloxi sustituido. A continuación se produjo la reacción de condensación con la molécula de estradiol en presencia de diisopropilcarbodiimida y 1-hidroxibenzotriazol. Tras la protección de los grupos hidroxilo con dihidropirano, se realizó la metilación seguida de desprotección e intercambio del anión para así obtener el conjugado PDI-estradiol.



**Figura 5.** Síntesis del conjugado PDI-estradiol.<sup>8</sup>

Para demostrar la utilidad biológica del compuesto, se estudió la aplicación en células portadoras de receptores estrogénicos. MCF7 es una línea celular derivada de cáncer de mama que expresa altos niveles de estos receptores, y según las imágenes que se obtuvieron, se observó que el receptor estaba en el citoplasma y el núcleo (alta fluorescencia en estas zonas). El compuesto tiñó las células positivas para el receptor estrogénico, mientras que en las negativas solo aparecía una débil tinción (**Figura 6**).





**Figura 6.** (A):Inmunocitoquímica de célula MCF7 positiva para receptor estrogénico usando anticuerpo anti-receptor estrogénico  $\alpha$  unido al 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  $\beta$  pancreáticas en presencia de PDI-estradiol a 100nM. (G): inmunocitoquímica usando un anticuerpo anti-ER  $\alpha$  en células negativas para receptor estrogénico. (H): Células negativas para receptor estrogénico en presencia de PDI-estradiol.<sup>8</sup>

También se han sintetizado compuestos formados por un núcleo fluorescente (PDI) unido mediante amidas a 4 u 8 PGD (dendrones basados en poliglicerol, **Figura 7**).<sup>10</sup> Se ha estudiado la aplicación de estos compuestos como biomarcadores en receptores  $\lambda$  de células bacterianas (*E. coli*). Estos receptores de proteínas funcionan como receptores del bacteriófago  $\lambda$  y también facilitan el transporte de maltodextrinas a través de la membrana (**Figura 8**).

<sup>10</sup> Kyun Yang S, Shi X, Park S, Doganay S, Ha T, Zimmerman S. Monovalent, clickable, uncharged, water-soluble perylenediimide-cored dendrimers for target-specific fluorescent biolabeling. *J Am Chem Soc.* 2011; 133: 9964-9967.

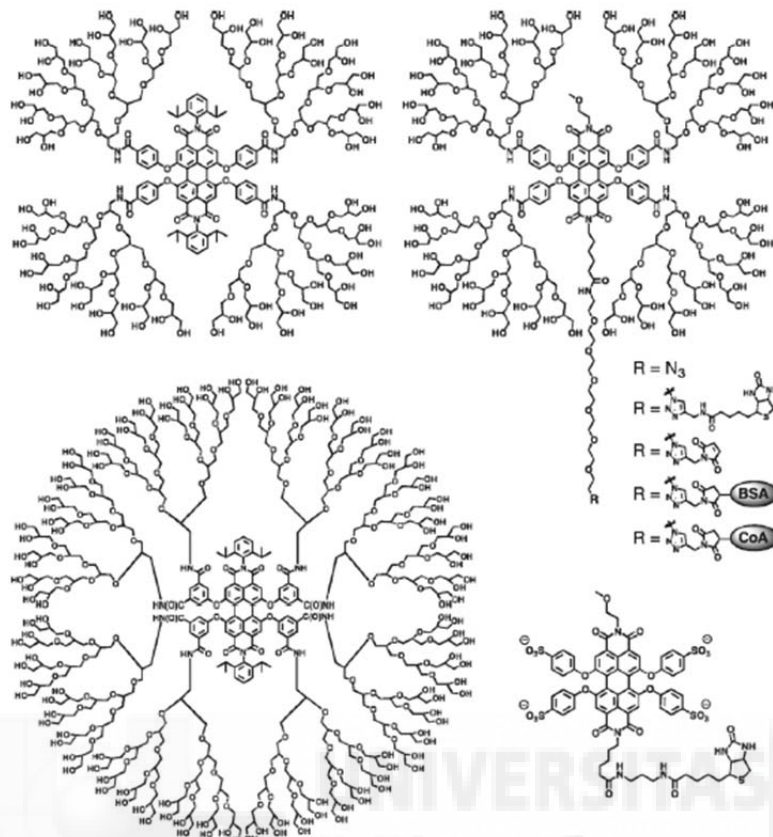


Figura 7. Estructuras de PDI-PGD y PDI. Imagen obtenida de ref. 10.

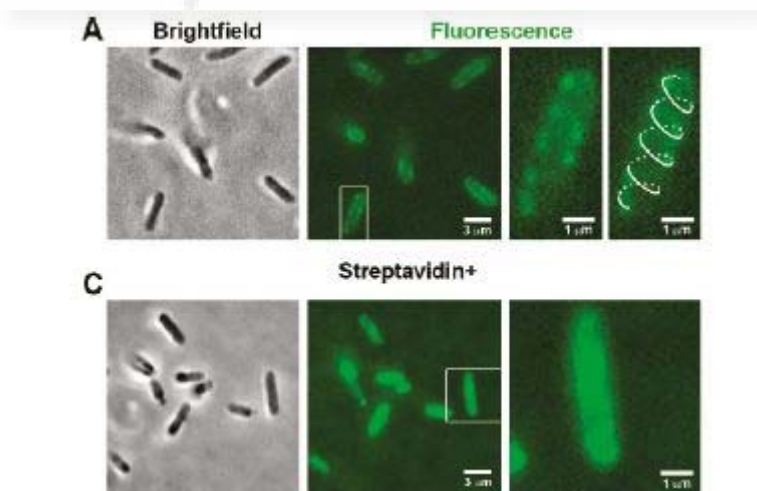


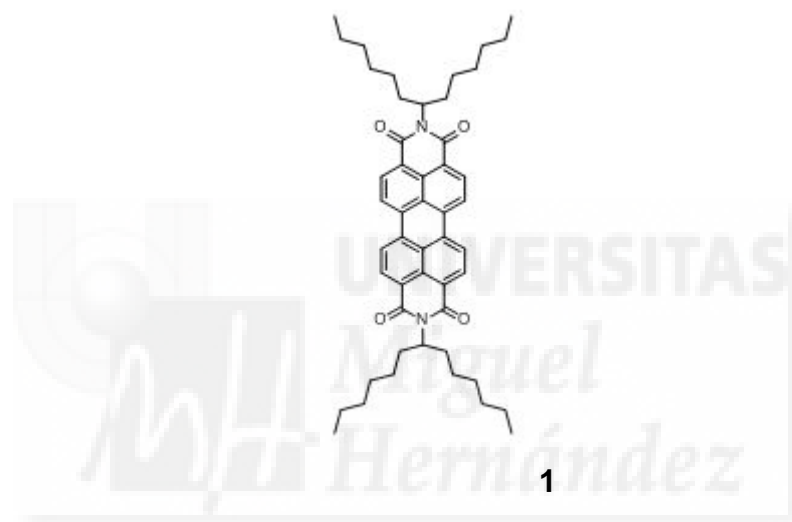
Figura 8. Fluorescencia en la superficie bacteriana de *E.coli*. (A): Imágenes de células *E.coli* marcadas con PGD-PDI. (C): Imágenes de células marcadas con PDI.<sup>10</sup>

### 3. OBJETIVOS.

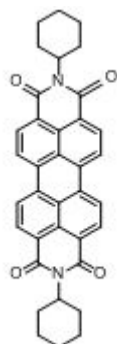
La finalidad de este trabajo es sintetizar y caracterizar PDIs, en los que se han introducido distintos sustituyentes, de manera que estas moléculas puedan ser utilizadas como precursores de biomarcadores moleculares.

Los objetivos concretos son:

1. La síntesis y caracterización del perileno **1** a partir de una amina y un perilenodianhídrido mediante una reacción de adición-eliminación.



2. La síntesis y caracterización del perileno **2** a partir de la ciclohexilamina y un perilenodianhídrido mediante una reacción de adición-eliminación.



3. La síntesis y caracterización del perileno **3** a partir del perileno **2** y bromo mediante una reacción de sustitución electrófila aromática



**3**



#### 4. TÉCNICAS EXPERIMENTALES.

Todos los reactivos y disolventes utilizados se obtuvieron a través de casas comerciales especializadas y se usaron sin purificación adicional.

Los espectros de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN) se registraron en un espectrofotómetro BRUKER AC-300. Los valores de desplazamientos químicos se dan en unidades  $\delta$  (ppm), usando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

##### Cromatografía en capa fina.

Las reacciones se siguieron por cromatografía en capa fina analítica, utilizando cromatofolios de gel de sílice de tipo 60F254 con espesor de capa de 0,2 mm. Para visualizarlo se utilizó una lámpara de UV (354nm y 365 nm) modelo Vilder Lourmat.

