



**Universitat Ramon Llull**

## **TESIS DOCTORAL**

|                      |  |
|----------------------|--|
| Título               | <b>Nuevas aproximaciones a la síntesis de porfíricos<br/>2,7,12,17-sustituidos</b> |
| Realizada por        | <b>Ofir Arad Hadar</b>   |
| en el Centro         | <b>IQS School of Engineering</b>   |
| y en el Departamento | <b>Química Orgánica</b>  |
| Dirigida por         | <b>Prof. Dr. José I. Borrell Bilbao<br/>Prof. Dr. Santi Nonell Marrugat</b>        |



Esta tesis doctoral está dedicada a la memoria  
de mi padre Abraham (Avi) Arad ז"ר, ejemplo de  
bondad, integridad y espíritu de superación.



**Toutes les bonnes maximes sont dans le monde;  
on ne manque qu'à les appliquer.**

*Blaise Pascal, Discours sur les passions de l'amour (1652)*









## ÍNDICE

|  |           |
|--|-----------|
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>   | <b>11</b> |
| <b>SUMMARY</b>   | <b>13</b> |
| <b>SUMARI</b>  | <b>15</b> |
| <b>RESUM</b>   | <b>17</b> |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>   | <b>19</b> |
| <br>   |           |
| <b>1. CAPITULO 1: Introducción</b>   | <b>23</b> |
| 1.1. Porfícinos: Estructura y propiedades  | 25        |
| 1.2. Aplicaciones biomédicas de los porfícinos   | 30        |
| 1.2.1. Terapia fotodinámica del cáncer   | 31        |
| 1.2.2. Inactivación fotodinámica de bacterias  | 34        |
| 1.3. La química de los porfícinos  | 35        |
| 1.4. Objetivos   | 49        |
| 1.5. Bibliografía  | 52        |
| <br>   |           |
| <b>2. CAPITULO 2: Síntesis de porfícinos sustituidos en las posiciones<br/>2, 7, 12 y 17</b>   | <b>59</b> |
| 2.1. Antecedentes  | 61        |
| 2.2. Nueva estrategia para la obtención de porfícinos 2,7,12,17-sustituidos  | 61        |
| 2.2.1. Síntesis del 4 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -tieno[3,2- <i>b</i> :4,5- <i>b'</i> ]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo   | 64        |
| 2.2.2. Síntesis del 2,7-dibromo-4 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -tieno[3,2- <i>b</i> :4,5- <i>b'</i> ]dipirrol-3,6-<br>dicarboxilato de dietilo                           | 65        |
| 2.2.3. Sustitución del 2,7-dibromo 4 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -tieno[3,2- <i>b</i> :4,5- <i>b'</i> ]dipirrol-<br>3,6-dicarboxilato de dietilo por reacción de Suzuki | 66        |
| 2.3. Obtención de porfícinos 2,7,12,17-tetraaril sustituidos   | 73        |
| 2.3.1. Síntesis de 2,7,12,17-tetrafenilporfícinos  | 77        |
| 2.3.2. Síntesis del tetra(4-piridil)porfícinos   | 82        |
| 2.3.3. Síntesis de 2,7,12,17-tetra( <i>p</i> -metoxifenil)porfícinos   | 89        |
| 2.3.4. Síntesis del tetra( <i>m</i> -hidroxifenil)porfícinos   | 89        |
| 2.4. Resumen   | 104       |
| 2.5. Bibliografía  | 106       |

|  |            |
|--|------------|
| <b>3. CAPITULO 3: Porfíenos asimétricos</b>                                | <b>111</b> |
| 3.1. Antecedentes  | 113        |
| 3.2. Síntesis y caracterización del 2,7,12,17-tetrafenil-9-nitroporfíeno   | 116        |
| 3.3. Síntesis y caracterización del 9-amino-2,7,12,17-tetrafenilporfíeno   | 127        |
| 3.4. Síntesis y caracterización del 9-acetoxi-2,7,12,17-tetrafenilporfíeno | 130        |
| 3.5. Estudios fotofísicos de los porfíenos 9-sustituídos obtenidos         | 135        |
| 3.6. Resumen   | 140        |
| 3.7. Bibliografía  | 142        |
| <br>   |            |
| <b>4. CAPITULO 4: Parte experimental</b>                                   | <b>147</b> |
| <b>5. CAPITULO 5: Conclusiones</b>   | <b>189</b> |
| <br>   |            |
| <b>6. ANEXO I: Espectroscopía de resonancia magnética nuclear</b>          | <b>197</b> |
| <b>7. ANEXO II: Artículos publicados</b>                                   | <b>213</b> |
| <b>8. NOTA</b>   | <b>263</b> |

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado en el Laboratorio de Síntesis del departamento de Química Orgánica y Bioquímica del Grup d'Enginyeria Molecular (GEM) del Institut Químic de Sarrià, bajo la codirección del Dr. José I. Borrell y del Dr. Santi Nonell a los que quiero expresar mi más sincero agradecimiento por haber depositado en mí su confianza, por su paciencia, ayuda y dedicación durante estos años.

Agradezco a mis padres su amor incondicional, sus constantes incentivos y su apoyo al haber escogido este camino.

Al Institut Químic de Sarrià por las ayudas económica recibidas.

Al ya difunto Dr. E.Vogel, padre de los porfíricos, por haber descubierto estas magníficas moléculas.

A Ana Gavaldá por haberme ayudado en los primeros pasos del camino y a Noemí Rubio por ayudarme a realizar las medidas fotoquímicas. A M<sup>a</sup> Carmen Meca, Núria Ruiz y Xavier Batllori por la realización de los espectros de IR, de RMN y de los análisis elementales. A Jordi Morros y a Ignasi Burgués por su colaboración en la realización de parte de este trabajo.

Quiero agradecer la compañía, ayuda y comprensión recibida por mis compañeros y amigos del grupo especialmente: Jordi Teixidó, Oscar Rey, Paco Carrión, Roger Tejedor, Víctor Martínez, Cristina Flors, Xavi Ragàs, Josep Lluís Falcó, Nacho Juanico, Núria Mont, Alberto Palomo, Gemma Mas, Marta Bargalló, Xevi Hernández, Iñaki Galve, Maia Lloveras, Lyhen González, Juan Camacho, Xavier Berzosa, Laia Ros, Sofía Pettersson, Raimon Puig de la Bellacasa, y todos los que han compartido conmigo laboratorio a lo largo de este período de tiempo. Por último quería destacar la gran ayuda, el soporte y el apoyo recibido por mi amigo David Sánchez a lo largo de todo el camino, gracias David por tu amistad.

Finalmente, quiero agradecer a Carolina por su amor, apoyo y comprensión, por aguantarme durante todos estos años, por ser como es, por su esfuerzo, por compartir conmigo su vida y sobre todo por haberme dado a Lía, Eyal y Kedma.



## SUMMARY

Two synthetic strategies to prepare functionalized porphycenes for their application in photodynamic therapy has been envisioned. The introduction of substituents on the macrocycle of the porphycene should modulate the physicochemical properties and potentially its therapeutic effect in photodynamic therapy. According to these two strategies two families of compounds have been prepared: 2,7,12,17-tetrasubstituted porphycenes and 9-substituted porphycenes.

The first strategy is based on the preparation of a common intermediate, the diethyl 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilyloxyethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate. A variety of substituents were introduced in the porphycene using palladium catalyzed reactions such as the Suzuki reaction. This methodology avoids developing a *de novo* synthesis for each substituent. This new synthetic route gives access to three new arylporphycenes: tetra(*p*-methoxyphenyl)porphycene, tetra(*m*-isopropoxyphenyl)porphycene and tetra(*m*-hydroxyphenyl)porphycene.

The second family of compounds studied is characterized by the *N*- and *O*-functionalization of position 9 of the 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (TPPo). Thus, 9-nitro-2,7,12,17-tetraphenylporphycene was obtained and reduced to 9-amino-2,7,12,17-tetraphenylporphycene. The 9-acetoxy-2,7,12,17-tetraphenylporphycene was also obtained from 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (TPPo).

Finally, the more relevant photophysical properties of these new porphycenes were characterized in order to determine its applicability in the photodynamic therapy. This work has resulted in several publications that are included as an annex.



## SUMARI

S'estudien dues estratègies sintètiques per obtenir porficens funcionalitzats per a l'aplicació a la teràpia fotodinàmica. La introducció de substituents en el macrocicle de porficè ha de permetre modular les propietats físico-químiques i potencialment el seu efecte terapèutic en teràpia fotodinàmica. Així, es preparen dues famílies de compostos: porficens 2,7,12,17-tetrasubstituïts i porficens 9-substituïts. Així, es desenvolupa una nova ruta sintètica orientada cap a la introducció de la diversitat estructural per a obtenir porficens

La primera estratègia està orientada cap a la introducció de diversitat estructural a les posicions 2, 7, 12 i 17 dels porficens. Aquesta estratègia es basa en la preparació d'un intermedi comú, el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilat de dietil, des del que es pot introduir una varietat de restes en el porficè utilitzant reaccions catalitzades per pal·ladi com la reacció de Suzuki. Aquesta metodologia fa innecessari el desenvolupament d'una síntesi *de novo* per a cada substituent. L'aplicació d'aquesta metodologia ha permès sintetitzar tres arilporficens nous: el tetra(*p*-metoxifenil)porficè, tetra(*m*-isopropoxifenil)porficè i el tetra(*m*-hidroxifenil)porficè.

Respecte la segona família de compostos, s'estudia la *N*- i *O*-derivatització en la posició 9 del 2,7,12,17-tetrafenilporficè (TPPo). Així, es sintetitzen el 9-nitro-2,7,12,17-tetrafenilporficè i el 9-amino-2,7,12,17-tetrafenilporficè que es prepara per reducció del primer. També s'obté el 9-acetoxi-2,7,12,17-tetrafenilporficè a partir del TPPo.

Finalment, s'estudien les principals propietats fotofísiques dels derivats porfènics per tal de determinar la seva aplicabilitat en la teràpia fotodinàmica. Aquest treball ha donat lloc a diverses publicacions que s'inclouen com a annex.





## RESUMEN

Se estudian dos estrategias sintéticas para la obtención de porfíricos funcionalizados para su aplicación en terapia fotodinámica. La introducción de sustituyentes en el macrociclo del porfírico ha de contribuir a modular las propiedades fisicoquímicas y potencialmente su efecto terapéutico en terapia fotodinámica. Así, se preparan dos familias de compuestos: porfíricos 2,7,12,17-tetrasustituídos y porfíricos 9-sustituídos.

En primer lugar se desarrolla una nueva ruta sintética orientada hacia la introducción de diversidad estructural para la obtención de porfíricos funcionalizados en las posiciones 2, 7, 12 y 17. Esta estrategia está basada en la preparación de un intermedio común, el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo, a partir del cual es posible introducir una gran variedad de restos funcionalizados en el porfírico utilizando reacciones catalizadas por paladio como la reacción de Suzuki. Esta metodología evita desarrollar una síntesis *de novo* para cada sustituyente. Aplicando esta metodología se han sintetizado tres nuevos arilporfíricos: tetra-(*p*-metoxifenil)porfírico, tetra(*m*-isopropoxifenil)porfírico y tetra(*m*-hidroxifenil)porfírico.

Respecto la segunda familia de compuestos, se estudia la N- y la O-derivatización en la posición 9 del 2, 7 12, 17-tetrafenilporfírico (TPPo). Se sintetiza 9-nitro-2,7,12,17-tetrafenilporfírico y el 9-amino-2,7,12,17-tetrafenilporfírico que se prepara por reducción del primero. Asimismo se sintetiza el 9-acetoxi-2,7,12,17-tetrafenilporfírico a partir de 2,7,12,17-tetrafenilporfírico (TPPo).

Finalmente, se caracterizan las principales propiedades fotofísicas de dichos derivados porfíricos con el fin de determinar su aplicabilidad en la terapia fotodinámica. Este trabajo ha dado lugar a varias publicaciones que se incluyen como anexo.



## LISTA DE ABREVIATURAS

|                            |  |
|----------------------------|--|
| $^{13}\text{C}$ -NMR       | <i>Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy</i>   |
| $^{13}\text{C}$ -RMN       | Espectroscopía de Resonancia magnética nuclear de carbono 13                                       |
| $^{15}\text{N}$ -CPMAS-NMR | <i>Nitrogen-15 Cross-Polarization Magic Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy</i> |
| $^1\text{H}$ -NMR          | <i>Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy</i>  |
| $^1\text{H}$ -RMN          | Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón   |
| 9-AcOTPPo                  | 9-acetoxiTPPo  |
| 9-ATPPo                    | 9-aminoTPPo  |
| 9-NTPPo                    | 9-nitroTPPo  |
| BOC                        | <i>tert</i> -butilcarbamato  |
| BTSC                       | bis(trimetilsilil)cromato  |
| Bu                         | Butilo   |
| CCF                        | Cromatografía de Capa Fina   |
| col.                       | colaboradores  |
| d                          | Doblete  |
| d- $\text{CHCl}_3$         | Cloroformo deuterado   |
| DCM                        | diclorometano  |
| DDQ                        | 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona  |
| DIBAH, DIBALH              | Hidruro de diisobutilaluminio  |
| DMAP                       | 4-dimetilaminopiridina   |
| DME                        | Dimetoxietano  |
| DMF                        | <i>N,N</i> -dimetilformamida   |
| DMSO                       | Dimetilsulfóxido   |
| $\text{d}_6$ -DMSO         | Dimetilsulfóxido deuterado   |
| EDTA                       | Ácido etilendiamintetraacético   |
| EM                         | Espectroscopía de masas  |
| ESI                        | Ionización por electrospray ( <i>Electrospray ionization</i> )                                     |
| ESI-TOF                    | Ionización por electrospray con análisis de "tiempo de vuelo"                                      |
| ESR                        | <i>Electron spin resonance</i>   |
| Et                         | Etilo  |
| FAB                        | Fast atom bombardment  |
| Gram(-)                    | Gram-negativo  |

|                  |   |
|------------------|---|
| Gram(+)          | Gram-positivos  |
| gDQCOSY          | Espectroscopía de correlación   |
| HMPT             | Tris(dimetilamino)fosfina   |
| HRMS             | High Resolution Mass Spectrometry   |
| Hz               | Hertz   |
| IR               | Espectroscopía de infrarrojo  |
| m/z              | Relación masa carga   |
| NBS              | <i>N</i> -bromosuccinimida  |
| NMO              | <i>N</i> -óxido de <i>N</i> -metilmorfolina   |
| NMR              | Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy   |
| MALDI-TOF        | <i>Matrix-assisted laser desorption / ionization-time of flight mass spectrometry</i> |
| Mp               | <i>Melting point</i>  |
| MS               | <i>Mass Spectrometry</i> (espectrometría de masas)                                    |
| PDT              | <i>Photodynamic Therapy</i> , terapia fotodinámica                                    |
| Ph               | Fenilo  |
| ppm              | Partes por millón   |
| q                | Cuadruplete   |
| s                | Singulete   |
| SEM              | Trimetilsililetoximetil   |
| t                | Triplete  |
| T <sub>amb</sub> | Temperatura ambiente  |
| TBAF             | Fluoruro de tetrabutilamonio  |
| TBAI             | Yoduro de tetrabutilamonio  |
| THF              | Tetrahidrofurano  |
| <i>m</i> -THPC   | <i>m</i> -tetrahidroxiclorina, temoporfina  |
| <i>m</i> -THPPo  | 2,7,12,17-tetrakis( <i>m</i> -hidroxifenil)porficeno                                  |
| TLC              | Cromatografía de capa fina ( <i>Thin Layer Chromatography</i> )                       |
| TMAH, TMAOH      | Hidróxido de tetrametilamonio   |
| TPPo             | 2,7,12,17-tetrafenilporficeno   |
| TPrPn            | 2,7,12,17-tetra- <i>n</i> -propilporficeno  |
| TMPn             | 2,7,12,17-tetrakis(metoxietil)porficeno   |
| UV-VIS           | Espectroscopía de ultravioleta visible.   |





# Capítulo 1

---

## Introducción

Breve introducción a la química de los porfíricos y sus aplicaciones en  
biomedicina

---





# 1 Introducción

## 1.1 Porfícenos: Estructura y propiedades

Entre todos los isómeros de porfirina descritos hasta la fecha, el porfíceno, sintetizado por primera vez en 1986 por E. Vogel<sup>1</sup> en la Universidad de Colonia, es seguramente el más estudiado<sup>2</sup>. Esto es debido principalmente a razones sintéticas, ya que la ruta sintética del porfíceno implica un conveniente y a la vez elegante acoplamiento doble de McMurry entre dos 5,5'-formil-2,2'-bipirroles. La estructura del porfíceno es la de un isómero tetrapirrólico del anillo de porfina<sup>3</sup> **1**, en el que en vez de intercalar puentes metino entre los cuatro pirroles, se intercalan dos puentes de dos carbonos  $sp^2$  entre dos bipirroles. El anuleno así obtenido se denomina de forma sistemática [18]porfirina-(2.0.2.0) o porfíceno<sup>1</sup> **2** (Figura 1.1) por ser un híbrido entre la porfirina y el aceno.

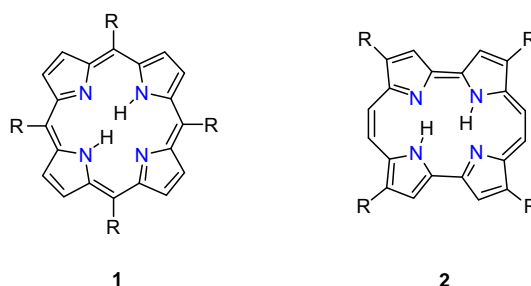


Figura 1.1: Estructuras de porfina (1) y porfíceno (2)

En el porfíceno se puede observar que existe una circulación de 18 electrones  $\pi$ . Los espectros de resonancia magnética nuclear del macrociclo demuestran que posee carácter aromático. Cristaliza de benceno dando cristales de color violeta en forma de aguja, que son estables al aire. El análisis de rayos X de dichos cristales muestra que los porfícenos son compuestos centrosimétricos de estructura casi plana y simetría  $D_{2h}$ . Debido a esta menor simetría que presentan los porfícenos respecto de las porfirinas, se observa un aumento del coeficiente de absorción en la zona visible del espectro<sup>4,5</sup>. Este aumento de la absorbancia de las bandas Q es debido a que transiciones prohibidas por la simetría de las porfirinas pasan a ser permitidas en los porfícenos. Es más soluble en

disolventes orgánicos que la porfirina dado que es más polar<sup>6</sup> y forma disoluciones azuladas con fluorescencia roja.

En la Figura 1.2 se muestran los espectros de absorción de la porfirina **1** y los porfínicos **2** (R=Pr) y **2** (R=Ph). Como se puede observar, estos últimos muestran un efecto hiperacrómico en la zona del rojo que, como se verá más adelante, es especialmente interesante para una de las aplicaciones de los porfínicos, la terapia fotodinámica.

Su gran absorción por encima de 620 nm, su estabilidad frente a la fotooxidación, su gran rendimiento cuántico de fluorescencia y sensibilización de oxígeno singlete hacen de este compuesto un agente potencial para la marcación de tumores y para la terapia fotodinámica del cáncer.

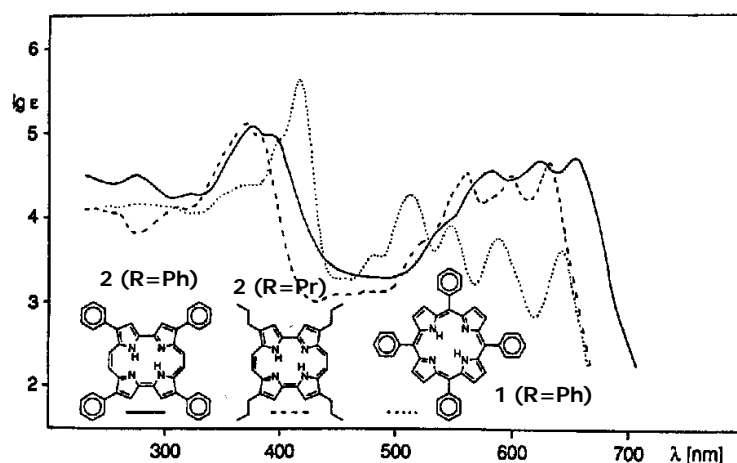


Figura 1.2: Espectro de absorción comparativo entre el 2,7,12,17-tetrafenilporfírico (TPPo) **2** (R=Ph), el 2,7,12,17-tetrapropilporfírico (TPrPn) **2** (R=Pr) y la tetrafenilporfina **1**<sup>5</sup>

Diversas investigaciones demostraron la similitud de muchas propiedades químicas y físicas del porfínico **2** con la porfirina<sup>6</sup> **1**. Las porfirinas y sus derivados son importantes para muchas funciones biológicas. Se puede ilustrar esta importancia citando la vitamina B<sub>12</sub>, un porfirinoide complejado con cobalto cuya deficiencia causa anemia. El grupo hemo<sup>7</sup>, el pigmento rojo de la sangre, es un complejo de hierro que forma parte de la hemoglobina, responsable del transporte de oxígeno imprescindible para la respiración. Otro ejemplo que pone de relieve la importancia de los porfirinoides es la clorofila, que se

encuentra coordinada con magnesio. Este pigmento verde se produce en la naturaleza en cantidades que superan los mil millones de toneladas al año<sup>8</sup> y hace posible la fotosíntesis, proceso fundamental para la vida en la tierra. Por esta razón a estos pigmentos se les llama los pigmentos de la vida<sup>9</sup>.

En principio, para el anillo de porfina se pueden concebir un total de siete isómeros constitucionales de configuración *Z* (con los dobles enlaces en configuración *cis*, con un núcleo N<sub>4</sub>). De estos isómeros, se plantean los tres más estables, llamados: porficeno (**2**), hemiporficeno (**3**) y corficeno (**4**). La diferencia entre los distintos isómeros radica en la posición de los cuatro grupos metino unidos a los pirroles. Con el fin de tener una idea de su estabilidad relativa Vogel y Wu calcularon las energías relativas de los distintos isómeros mediante métodos computacionales<sup>10,11</sup>. De esos estudios resultó que el porficeno es el único de dichos isómeros estructurales que resultó ser más estable que la porfina y, por lo tanto, el más estable de toda la familia<sup>12</sup>. Esta estabilidad suplementaria, cifrada en 1,5 kcal/mol con respecto a la porfina, se justifica gracias al efecto estabilizador de los puentes de hidrógeno intramoleculares<sup>6</sup>.