En la cromatografía en capa fina, la fase estacionaria (adsorbente) se encuentra formando una capa fina sobre una lámina metálica. La mezcla a analizar se deposita a una pequeña distancia del borde inferior de la placa y se introduce en una cubeta con la fase móvil (eluyente) que asciende por la placa por capilaridad. A medida que asciende, separa los componentes, ya que los desplaza a distintas velocidades. Cuando el frente del disolvente se encuentra cercano al borde superior de la placa, se saca de la cubeta, se deja secar y se visualizan las manchas.

El procedimiento para la cromatografía en capa fina es:

1. En la superficie de la placa se señala con un lápiz una línea recta a una pequeña distancia del borde inferior y sobre ella tantos puntos como muestras se vayan a analizar dejando el máximo espacio posible entre ellos.
2. Se disuelve la muestra a analizar en un disolvente de manera que no esté ni muy diluida ni concentrada.
3. Con la ayuda de un capilar de vidrio, se deposita la muestra en el punto sobre la capa, apoyando el capilar con la disolución sobre el adsorbente y dejando evaporar el disolvente. Se repite el proceso 2 o 3 veces.

4. Se añade el disolvente en la cubeta de cromatografía de manera que el nivel de éste quede por debajo de la línea con las muestras de la placa.
5. Se introduce la placa en posición vertical en la cubeta, apoyada contra la pared. Durante la elución se tapa la cubeta.
6. Se abre la cubeta y se saca la placa cuando el disolvente esté cerca del borde superior de la placa.
7. Se deja evaporar el disolvente y se visualiza la placa.

### Cromatografía en columna.

Para la purificación y separación de los productos por cromatografía en columna se utilizó como fase estacionaria  $\text{SiO}_2$  de tipo 60 A, con tamaño de partícula 40-63  $\mu\text{m}$ .

La cromatografía en columna es el método más general para la purificación y separación de compuestos orgánicos donde la fase estacionaria (adsorbente) se deposita en una columna de vidrio y se impregna con la fase móvil (eluyente). La mezcla a separar se deposita en la parte superior de la fase estacionaria, y a medida que la fase móvil atraviesa el sistema, los compuestos disueltos en la fase móvil van saliendo de la columna.

Para elegir el disolvente adecuado para la mejor separación de los productos se lleva a cabo una cromatografía en capa fina.

El procedimiento para la cromatografía en columna es:

1. Preparación de la columna. Se debe elegir una columna de diámetro adecuado a la cantidad de muestra y se sujeta al soporte con dos pinzas, una en la parte superior y otra cercana a la llave.
2. Relleno de la columna. Se prepara una suspensión con el disolvente y el adsorbente ( $\text{SiO}_2$ ) y ésta se añade al interior de la columna. Después de compactar se añaden 1-2 cm de arena para proteger el frente del adsorbente.
3. Sembrado de la mezcla a separar. Se disuelve la mezcla en el mismo disolvente en el que se va a empezar la elución y se deposita con una pipeta Pasteur sobre la arena dejando resbalar por las paredes. Se abre la llave para que el producto se introduzca en la arena.

4. Elución de fracciones. Se añade el disolvente por la pared de la columna. El volumen inicial que se recoge de disolvente se desprecia porque no contiene producto. A continuación se recogen las fracciones, en pequeños volúmenes, usando erlenmeyers o viales. Es importante que el adsorbente nunca llegue a secarse.
5. El seguimiento se lleva a cabo por cromatografía en capa fina y las fracciones que tienen el mismo contenido se juntan en el mismo matraz y el disolvente se elimina en el rotavapor (el matraz debe estar previamente tarado para poder conocer la cantidad de producto que se obtiene).

#### Espectroscopía infrarroja.

Los espectros de infrarrojo se registraron en pastilla de bromuro de potasio (KBr) utilizando un espectrofotómetro Nicolet Impact 400D.

El registro de muestras sólidas se lleva a cabo preparando una pastilla que se introduce en el espectrofotómetro.

Para preparar la pastilla se mezcla una pequeña cantidad de muestra con exceso de bromuro de potasio.

El procedimiento para realizar una pastilla de bromuro de potasio es:

1. Se muele en un mortero una pequeña cantidad de muestra y se añade bromuro de potasio anhidro.
2. Se muele la mezcla hasta obtener un polvo fino.
3. Se coloca una capa de la mezcla en el soporte de acero inoxidable y se coloca el embolo en su lugar.
4. Se introduce todo en la prensa, y a continuación se aplica presión durante 10 minutos.
5. Se retira el émbolo y se invierte el soporte para que caiga la pastilla.
6. Se coloca la pastilla en el lugar habilitado para ello en el espectrofotómetro y se registra el espectro.

### Espectroscopía ultravioleta y visible.

Los espectros de absorción ultravioleta-visible (UV-vis) se obtuvieron siempre en disolución, en un espectrofotómetro Helios Gamma.

El procedimiento para la realización de un espectro ultravioleta es:

1. Se prepara una disolución de la muestra de concentración  $10^{-5}$  M.
2. Se llena una de las cubetas con el disolvente y otra con la disolución de la muestra.
3. Se limpia la parte exterior de las superficies de las cubetas y se coloca la que lleva el disolvente en el lugar adecuado del espectrofotómetro.
4. A continuación se repite con la cubeta que tiene la disolución.
5. Se registran los espectros y se retiran las cubetas.

### Espectroscopía de fluorescencia.

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

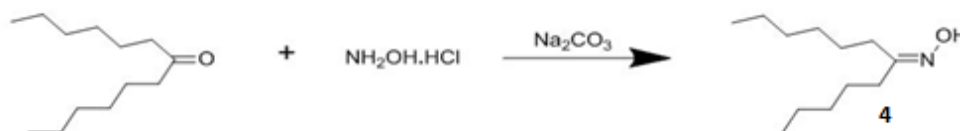
En un experimento típico, se miden las diferentes frecuencias de luz fluorescente emitida por una muestra, manteniendo la luz de excitación a una longitud de onda constante.

La longitud de onda empleada para excitar las moléculas coincide con la longitud de onda de máxima absorción del espectro ultravioleta.



## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 1. Síntesis y caracterización de 1-hexilheptiloxima (4).



En un matraz de fondo redondo de 250 mL se pesan 5,85 g (29 mmol) de dihexilcetona y 3 g de hidroxilamina (43 mmol). Se disuelven a continuación en 140 mL de etanol al 60% y a la disolución formada se adicionan 5,7 g de carbonato de sodio (27 mmol). Se calienta a reflujo durante 24 horas (**Figura 9**).



**Figura 9.** Reacción a reflujo.

Tras 22 horas de reacción se hace una cromatografía en capa fina (**Figura 10**) para comprobar el transcurso de la reacción. Para ello se compara el reactivo

de partida (dihexilcetona, "P") y el crudo de la reacción ("R"). Como revelador se usa yodo, ya que oxida a la oxima y cetona dando productos coloreados. Se observa que en el crudo "R" no aparece cetona de partida.



**Figura 10.** Cromatografía en capa fina tras 22 horas de reacción.

A continuación, una vez se ha enfriado, se añaden 60 mL de éter. No se aprecia bien la separación de fases, por lo que se añaden 60 mL de agua. Se realizan dos extracciones, se juntan las dos fases orgánicas que se lavan con agua para eliminar restos de carbonato de sodio.

Se seca con sulfato de magnesio anhidro, se filtra con un filtro de pliegues sobre un matraz de fondo redondo y se evapora el disolvente en el rotavapor (presión atmosférica). Después de eliminar el disolvente se deja secar a vacío. Se observan restos de agua en el matraz, por lo que se repite la extracción con 60 mL de hexano (dos veces). Las fases orgánicas se secan con gran cantidad de sulfato de magnesio anhidro. Se filtra con un filtro de pliegues sobre un matraz de fondo redondo y se evapora el disolvente en el rotavapor a 335 mbar. Se deja secar a vacío durante un día.

La reacción de condensación de la dihexilcetona con la hidroxilamina en presencia de carbonato de sodio da lugar a la oxima correspondiente **4** con un rendimiento del 74%.

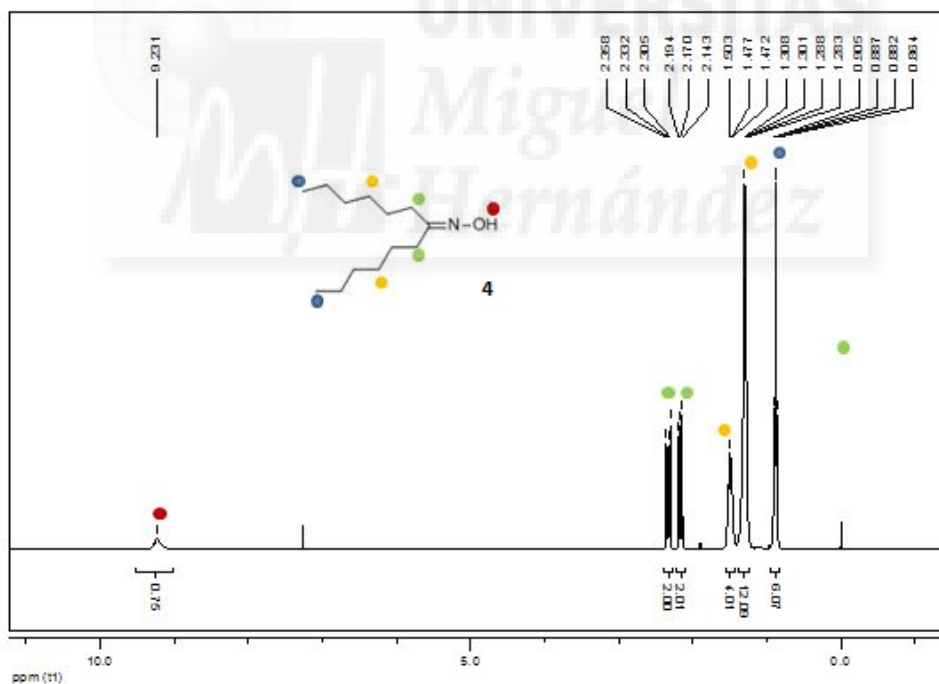
Peso del producto obtenido: 4,56 g (21,40mmol)

$$\text{Rendimiento} = \frac{21,40 \text{ mmol oxima}}{29 \text{ mmol dihexilcetona}} \times 100 = 74\%$$

- $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,88 (t, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 1,15-1,20 (m, 16H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,16 (t, 2H,  $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_2-$ ), 2,33 (t, 2H,  $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_2-$ ), 9,23 (s, 1H, N-OH)

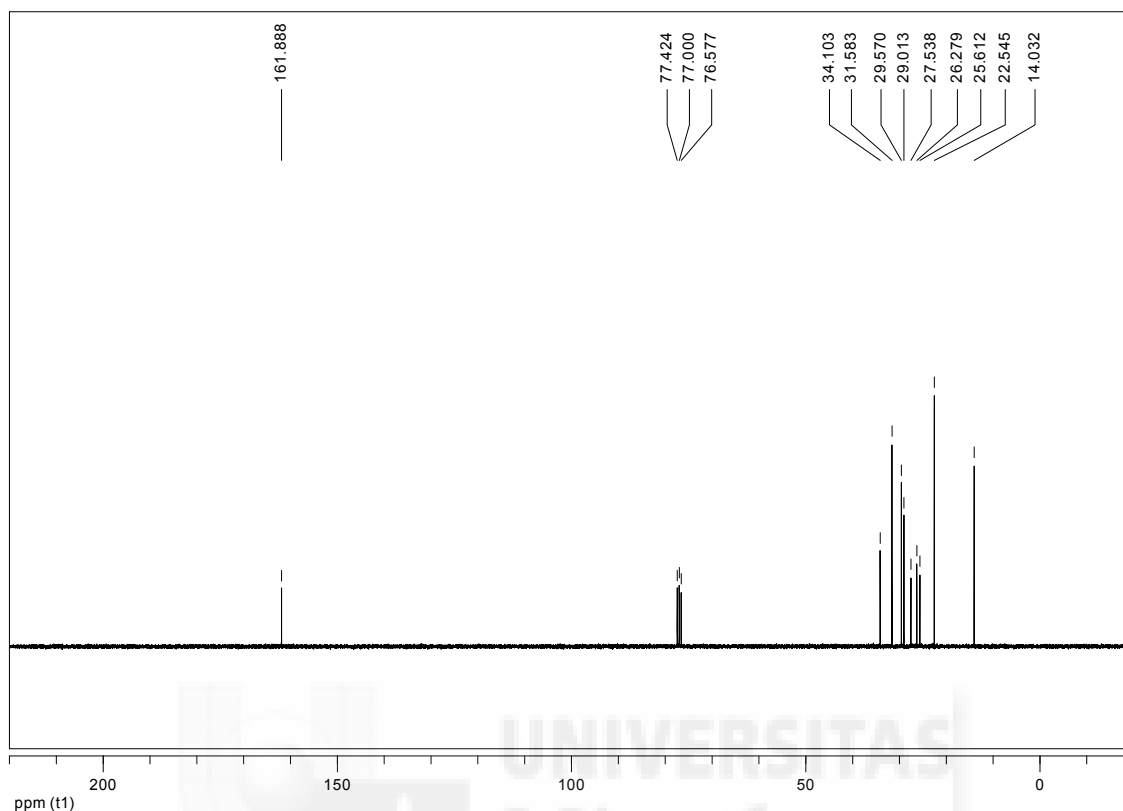
Se comprueba por los espectros de  $^1\text{H-RMN}$  y  $^{13}\text{C-RMN}$  que no aparecen restos de la cetona de partida, obteniéndose el producto puro.

La **Figura 11** muestra el espectro  $^1\text{H-RMN}$  de la oxima sintetizada **4**. Son características la señal que aparece a 9,23 ppm (singulete correspondiente al protón del grupo funcional de la oxima), las señales alrededor de 2,2 ppm (multipletes correspondientes a los protones de las cadenas alquílicas) y las señales a 0,88 ppm (correspondientes a los protones de los metilos terminales).



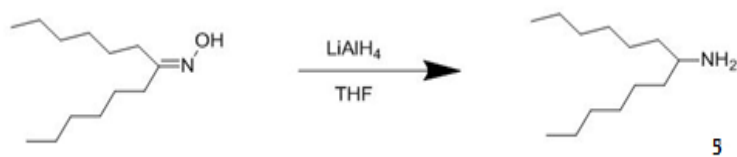
**Figura 11.** Espectro de  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de la oxima **4**.

La **Figura 12** muestra el espectro  $^{13}\text{C-RMN}$  del producto de la reacción. A 161,8 ppm aparece la señal característica del grupo funcional de la oxima lo que confirma la estructura propuesta.



**Figura 12.** Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) de la oxima **4** sintetizada.

## 2. Síntesis y caracterización de 1-hexilheptilamina (**5**).



Se pesan 2,28 g de hidruro de litio y aluminio (60 mmol) en un matraz de fondo redondo. Bajo atmósfera de argón, se añaden 50 mL de THF seco (**Figura 13**).



**Figura 13.** Adición de THF seco al matraz con hidruro de litio y aluminio.

Por otra parte, se disuelven 4,23 g (19,8 mmol) de oxima **4** en 15 mL de THF y se añaden al matraz. Se deja reaccionar durante 7 horas a 70°C. Se deja enfriar y la suspensión resultante se adiciona gota a gota sobre una disolución de ácido sulfúrico al 30% (500 mL) mediante un embudo de adición de presión compensada (**Figura 14**).

Se extrae con 100 mL de acetato de etilo (4 veces). Las fases orgánicas se lavan con 100 mL de hidróxido de sodio 2M para conseguir pH básico y la conversión de sal de amonio en amina. Se elimina el disolvente en el rotavapor (140 mbar).

Una vez eliminado el disolvente aparece un sólido blanco con restos de aceite en lugar del aceite anaranjado esperado. En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN se observa que el producto corresponde a la sal de amonio y no a la amina.



**Figura 14.** Montaje de la reacción con el embudo de adición de presión compensada.

Se trata el producto para desprotonar la amina. Para ello, al matraz con el sólido blanco se adicionan 200 mL de acetato de etilo y a continuación se extrae con 100 mL de hidróxido de sodio 2M (2 veces). Se añade sulfato de sodio anhidro para secar, se filtra sobre un matraz y se evapora el disolvente en el rotavapor. Se deja secar con la bomba de vacío y se pesa el producto.

La reacción del hidruro de litio y aluminio con la oxima **4** produce la reducción de ésta dando lugar a la amina correspondiente **5** con un rendimiento del 64%.