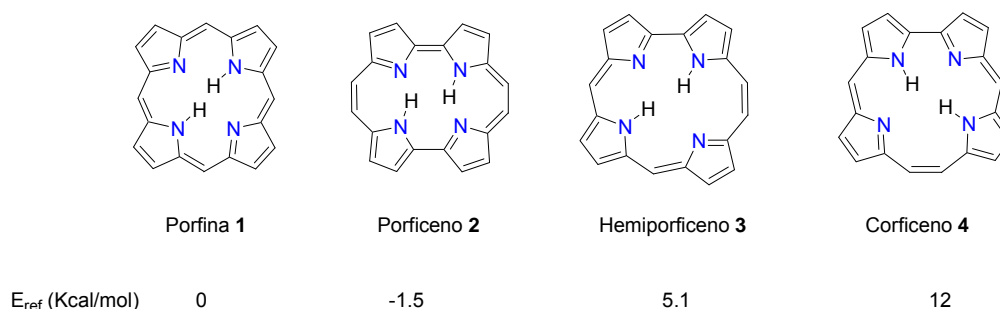


Figura 1.3: La porfina con sus tres isómeros constitucionales más estables<sup>10,11,13</sup>

La distribución de la densidad electrónica en el núcleo de los porficenos libres indica que los hidrógenos unidos a nitrógeno están parcialmente desordenados. Este fenómeno se ha estudiado por técnicas de resonancia magnética nuclear de <sup>15</sup>N de alta resolución con temperatura variable (<sup>15</sup>N-CPMAS-NMR) y se demostró que en el caso del porficeno la tautomería, tanto en el estado fundamental como en estado singlete excitado, es mucho más rápida que en el caso de las porfirinas<sup>16,17</sup>. J. Waluk y E. Vogel, mediante estudios de polarización de fluorescencia sobre una serie de porficenos con distancias N···N variables, llegan a la conclusión de que la velocidad de esta tautomería es mayor que en las porfirinas debido a la menor distancia N···N en los porficenos<sup>18,19</sup>.

Aunque los porfíricos tienen la capacidad de formar complejos metálicos, dicha tendencia es menor que en las porfirinas dado que la cavidad interna de los porfíricos es más pequeña y ligeramente rectangular. Además los orbitales del par electrónico no enlazante de los átomos de nitrógeno no están orientados de forma óptima hacia el centro de la molécula. En consecuencia, los complejos metaloporfíricos<sup>20</sup> formados son menos estables que los metaloporfirínicos. La capacidad de formar complejos por parte de los porfíricos se puede modular influyendo en el tamaño y en la forma de la cavidad interna mediante la selección de la posición en la que se introducen los sustituyentes<sup>21</sup>. La sustitución en 3, 6, 13 y 16 (**2** (R etio)) deforma el plano de la molécula de porfírico de manera que los puentes de hidrógeno entre los hidrógenos unidos a los nitrógenos sean menos estables y por lo tanto favorece la formación de complejos<sup>6</sup>. En cambio la sustitución en 9, 10, 19 y 20 (**2** (R meso)) favorece los puentes de hidrógeno intramoleculares y desfavorece la formación de complejos (ver Figura 1.4).

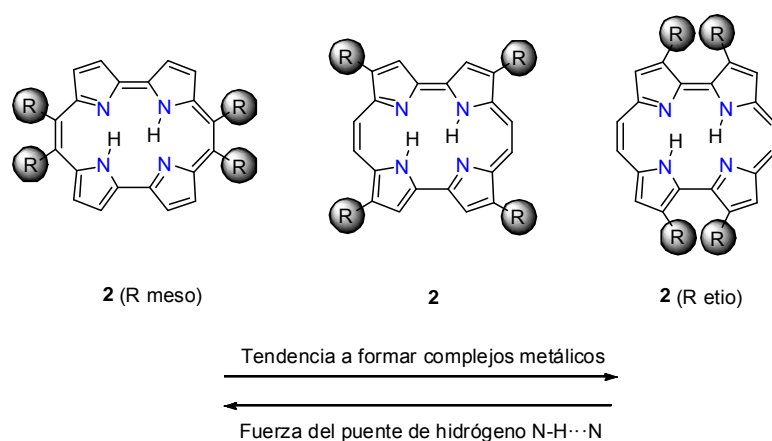


Figura 1.4: Formación de complejos en función de la sustitución<sup>22</sup>

Como se desprende de los espectros mostrados en la Figura 1.2, los porfíricos muestran un efecto hipercrómico en la zona del rojo del espectro electromagnético respecto a las porfirinas. Este desplazamiento es especialmente interesante en aplicaciones biomédicas dado que es en la zona del rojo donde la piel humana es más transparente a la luz<sup>23</sup>, siendo esta máxima (1 cm) cuando la longitud de onda es de 800 nm (ver Figura 1.5). Así pues, la gran absorción del porfírico **2** por encima de los 620 nm hace de estos macrociclos firmes candidatos como fotosensibilizadores para la terapia fotodinámica del cáncer (PDT)<sup>4,24</sup>.

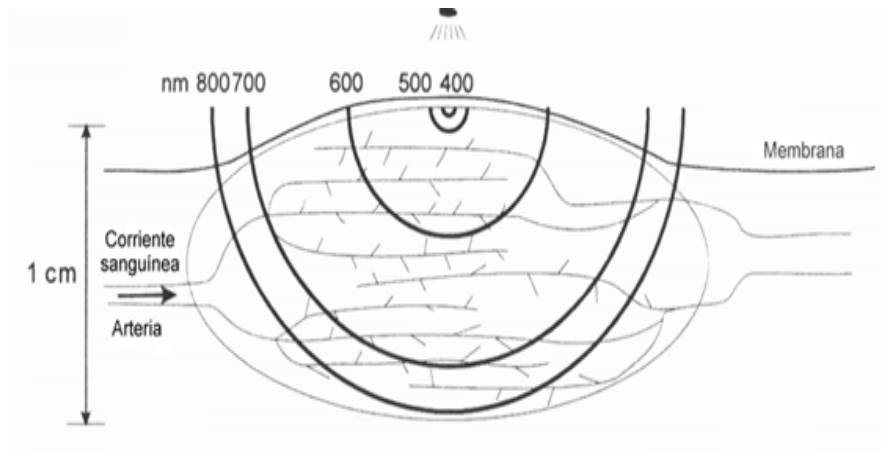


Figura 1.5: Penetración de la luz en el tejido en función de longitud de onda<sup>25</sup>

## 1.2. Aplicaciones biomédicas de los porfíricos.

Las buenas propiedades fotoquímicas de los porfíricos frente a las porfirinas los hacen buenos candidatos para sustituir a las porfirinas en muchas de sus aplicaciones. En este sentido, las aplicaciones de los porfíricos se pueden dividir en tres categorías:

- aplicaciones químicas
- aplicaciones en electrónica y fotografía.
- aplicaciones biomédicas.

Entre las aplicaciones químicas de los porfíricos cabe citar sus complejos de rutenio. Dichos complejos han sido utilizados como eficaces catalizadores en la ciclopropanación asimétrica de estirenos<sup>26</sup>.

Existen muchas posibilidades apuntadas en distintas patentes para usar los porfíricos en diferentes aplicaciones industriales, básicamente en el campo de la electrónica y la fotografía. Se podrían citar como ejemplos las unidades de almacenamiento de información<sup>27</sup> o los fotosensibilizadores para fotografía<sup>28</sup> o incluso sensores de oxígeno<sup>29</sup>.

Sin embargo es en las aplicaciones biomédicas donde se vislumbran mejor las ventajas de los porfíricos frente a las porfirinas, principalmente en la terapia fotodinámica (PDT) y la inactivación fotoquímica de virus y bacterias, si bien se han descrito aplicaciones como modelo para el grupo hemo. Aunque la terapia fotodinámica ha estado principalmente enfocada al tratamiento del cáncer, en los últimos años se están evaluando nuevas aplicaciones no oncológicas en diferentes campos. Estas van desde la fotodepilación, tratamiento de la psoriasis, malformaciones vasculares y acné<sup>30,31</sup>, arteriosclerosis y otros usos en oftalmología, y ginecología. En este apartado nos centraremos en las más importantes:

- la terapia fotodinámica del cáncer
- la inactivación fotoquímica de virus y bacterias.

### 1.2.1. Terapia fotodinámica del cáncer (PDT)

La terapia fotodinámica del cáncer (*photodynamic therapy*, PDT) es una modalidad terapéutica que consiste en la aplicación de compuestos fotosensibilizadores que se acumulan preferentemente en tejidos tumorales. Estos fotosensibilizadores son moléculas orgánicas que transforman la energía luminosa en energía química al igual que lo hace la clorofila al mediar en la biosíntesis de glucosa. La irradiación del área tumoral con luz visible ocasiona la formación de especies reactivas de oxígeno con efectos citotóxicos que llevan a la muerte de las células tumorales. Actualmente se están desarrollando fotosensibilizadores para la localización de neoplasias y para su tratamiento, aunque también existen numerosas aplicaciones terapéuticas no oncológicas para esas moléculas.

La principal ventaja de la PDT sobre otros tratamientos convencionales del cáncer, es su selectividad para dañar exclusivamente el tejido tumoral sin inducir graves efectos secundarios en el organismo, ya que sólo en la zona tumoral irradiada se reúnen los tres agentes responsables del efecto fotodinámico: fotosensibilizador, luz y oxígeno.

El fotosensibilizador más utilizado en la práctica clínica es el Photofrin<sup>®</sup> (ver figura 1.6), una mezcla de porfirinas de composición y estructura aún hoy insuficientemente caracterizada. Aunque el Photofrin<sup>®</sup> está dando buenos resultados en distintos tratamientos fotoquimioterapéuticos, se encuentra lejos de ser el fotosensibilizador óptimo, debido a que presenta una escasa absorción en la zona roja del espectro (la cual, tal como se ha señalado previamente, presenta una mayor penetración a través de los tejidos), y además induce fotosensibilización cutánea en los pacientes, lo que les obliga a evitar la exposición solar durante 3-4 semanas después del tratamiento. Por ello en los últimos años se ha incrementado el interés en la investigación de fotosensibilizadores de segunda generación con mejores propiedades físicas, químicas y terapéuticas que el Photofrin<sup>®</sup>.

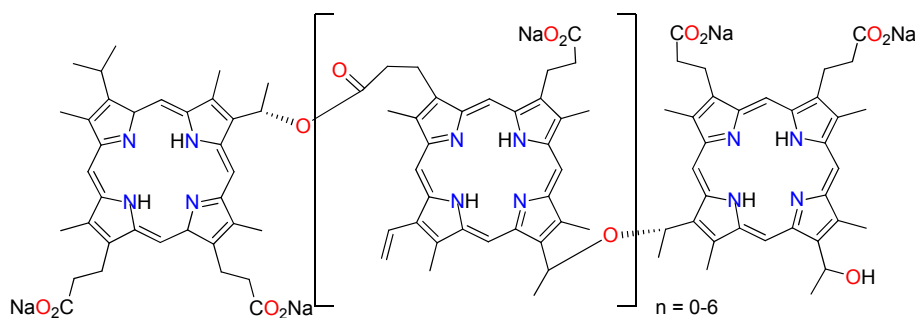


Figura 1.6: Estructura del Photofrin®.

Uno de los objetivos prioritarios de los investigadores para aumentar el potencial de la PDT es mejorar la localización selectiva<sup>32</sup>. Por ello, en los últimos años se han desarrollado nuevos fotosensibilizadores que presentan propiedades más adecuadas para la PDT. El fotosensibilizador ideal debería cumplir con los siguientes requisitos:

#### Químicos:

1. Compuesto puro con estabilidad química y fotoquímica.
2. Elevado coeficiente de absorción en la zona del rojo (650-800 nm).
3. Elevado rendimiento cuántico de formación de triplete o de especies activas de oxígeno.

#### Biológicos:

4. Solubilidad en fluidos biológicos. En caso contrario, debe poder transportarse al tumor utilizando algún tipo de formulación (liposomas, aceite de ricino,...).
5. Localización y retención selectiva en el tumor.
6. Mínima toxicidad en ausencia de luz.
7. Rápida eliminación del fármaco en los tejidos no tumorales y mínima fotosensibilización cutánea.



Los nuevos fotosensibilizadores desarrollados se conocen como fotosensibilizadores de segunda generación. En general, se basan en macrociclos tetrapirrólicos aunque se están estudiando también macrociclos de 3 y de 5 unidades de pirrol así como otras familias de colorantes. Existen varias estrategias para mejorar las propiedades fotoquímicas del fármaco. La primera consiste en expandir el anillo de porfina **1** para desplazar la longitud de onda del máximo hacia el rojo. Otra estrategia consiste en introducir un heteroátomo, normalmente nitrógeno para obtener este mismo efecto<sup>33</sup>. Por otro lado se puede aumentar la intensidad de la absorción de la banda de menor energía, rompiendo la simetría del sistema  $\pi$  de la molécula<sup>34</sup>. Formando complejos metálicos de estos fotosensibilizadores se consigue mejorar sus propiedades fotoquímicas ya que por efecto de átomo pesado suele disminuir la fluorescencia y aumentar el rendimiento cuántico de formación de triplete. Aplicando estas estrategias se obtienen clorinas **5**, bacterioclorinas **6**, purpurinas<sup>35,36</sup> **7**, azaporfirinas **8**, ftalocianinas<sup>37</sup> **9**, naftalocianinas **10**, texafirinas **11** y porficeos<sup>38</sup> **2** (ver Figura 1.7) como posibles fármacos alternativos aplicables en la PDT del cáncer<sup>39</sup>.

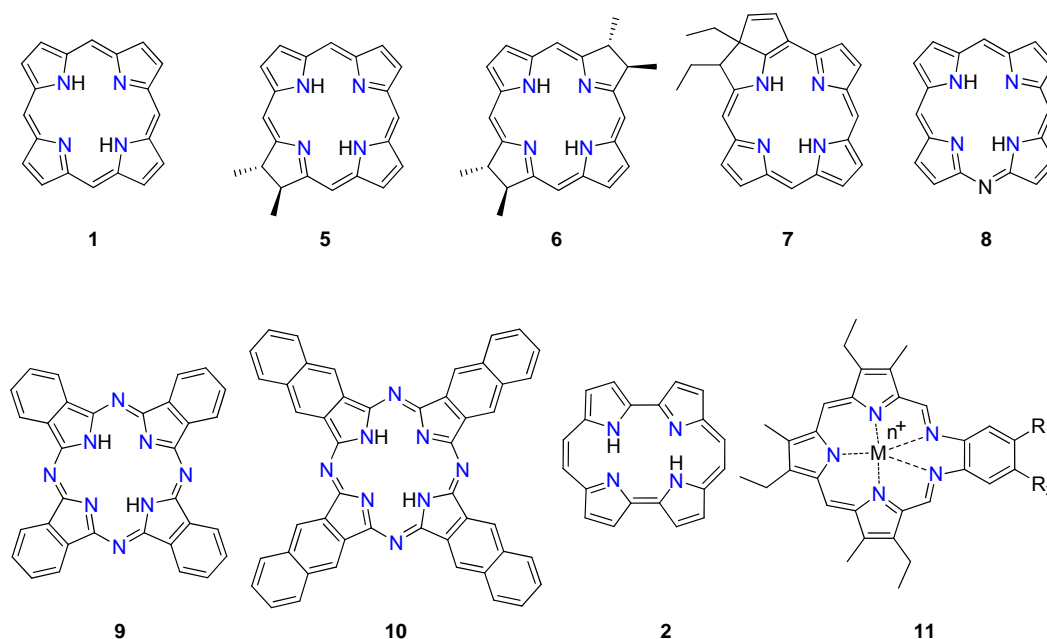


Figura 1.7: Estructuras de posibles fotosensibilizadores de segunda generación.

### 1.2.2. Inactivación fotodinámica de bacterias

El aumento de la resistencia de las bacterias a los antibióticos ha favorecido el estudio de técnicas antimicrobianas alternativas. Clásicamente se dividen las bacterias en organismos Gram-negativos, Gram(-), y Gram-positivos, Gram(+), según su reacción frente a la tinción de Gram. Las bacterias Gram(+) poseen una sola pared celular gruesa y homogénea mientras que en las Gram(-) la pared celular es delgada y estratificada con un aspecto trilaminar<sup>40</sup>. Varios estudios muestran que se pueden inactivar determinadas bacterias al ser iluminadas después de un periodo de incubación con ciertas porfirinas y ftalocianinas. Concretamente, derivados aniónicos y neutros de estos fotosensibilizadores producen un efecto fototóxico en las bacterias Gram(+), aunque en las Gram(-) el efecto tóxico sólo se produce si se permeabiliza previamente la membrana externa utilizando cloruro cálcico, EDTA o polimixina B<sup>41</sup>. Por el contrario, los derivados catiónicos de estos fotosensibilizadores son capaces de destruir tanto las Gram(+) como las Gram(-) sin previa permeabilización<sup>42</sup>. Las causas de este comportamiento no están esclarecidas todavía pero parece ser que el fotosensibilizador catiónico se une electrostáticamente a grupos negativos de la membrana externa. De esta forma, al irradiar se produce un daño localizado que aumenta la permeabilidad de dicha membrana<sup>43</sup>. Esta nueva aplicación puede ser de gran utilidad en el tratamiento de tejidos infectados (limpieza de cavidades interiores y en el tratamiento de afecciones bucales, etc.). Hoy en día la resistencia a los antibióticos ha hecho que la PDT antibacteriana gane interés.

### 1.3. La química de los porfíricos

En general, los porfíricos se obtienen por acoplamiento reductor de un 5,5'-diformil-2,2'-bipirrol **12** por reacción de McMurry, y posterior oxidación al aire de un cierto intermedio *N,N'*-dihidroporfíricénico que rinde el macrociclo **2** (ver figura 1.8). Los rendimientos de esta reacción oscilan entre un 2% a un 50% en función de los sustituyentes que decoran el macrociclo. Esta reacción de dimerización de cetonas y aldehídos para dar olefinas con un reactivo de titanio de valencia baja fue desarrollada a principios de los años setenta de forma independiente pero simultánea por los grupos de McMurry<sup>44</sup>, Mukaiyama<sup>45</sup> y Turlik<sup>46</sup>. La reacción de McMurry está descrita como una de las mejores reacciones para efectuar macrociclaciones y es eficaz tanto inter como intramolecularmente.

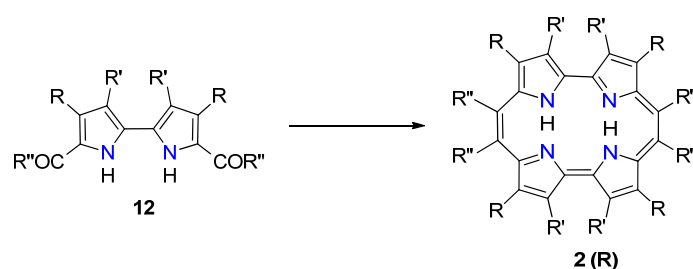


Figura 1.8 Síntesis de Porfíricos mediante acoplamiento reductor de McMurry.

La naturaleza del reactivo de valencia baja es poco conocida y se han descrito diversos métodos para su preparación. Así el grupo de McMurry prepara el reactivo de titanio de valencia baja por reducción de  $\text{TiCl}_3$  con  $\text{LiAlH}_4$  en THF, mientras que los otros grupos lo preparan a partir de sistemas  $\text{TiCl}_4/\text{Zn}$  y  $\text{TiCl}_3/\text{Mg}$  respectivamente. Dado que la reactividad del titanio de valencia baja depende de su método de preparación, se han hecho numerosos intentos para obtener el reactivo optimizado que involucran sistemas  $\text{TiCl}_4/\text{Zn}$ /piridina y  $\text{TiCl}_3$ /grafito. Por otra parte, el sustrato también resulta determinante en la elección de las condiciones de reacción dado que McMurry sugiere que su reactivo es el más adecuado para acoplamientos de carbonilos aromáticos. Una mejora sustancial se introdujo en 1978, año en el que el equipo de McMurry encontró un titanio de valencia baja extraordinariamente reactivo y cuya preparación a partir de  $\text{TiCl}_3$  reducido con  $\text{Zn}/\text{Cu}$  es más reproducible. En 1989 introduce otra modificación que consiste en tratar el  $\text{TiCl}_3$

con dimetoxietano (DME) a reflujo varios días lo que ocasiona la formación de un solvato cristalino de fórmula  $\text{TiCl}_3(\text{DME})_{1.5}$  que se puede reducir con el par Zn/Cu para rendir un titanio de valencia baja extremadamente reactivo<sup>47</sup>. Otro procedimiento más moderno utiliza como aditivo el TMSCl<sup>48</sup> que permite obtener un reactivo de titanio de muy alta calidad.

En los últimos años se han propuesto diversas variaciones sobre la reacción de McMurry<sup>49</sup> que han expandido su aplicabilidad. Así, por ejemplo, se ha realizado la reacción en microondas<sup>50</sup> y se han desarrollado reactivos de titanio que permiten fijar la configuración *Z/E* deseada<sup>51</sup>. Además se han desarrollado para algunos casos concretos condiciones de McMurry “instantáneas” es decir unas condiciones más sencillas y rápidas desde el punto de vista experimental<sup>52</sup>.

Sin embargo su mecanismo no está del todo claro y se han planteado varias hipótesis que involucran intermedios pinacolínicos o carbenoides en función de la naturaleza del sustrato. A pesar de todo, está bastante aceptado que el mecanismo más probable en las condiciones utilizadas para el porfíceno es el propuesto originalmente por McMurry. Este mecanismo empieza con una reacción pinacolínica en la que el reactivo de titanio se acaba de formar al añadir el compuesto carbonílico como primer paso. En el segundo paso se rompen dos enlaces C-O de forma no simultánea lo cual conduce a mezclas de los isómeros *cis* y *trans*-alquenos. No obstante, en experimentos detallados con glicoles se ha observado que la composición de la mezcla varía si se parte de la forma *meso* o el diastereoisómero (*R,R*), indicando que la reacción es prácticamente concertada<sup>45</sup>. El hecho de que si se parte de *trans*-dioles no se da la reacción sugiere que los dos átomos del pinacolato tienen que unirse a una misma superficie de titanio<sup>53</sup>. Sin embargo no es necesario que los dos átomos de oxígeno se unan a un mismo átomo de titanio ya que moléculas cuya geometría no permite tal enlace si que dan la reacción<sup>53</sup>. Al poner estos datos en común se puede imaginar un mecanismo en el que el pinacolato se coordina a una pequeña partícula de titanio, para después formar el enlace  $\pi$  de la olefina (ver Figura 1.9), los experimentos de espectroscopia ESR (*electron spin resonance*) parecen confirmar este mecanismo<sup>54</sup>.

En la síntesis de porfícenos se suele utilizar como agente reductor el par Zn/Cu preparado por tratamiento de Zn con  $\text{CuCl}_2$ . Este par metálico es el responsable de la reducción del Ti(IV) a titanio de valencia baja. Esta especie de titanio de valencia baja se solvata con el THF formando una especie de polímero (de aquí la imposibilidad de definir su valencia exacta). Así pues, el mecanismo más aceptado consiste en un proceso de

dos etapas: condensación de tipo pinacolínica debido a la acción del titanio de valencia baja y eliminación de los grupos alcohol con formación de una olefina. En efecto, al contrario de lo que ocurre con otros metales como el magnesio, con el titanio la reacción no se para en el 1,2-diol, sino que debido a la gran oxifilicidad de este metal se produce la desoxigenación del pinacol, dando lugar a la olefina.