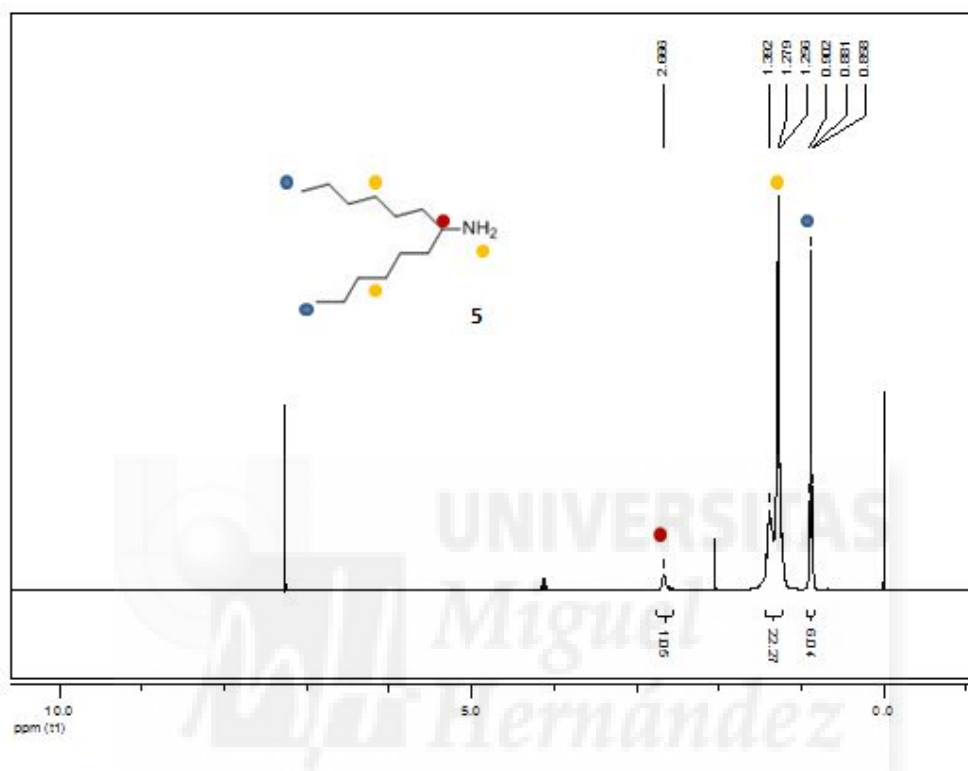
Peso del producto obtenido: 2,5 g (12,56 mmol)

$$\text{Rendimiento} = \frac{12,56 \text{ mmol hexil heptilamina}}{19,8 \text{ mmol hexil heptiloxima}} \times 100 = 64\%$$

- $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,88 (t, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 1,25-1,39 (m, 22H,  $-\text{CH}-$ ), 2,66 (s, 1H, N-CH-).

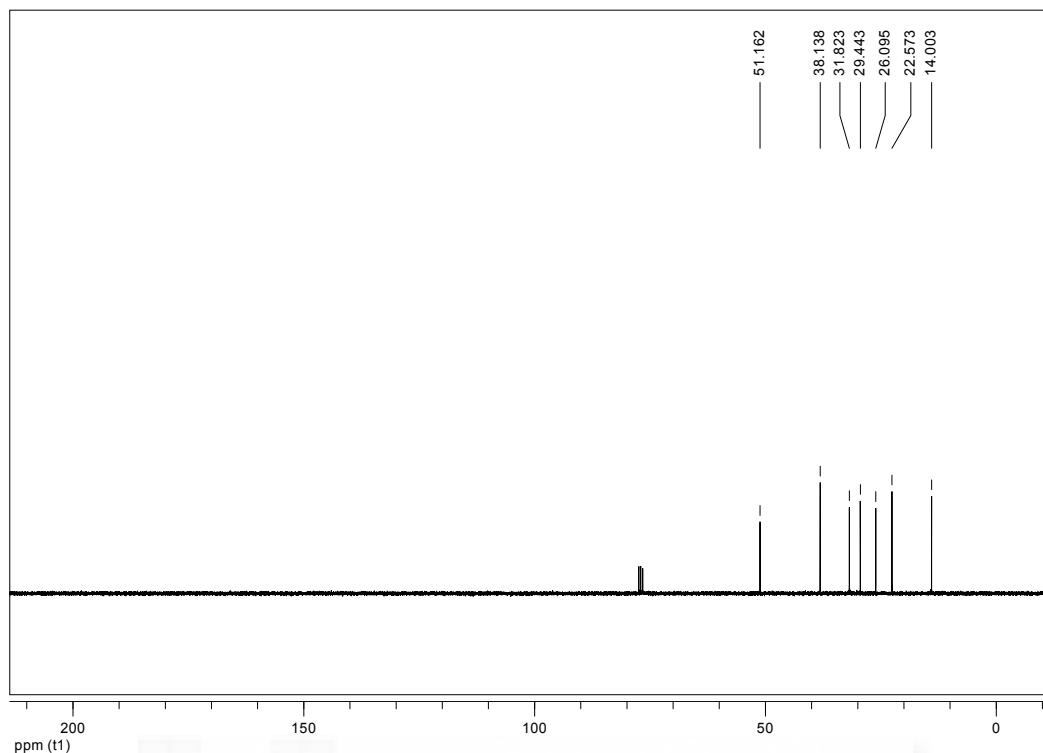
La **Figura 15** muestra el espectro  $^1\text{H-RMN}$  de la amina **5**. Son características la señal que aparece a 2,66 ppm (correspondiente al protón del carbono unido a la amina), las señales alrededor de 1,2 ppm (multipletes correspondientes a los

protones del grupo funcional amina y metilenos de las cadenas alquílicas) y el triplete a 0,88 ppm (correspondientes a los protones de los metilos terminales). También aparecen pequeñas señales del disolvente (acetato de etilo) que no se ha eliminado por completo.



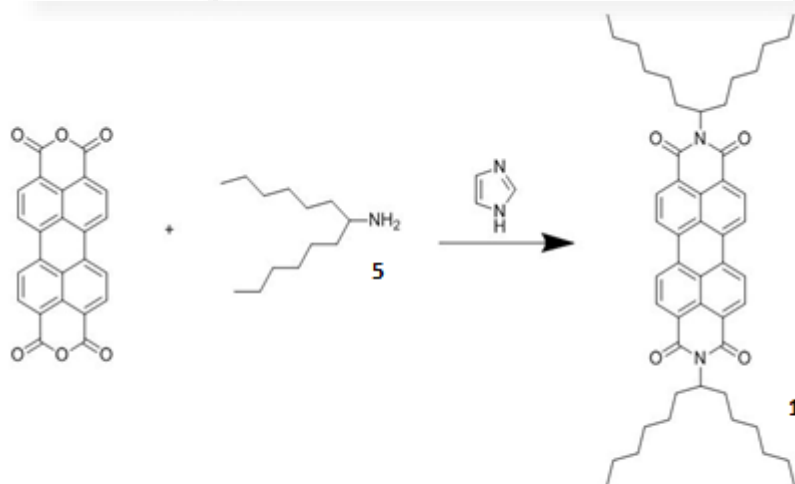
**Figura 15.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) de la amina **5**.

La **Figura 16** muestra el espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN de la amina **5**. A 51,16 ppm aparece una señal, más pequeña al resto, característica del carbono unido a la amina lo que refleja que la oxima **4** se ha reducido totalmente a la amina **5**.



**Figura 16.** Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) de la amina **5**.

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



A un matraz con 2,5 g (12,56 mmol) de 1-hexilheptilamina **5**, se añaden 11,51 g (198 mmol) de imidazol y 2,04 g (5,199 mmol) de perileno-3,4:9,10-



tetracarboxidianhídrido. Se deja reaccionar bajo atmósfera de argón, con refrigerante a 160°C durante 4 horas (**Figura 17**).



**Figura 17.** Montaje de la reacción.

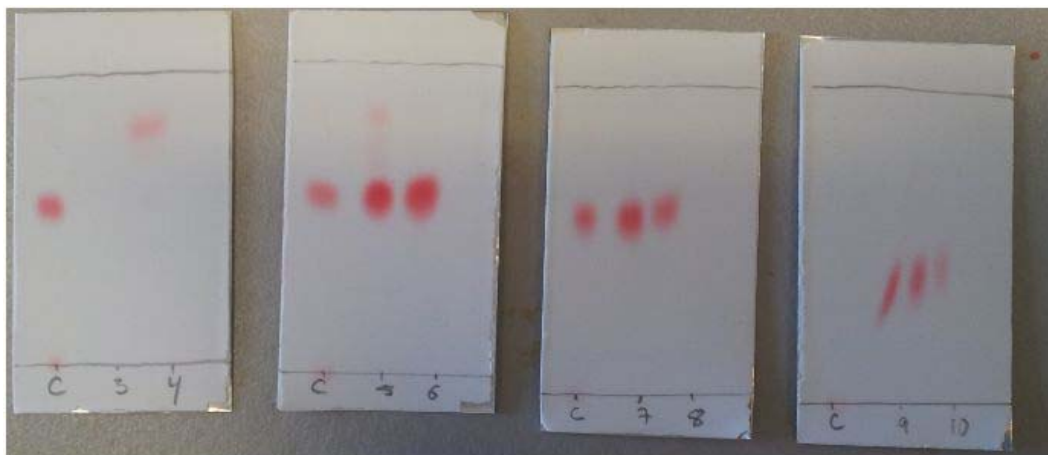
Transcurrido ese tiempo, y una vez frío, se suspende el crudo con 300 mL de etanol al 96% y 400 mL de HCl 1M y se deja agitando.