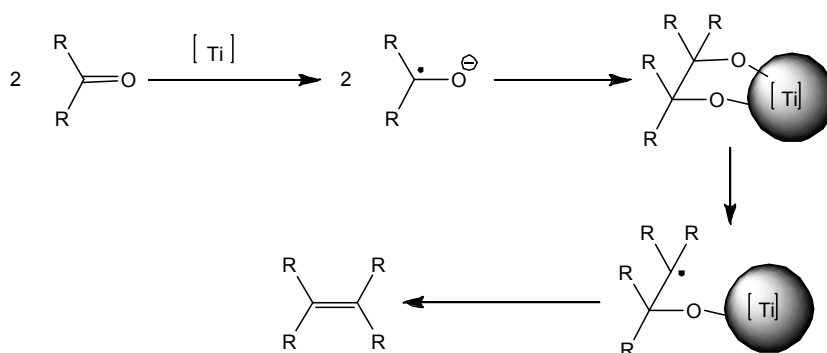


Figura 1.9: Mecanismo de la reacción de McMurry.

Respecto a los dialdehídos de partida hay que mencionar que deben contener sustituyentes que confieran solubilidad al macrociclo en el medio orgánico. En efecto, los porfirinoides sin sustituir presentan una baja solubilidad en disolventes orgánicos lo cual dificulta su estudio. Por ello se utiliza como modelo "*par excellence*" en la investigación de porfirinas y metaloporfirinas la octaetilporfirina<sup>55,56</sup> (Figura 1.10). E. Vogel sintetiza el 2,7,12,17-tetrapropilporfenceno **2** (R=Pr) con el fin de evitar el problema de la solubilidad del porfenceno no sustituido, de esta forma consigue obtener cristales adecuados para la cristalografía de rayos X. El autor decide sustituir las posiciones 2, 7, 12 y 17 en vez de las 3, 6, 13 y 16 para evitar interacciones no enlazantes entre los sustituyentes que llevarían a una pérdida de planaridad y perturbarían el efecto del anillo de porfenceno como cromóforo. Al sustituir los átomos de hidrógeno por grupos metilo y etilo no se observó un gran aumento en la solubilidad, sin embargo la incorporación del grupo propilo (Pr) proporcionó un compuesto mucho más soluble. Además, el rendimiento de la reacción de McMurry pasó de un 2% para el macrociclo sin sustituir a un 10%<sup>20</sup>.

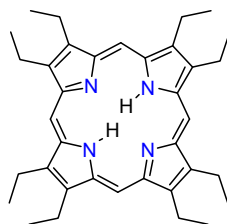
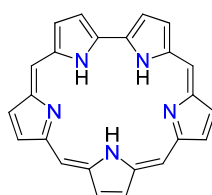


Figura 1.10: Estructura de la octaetilporfirina

La síntesis propuesta por E. Vogel para la obtención de porfíricos precisa de la preparación de sistemas de tipo 2,2'-bipirrólicos que una vez han sido convenientemente funcionalizados participan de la reacción de McMurry para generar el macrociclo. La obtención de estos bipirroles se basa ampliamente en la ruta desarrollada por Woodward para la obtención de safirinas<sup>57</sup> **13**.



**13**

Figura 1.11: Estructura de la safirina

El paso clave de dicha ruta es la reacción de Ullmann<sup>58</sup> (ver Figura 1.12), en la que un  $\alpha$ -yodopirrol **14** (G = H) dimeriza en presencia de Cu/Bronce en DMF a temperatura elevada para dar el bipirrol **12**. Este es un procedimiento clásico para la formación de biarilos simétricos. El mecanismo no se conoce con seguridad, aunque se supone que tiene lugar en dos pasos de forma análoga a la reacción de Würtz. En el primer paso seguramente el yodopirrol forma un complejo de cobre que produce un ataque nucleófilo sobre una segunda molécula de yodopirrol. En general, los rendimientos suelen ser moderados. No obstante, Sessler y col. comunicaron que bloqueando los NH de los pirroles con BOC la reacción de Ullmann se da con un rendimiento mucho mayor<sup>58</sup>.

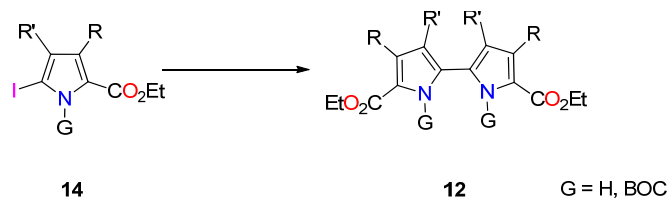


Figura 1.12: Formación de un bipirrol mediante reacción de Ullmann

Los productos de partida para la reacción de Ullmann son  $\alpha$ -yodopirroles convenientemente funcionalizados. En la síntesis original de porfíricos de E. Vogel, estos  $\alpha$ -yodopirroles se obtienen a partir de los 3-alkil-5-metil-2,4-dietoxicarbonilpirroles **15** ( $R = \text{CO}_2\text{Et}$ ) que a su vez se pueden preparar por reacción de Knorr empleando nitrito sódico y zinc. A continuación, el metilo en  $\alpha$  de dicho pirrol se oxida a ácido carboxílico por tratamiento con  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ . Finalmente, se efectúa una yodación descarboxilativa. De una forma similar al sintetizar unos pirroles con un metilo en vez del carboxilato de etilo de la posición  $\beta$  se consigue obtener porfíricos con grupos metilos en 3, 6, 13 y 16 además de los sustituyentes alquílicos en 2, 7, 12 y 17<sup>59</sup> (ver Figura 1.13).

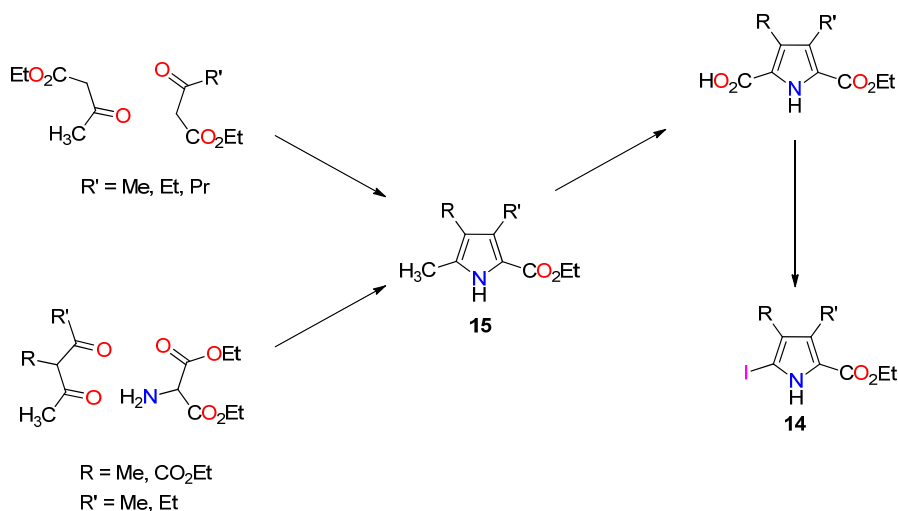


Figura 1.13: Síntesis de  $\alpha$ -yodopirroles.

Una vez se obtiene el 2,2'-bipirrol **12** mediante la reacción de Ullmann se saponifican los ésteres para obtener el di- o tetraácido **16** (es tetraácido en el caso de

que R' sea CO<sub>2</sub>H). Los grupos ácido carboxílico pueden eliminarse por calefacción que viene acompañada de sublimación del producto. El biperrol **17** así obtenido se formula mediante la reacción de Vilsmeier-Haack con oxiclورو de fósforo y dimetilformamida (DMF). De esta forma se obtienen los 5,5'-formilbiperroles **18** con sustituyentes alquílicos en 3, 3',4 y 4'.

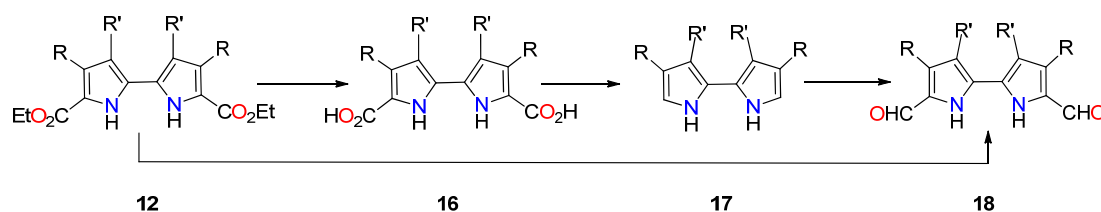


Figura 1.14: Secuencia de saponificación, descarboxilación y formilación de Vilsmeier-Haack de biperroles.

Una variante de la síntesis original de Vogel fue comunicada por Sessler y col. en 1992 y consiste en la hidrólisis de los grupos éster, descarboxilación y formilación del biperrol **12** en un solo paso de síntesis<sup>60</sup> (ver Figura 1.15). Esta mejora experimental es aplicada por nuestro grupo para sintetizar el 2,7,12,17-tetrafenilporfíceno<sup>61</sup> **2** (R=Ph) (TPPo). El TPPo cristaliza en forma de agujas color violeta brillantes, tiene una solubilidad bastante baja aunque se puede disolver en disolventes apolares dando disoluciones de color azul intenso en diclorometano, y verdoso en hexano o éter dietílico. Al introducir los restos aromáticos se observa un desplazamiento batocrómico de 30 nm en las bandas Q con respecto al porfíceno sin sustituyentes. Es una molécula aromática y plana salvo por los grupos fenilos que están inclinados con respecto al plano de la molécula<sup>62</sup>.



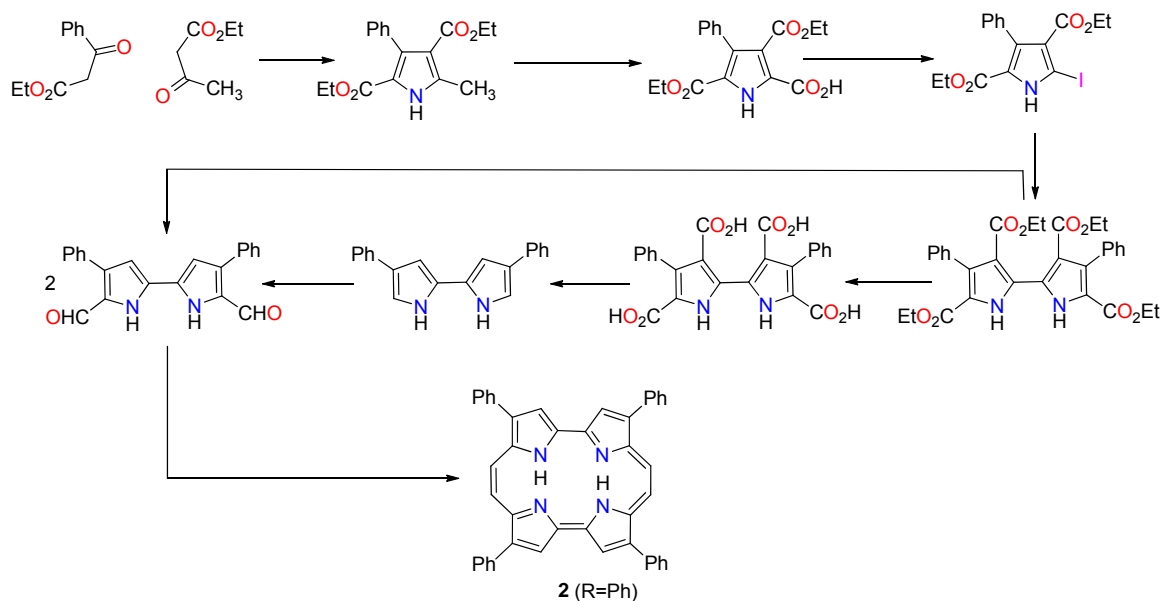


Figura 1.15: Síntesis del TPPo.

Los prometedores resultados obtenidos con el TPPo en los ensayos antitumorales<sup>63</sup>, impulsaron a nuestro grupo a abordar el desarrollo de una síntesis que pudiese ser llevada a cabo a escala industrial. Para ello se desarrolló una metodología que evita tanto la sublimación como el paso por intermedios inestables como los bipirroles sin sustituyentes en  $\alpha$ . El resultado fue una nueva ruta (ver Figura 1.16) que utiliza grupos protectores ortogonales para los grupos éster (carboxilatos de etilo y de bencilo) y emplea el procedimiento de McFadyen-Stevens para la transformación de los ésteres etílicos en aldehídos<sup>64</sup>. La transformación de ésteres a aldehídos por el método de McFadyen-Stevens fue aplicada a la química de bipirroles por primera vez por Rapoport para sintetizar la prodigiosina<sup>65</sup>. Dicho procedimiento consta de 3 pasos: formación de la hidracida, transformación en la arilsulfonilhidrazida y descomposición térmica de esta para rendir el aldehído.

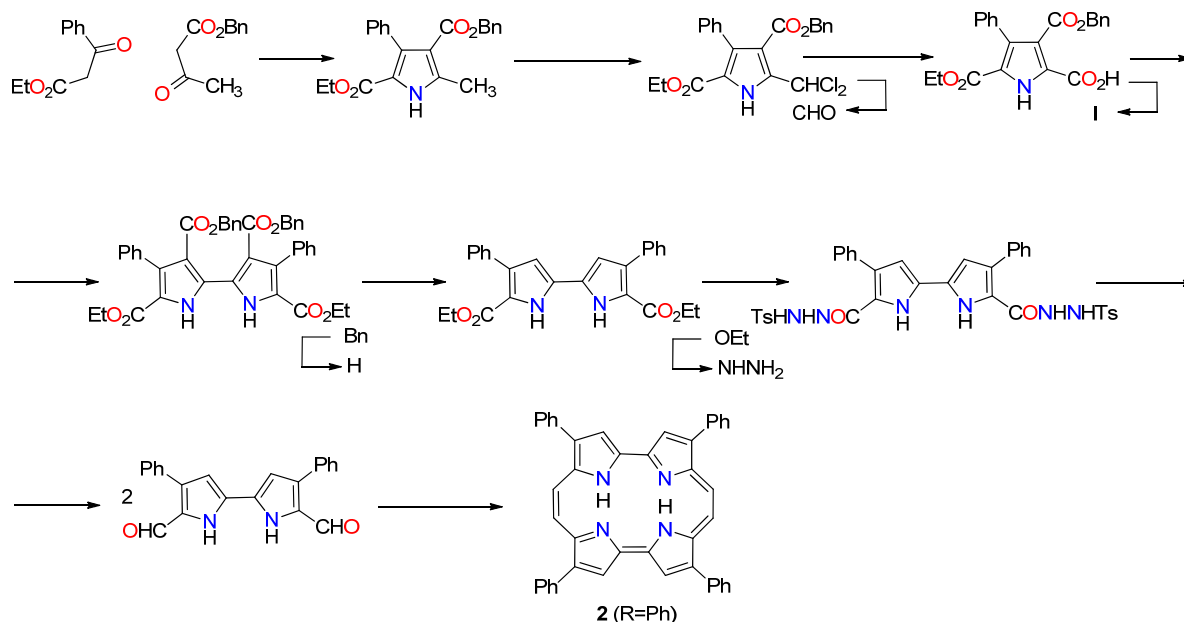


Figura 1.16: Síntesis no tetradescarboxilativa del TPPo.

Como se ha comentado anteriormente, el TPPo 2 (R=Ph) proporciona disoluciones de color azul intenso que al ser irradiadas con luz UV de 366 nm muestran una fluorescencia de color rojo vivo. El proceso de fluorescencia está en competencia con la sensibilización de  $^1\text{O}_2$  por lo tanto, aunque las moléculas fluorescentes pueden servir para la fotodetección, no es el óptimo para el tratamiento fotodinámico. Al tratar el TPPo con cloruro de paladio en DMF a reflujo durante 8 horas se forma el complejo de paladio del 2,7,12,17-tetrafenilporficeño o PdTPPo. El paladio por efecto de átomo pesado reduce drásticamente la fluorescencia del porficeño y, en consecuencia, provoca un aumento del rendimiento cuántico de formación de oxígeno singlete ( $\phi_{\Delta} = 0.78$  frente a 0.23 del TPPo). El PdTPPo presenta además una mayor densidad óptica en la zona del rojo, que es la más importante para poder utilizar esta molécula en PDT *in vivo*. Los resultados de las pruebas con esta molécula vehiculizada en liposomas y distintas líneas celulares como HeLa y A549 han sido bastante esperanzadores<sup>63</sup>.

Aunque las propiedades fotoquímicas y fotobiológicas del TPPo y PdTPPo son aceptables para usarlos como fotosensibilizadores para la PDT del cáncer, su gran lipofilia hace que se hayan de administrar en forma de liposomas. Las propiedades ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) están muy relacionadas con la lipofilia del producto. En consecuencia, sería deseable disponer de porficeños que tengan un coeficiente de partición octanol/agua ( $\log P$ ) más bajo. Se espera de estos productos más

hidrófilos una mejor solubilidad en medios polares y por lo tanto una administración más fácil.

La primera dificultad que existe al plantear la síntesis de una familia de porfíricos es que sería necesario desarrollar una síntesis *de novo* para cada uno de ellos dado que la diversidad se tiene que introducir en el pirrol de partida a través del resto R según los esquemas actuales (ver Figura 1.17)

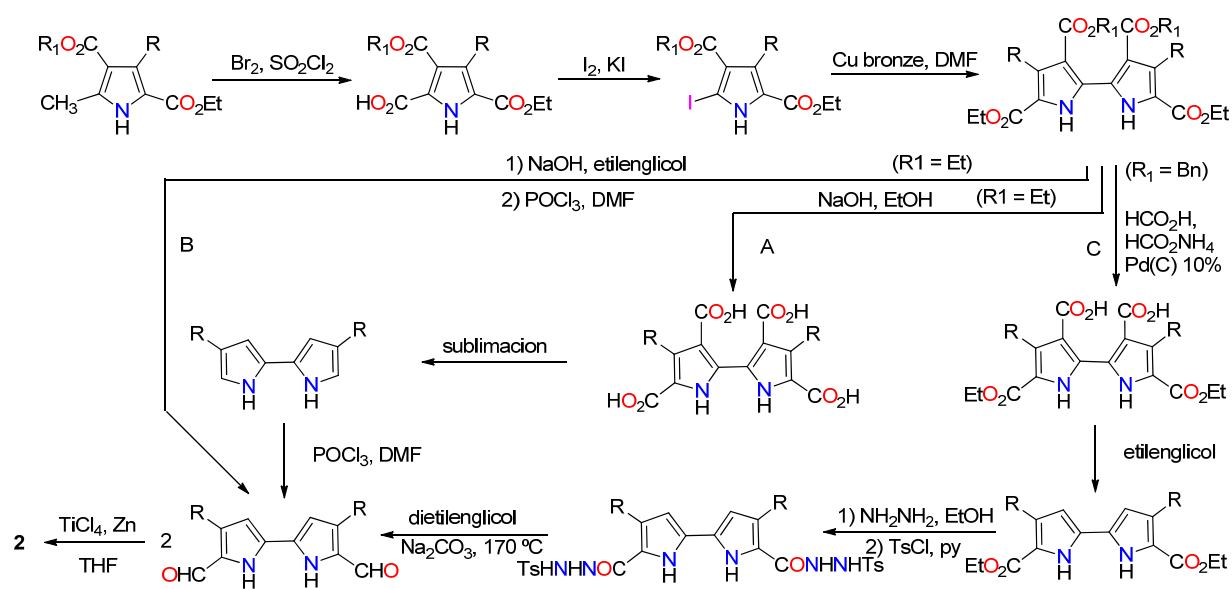


Figura 1.17: Diversas alternativas sintéticas del TPPo **2** (R = Ph).

Un precedente negativo que indica la dificultad de generalizar dichos esquemas sintéticos lo proporcionó el ensayo de la síntesis del 2,7,12,17-tetra(4-piridil)porfírico **2** (R= 4-piridilo) en la que nuestro grupo se encontró con numerosas dificultades. En primer lugar no fue posible realizar la síntesis de Knorr para obtener piridilpirroles<sup>66</sup> (ver Figura 1.18), esta dificultad está en concordancia con los resultados de otros autores<sup>67</sup>. El piridilpirrol **21** se obtiene por reducción del hidroximinoderivado del 3-oxo-3-(4-piridil)propionato de etilo **20** en presencia de acetoacetato de etilo con 30 psi de H<sub>2</sub> y Pd/C (10%) como catalizador (ver Figura 1.18). Alternativamente se puede obtener el piridilpirrol **19** que es similar a **21** mediante el procedimiento de Kleinsphen<sup>66,68,69</sup>.

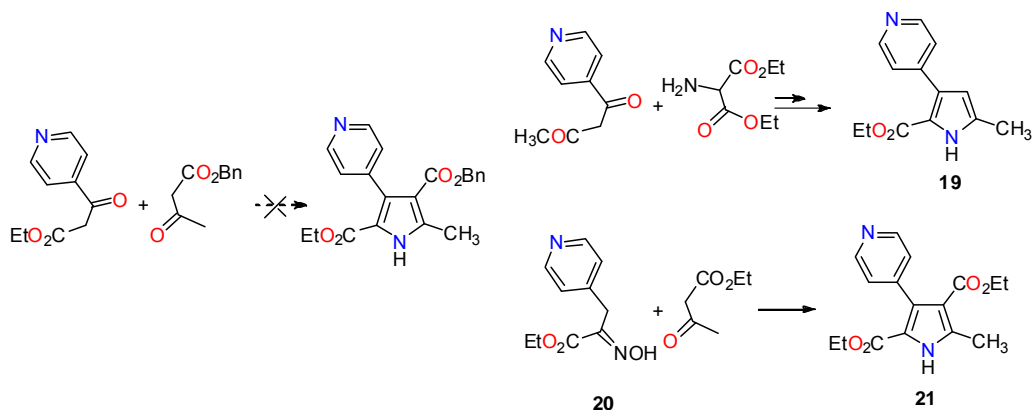


Figura 1.18: Síntesis de piridilpirroles.

Sin embargo a pesar de que ambos pirroles pueden transformarse en los  $\alpha$ -yodopirroles correspondientes, hasta la fecha ha sido imposible dimerizar dichos pirroles mediante la reacción de Ullmann (ver Figura 1.19). La imposibilidad de realizar dicho acoplamiento eliminó la posibilidad de obtener el porfícono deseado **2** (R= 4-piridilo). Estos resultados llevaron al grupo a plantear la necesidad de disponer de una ruta sintética de amplitud general en la que se pueda introducir una variedad de sustituyentes en una etapa avanzada de la síntesis.

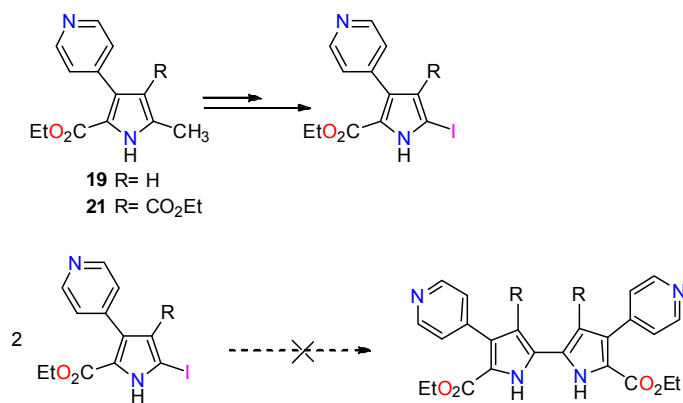


Figura 1.19: Síntesis de piridilpirroles.

Una estrategia de esta naturaleza ya ha sido utilizada en nuestro grupo en la elaboración de unos macrociclos análogos a los porfínicos denominados tetrazaporfínicos (**22**). El interés por estos compuestos procede de la posibilidad de alterar las propiedades optoelectrónicas de los macrociclos introduciendo heteroátomos en el núcleo aromático. Al sustituir total, o parcialmente, las unidades de pirrol del

porficceno por otros heterociclos como tiofeno<sup>70</sup>, furano o tiazol<sup>71</sup>, se modifica la naturaleza del macrociclo, y se observa un cambio en sus propiedades como su aromaticidad o su espectro de absorción. Siguiendo esta idea en nuestro grupo se propuso la construcción de un macrociclo constituido por cuatro imidazoles. La estrategia que se siguió para obtener dicho producto se basa en la síntesis de un biimidazol dibromado **23** y su posterior derivatización mediante reacción de Suzuki. Finalmente, gracias a la reacción de McMurry se obtienen los correspondientes azaporficcenos<sup>72</sup> **20** (ver Figura. 1.20).

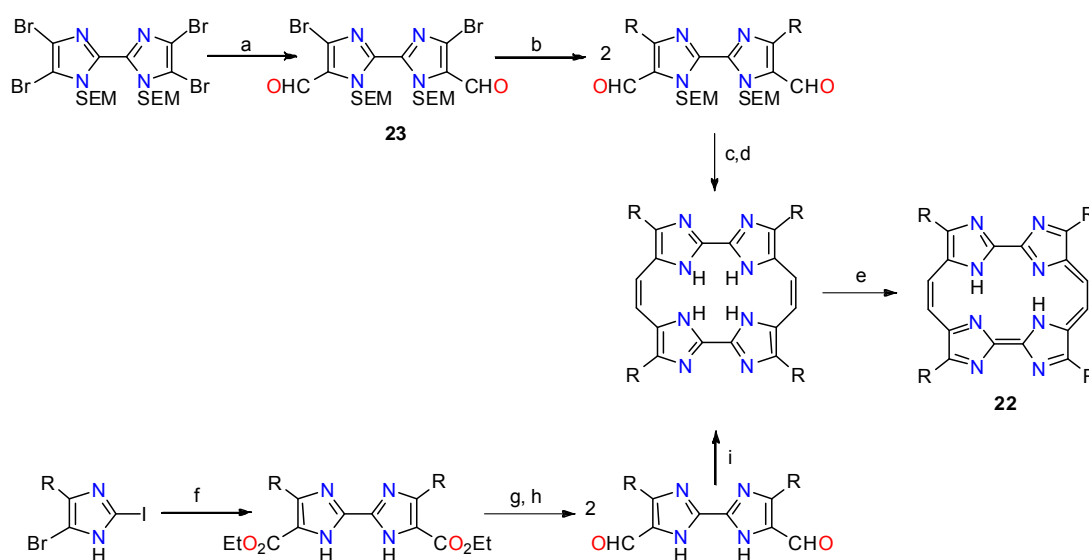


Figura 1.20: Síntesis de azaporficcenos. Condiciones de reacción (rendimientos entre paréntesis): a) *n*-BuLi, -78 °C, THF y posteriormente DMF (71%). b) (R = *p*-BuPh) RB(OH)<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, tolueno/EtOH (55%). c) HCl, EtOH/H<sub>2</sub>O (76%). d) TiCl<sub>4</sub>/Zn(Cu)/ piridina, THF (7%). e) DDQ, THF (60%). f) (R = *n*-propilo) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Et<sub>3</sub>N, tolueno, 110 °C (28%). g) DIBALH, THF (98%). h) DDQ, THF (60%). i) TiCl<sub>4</sub>/Zn(Cu)/ piridina, THF, (2%).

A pesar de que los azaporficcenos absorben en la zona roja del espectro de ultravioleta-visible (UV-VIS), su labilidad en medio ácido impide su uso en PDT<sup>72</sup>. Por lo tanto el interés sintético se sigue centrando en los porficcenos, sin embargo se considera de gran interés el traslado de la estrategia sintética aplicada para los biimidazoles a los bipirroles.

Es por ello que se plantea como primer objetivo de la presente tesis el desarrollo de una síntesis general de porficcenos que permita obtenerlos con una amplia variedad de sustituyentes. Idealmente la introducción de sustituyentes periféricos del intermedio

común **24** se hará en una etapa avanzada de la síntesis. También sería deseable que este intermedio clave se pueda sintetizar en una escala de decenas de gramos (Figura 1.21).

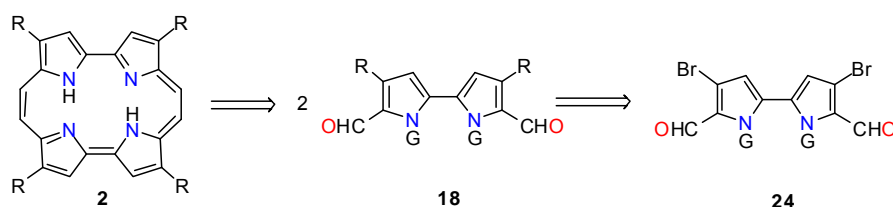


Figura 1.21: Reactividad de los porfíricos.

Además de las posiciones 2,7,12,17, los porfíricos también pueden derivatizarse mediante sustitución de las posiciones *meso*. Esta reactividad tiene su origen en el carácter aromático del macrociclo. Entre las reacciones que se pueden utilizar para esta funcionalización hay que destacar la nitración, la halogenación y la hidroxilación (ver Figura 1.22).

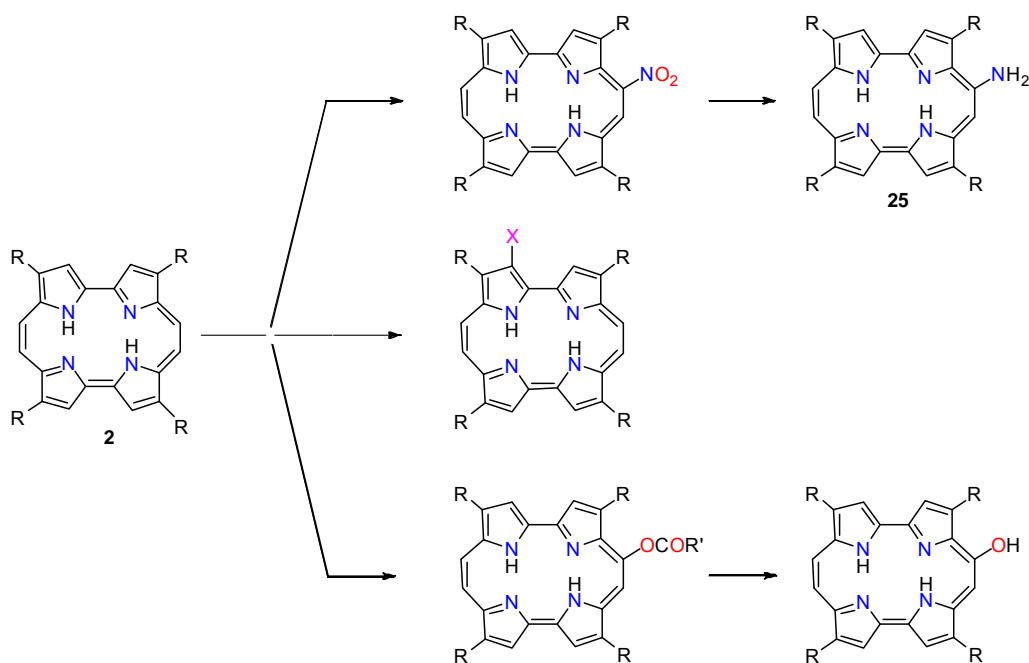


Figura 1.22: Reactividad de los porfíricos (X=halógeno).

E. Vogel describe la reactividad del anillo de porficceno en diversas patentes. En la Figura 1.23 se recogen las distintas estructuras a las que se puede llegar mediante las reacciones anteriores<sup>57-60</sup>.

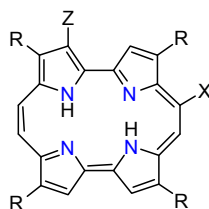


Figura 1.23: Distintos porficcenos protegidos por la patente de E. Vogel. R=H, Alquilo, Arilo, Aralquilo y sustituidos. Si Z=H, X=NO<sub>2</sub>, -NRR', -NHCOR, -OR, -OCOR, -OSO<sub>2</sub>R, -O-. Si X=H, Z=Halógeno, -CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

Experimentalmente, la nitración para el porficceno sin sustituyentes se realiza por tratamiento con HNO<sub>3</sub> fumante mientras que el porficceno sustituido en las posiciones 2,7,12 y 17 se nitra en la posición 9 con nitrato de plata y usando como disolvente ácido acético glacial y diclorometano a reflujo. Posteriormente el grupo nitro se puede reducir para obtener la amina **25** (Figura 1.22).

En cuanto a la halogenación, procede en la posición 3 de los porficcenos sustituidos en 2, 7, 12 y 17 tratándolo con bromo o con yodo elemental. En cambio si se halogena el porficceno sin sustituyentes es la posición 2 la que resulta afectada (ver Figura 1.24).

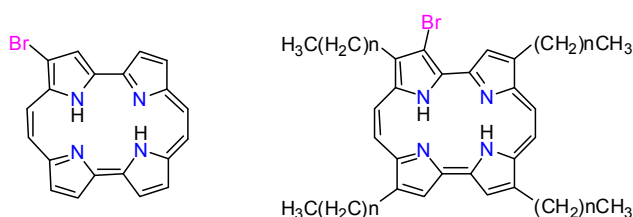


Figura 1.24: Porficcenos halogenados.

Los porficcenos reaccionan con óxido de plomo (IV) (o de manganeso) y un ácido carboxílico, en un medio orgánico aprótico, para dar un éster de porficceno en la posición 9 (Figura 1.22). Normalmente la estrategia que se sigue es obtener el alcohol por hidrólisis del 9-acetoxiporficceno, ya que esta molécula se puede obtener por reacción

entre el porficceno y el acetato de plomo (IV) en ácido acético. El alcohol formado se puede unir a un mono o polisacárido para dar un sensibilizador hidrofílico, formar ésteres, éteres y ésteres sulfónicos. En la figura 1.25 se pueden apreciar distintos porficcenos sintetizados hasta el momento.

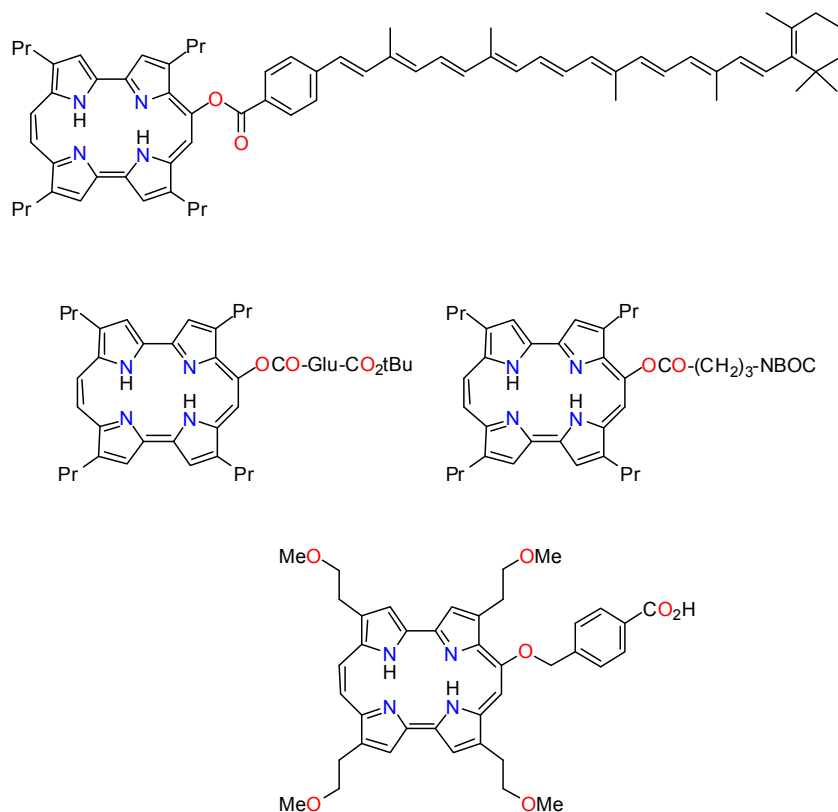


Figura 1.25: Ejemplos de porficcenos unidos a oxígeno en la posición 9. 2, 7, 12, 17-tetrapropilporficceno (TPPrPn) unido a amino ácidos por enlace éster<sup>59</sup>. Caroteno unido a 2, 7, 12, 17- tetrapropilporficceno (TPPrPn) mediante enlace éster<sup>60</sup>. Éter de porficceno<sup>61</sup>.

En consecuencia, otro objetivo de la presente tesis será aplicar dicha química para obtener los derivados correspondientes del 2,7,12,17-tetrafenilporficceno (TPPo) **2** (R=Ph) por funcionalización del mismo en la posición 9.



## 1.4. Objetivos

Los porfíricos presentan una estructura muy prometedora para ser aplicados en PDT, tal y como se ha demostrado en los apartados anteriores. A pesar de que se han sintetizado porfíricos con distintos sustituyentes en las posiciones 2, 7, 12 y 17, no existe una síntesis de aplicación general que nos permita obtener una gran variedad de porfíricos sustituidos en esta posición.

Nuestro grupo se ha propuesto obtener los porfíricos potencialmente más activos. En este sentido, cálculos computacionales realizados en el grupo predicen que la sustitución de los fenilos del porfírico en para con metoxilos o alcoholes desplazaría las bandas Q hacia la zona óptima de absorción. Por analogía con la *m*-THPC (*m*-tetrahidroxiclorina, temoporfina)<sup>34</sup> fotosensibilizador de gran eficacia en PDT, se plantea la síntesis del 2,7,12,17-tetra(*m*-hidroxifenil)porfírico **2** (R = *m*-HOPh) (ver Figura 1.26). Por similitud estructural con la *m*-THPC, se plantea asimismo el derivado protegido con el grupo isopropoxilo **2** (R = *m*-iPrOPh). Dicho derivado sería un intermedio en la síntesis del porfírico **2** (R = *m*-HOPh). Además el grupo isopropoxilo en las posiciones meta del anillo benzénico daría al porfírico una mayor lipofilia convirtiéndolo en buen candidato a fotosensibilizador para la PDT.

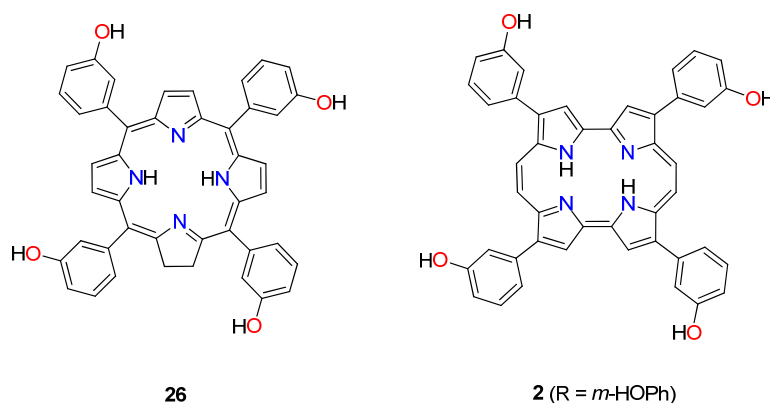


Figura 1.26: Estructura de la temoporfina y el porfírico homólogo

La posibilidad real de obtener porfíricos sustituidos adecuadamente ha de permitir abordar el desarrollo de compuestos orientados a su localización intracelular en dianas especialmente sensibles para mejorar la eficiencia de la terapia fotodinámica. Entre ellos

el porfíceno piridil sustituido **2** (R=4-piridilo) se cree que una vez cuaternizado podría acumularse selectivamente en las mitocondrias. Además, también podría ser útil en PDT antibacteriana.

Por otra parte, se plantea sintetizar y caracterizar las principales propiedades fotofísicas de porfíricos sustituidos con un aceptor de electrones, un cesor de electrones, y un grupo electroneutro voluminoso. En concreto se sintetizarán y evaluarán los derivados nitro, amino y acetoxi en la posición 9 de la molécula de TPPo **2** (R = Ph). Con el fin de determinar su aplicabilidad en PDT y en vista a la gran variedad de posibilidades que ofrece el tener un punto de anclaje en la posición 9 de los porfíricos.

Por lo tanto se proponen los siguientes objetivos:

- 1- Desarrollar una síntesis general de porfíricos que permita obtenerlos con una amplia variedad de sustituyentes. Idealmente la funcionalización del intermedio común se hará en una etapa avanzada de la síntesis. Este intermedio clave se ha de poder sintetizar en una escala de decenas de gramos.
- 2- Aplicar la metodología desarrollada para sintetizar los porfíricos siguientes (ver Figura 1.27):
  - a. 2,7,12,17-tetra(*p*-metoxifenil)porfíceno **2** ( R=*p*-MeOPh).
  - b. 2,7,12,17-tetra(*m*-isopropoxifenil)porfíceno **2** ( R=*m*-iPrOPh).
  - c. 2,7,12,17-tetra(*m*-hidroxifenil)porfíceno **2** (R =*m*-HOPh).
  - d. 2,7,12,17-tetra(4-piridil)porfíceno **2** (R = 4-piridilo).
- 3- Sintetizar los derivados del TPPo **2** (R=Ph) por funcionalización del mismo en la posición 9 (ver Figura 1.27).
  - a. 9-nitro-2,7,12,17-tetrafenilporfíceno **27**.
  - b. 9-amino-2,7,12,17-tetrafenilporfíceno **28**.
  - c. 9-acetoxi-2,7,12,17-tetrafenilporfíceno **29**.

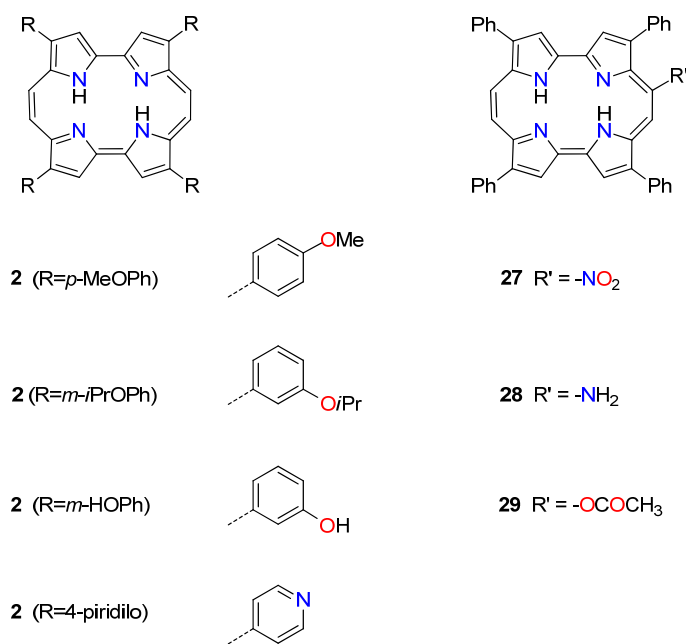


Figura 1.27: Moléculas objetivo de este trabajo.

- 4- Caracterizar las principales propiedades fotofísicas de los derivados sintetizados, con el fin de determinar su aplicabilidad en PDT.

## 1.5. Bibliografía

1. Vogel, E.; Koecher, M.; Schmickler, H.; Lex, J., *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 262-4.
2. a) Stockert, J.C.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Horobin, R.W.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Nonell, S., *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 997-1026. b) Sánchez-García, D.; Sessler, J.L., *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 215-232.
3. Dolphin, D., *The porphyrins (Structure and Synthesis, Part A) Vol. I*; Academic Press: New York, **1978**.
4. Aramendia, P.F.; Redmond, R.W.; Nonell, S.; Schuster, W.; Braslavsky, S.E.; Schaffner, K.; Vogel, E., *Photochem. Photobiol.* **1986**, *44*, 555-9.
5. Hennig, W. Neuartige Pyrrolische Porphyrinoide und Ihre Metallkomplexe. Tesis doctoral **1992**. Universität zu Köln.
6. Vogel, E., *Pure Appl. Chem.* **1990**, *62*, 557-564.
7. Matteis, F.; Aldrige, W.N.; Tait, G.H., *Heme and hemoproteins*; Springer; Berlin, **1978**.
8. Hendry, G.A.; Houghton, J.D.; Brown, S.B., *New Phytol.* **1987**, *107*, 255.
9. Nicolau, K.C.; Sorensen, E.J., *Classics in Total Synthesis*. Weinheim, VCH, **1996**.
10. Vogel, E.; Bröring, M.; Fink, J.; Rosen, D.; Schmickler H.; Lex J.; Chan, K.W.K.; Wu Y.-D.; Plattner, D.A.; Nendel, M.; Houk; K.N., *Angew. Chem.* **1995**, *34*, 2511.
11. Vogel, E., *J. Heterocyclic Chem.* **1996**, *33*, 1461.
12. Gisselbrecht, J.P.; Gross, M.; Koecher, M.; Lausmann, M.; Vogel, E., *J. Am. Chem. Soc.*; **1990**; *112*, 8618-8620.
13. Las energías relativas fueron calculadas en una base BLYP/6-31G\*\*//BLYP/3-21G. Las fórmulas representan al tautómero más estable. Los otros isómeros de la serie todavía no han sido sintetizados.
14. Wehrle B.; Limbach, H. H.; Kkher, M.; Ermer, O.; Vogel, E., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 934-936.
15. Waluk J., *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 945-952.
16. Wehrle B.; Limbach, H. H.; Kkher, M.; Ermer, O.; Vogel, E., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 934-936.