Se filtra el precipitado a vacío con embudo Büchner y se lava, primero con 400 mL de carbonato de potasio al 10% y a continuación con 200 mL de agua.

Se seca el sólido con pentóxido de fósforo en el desecador y a vacío. Una vez seco se purifica por cromatografía en columna con gel de sílice.

Se prueban como eluyentes: hexano/acetato de etilo 9:1, hexano/acetato de etilo 2:1 y tolueno. Finalmente se utiliza tolueno por ser el que mejor separa el producto.

Se recogen las distintas fracciones y se hacen cromatografías en capa fina de ellas. Según se observa en las capas finas, las fracciones 6-10 contienen el producto y no impurezas.



**Figura 18.** Cromatografías en capa fina de las distintas fracciones recogidas en la cromatografía en columna.

Se llevan todas estas fracciones al rotavapor para eliminar el tolueno (177 mbar). Se deja secar a vacío.

Peso del producto obtenido: 3,44 g (4,55 mmol)

$$\text{Rendimiento} = \frac{4,55 \text{ mmol perileno diimida}}{5,199 \text{ mmol perileno anhídrido}} \times 100 = 88\%$$

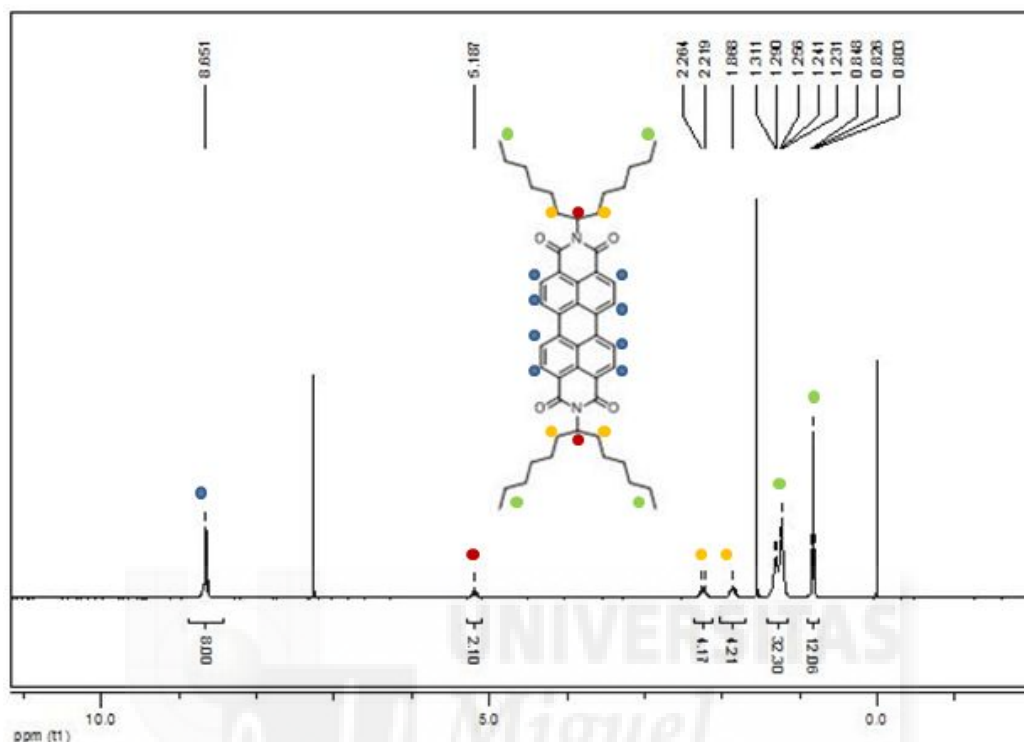
El compuesto **5**, mediante una reacción de adición-eliminación con el perileno-3,4:9,10-tetracarboxidianhídrido y con imidazol como disolvente, da lugar al perileno **1** con un rendimiento del 88%.

Para caracterizar el producto se realizan espectros de  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN, IR, UV y fluorescencia.

- $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,82 (t, 12H,  $\text{CH}_3$ ), 1,29 (m, 32H,  $-\text{CH}_2$ ), 1,86 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,26 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 5,18 (m, 2H, N-CH), 8,65 (m, 8H, ArH).
- $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13,92, 22,48, 26,92, 29,13, 31,68, 32,23, 54,64, 122,92, 125,70, 129,02, 133,68, 163,02, 164,08.
- UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{máx}}$ /nm: 457, 488, 524.
- IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ); 2925, 2855, 1700, 1659, 1594, 1404, 1336, 808.

La **Figura 19** muestra el espectro  $^1\text{H}$ -RMN de la PDI **1** sintetizado. Son características las señales que aparece a 8,65 ppm (multiplete correspondiente

a los protones aromáticos) y a 5,18 ppm (quintuplete de los dos protones de los carbonos unidos a las imida).



**Figura 19.** Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) del PDI 1.

La **Figura 20** muestra el espectro <sup>13</sup>C-RMN de la PDI 1. Entre 13 y 55 ppm aparecen las señales correspondientes a los carbonos alifáticos. Entre 120 y 160 ppm aparecen las señales característica de los aromáticos.

La **Figura 21** muestra el espectro de absorción y emisión de la PDI 1. La  $\lambda_{\text{máx}}$  de absorción de mayor intensidad de este producto es 524nm, siendo ésta la  $\lambda$  utilizada para obtener el espectro de fluorescencia. El espectro de UV/vis es el esperable para un PDI sin sustituyentes en posición bahía.

La **Figura 22** muestra el espectro de IR del perileno 1. Son características las bandas de tensión del enlace C=O a 1659 cm<sup>-1</sup>.

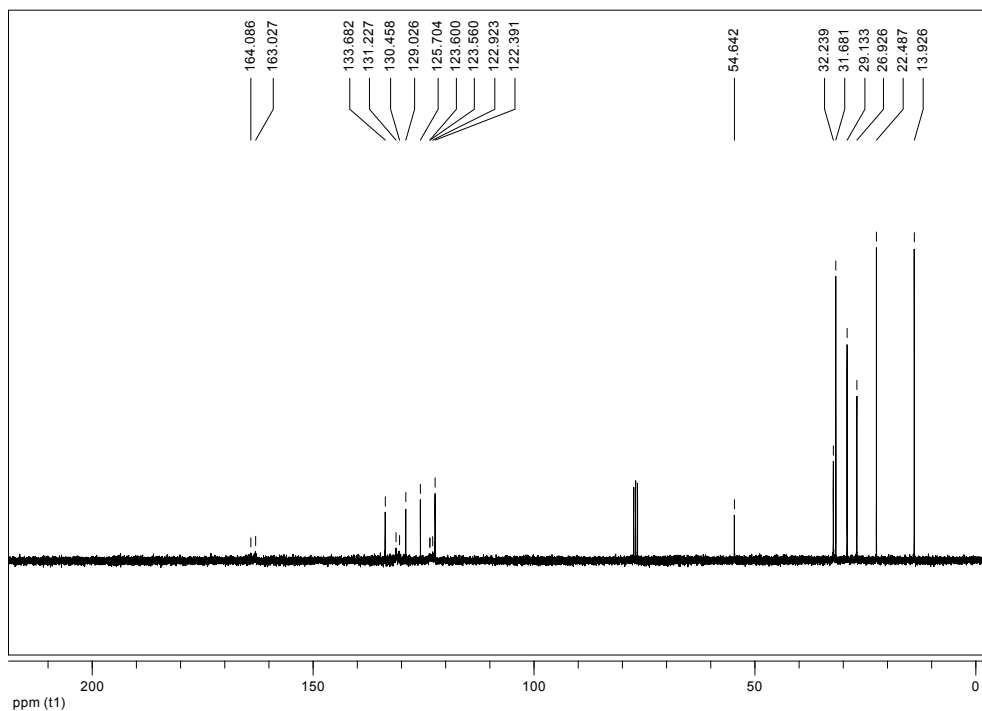


Figura 20. Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) del PDI 1.