17. Wehrle B.; Zimmermann, H.; Limbach, H. H., *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1987**, *91*, 941-950.
18. Waluk, J.; Vogel, E., *J. Lumin.* **1994**, *60-61*, 867-869.
19. Waluk, J.; Vogel E., *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 4530-4535.
20. Vogel E.; Balci, M.; Pramod, K.; Koch, P.; Lex J.; Ermer, O., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 928-931
21. Vogel, E.; Kocher, M.; Lex, J.; Ermer, O., *Isr. J. Chem.*, **1989**, *29*, 257
22. Hennig, W. Neuartige Pyrrolische Porphyrinoide und Ihre Metallkomplexe. Tesis doctoral **1992**. Universität zu Köln.
23. Jori, G., *J. Photochem. Photobiol., A*, **1992**, *62*, 371.
24. a) Abels, C.; Szeimies, R.M.; Steinbach, P.; Richert, C.; Goetz, A.E., *Photochem. Photobiol. B.* **1997**, *40*, 305-312. b) Kessel D.; Luo Y., *Cell Death Differ.* **1999**, *6*, 28-35. c) Ronit, D.; Varda, G.; Sol, K., *Proc. SPIE- Int. Soc. Opt. Eng.* **1996**, *2625*, 33-41. d) Aramendía, P. F.; Redmond, R. W.; Nonell, S.; Schuster, W.; Braslavsky, S. E.; Schaffner K.; Vogel E., *Photochem. Photobiol. B.* **1986**, *44*, 555-559.
25. Sternberg, E.D.; Dolphin, D.; Brückner, C., *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4151-4202.
26. Lo, W.-C.; Che, C.-M.; Cheng, K.-F.; Mak, T. C. W., *Chem. Commun.* **1997**, 1205-1206.
27. a) Patente TW552262. b) Patente JP2002137547. c) Patente JP2002114923.
28. a) Patente US6372419. b) Patente JP2001100353.
29. Patente JP2003344382.
30. Dierickx, C.C.; Rox Anderson, R., *Int. Photodyn.* **1996**, *1*, 2-5.
31. Nitzan, Y.; Gutterman, M.; Malik, Z.; Ehrenberg, B., *Photochem. Photobiol.* **1992**, *55*, 89-96.
32. Mosley, S.T.; Goldstein, J.L.; Brown, M.S.; Falck, J.R.; Anderson, R.G.W., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1981**, *78*, 5717-5721.
33. Morgan, A.R.; Garbo, G.M.; Keck, R.W.; Selman, S.H., *Cancer Res.* **1988**, *48*, 194-198.
34. Bonnett, R. *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*, Gordon and Breach Science Publishers: Amsterdam, **2000**.

35. Ginevra, F.; Biffanti, S.; Pagnan, A.; Biolo, R.; Reddi, E.; Jori, G., *Cancer Lett.* **1990**, *49*, 59-65.
36. Sternberg, E.D.; Dolphin, D.; Brückner, C., *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4151-4202.
37. Ali, H.; Van Lier, J.E., *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2379-2450.
38. a) Jasat, A.; Dolphin, D., *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2267-2340. b) Milgrom, L.; MacRobert, S., *Chem. Br.* **1998**, 45-50.
39. Fisher, A.M.; Murphree, A.L.; Gomer, C.J., *Lasers Surg. Med.* **1995**, *17*, 2-31.
40. Merchat, M.; Villanueva, A.; Giacomoni, P.; Bertoloni, G.; Jori, G., *J. Braz. Chem. Soc.* **1995**, *6*, 123-125.
41. Minnock, A.; Vernon, D.I.; Schofield, J.; Griffiths, J.; Parish, J.H.; Brown, S.B., *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1996**, *32*, 159-164.
42. a) Merchat, M.; Giacomoni, P.; Villanueva, A.; Bertoloni, G.; Jori, G., *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* (1996), *32*, 153-157. b) Jori, G.; Tonlorenzi, D., *Int. Photodyn.* **1999**, *2*, 2-3.
43. a) Ben-Hur, E.; Horowitz, B., *Photochem. Photobiol.* **1995**, *62*, 383-388. b) Gaspard, S.; Tempête, C.; Werner, G.H., *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1995**, *31*, 159-162.
44. McMurry, J.E.; Fleming, M.P., *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 4708-4709.
45. Mukaiyama, T.; Sato, T.; Hanna, J., *Chem. Lett.*, **1973**, 1041-1044.
46. Tyrlík, S.; Wolchowicz, I., *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1973**, 2147-2148.
47. McMurry, J.E., *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1513-1524.
48. Adamus, S.; Kennedy, A.; Callahan, M. Abstracts of Papers, 229th ACS National Meeting, San Diego, CA, United States, March 13-17, **2005**.
49. Fürstner, A. *Transition Metals for Organic Synthesis* (2nd Edition) **2004**, *1*, 449-468.
50. Stühr-Hansen, N., *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5491-5494.
51. Mayekar, N. V.; Chattopadhyay, S.; Nayak, S. K., *Let. Org. Chem.* **2004**, *1*, 203-207.
52. Fürstner, A.; Hupperts, A.; Ptock, A.; Janssen, E., *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5215-29.
53. McMurry, J.E.; Fleming, M.P.; Kees, K.L.; Krepski, L.R., *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3255-3266.

- 
54. Dams, R.; Malinowski, M.P., *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 248-259.
  55. Scheer, H.; Katz, J.J. in Smith, K.M.; Porphyrins and Metalloporphyrins, Elsevier, Amsterdam, **1975**, p.416.
  56. Fischer, H.; Bäumlér, R., *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1929**, *468*, 58.
  57. Bauer, V.J.; Clive, D. L. J.; Dolphin, D.; Paine, J.B.; Harris, F.L.; King, M.M.; Loder, J.; Wang, S.W.C.; Woodward, R.B., *J. Am. Chem. Soc.* **1983**; *105*; 6429-6436.
  58. a) Fanta, P.E. *Chem. Rev.* **1964**, 613. b) Hassan, J.; Sevignon, M.; Gozzi, C.; Schulz, E.; Lemaire, M., *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1359-1469.
  59. Guillard, R.; Aukauloo, M.A.; Tardieux, C.; Vogel, E. *Synthesis*, **1995**, 1480-1482.
  60. Sessler, J.L.; Cyr, M.; Burrell, A.K., *Tetrahedron* **1992**, *48*, 9661-9672.
  61. Nonell, S.; Bou, N.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Villanueva, A.; Juarranz, A.; Cañete, M., *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 3405-3408.
  62. Colominas, C., Modelos teóricos para el estudio de procesos químicos en solución, Tesis doctoral **1999**, Universitat Ramon Llull.
  63. a) Villanueva, A.; Cañete, M.; Nonell, S.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Juarranz, A. *Anti-Cancer Drug Des.* **1996**, *11*, 89-99. b) Karrer, S.; Szeimies, R.-M.; Ebert, A.; Fickweiler, C.; Abels, C.; Bäumlér, W.; Landthaler, M. *Lasers Med.Sci.* **1997**, *12*, 307-312. c) Karrer, S.; Abels, C.; Szeimies, R. M.; Baumler, W.; Dellian, M.; Hohenleutner, U.; Goetz, A. E.; Landthaler, M., *Arch. Dermatol. Res.* **1997**, *289*, 132-137.
  64. Gavaldà, A.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Arad, O.; Grau, R.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Stockert, J.C., *J. Porphyrin. Phthalocyanines* **2001**, *5*, 846-852.
  65. Rapoport, H.; Holden, K.G., *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 635-642.
  66. Gavaldà, A., Síntesi i activitat fotodinàmica de fotosensibilitzadors porfíricens. Tesis doctoral **2001**, IQS-URL.
  67. a) Ochiai, E.; Tsuda, K.; Ikuma, S., *Chem. Ber.* **1935**, *68*, 1551-1555. b) Ochiai, E.; Tsuda, K.; Ikuma, S., *Chem. Ber.* **1935**, *68*, 1710-1716.
  68. Wiegand, G.E; Bauer, V.J.; Safir S.R.; Blickens D.A.; Riggi, S.J., *J. Med. Chem.* **1971**, *14*, 214-215.

69. Paine III, J.B.; Dolphin, D., *J. Org. Chem.* **1985**, 2369-2373.
70. De Munno, G.; Lucchesini, F.; Neidlein, R., *Tetrahedron*, **1993**, 49, 6863-6872.
71. a) Dai, W-M; Mak, W.L., *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 10277-10280. b) Nussbaumer, Th.; Krieger, C.; Neidlein, R., *J. Org. Chem.* **2000**, 2449-2457.
72. Nonell, S.; Borrell, J.I.; Borrós, S.; Colominas, C.; Rey, O.; Rubio, N.; Sánchez-García, D.; Teixidó, J., *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 9, 1635.







# Capítulo 2

---

## **Síntesis de porfíricos sustituidos en las posiciones 2, 7, 12 y 17**

Se describe una nueva síntesis de porfíricos 2,7,12,17-sustituidos. Esta nueva metodología se basa en un intermedio común a partir del cual es posible obtener derivados mediante la aplicación de reacciones de heteroacoplamiento organometálico.

---



## 2. Síntesis de porfícenos sustituidos en las posiciones 2, 7, 12 y 17

### 2.1. Antecedentes

Para abordar el primer objetivo del presente trabajo, que consiste en desarrollar una síntesis general de porfícenos que permita obtenerlos con una amplia variedad de sustituyentes, es necesario en primer lugar identificar y obtener un intermedio común que idealmente se pueda derivatizar en una etapa avanzada de la síntesis. Además este intermedio clave se ha de poder sintetizar en una escala de decenas de gramos.

Desde el punto de vista sintético resulta atractiva una estrategia que permita introducir los sustituyentes en las posiciones 4 y 4' de un sistema bipirrólico preformado. Para ello es necesario disponer de un bipirrol con halógenos en dichas posiciones. Actualmente existen muchas posibilidades sintéticas para funcionalizar heterociclos halogenados. Entre las reacciones organometálicas destacan las catalizadas por complejos de paladio. La reacción de Suzuki por ejemplo permitiría introducir sustituyentes aromáticos en el heterociclo. Las posibilidades son muy diversas dado que existe una gran variedad de ácidos borónicos comerciales para realizar la reacción de Suzuki<sup>1</sup>.

En la reacción de Suzuki, el primer paso del ciclo catalítico es la adición oxidante de un complejo de paladio sobre un haluro para formar una especie de organopaladio. La reacción de esta especie con una base, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> por ejemplo, da el intermedio **30**, que a través de una transmetalación con el complejo boronado **31** (que lleva el sustituyente R) forma la especie organopaládica **32**. Finalmente, la eliminación reductora del producto deseado **33** devuelve el paladio a la valencia cero.

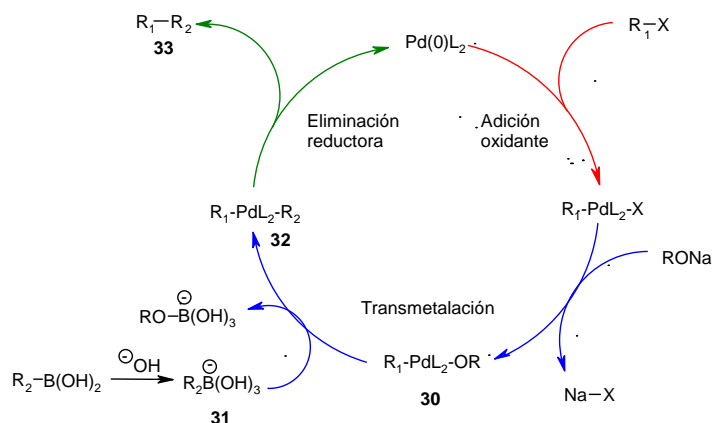


Figura 2.1: Ciclo catalítico del Pd en la reacción de Suzuki

Se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva en busca de la materia prima más adecuada para nuestros propósitos. Dicha búsqueda reveló como posible candidato el 4,4'-dibromo-1,1'-bis(triisopropilsilil)bipirrol<sup>2</sup> (**34**). Sin embargo, esta molécula se descartó debido al bajo rendimiento descrito en la obtención del 1,1'-bis(triisopropilsilil)bipirrol de partida (10%).

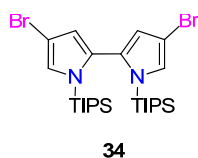


Figura 2.2: 4,4'-dibromo-1,1'-bis(triisopropilsilil)bipirrol

Afortunadamente se encontró una alternativa basada en el tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol (**35**), descrito por Farnier<sup>3</sup> y col. en 1976. En efecto, dicho compuesto cumple los requerimientos necesarios para nuestra estrategia sintética:

- (i) Los anillos de pirrol de **35** solamente tienen libre las posiciones donde se desea introducir los átomos de bromo.
- (ii) El puente sulfuro es fácilmente eliminable con Níquel Raney según Farnier<sup>4</sup> y bloquea las dos posiciones interiores del sistema bipirrólico

presente en **35** evitando así otras sustituciones en estas posiciones que comprometerían la planaridad de los porfícenos resultantes.

- (iii) El compuesto **35** contiene dos grupos ésteres que son fácilmente transformables en los aldehídos requeridos. Esta conversión se podría llevar a cabo mediante el protocolo de McFadyen-Stevens<sup>5</sup>.

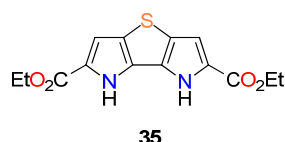


Figura 2.3: tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol

En el siguiente esquema (ver Figura 2.4) se representa la ruta sintética propuesta para obtener porfícenos sustituidos en las posiciones 2, 7, 12 y 17 (**2**) a partir del tienodipirrol **35**. Se propone en primer lugar bromar el tienodipirrol **35** para obtener el dibromotienodipirrol **36** y, posteriormente sustituir los átomos de bromo por un sustituyente aromático mediante la reacción de Suzuki. Se aplicaría a dicho tienodipirrol sustituido **37** las condiciones de desulfuración descritas por Farnier para obtener el bipirrol **12** y posteriormente se aplicaría la reacción de McFadyen-Stevens para obtener el 5,5'-diformil-2,2'-bipirrol-4,4'-disustituído **18**. Los 5,5'-diformil-2,2'-bipirroles 4,4'-disustituídos son precursores de los porfícenos **2** mediante la reacción de McMurry.

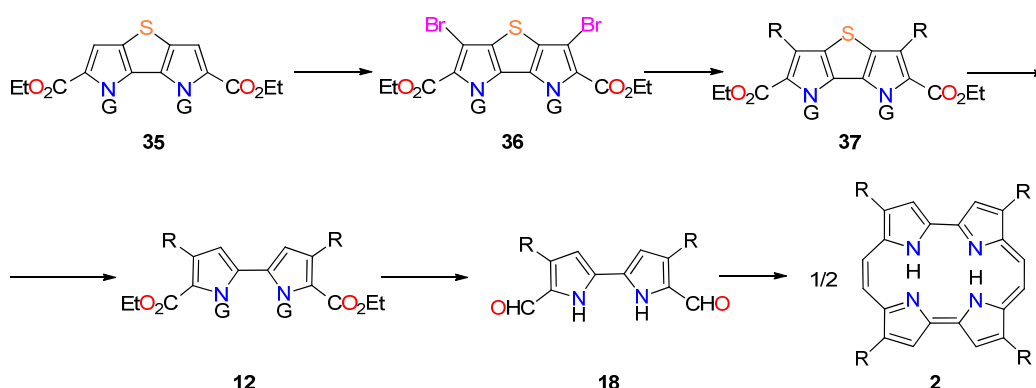


Figura 2.4: Obtención de porfícenos sustituidos a partir del tienodipirrol **35**

## 2.2. Nueva estrategia para la síntesis de porfíricos 2,7,12,17-sustituidos

En base a lo anteriormente expuesto, es posible proponer el esquema general de obtención de un antecedente común (**36**) de porfíricos que permita la introducción de una variedad de sustituyentes en las posiciones 2, 7, 12 y 17 (ver Figura 2.5). A continuación se detalla la metodología seguida para la obtención del compuesto **36** a partir de un dialdehído comercial (**38**).

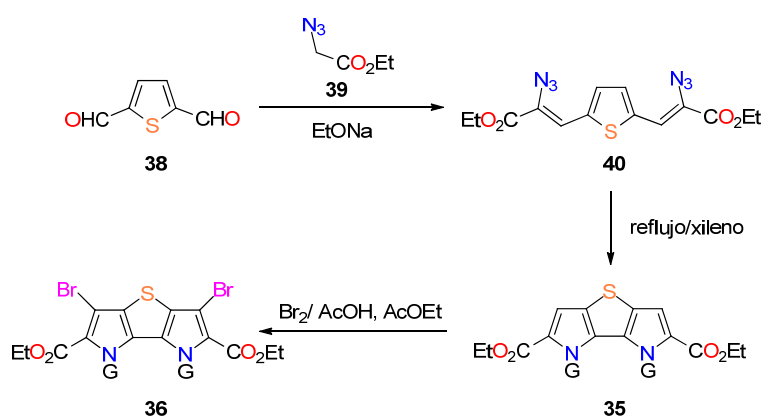


Figura 2.5: Obtención del *4H,5H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo **35** y su derivado dibromado **36**.

### 2.2.1. Síntesis del *4H,5H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo

El procedimiento de obtención de los tienodipirroles (ver Figura 2.5) se inicia con la obtención del *4H,5H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo **35** mediante el procedimiento descrito en 1976 por Farnier<sup>3</sup> y col. Así, si se trata el tiofeno-2,5-dicarboxaldehído **38**, asequible comercialmente o a partir del procedimiento descrito por Feringa<sup>6</sup> y col., con el correspondiente azidoacetato de etilo **39**, en presencia de etóxido sódico en EtOH se obtiene el 2,5-bis(2'-azido-2'-etoxicarbonilvinil)tiofeno **40** con un 54% de rendimiento. El compuesto **25** se transforma con un 85% de rendimiento en el correspondiente *4H,5H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo **35** por calefacción en xileno a reflujo.



### 2.2.2. Síntesis del 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo

Una vez obtenido el diéster **35** se aborda el paso clave de esta estrategia que consiste en la bromación del tienodipirrol **35** para obtener el tienopirrol **36** (G=H). La bromación de **35** ha resultado laboriosa y se han tenido que intentar diversas condiciones de reacción. En primer lugar se intentó la bromación del diéster por tratamiento con *N*-bromosuccinimida (NBS) en DMF, acetona y tetracloruro de carbono. Desafortunadamente, en los tres casos se obtuvo un crudo de reacción difícil de purificar. Este resultado se racionalizó en términos de interferencia del NH pirrólico en el proceso de bromación. Por esta razón se protegió el diéster **35** (G=H) con grupos BOC para dar el compuesto **35** (G=BOC) con un rendimiento del 20%. Una vez obtenido **35** (G=BOC) se trató con NBS en acetona a 0 °C. No obstante, el producto mayoritario resultó ser el término de monobromación (**36-m** (G=BOC)). Este intermedio (Figura 2.6), aunque potencialmente muy interesante como precursor de bipirroles asimétricamente sustituidos, no es susceptible de ser dibromado, por lo que se descarta la estrategia para obtener los sistemas **36**.

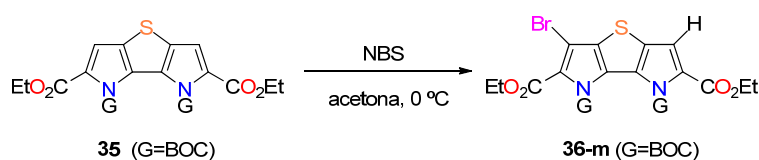


Figura 2.6: monobromación del bipirrol **36** (G=BOC)

Dado el poco éxito conseguido con NBS se hicieron intentos con 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína, otro reactivo típico de bromaciones pero resultaron infructuosos. Estos resultados son sorprendentes dada la gran facilidad con la que los núcleos pirrólicos reaccionan, en general, con electrófilos. Ante esta situación se propuso utilizar un tratamiento de bromo directamente sobre el tienodipirrol **35** (G=H). Sorprendentemente, al tratar con bromo el tienodipirrol **35** (G=H) utilizando una mezcla 5:2 de acetato de etilo y ácido acético como disolvente se obtiene el dibromotienodipirrol **36** (G=H) con un rendimiento del 90% (Figura 2.7). Este compuesto precipita en la mezcla de solventes descrita en forma de un precipitado blanco de elevada pureza de forma que se puede usar directamente para los

siguientes pasos de síntesis sin más purificaciones. Se puede obtener a escala de 100g.

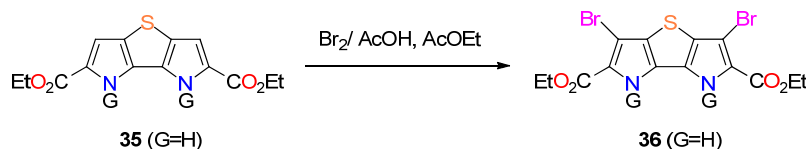


Figura 2.7: Bromación del bipirrol **35** (G=H)

### 2.2.3. Sustitución del 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo por reacción de Suzuki.

Una vez obtenido el tienodipirrol dibromado **36** (G=H) se procede a sustituir las posiciones bromadas por restos aromáticos mediante la reacción de Suzuki. En primer lugar se ensaya la reacción de **36** (G=H) con ácido fenilborónico (RB(OH)<sub>2</sub>, R = Ph) usando un amplio margen de condiciones de reacción que incluyen los catalizadores Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, PdCl<sub>2</sub>(dppf) o Pd(OAc)<sub>2</sub> / el ligando de Buchwald<sup>7</sup> y las bases Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> o CsF en disolventes como DMF, dimetoxietano o 1,4-dioxano. También se ha ensayado la calefacción convencional y mediante microondas para acelerar la reacción y minimizar reacciones secundarias. Sin embargo, el derivado difenil sustituido no se ha formado en ningún caso obteniéndose un crudo negro de difícil manipulación (Figura 2.8). En la bibliografía aparecen ejemplos de reacciones de Suzuki con pirroles poco reactivos sustituidos por grupos éster en los que la falta de reactividad de la posición 2 pirrólica se resuelve mediante la protección de los nitrógenos del heterociclo<sup>8</sup>. Teniendo en cuenta estos precedentes se ensayó la protección de los nitrógenos del tienodipirrol bromado **36** (G = H).

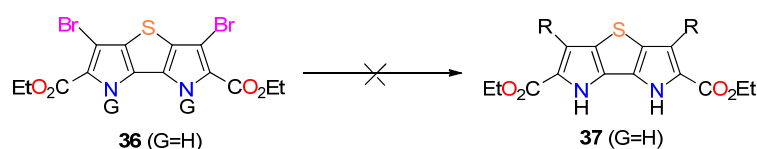


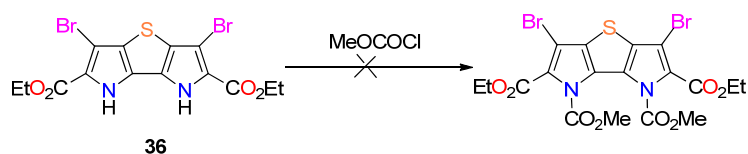
Figura 2.8: Intento de reacción de Suzuki sobre el bipirrol **36** (G=H)

Un grupo protector permite enmascarar temporalmente el grupo funcional correspondiente, de forma que las transformaciones del resto de grupos funcionales no se vean afectados. Las reacciones de protección y desprotección se han de poder realizar de forma selectiva, con buenos rendimientos, con reactivos económicamente asequibles y que no ataquen al grupo funcional regenerado. Esencialmente, hay cuatro tipos de grupos protectores de pirroles:

- (i) los carbamatos,  $R_1R_2NH \rightarrow R_1R_2NCOR$
- (ii) los grupos *p*-toluensulfonilo  $R_1R_2NH \rightarrow R_1R_2NOSO_2R$
- (iii) las aminas sustituidas,  $R_1R_2NH \rightarrow R_1R_2NR$
- (iv) los aminoacetales sililados,  $R_1R_2NH \rightarrow R_1R_2NCH_2OCH_2CH_2Si(CH_3)_3$

Un estudio realizado por S. T. Handy sobre protección de pirroles poco nucleófilos<sup>9</sup> advertía de que los pirroles protegidos no dan la reacción de halogenación y que lo más razonable era proteger después de halogenar. Por otro lado, cuando el mismo grupo se disponía a proteger los nitrógenos del pirrol con carbamatos (metílicos o *tert*-butílicos) las condiciones estándar de protección fracasaron. Dichas condiciones incluían carbonato potásico en DMF (para metil carbamatos) y DMAP estequiométrico en acetonitrilo a temperatura ambiente o a 60 °C con el anhídrido del BOC (para el *tert*-butil carbamato). Al final del estudio se decantaron por atribuir estas dificultades al efecto electrónico del bromo (que disminuye la nucleofilia del pirrol) más que al impedimento estérico en la posición adyacente del nitrógeno. Finalmente en este mismo estudio se demuestra que el uso de yoduro de tetrabutilamonio (TBAI) era indispensable para proteger los nitrógenos de esos pirroles. Por lo tanto, se procedió a probar estas mismas condiciones con **36** para obtener, de la misma manera, el yodoformiato *in situ*, ya que es más reactivo que el cloroformiato.

Tabla 2.1: Reacción de protección. Condiciones de reacción.



| <b>Reactivo</b>   | <b>Catalizador</b>                                  | <b>Dte</b> | <b>Temp.</b> | <b>Tiempo</b> | <b>Rto<br/>producto<br/>aislado</b> | <b>Producto<br/>Final<br/>confirmado<br/>por HRMS</b> |
|-------------------|---|------------|--------------|---------------|-------------------------------------|---|
| 20 eq.<br>MeOCOCI | 10 eq. K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub><br>4 eq. TBAI | DMF        | 50 °C        | 18 horas      | 24 %                                | <br>41  |

Al tratar **36** con MeOCOCI/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/TBAI (yoduro de tetrabutilamonio) en DMF<sup>10</sup> se obtiene, sorprendentemente, el tienodipirrol *N,N'*-dimetil sustituido **41** (Tabla 2.1). No se ha encontrado en la literatura científica ninguna referencia de un comportamiento similar. Pero dado que el grupo metilo es un grupo protector muy difícil de eliminar, esta no se considera una buena aproximación.

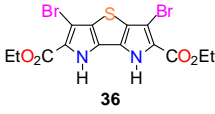
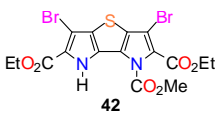
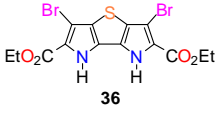
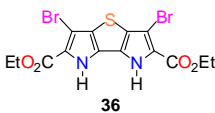
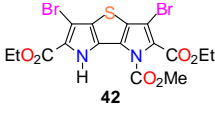
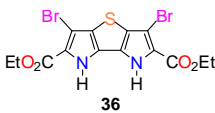
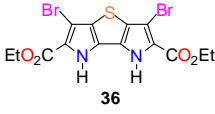
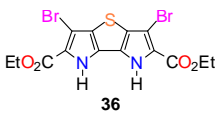
La alternativa propuesta fue la protección con ionización previa de los NH pirrólicos con NaH. Este procedimiento se basa en la catálisis básica que, en principio, asegura la entrada posterior del cloroformiato, ya que el producto ionizado es más reactivo que el no ionizado.

En el presente trabajo se parte de unas condiciones estándar para este tipo de reacciones (temperatura ambiente y THF seco como disolvente) y se mantiene constante el número de equivalentes de cloroformiato de metilo (5 eq.) y el tiempo de reacción en 6 horas elevando la temperatura a 90 °C. El seguimiento de la reacción se ha realizado por CCF y <sup>1</sup>H-RMN.

Los resultados obtenidos muestran que la reacción de protección de los dos nitrógenos es inviable en las condiciones utilizadas dado que se recupera el producto

de partida inalterado. En cambio, sí que se consigue la obtención del producto monoprotegido **42** a temperatura ambiente (Tabla 2.2).

Tabla 2.2: Estudio de la protección con cloroformiato de metilo en presencia de una base.

| <b>Producto de partida</b>  | <b>Base</b>   | <b>disolvente</b> | <b>T/°C</b> | <b>Producto Final</b>   |
|---|---------------|-------------------|-------------|---|
| <br>36   | 5 eq.<br>NaH  | THF/seco          | 25          | <br>42   |
| <br>36  | 5 eq.<br>NaH  | THF/seco          | 90          | <br>36   |
| <br>42 | 5 eq.<br>NaH  | DMF/seco          | 90          | <br>36 |
| <br>36 | 5 eq.<br>BuLi | THF/seco          | 25          | <br>36 |

Este hecho, sugiere que el producto monoprotegido se forma inicialmente pero, posteriormente, se desprotege rindiendo el producto inicial. Para demostrar esta hipótesis se plantearon dos experimentos para buscar cual era el efecto de la temperatura y la base en la reacción de desprotección.

En el primer ensayo se trató el producto monoprotegido con NaH en THF a 90 °C y se obtuvo el producto desprotegido **36**. En la segunda experiencia se reprodujeron

las condiciones de formación del término monoprotegido pero empleando BuLi como base y se recuperó el producto no protegido **36**.

A pesar de no haber conseguido la diprotección del compuesto **36** se decide ensayar la reacción de Suzuki sobre el derivado monoprotegido **42**. Desgraciadamente, no se consigue la introducción del resto fenilo.

Por tanto, se opta por la introducción de un grupo protector alternativo: el grupo trimetilsililetoximetil (abreviado como SEM) que tan buenos resultados ha proporcionado en la protección de biimidazoles<sup>11</sup>. Así, la protección simultánea de los dos nitrógenos de **36** (G=H) se consigue por tratamiento con cloruro de trimetilsililetoximetilo (SEMCl) en THF anhidro utilizando NaH como base para rendir el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo **36** (G=SEM) con un 94% de rendimiento tras dos horas de reacción a temperatura ambiente y recristalización de metanol (Figura 2.9).

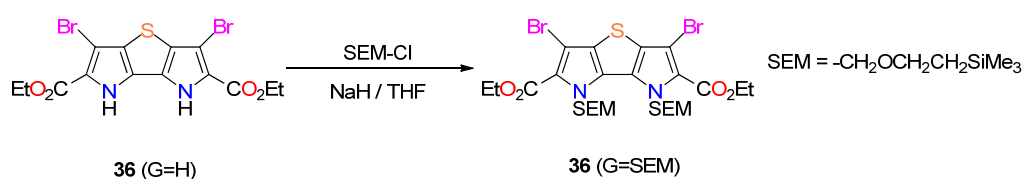


Figura 2.9: Protección del dibromotienodipirrol **36** con SEM.

El SEM permite la doble protección a diferencia de otros grupos protectores voluminosos pero de estructura no lineal. Esta doble protección se ha de realizar a temperatura ambiente porque si se hace a baja temperatura (0 °C) solamente se obtiene el término de monoprotección. Además el grupo SEM es muy estable en una gran variedad de condiciones lo que permite la posterior utilización de dicha molécula en reacciones de sustitución del halógeno por otros restos. Otra ventaja que presenta este grupo protector es la de dar solubilidad al tienodipirrol en numerosos disolventes orgánicos, entre ellos el hexano, lo que permite su aplicación en numerosas reacciones que se dan en medio apolar.

El grupo SEM, en teoría, es eliminable en medio ácido o en presencia de una fuente de fluoruro. En principio, estos medios no se han contemplado en la planificación de esta síntesis de porfícenos.

A pesar de que el SEMCI es relativamente caro, el elevado rendimiento de reacción y las excepcionales propiedades de solubilidad del compuesto final decantaron la balanza para seguir la síntesis con el SEM como grupo protector.

Una vez que se ha conseguido la diprotección de **36** (G=H), se procede a ensayar la reacción de Suzuki (Figura 2.10). Existen multitud de variantes que difieren del tipo de catalizadores de paladio empleado, las bases más adecuadas al sustrato o el tipo de disolventes. En nuestro caso inicialmente se ha optado por utilizar metodologías ajustadas a los pirroles protegidos con un grupo éster en la posición 2, ya que hasta ahora no se había probado nunca esta reacción con tienodipirroles. Las diferentes condiciones ensayadas se resumen en la Tabla 2.3.

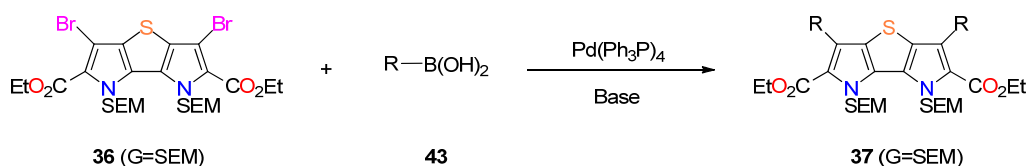


Figura 2.10: Obtención de **37** mediante reacción de Suzuki.

Se observa que el uso de 1,4-dioxano da mejores resultados que cuando se utiliza DMF y DME. Respecto a la base, el uso de carbonato sódico proporciona mejores resultados que el carbonato potásico y el carbonato de cesio. Una vez optimizadas las condiciones de reacción se verifica que el acoplamiento de Suzuki entre **36** (G=SEM) y  $\text{RB(OH)}_2$  **43** (R=Ph), en presencia de  $\text{Pd(PPh}_3)_4$ , y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en 1,4-dioxano, rinde el tienodipirrol difenil sustituido **37** (R=Ph, G=SEM) con un rendimiento cuantitativo. De forma similar se obtiene el derivado di(piridin-4-ilo) sustituido **37** (R=C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N, G=SEM) y el derivado di(*p*-metoxifenil) sustituido **37** (R=*p*-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, G=SEM), con rendimientos del 95% y 100% respectivamente, tras tratamiento de **36** con los ácidos borónicos correspondientes **43** (R=C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N) y **43** (R=*p*-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). En cambio en estas mismas condiciones el ácido *m*-hidroxifenilborónico **43** (R=*m*-HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) da un crudo complejo debido probablemente a la ionización de los fenoles durante la reacción que impide se produzca el acoplamiento de Suzuki. Este problema se solventa al suavizar las condiciones y usar CsF en vez de carbonato como base. Sin embargo en este caso el rendimiento de formación del tienopirrol **37** (R=*m*-HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, G=SEM) es sensiblemente inferior (40%).

Tabla 2.3: Estudio y optimización del acoplamiento de Suzuki con el tienodipirrol protegido **36** y diferentes ácidos borónicos.

| <i>exp<sup>ref</sup></i> | <i>Cat</i>                                     | <i>RB(OH)<sub>2</sub></i> | <i>Base</i>                                   | <i>Dte</i>      | <i>t/h</i> | <i>T/°C</i> | <i>Rdt</i><br>% | <i>Resultado</i>  |
|--------------------------|--|---------------------------|---|-----------------|------------|-------------|-----------------|---|
| <b>1<sup>12</sup></b>    | 0,1 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>  | 5 eq.<br><i>p</i> -MeOPh  | 6 eq. 0.1N<br>Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | DMF             | 16         | 110         | 42              | Por <sup>1</sup> H-RMN se observan el producto monosustituído y el disustituído <b>37</b> . |
| <b>2<sup>13</sup></b>    | 0,1 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>  | 5 eq.<br><i>p</i> -MeOPh  | 6 eq. 0.1N<br>K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | DME             | 16         | 80          | ---             | Crudo oscuro. Se observa por <sup>1</sup> H-RMN el producto disustituído <b>37</b> .        |
| <b>3</b>                 | 0,05 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | 2.5eq.<br><i>p</i> -MeOPh | 3 eq. 0.1N<br>K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | 1,4-<br>dioxano | 16         | 100         | 96              | Se obtiene el producto <b>37</b> tras purificación cromatográfica                           |
| <b>3</b>                 | 0,05 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | 2.5eq.<br>Ph              | 3 eq. 0.1N<br>K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | 1,4-<br>dioxano | 16         | 100         | 77              | Se obtiene el producto <b>37</b> tras purificación cromatográfica                           |
| <b>4</b>                 | 0,05 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | 2.5eq.<br>4-Py            | 3 eq. 0.1N<br>K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | 1,4-<br>dioxano | 16         | 100         | 99              | Se obtiene el producto <b>37</b> tras purificación cromatográfica                           |
| <b>5</b>                 | 0,05 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | 2.5eq.<br><i>p</i> -MeOPh | 3 eq. 0.1N<br>Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 1,4-<br>dioxano | 16         | 100         | 100             | Se obtiene el producto <b>37</b> tras purificación cromatográfica                           |
| <b>6</b>                 | 0,05 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | 2.5eq.<br>Ph              | 3 eq. 0.1N<br>Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 1,4-<br>dioxano | 16         | 100         | 100             | Se obtiene el producto <b>37</b> tras purificación cromatográfica                           |
| <b>7</b>                 | 0,05 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | 2.5eq.<br>4-Py            | 3 eq. 0.1N<br>Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 1,4-<br>dioxano | 16         | 100         | 95              | Se obtiene el producto <b>37</b> tras purificación cromatográfica                           |
| <b>8</b>                 | 0,05 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> | <i>m</i> -OHPH            | 3 eq. 0.1N<br>Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 1,4-<br>dioxano | 16         | 100         | ---             | Crudo difícil de purificar  |
| <b>9</b>                 | 0,1 eq.<br>Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>  | <i>m</i> -OHPH            | 0.3 eq. 0.1N<br>CsF                           | 1,4-<br>dioxano | 48         | 100         | 40              | Se obtiene el producto <b>37</b> tras purificación cromatográfica                           |

En resumen, se ha comprobado que es posible sustituir los dos halógenos de los tienodipirroles halogenados **36**, cuyos nitrógenos anulares estén protegidos con el



grupo SEM, por restos arilo o heteroarilo mediante la reacción de Suzuki en condiciones similares a las previamente descritas por nuestro grupo para obtener azaporfícenos<sup>14</sup>.

Los cuatro ácidos borónicos utilizados representan un abanico bastante grande de reactividades diferentes. Esta diversidad en la reactividad de los sustituyentes de cada una de ellos, consolida las grandes posibilidades de esta reacción para obtener una variedad de porfícenos. Cabe pensar que la química con estos heterociclos se puede extender más allá de la reacción de Suzuki a otras reacciones catalizadas por paladio.

En particular, es especialmente interesante la obtención del derivado **37** (R=C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N, G=SEM) que debería permitir la obtención de un porfícono con cuatro sustituyentes piridilo que se ha mostrado inaccesible hasta el presente por las vías clásicas de obtención de porfícenos.

### **2.3. Obtención de porfícenos 2,7,12,17-tetraaril sustituidos**

#### **2.3.1. Síntesis de 2,7,12,17-tetrafenilporfícono.**

La ruta prevista inicialmente para la síntesis de los porfícenos a partir del tienodipirrol **35** consistía en bromar el tienodipirrol para posteriormente aplicar la reacción de Suzuki y desulfurar para enlazar con las rutas sintéticas descritas previamente con biperroles tipo **12**. Sin embargo dada la imposibilidad de realizar la reacción de Suzuki directamente sobre el tienopirrol **36** (G=H) la metodología se ha replanteado y se han bloqueado los pirroles con el grupo SEM del biperrol **36**. A continuación, se procede a la desulfuración del tienodipirrol correspondiente y la desprotección posterior del biperrol, para volver a enlazar con la ruta prevista inicialmente a través del biperrol **12** (Figura 2.11).

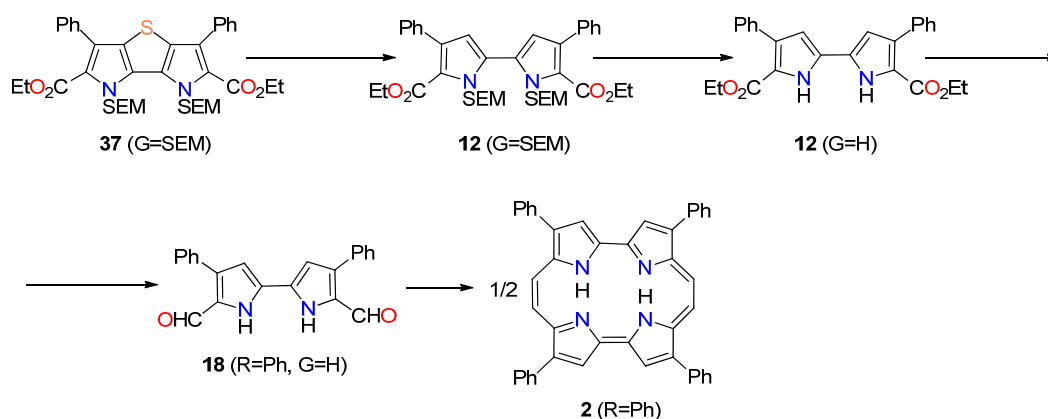


Figura 2.11: Síntesis de porfíricos a partir del tienodipirrol

Una vez conseguido el acoplamiento de Suzuki entre el tienodipirrol **36** y el ácido fenilborónico, es necesario ahora eliminar el azufre y el grupo protector SEM de los nitrógenos para obtener el difenilbipirrol dicarboxilato de dietilo **12** (R=Ph). La síntesis del TPPo a partir de dicho compuesto está descrita por Gavalda<sup>5</sup> y col. y se basa en la transformación de McFadyen-Stevens para convertir el diéster en dialdehído y en la reacción de McMurry para conseguir la ciclación del producto. Por lo tanto el siguiente objetivo es conseguir eliminar el azufre del tienodipirrol para obtener el bipirrol sustituido.

#### Desulfuración por tratamiento con Ni Raney del tienodipirrol **37** (R=Ph, G=SEM)

En el diseño inicial de la ruta sintética se había previsto realizar la desulfuración de la misma forma que Farnier<sup>15</sup> y col., es decir, mediante una desulfuración catalítica para sintetizar el bipirrol a través del tienodipirrol. El procedimiento requiere el uso de Níquel Raney que es comercial, aunque también se puede obtener a través del tratamiento de una aleación Ni-Al con una solución de hidróxido sódico. En esta reacción el aluminio se oxida a aluminato liberando vigorosamente hidrógeno que queda retenido dentro de las cavidades del níquel gracias a fuerzas de van der Waals. El Níquel Raney en contacto con enlaces C-S puede reemplazar el azufre por hidrógeno. Por ejemplo:  $\text{RSR}' + \text{Ra-Ni} \rightarrow \text{R-H} + \text{R}'\text{-H}$ . Esta reacción, a parte de ser útil en la síntesis de compuestos orgánicos, también se aplica en la determinación de estructuras de compuestos orgánicos desconocidos que contienen azufre. La

desulfuración con níquel Raney fue un paso clave en la primera determinación de la estructura de la penicilina y otros compuestos de elevado interés farmacológico.

En el caso de la obtención del bipirrol a partir del tienodipirrol, Farnier, Soth, Fournari y col<sup>15</sup>. consiguen rendimientos cuantitativos mezclando una solución acetónica del tienodipirrol y Níquel Raney. Se ha observado por <sup>1</sup>H-RMN que durante la reacción se produce DMSO dificultando el secado del producto y su purificación. La formación de DMSO en reacciones de desulfuración llevadas a cabo con Níquel Raney y acetona no se ha encontrado descrita en la bibliografía. Finalmente se ha evitado este problema sustituyendo la acetona por EtOH. Así, la desulfuración de **37** (R = Ph, G=SEM) se ha llevado a cabo con Níquel Raney en etanol para proporcionar los bipirroles **12** (R = Ph, G=SEM) con un rendimiento cuantitativo (Figura 2.12).

Cabe destacar que las polaridades del tienodipirrol y del bipirrol obtenido son muy similares y por tanto la presencia de estos dos productos es difícil de discernir por CCF obligando a hacer el seguimiento de la reacción por <sup>1</sup>H-RMN. Finalmente, se confirma la obtención del producto por la aparición del singulete de integral 2 de los CH pirrólicos sobre 6.5 ppm.

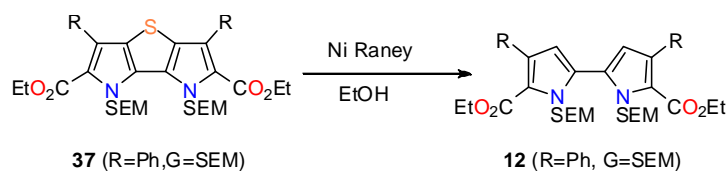
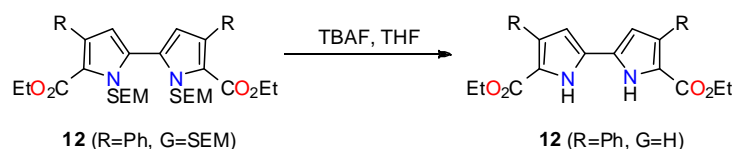


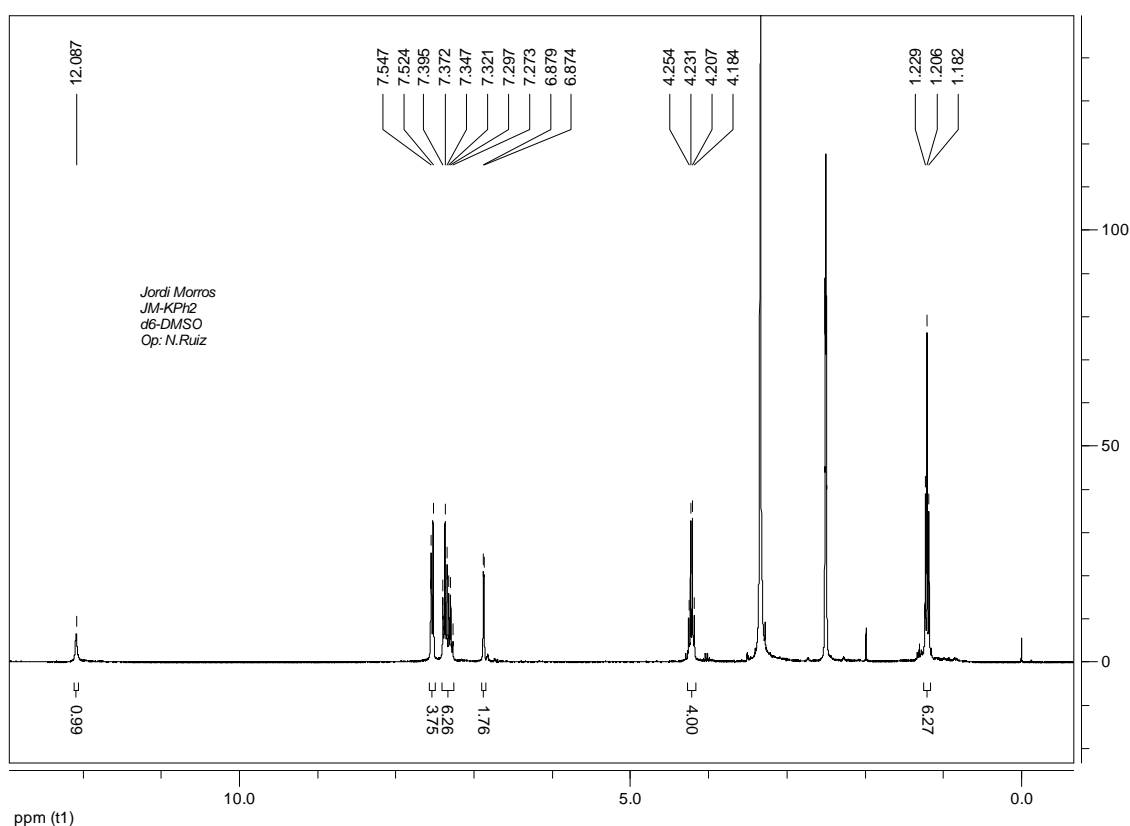
Figura 2.12: Reacción de desulfuración de **37** (R=Ph, G=SEM)

### Eliminación de los grupos SEM del bipirrol **12** (R=Ph, G=SEM)

Finalmente, la eliminación del grupo protector SEM y la desprotección de **12** (R= Ph, G=SEM), se ha logrado usando TBAF en THF y en 1,4-dioxano como disolvente para rendir **12** (R= Ph, G=H), con un 93% de rendimiento (Figura 2.13) según el método descrito por Delgado<sup>16</sup>.