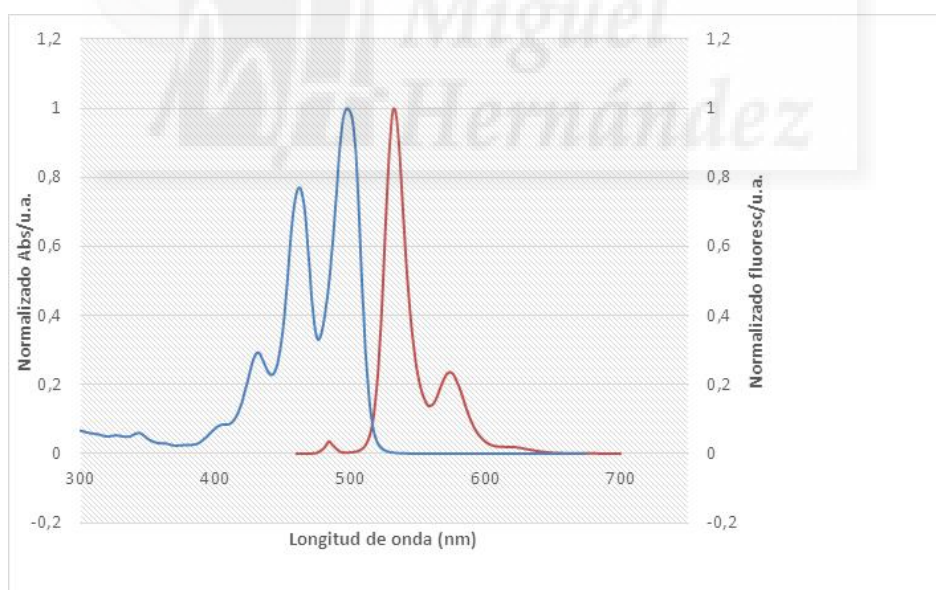
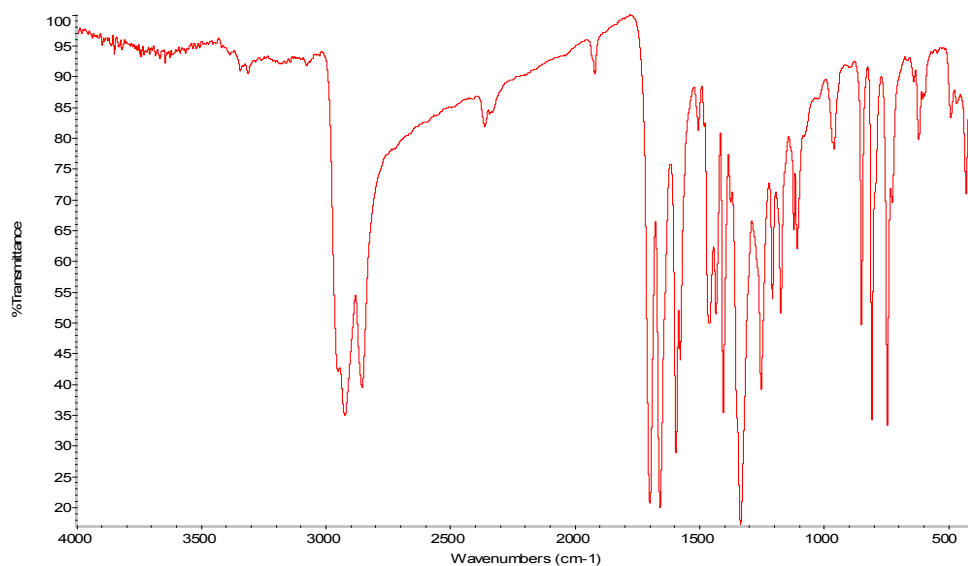
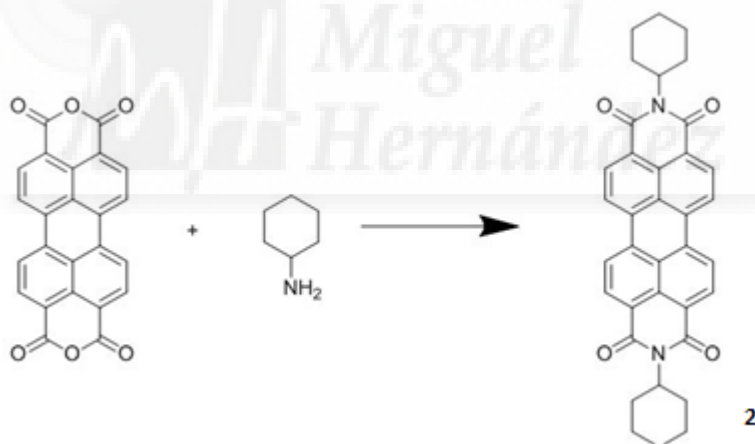


Figura 21. Espectro normalizado de absorción y emisión del perileno 1 en diclorometano.



**Figura 22.** Espectro de IR del perileno 1.

**4. Síntesis y caracterización de *N,N'*-di(ciclohexil)perileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida (2)**



A un matraz de fondo redondo de 250 mL se añaden 5 g (12,75 mmol) de perileno-3,4:9,10-tetracarboxidanhídrido, 25 g de imidazol y 5 mL (43,78 mmol) de ciclohexilamina. Se deja reaccionar bajo atmósfera de argón con refrigerante a 160°C durante 8 horas.

Transcurrido ese tiempo, y una vez frío, se vierte el crudo en 300 mL de etanol al 96% y 400 mL de HCl 1M y se deja agitando. Se filtra el precipitado a vacío con embudo Büchner y se lava, primero con 400 mL de carbonato de potasio al

10% y a continuación con agua hasta pH neutro. Finalmente se lava con 200 mL de metanol.

Se evapora el disolvente en el rotavapor y se deja secar a vacío.

Se intenta purificar mediante cromatografía en columna con gel de sílice. Se prueban distintos eluyentes, y ninguno es apropiado para ello, ya que el producto es muy poco soluble.

Con objetivo de purificarlo, se añaden 100 mL de cloroformo para disolver posibles impurezas (sin que se disuelva el producto). A continuación se filtra a vacío y se deja secando.

Peso del producto obtenido: 6,93 g (12,50 mmol)

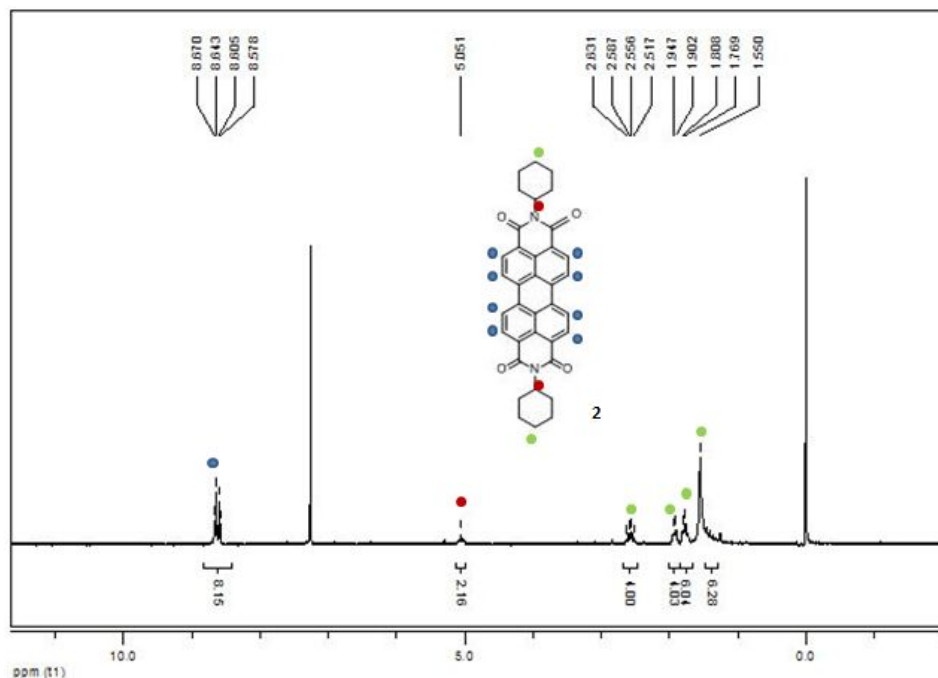
$$\text{Rendimiento} = \frac{12,50 \text{ mmol perilenodiimida}}{12,75 \text{ mmol perileno anhídrido}} \times 100 = 98\%$$

Mediante una reacción de adición-eliminación de la ciclohexilamina y el perileno-3,4:9,10-tetracarboxidanhídrido utilizando imidazol como disolvente, se produce la formación del perileno **2** con un rendimiento del 98%.

Para caracterizar el producto se realizan espectros de  $^1\text{H}$ -RMN, IR, UV y fluorescencia. No fue posible realizar el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN, ya que no se pudo solubilizar la suficiente cantidad de producto en el disolvente.

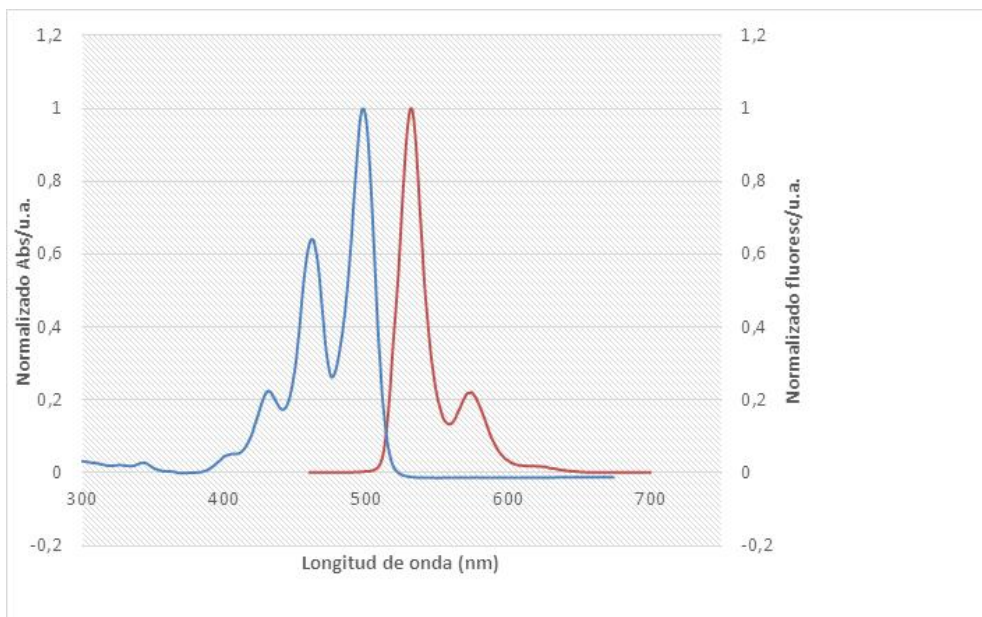
- $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,76 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,90 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,94 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,58 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 5,05 (m, 2H, N-CH), 8,64 (m, 8H, ArH).
- IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2925, 2851, 1695, 1645, 1589, 1405, 1335, 808.
- UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{máx}}$ /nm: 457, 488, 524.

La **Figura 23** muestra el espectro  $^1\text{H}$ -RMN del PDI **2**. Es característica la señal que aparece a 8,64 ppm (multiplete correspondiente a los protones aromáticos del perileno). A 5,05 ppm aparecen los protones del carbono del ciclohexilo unido a la imida y entre 1,5 y 2,6 ppm se encuentran el resto de protones del ciclohexilo.



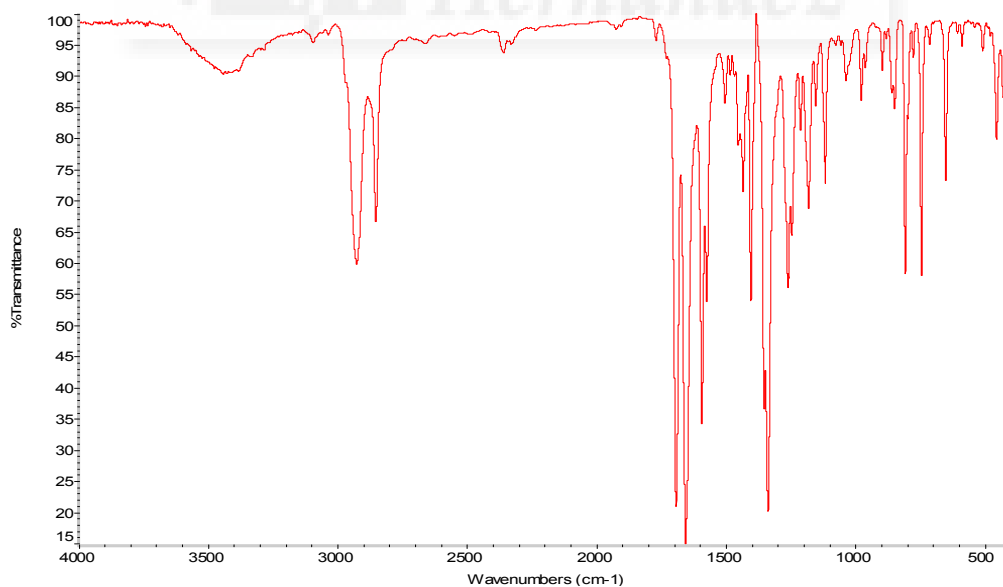
**Figura 23.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) del PDI **2**.

La **Figura 24** muestra el espectro de absorción y emisión del producto sintetizado en la reacción. La  $\lambda_{\text{máx.}}$  de absorción de mayor intensidad de este producto es 524 nm, siendo ésta la  $\lambda$  utilizada para obtener el espectro de fluorescencia. El espectro de UV/vis es el esperable para un PDI sin sustituyentes en posición bahía.



**Figura 24.** Espectro normalizado de absorción y emisión del perileno **2** en diclorometano.

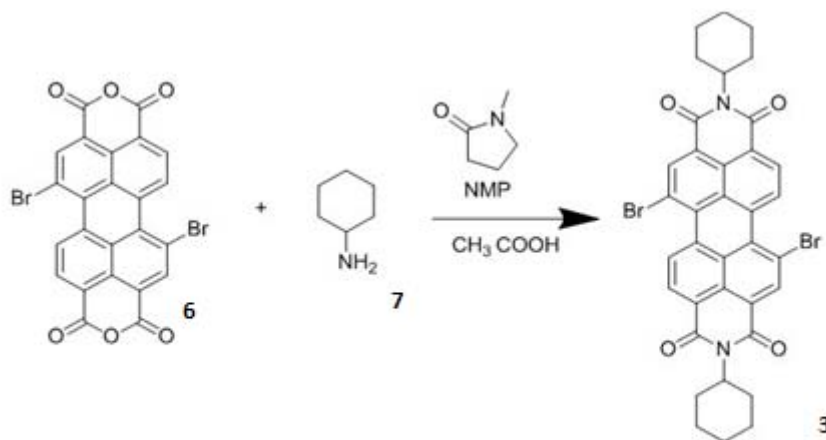
La **Figura 25** muestra el espectro de IR del perileno **2**. Es característica la banda de tensión del enlace C=O a  $1645\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 25.** Espectro de IR del perileno **2**.



5. Síntesis y caracterización de *N,N'*-di(ciclohexil)-1,7-dibromoperileno-3,4:9,10-tetracarboxidiimida (3)



Se pesan 5 g (9,43 mmol) del perileno **6** en un matraz de fondo redondo. Se añaden 4,2 mL (36,78 mmol) de ciclohexilamina, 3,8 mL de ácido acético glacial y 40 mL (55,5 mmol) de *N*-metilpirolidona.

Se deja reaccionar bajo atmósfera de argón a 85°C durante 24 horas.

Acabada la reacción se deja enfriar, se filtra a vacío, y se lava el sólido con 100 mL de metanol. Se prueban distintos eluyentes para la cromatografía en columna con gel de sílice (**Figura 26**).



**Figura 26.** Cromatografías en capa fina correspondientes a los distintos eluyentes.

El más apropiado es la mezcla tolueno/diclorometano 1:1 ya que es el que mejor separa los compuestos.

La siembra del producto en la columna no es correcta. Se recogen todas las fracciones, se evapora el disolvente en el rotavapor y se vuelve a purificar por cromatografía en columna con gel de sílice.

Peso del producto obtenido: 0,66 g (0,926 mmol).