Figura 2.13: Reacción de desprotección de **12** (G=SEM)

El análisis de espectro de  $^1\text{H-RMN}$  del diéster **12** (R=Ph, G=H) confirma la eliminación de los grupos SEM y aparece una nueva señal ancha a 12 ppm de integral 2 atribuible a los NH pirrólicos (Figura 2.14).

Figura 2.14: Espectro de  $^1\text{H-RMN}$  del diéster **12** (R=Ph, G=H)

Este hito completa una nueva ruta sintética para el 2,7,12,17-tetrafenilporfícenico (**2**, (R = Ph)) ya que el 4,4'-difeníl-5,5'-diformil-2,2'-bipirrol **12** (R= Ph, G=H) es un precursor inmediato del TPPo.

### 2.3.2. Síntesis de 2,7,12,17-tetra(4-piridil)porfírico.

Una vez desarrollada esta nueva ruta sintética para la obtención de porfíricos se procede a sacar provecho sintético de la nueva metodología para obtener una variedad de porfíricos.

En primer lugar se aborda la síntesis del 2,7,12,17-tetra(4-piridil)porfírico. Se sigue el itinerario sintético mostrado en la Figura 2.15.

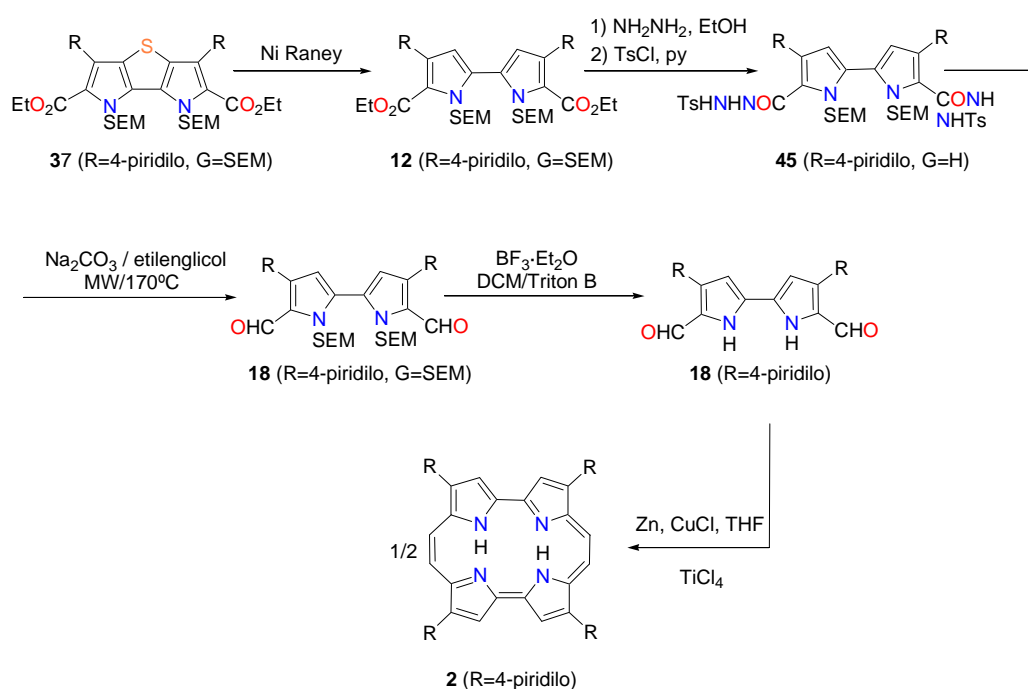


Figura 2.15: Esquema sintético propuesto para la obtención de **2** (R=4-piridilo)

#### Desulfuración por tratamiento con Ni Raney del tienodipirrol **37** (R=4-piridilo, G=SEM)

La desulfuración de **37** (R=4-piridilo, G=SEM) se ha llevado a cabo con Níquel Raney en etanol para dar el bipirrol **12** (R=4-piridilo G=SEM) con un rendimiento cuantitativo (Figura 2.16).

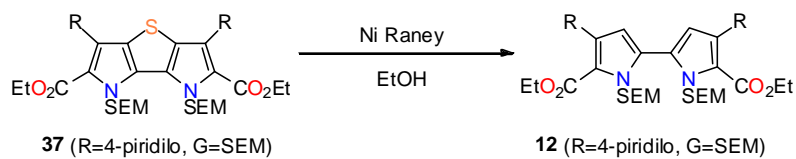


Figura 2.16: Reacción de desulfuración de **37** (R=4-piridilo, G=SEM)

La desulfuración de **37** (R=4-piridilo, G=SEM) puede verificarse por inspección del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN en el que se aprecia la aparición de un singulete a 6.55 ppm debido al protón de los anillos pirrólicos (Figura 2.17).

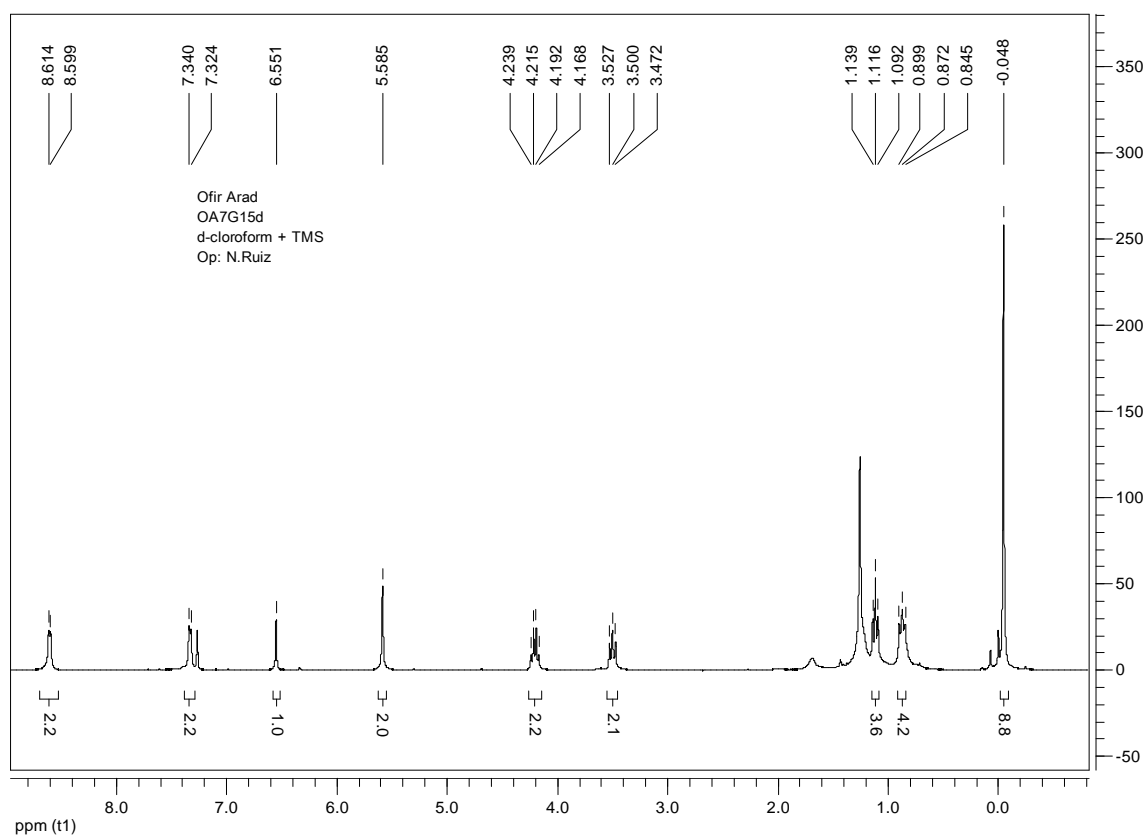


Figura 2.17: Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del diéster **12** (R=4-piridilo, G=SEM)

Reacción de McFadyen-Stevens para rendir el dialdehido **18** (R=4-piridilo, G=SEM)

Dada la poca solubilidad del compuesto **12** (R=4-piridilo, G=H) se decide abordar la conversión de los grupos éster en aldehído mediante la reacción de McFadyen-Stevens con el biperol protegido con los grupos SEM (Figura 2.18). Esta reacción consta de tres etapas. En primer lugar el diéster **12** (R=4-piridilo, G=SEM) se trata con hidracina durante 48 h en etanol a reflujo. Se obtiene la hidracida correspondiente por precipitación con un rendimiento del 93%. A continuación, la dihidracida se trata con cloruro de tosilo en piridina durante 25 min a temperatura ambiente. Este tratamiento proporciona **45** (R=4-piridilo, G=SEM) con un 89% de rendimiento. Finalmente, el dialdehido **18** (R=4-piridilo, G=SEM) se obtiene por hidrólisis básica de **45** (R=4-piridilo, G=SEM) de forma cuantitativa. La reacción consiste en calentar por irradiación con microondas durante 1 minuto en presencia de una disolución de carbonato sódico en etanol a 170 °C.

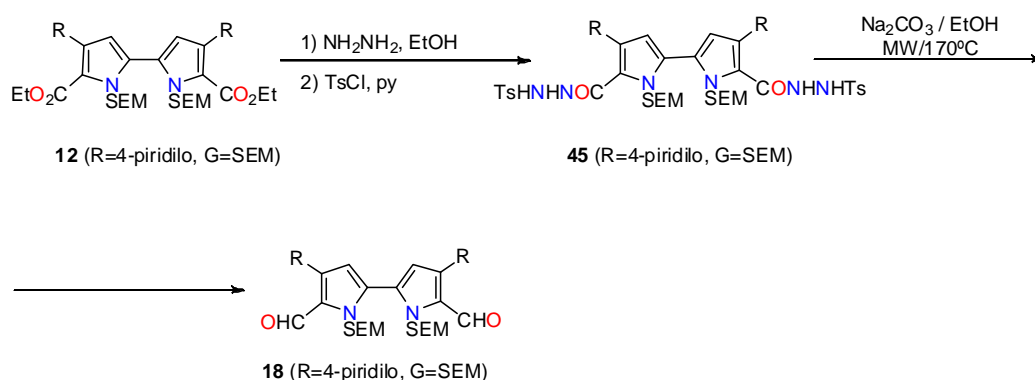


Figura 2.18: Preparación del dialdehido de **18** (R=4-piridilo, G=SEM)

Eliminación de los grupos SEM del biperol **12** (R=4-piridilo, G=SEM)

La obtención del dialdehido **18** (R=4-piridilo, G=SEM) presentó problemas en la eliminación de los grupos SEM<sup>17</sup>, similares a los encontrados por Rawal y Cava<sup>18</sup>, y no se consiguió por tratamiento con TBAF (1M en THF) a reflujo en 1,4-dioxano.

En la mayoría de artículos encontrados en que es necesaria la eliminación de grupos SEM se utiliza el TBAF<sup>18,16,19,20</sup>, KOH en EtOH o LiBF<sub>4</sub> en ACN<sup>21</sup>. También se

ha documentado el uso de  $\text{Me}_2\text{AlCl}$  en diisopropiletilamina<sup>22</sup>,  $\text{ZnBr}_2$ <sup>23</sup>,  $\text{MgBr}_2$ <sup>24</sup> y  $\text{BF}_3$ <sup>25</sup>. Por analogía estructural entre las moléculas implicadas y por la eficacia descrita, parece que la opción más adecuada es la descrita por Muchowski, que hace un tratamiento con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  y posteriormente añade una base, realizando la desprotección en dos etapas<sup>25</sup> (Figura 2.19).

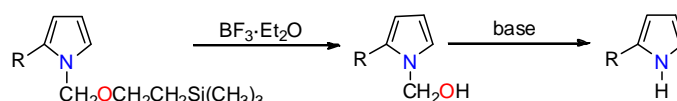


Figura 2.19: Desprotección de los nitrógenos pirrólicos

En la primera etapa el  $\text{BF}_3$  actúa como ácido de Lewis aceptando un par electrónico libre del oxígeno y formando un ión intermedio. La acción de una base débil como el  $\text{NaHCO}_3$  sobre uno de los dos protones en  $\alpha$  del silicio provoca una eliminación rindiendo el vinilsilano (compuesto volátil),  $\text{CO}_2$  y agua que, hidroliza, el intermedio formado al aminal (Figura 2.20).

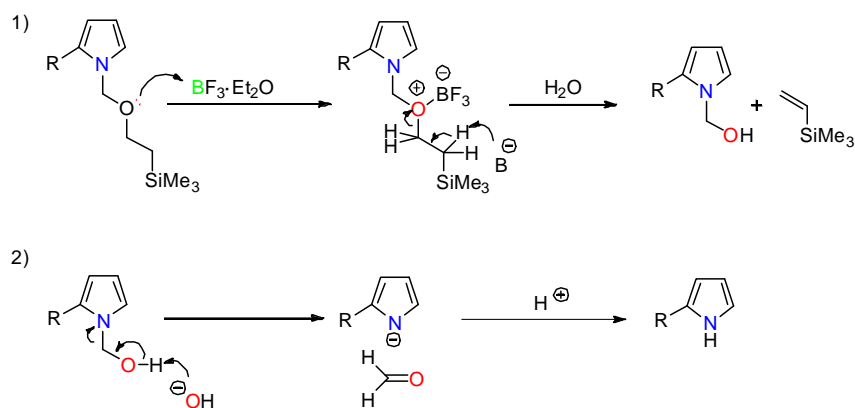


Figura 2.20: Propuesta mecanística de la desprotección

La segunda etapa consiste en ataque del hidróxido al protón del alcohol y la consiguiente reorganización electrónica que da como resultado formaldehído y el anión pirrólico que captura un protón para dar el pirrólico desprotegido correspondiente.



Así pues, el tratamiento de **18** (R=4-piridilo, G=SEM) con el ácido de Lewis  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  seguido de adición de Triton B en diclorometano rinde el correspondiente dialdehído desprotegido con un rendimiento cuantitativo (Figura 2.21).

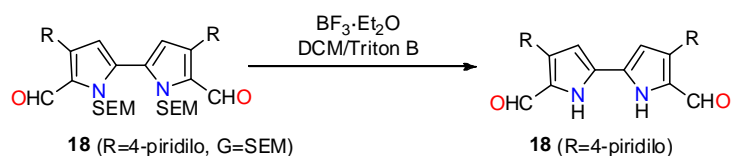


Figura 2.21: Reacción de desprotección de **18** (R=4-piridilo, G=SEM)

### Intento de síntesis del porfícono **2** (R=4-piridilo)

Una vez que se dispone del compuesto **18** (R=4-piridilo, G=SEM) se lleva a cabo la reacción de McMurry siguiendo el protocolo descrito por el grupo. Desgraciadamente no fue posible aislar ningún porfícono u oligómero del crudo de reacción (Figura 2.22). Este resultado resulta sorprendente puesto que la presencia de piridina no es incompatible con el reactivo de titanio de valencia baja. Incluso se recomienda su adición con el fin de controlar la acidez del reactivo. Por otro lado se encuentran en la literatura ejemplos en los que sustratos que contienen piridina participan de la reacción de McMurry<sup>26</sup>. El resultado se racionaliza en términos de la baja solubilidad de alguno de los intermedios de la transformación.

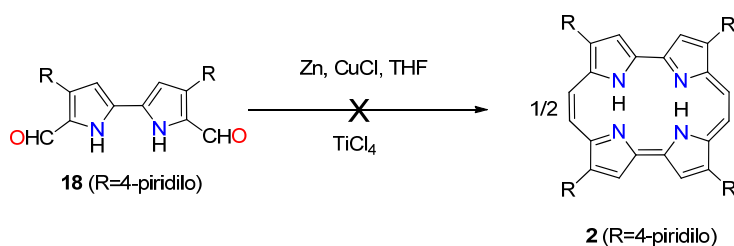


Figura 2.22: Intento de síntesis del porfícono **2** (R=4-piridilo)

### 2.3.3. Síntesis de 2,7,12,17-tetra(*p*-metoxifenil)porfírico.

Una vez demostrada la posibilidad de obtener los bipirroles **18** (R=Ph) y R=(4-piridilo) se procede a aplicar la misma secuencia de reacciones para la obtención del derivado **37** (R=*p*-MeOPh, G=SEM).

La reacción de desulfuración del tienodipirrol **37** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) se realiza en las mismas condiciones optimizadas para el grupo fenilo, es decir Ni Raney en EtOH para rendir el bipirrol deseado **12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) con un rendimiento del 94% (Figura 2.23).

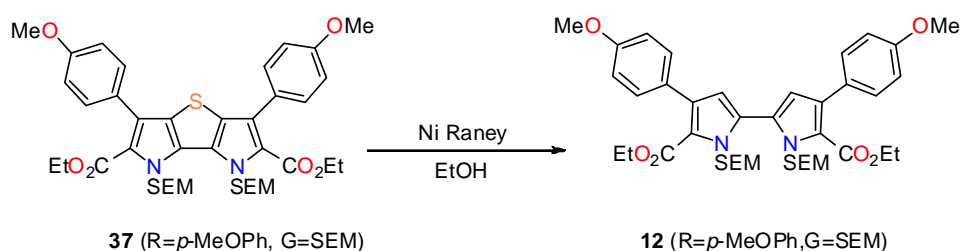


Figura 2.23: Reacción de desulfuración de **37** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)

La eliminación del grupo protector SEM de **12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) se ha logrado usando TBAF en THF o 1,4-dioxano como disolventes para rendir **12** (R=*p*-MeOPh, G=H) con un 91% de rendimiento (Figura 2.24) según el método descrito por Delgado<sup>19</sup>.

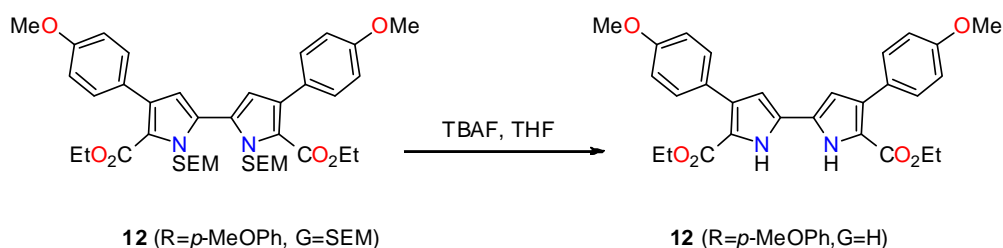


Figura 2.24: Reacción de desprotección de **12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)

Desgraciadamente, la transformación del diéster **12** (R=*p*-MeOPh, G=H) en el correspondiente dialdehído **18** (R= *p*-MeOPh) mediante la reacción de McFadyen-Steven proporciona crudos complejos de los que el dialdehído deseado se obtiene en muy bajo rendimiento (<10%). Por esta razón se plantea en este caso rescatar el protocolo ensayado por A. Gavaldá<sup>5</sup> consistente en la reducción de los grupos éster de **12** (R=*p*-MeOPh, G=H) a alcohol seguido de la posterior oxidación de los mismos a aldehídos.

En efecto, Gavaldá y col.<sup>5</sup> describe la imposibilidad de reducir directamente el diéster a dialdehído. Así, por ejemplo, mientras que con DIBAH y Vitride no se consigue la reducción, con el empleo de LiAlH<sub>4</sub>/Et<sub>2</sub>NH sólo se obtiene una mezcla compleja. Es por este motivo que se optó por reducir en primer lugar el diéster a dialcohol para después oxidarlos a dialdehído. Las diferentes pruebas con DIBAH, LiAlH<sub>4</sub>, LiBH<sub>4</sub> y NaBH<sub>4</sub> permitieron concluir que el mejor agente reductor para los biperroles es el LiAlH<sub>4</sub>. Hay que señalar que todos los ensayos realizados por Gavaldá fueron con el biperrol sin grupo protector **12** (G=H) y los resultados no fueron óptimos. Por esa razón se implementó la reacción de McFadyen-Stevens en la estrategia sintética. Más recientemente se han encontrado unas buenas condiciones para este paso reductivo en la metodología descrita por Ducho<sup>27</sup> manteniendo la protección de los nitrógenos pirrólicos con el grupo SEM durante todo el proceso de reducción y oxidación (Figura 2.25).