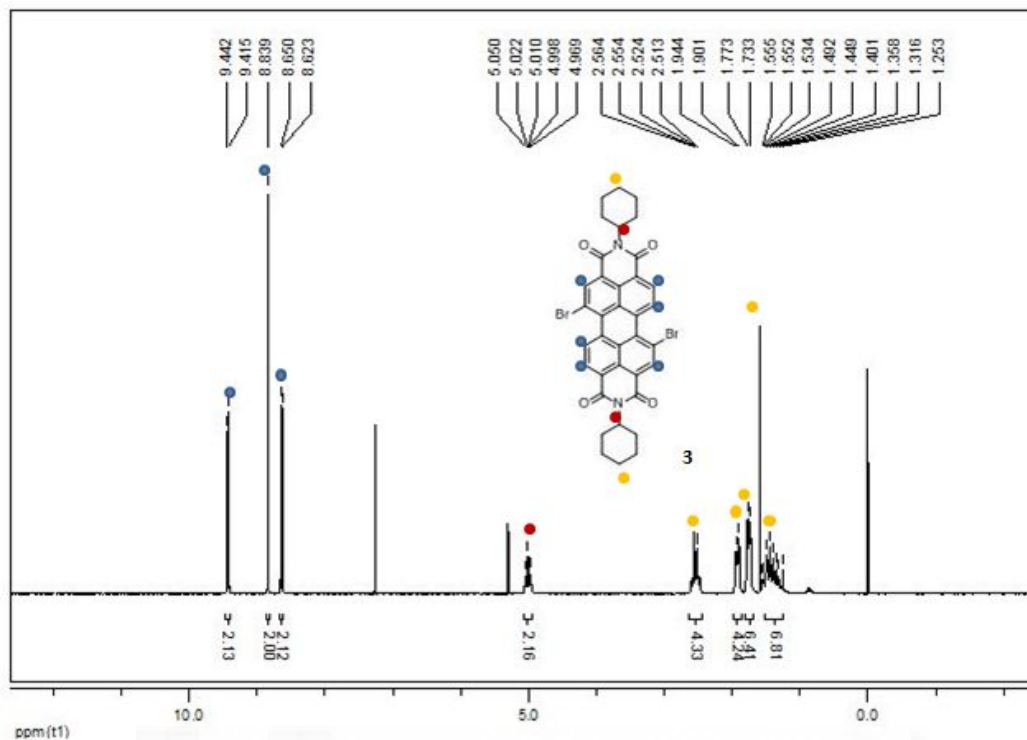
$$\text{Rendimiento} = \frac{0,926 \text{ mmol perileno}}{9,43 \text{ mmol perileno anhídrido}} \times 100 = 10\%$$

Mediante una reacción de adición-eliminación del perileno dibromado **6** y la ciclohexilamina utilizando imidazol como disolvente, se produce la formación del perileno **3** con un rendimiento del 10%.

Para caracterizar el producto se realizan espectros de  $^1\text{H}$ -RMN, IR, UV y fluorescencia. No fue posible realizar el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN, ya que no se pudo solubilizar la suficiente cantidad de producto en el disolvente.

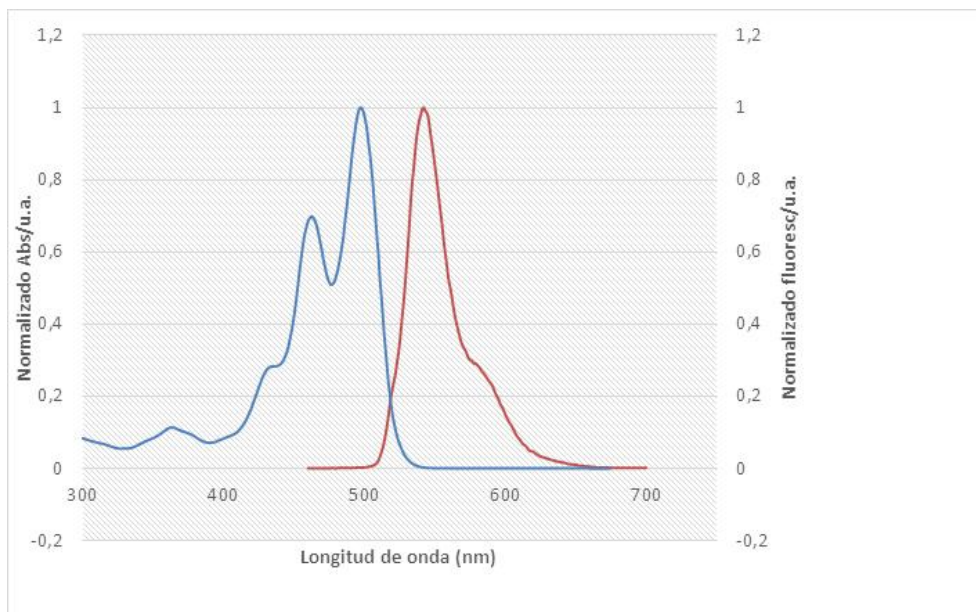
- $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,49 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,73 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,90 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,55 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 5,01 (m, 2H, N-CH), 8,62 (d, 2H, ArH), 8,83 (s, 2H, ArH), 9,44 (d, 2H, ArH).
- IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2925, 2851, 1695, 1645 (C=O), 1589, 1405, 1335, 808.
- UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{máx}}$ /nm: 458, 489, 523.

La **Figura 27** muestra el espectro  $^1\text{H}$ -RMN del PDI **3**. Son características las señales que aparecen entre 8,6 y 9,4 ppm correspondientes a los protones aromáticos del perileno. A 5,01 ppm aparecen los protones del carbono del ciclohexilo unido a la imida y entre 1,25 y 2,56 ppm se encuentran el resto de protones del ciclohexilo.

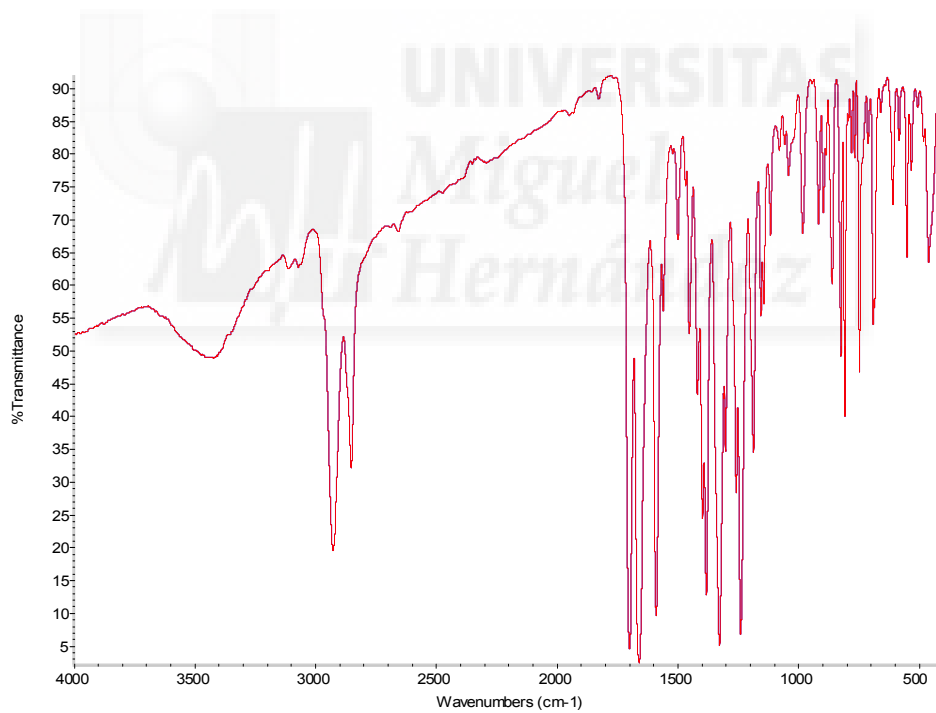


**Figura 27.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) del PDI **3**.

La **Figura 28** muestra el espectro de absorción y emisión del producto sintetizado en la reacción. La  $\lambda_{\text{max}}$  de absorción de este producto es a 523nm, siendo ésta la  $\lambda$  utilizada para obtener el espectro de fluorescencia. Si comparamos el espectro de absorción con el del perileno **2**, se observa que la presencia de grupos electrón-atractivos bromo en posiciones bahía no ejerce ningún efecto.



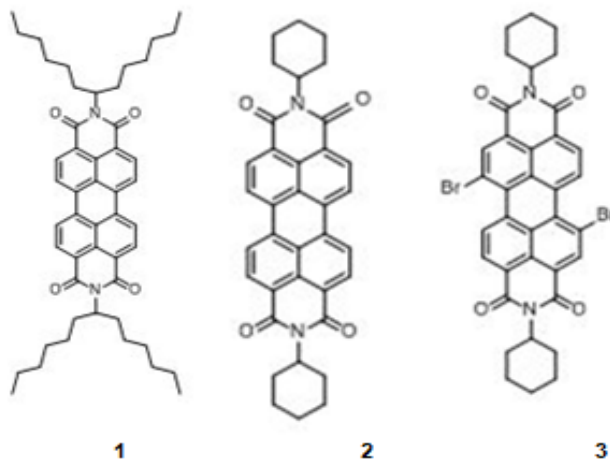
**Figura 28.** Espectro normalizado de absorción y emisión del perileno **3** en diclorometano.



**Figura 29.** Espectro de IR del perileno **3**.

## 6. CONCLUSIONES.

1. Se ha logrado sintetizar y purificar los perilenos **1**, **2** y **3**.



2. 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 el caso del perileno dibromado **3**, la presencia de bromos no afecta al espectro UV-vis.