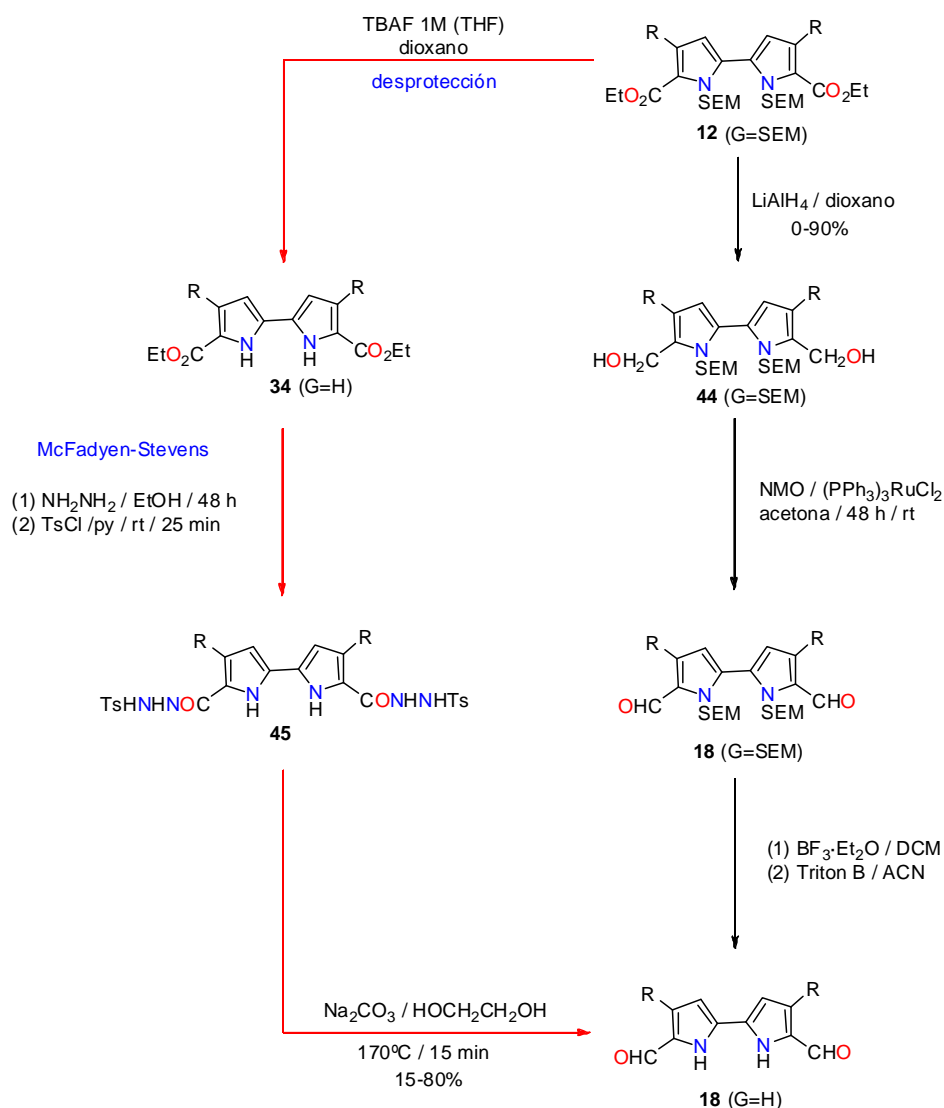
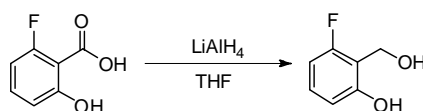


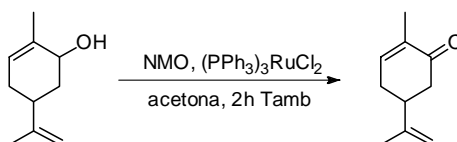
Figura 2.25: Métodos de transformación del diéster **12** en el dialdehído **18**

Así, para reducir el diéster **12** ( $\text{R}=\textit{p}$ -MeOPh,  $\text{G}=\text{SEM}$ ) al dialcohol **44** ( $\text{R}=\textit{p}$ -MeOPh,  $\text{G}=\text{SEM}$ ) se hace reaccionar con  $\text{LiAlH}_4$  tal y como describe Ducho<sup>27</sup> (Figura 2.26), pero en una disolución de dioxano en vez de THF, durante 2 h a reflujo para conseguir la conversión completa. Es importante realizar un *work up* básico y no ácido como está descrito, ya que si se hace con HCl se degrada el producto. El seguimiento de la reacción se hace mediante CCF (hexano 2:1 AcOEt) y se obtiene el dialcohol **44** ( $\text{R}=\textit{p}$ -MeOPh,  $\text{G}=\text{SEM}$ ) con rendimiento cuantitativo.

Figura 2.26: Reducción del ácido 6-fluorosalicílico<sup>20</sup>

Por lo que respecta a la oxidación posterior del dialcohol **44** (G=SEM) al dialdehído **18** (G=SEM), el agente más común para oxidar alcoholes bencílicos a aldehídos es el  $\text{MnO}_2$ . De hecho, en la metodología descrita por Gavaldá, se utiliza este oxidante en la vía alternativa a la McFadyen-Stevens<sup>5</sup>. Ahora bien, las diversas pruebas realizadas para la oxidación del dialcohol **44** (G=SEM) con  $\text{MnO}_2$  ofrecían rendimientos inferiores al 30%.

En la literatura se han encontrado diversas oxidaciones catalíticas de alcoholes a cetonas o aldehídos. Destacan la oxidación con bis(trimetilsilil)cromato (BTSC) catalizada con ácido periódico<sup>28</sup>, con dicromato de piridina y catalizadores de rutenio<sup>29</sup>, con bromato de sodio y catalizadores de cerio o rutenio<sup>30</sup> y con *N*-óxidos de amina y catalizadores de rutenio<sup>31</sup>. Se decidió ensayar un oxidante tipo amino-*N*-óxido de amina, ya que estaban descritos con buenos rendimientos para la oxidación de alcoholes similares al dialcohol **44** (G=SEM).

Figura. 2.27: Oxidación del  $\alpha$ -carveol<sup>24</sup>

Los estudios realizados por Sharpless revelan que los amino-*N*-óxidos oxidan los alcoholes a aldehídos y cetonas a temperatura ambiente mediante catálisis de rutenio<sup>31</sup> (Figura 2.27). Con alcoholes primarios los aldehídos se forman con buenos rendimientos, especialmente en condiciones de mayor dilución. Las tres variables a considerar son el catalizador, el *N*-óxido y el disolvente. De largo el *N*-óxido de *N*-metilmorfolina (NMO) es la que aporta mejores resultados, en comparación con otros *N*-óxidos (*N*-óxidos de *N,N*-dimetilanilina, trimetilamina, *N,N*-dimetil-*N*-dodecilamina o *N*-óxido de piridina). Con respecto al disolvente está descrito que funciona con acetona, DMF y HMPT. Teniendo en cuenta el precio y la baja solubilidad de los

catalizadores de rutenio en DMF, sumados a los problemas de eliminación que tiene este disolvente, se recomienda el uso de acetona como disolvente y  $(\text{PPh}_3)_3\text{RuCl}_2$  o  $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$  como catalizador.

El mecanismo de estas oxidaciones probablemente incluye la formación de un alcóxido de rutenio que sufre una eliminación para producir el compuesto carbonílico y un hidruro de rutenio. El hidruro de rutenio (o su equivalente) se oxida con el *N*-óxido de la amina y de esta manera se cierra el ciclo catalítico (ver Figura 2.28).

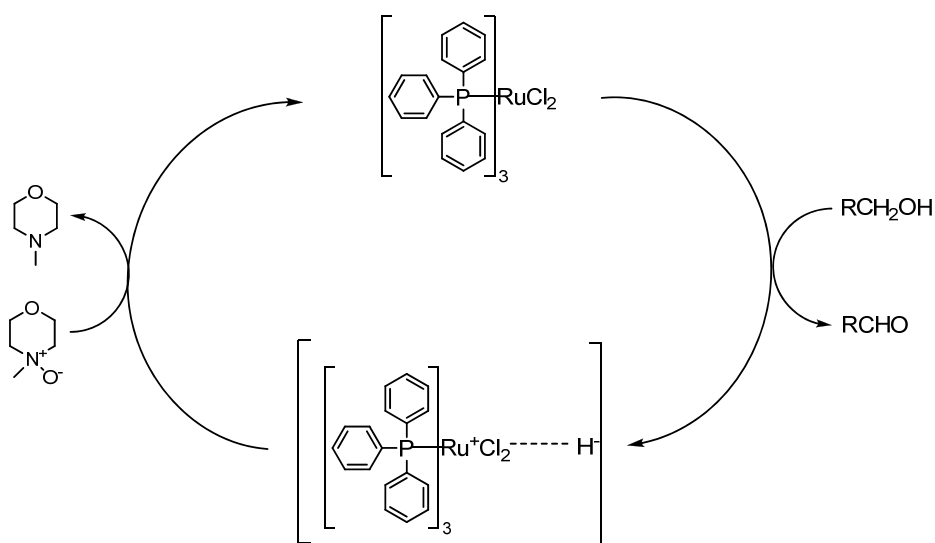


Figura 2.28: Propuesta del ciclo catalítico de la oxidación de alcoholes mediada por  $(\text{PPh}_3)_3\text{RuCl}_2$

Se ha seguido la metodología descrita por Sharpless para la oxidación del  $\alpha$ -carveol<sup>24</sup> (alcohol secundario), la cual se ha modificado para ajustar las condiciones de reacción al dialcohol **44** ( $\text{R}=\textit{p}$ -MeOPh,  $\text{G}=\text{SEM}$ ) (Figura 2.29).

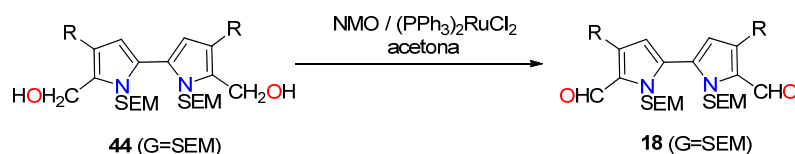


Figura 2.29: Oxidación del dialcohol **44**

Así, el tratamiento de **44** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) con NMO en presencia de  $(\text{PPh}_3)_3\text{RuCl}_2$  en acetona a temperatura ambiente durante 24 h seguido de un *work up* neutro (para evitar que se degrade el producto) y posterior separación mediante *Dry-Column Flash Chromatography*<sup>32</sup> rinde el dialdehído **18** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) con un rendimiento cuantitativo.

Finalmente, la desprotección de los grupos SEM se consigue mediante el tratamiento de **18** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en DCM según la metodología descrita por Muchowski<sup>25</sup> obteniéndose el dialcohol correspondiente. El punto más crítico de este proceso es la segunda etapa ya que es en este punto en que se hace patente la necesidad de utilizar una base con una basicidad acorde con los requisitos mencionados anteriormente. En este sentido, la opción más atractiva es el uso de sales de amonio cuaternario<sup>25</sup>. Se han realizado diversas pruebas con TMAH (hidróxido de tetrametilamonio) y Triton B, siendo esta última la base que mejores rendimientos ofrece. Finalmente, se obtuvo el dialdehído desprotegido **18** (R=*p*-MeOPh, G=H) con un 50% de rendimiento tras numerosas pruebas para ajustar al máximo las condiciones óptimas de reacción en cuanto a equivalentes de base, cantidad de disolvente, tiempo de reflujo y posterior recristalización (Figura 2.30).

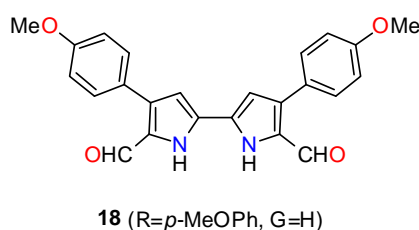


Figura 2.30: 4,4'-di-*p*-metoxifenil-5,5'-diformal-2,2'-bipirrol **18** (R=*p*-MeOPh, G=H)

Una vez obtenido el dialdehído **18** (R=*p*-MeOPh, G=H) este se transformó en el porfírico correspondiente por reacción de McMurry y se obtuvo el producto deseado con un rendimiento del 10% (Figura 2.31).

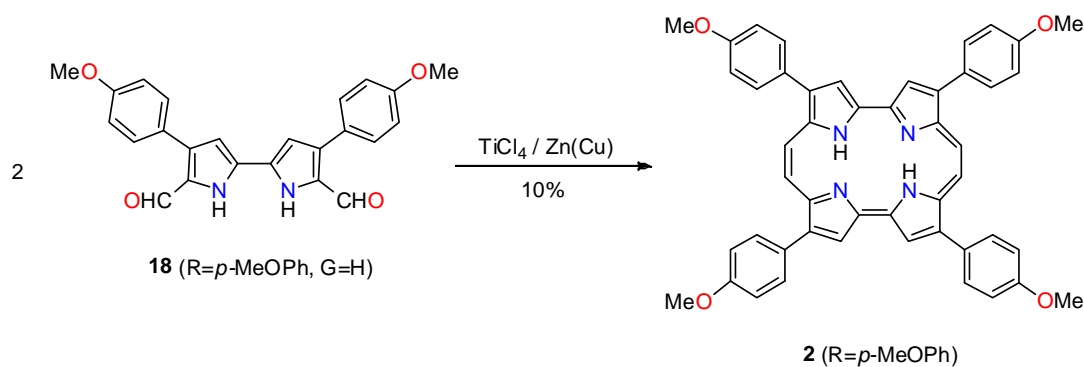


Figura 2.31: Reacción de McMurry aplicada para formar el porfírico 2 (R= *p*-MeOPhPo).

Desde el punto de vista fotoquímico, el nuevo porfírico obtenido es capaz de actuar como un moderado fotosensibilizador de oxígeno singlete, produciendo esta especie citotóxica con un rendimiento del 10 % ( $\Phi_{\Delta}=10\%$ ). Desgraciadamente, el compuesto no muestra el desplazamiento batocrómico predicho. Así pues, el compuesto no ofrece ninguna ventaja desde el punto de vista fotoquímico respecto al TPPo 2 (R=Ph). No obstante, los grupos MeO son susceptibles de ser convertidos en el fenol correspondiente y estos pueden actuar de nexo del anillo con cadenas hidrocarbonadas que pueden modular la lipofilia del compuesto. Este control de la anfipicidad del fotosensibilizador es de capital importancia para maximizar la entrada del fármaco en la célula y su posterior acumulación celular y localización subcelular.

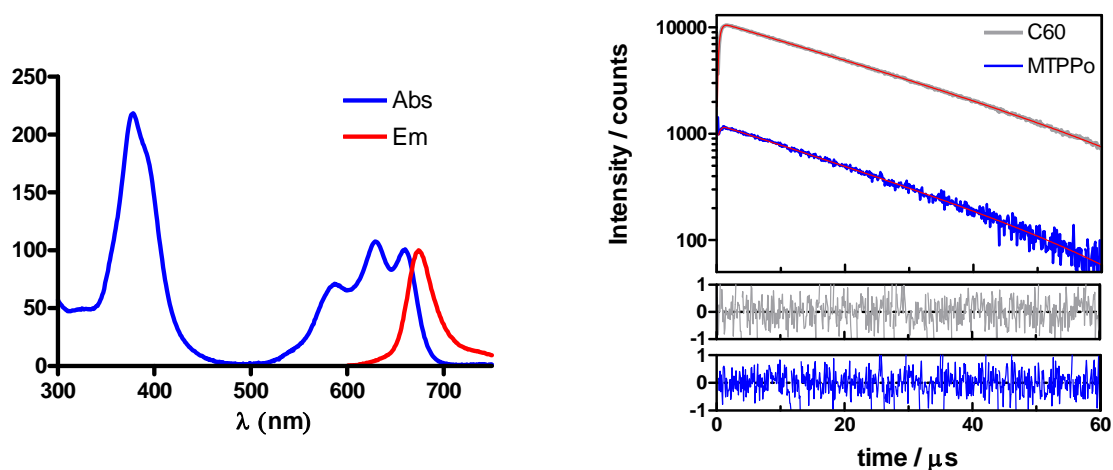


Figura 2.32: espectros de absorción UV-Vis, fluorescencia y oxígeno singlete del MTPPo



### 2.3.4. Síntesis de 2,7,12,17-tetra(*m*-hidroxifenil)porfíceno.

Como ya se ha comentado, la síntesis de porfícenos está condicionada por la naturaleza de los sustituyentes en las posiciones periféricas (2, 7, 12, y 17). Por este motivo se ha decidido escoger como modelo la síntesis de un porfíceno que contenga un sustituyente similar al *m*-hidroxi y *m*-isopropoxi (Figura 2.33). Por similitud estructural con el *m*-isopropoxifenilporfíceno se ha escogido seguir la ruta sintética desarrollada para el 2,7,12,17-tetra(*p*-metoxifenil)porfíceno (**2** (R=*p*-MeOPh)) y posteriormente convertir el éter en alcohol ya que el grupo isopropóxido es un buen grupo protector de alcoholes<sup>33</sup>.

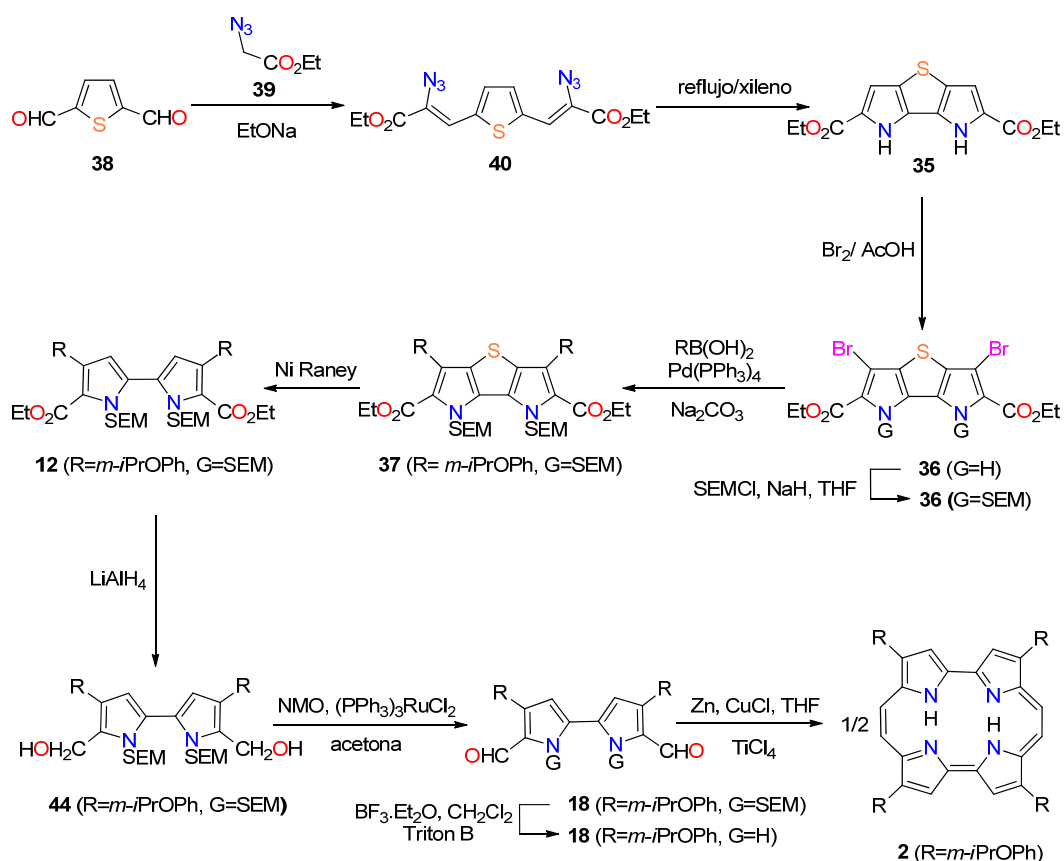


Figura 2.33: síntesis planteada para el porfíceno **2** (R=*m*-*i*PrOPh).

En este caso (Figura 2.33) se mantiene la protección de los nitrógenos pirrólicos hasta el penúltimo paso. Se observa también que posteriormente a la reacción de

Suzuki y la desulfuración se opta por continuar por la vía Gavaldá<sup>16</sup> alternativa a la reacción de McFadyen-Stevens. Es decir, se reducen los grupos éster a alcohol para después oxidarlos a aldehídos, desproteger los nitrógenos y hacer el acoplamiento de McMurry. El motivo de la elección de esta vía es maximizar el rendimiento global de la reacción.

Tras la reacción de Suzuki, que transcurre en este caso con un 60% de rendimiento, se procede a la desulfuración del tienodipirrol **37** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM), siguiendo la metodología optimizada, rinde el bipirrol **12** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM) con un 86% de rendimiento promedio.

#### Síntesis del 5,5'-dihidroximetil-4,4'-di(*m*-isopropoxifenil)-1,1'-bis(trimetilsililetoximetil)-2,2'-bipirrol por reducción con LiAlH<sub>4</sub>

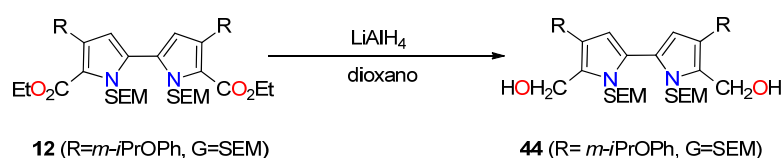


Figura 2.34: Reducción del diéster **12** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)

Se reduce el diéster del *m*-isopropoxifenilbipirrol **12** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM) a alcohol siguiendo la metodología desarrollada para el *p*-metoxifenilbipirrol **12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM). El seguimiento de la reacción se hace mediante CCF (hexano 2:1 AcOEt) obteniéndose unos rendimientos cuantitativos (Figura 2.34).

#### Síntesis del 5,5'-diformal-4,4'-di(*m*-isopropoxifenil)-1,1'-bis(trimetilsililetoximetil)-2,2'-bipirrol

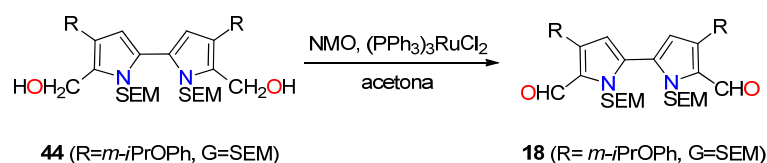


Figura 2.35: Oxidación del dialcohol **44** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)

De forma análoga a lo que ocurre con el alcohol **44** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) la reacción de oxidación transcurre sin ninguna dificultad y con rendimientos cuantitativos para rendir el dialdehído protegido **18** (R=*m*-*i*PrOPh, G=SEM) (Figura 2.35).

#### Síntesis del 5,5'-diformal-4,4'-di(*m*-isopropoxifenil)-2,2'-bipirrol

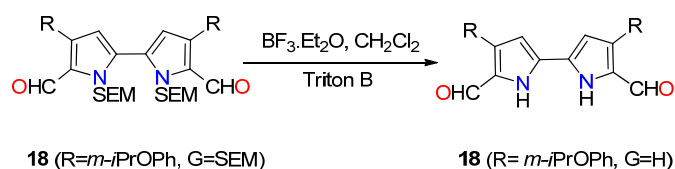


Figura 2.36: Desprotección del dialdehído **18** (R=*m*-*i*PrOPh, G=SEM).

La desprotección de los nitrógenos pirrólicos se consigue mediante el mismo tratamiento utilizado en el caso del dialdehído sustituido con el grupo *p*-metoxifenil, es decir BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O seguido de tratamiento básico. Finalmente se obtiene el dialdehído desprotegido **18** (R=*m*-*i*PrOPh, G=H) con un 50% de rendimiento. La reacción de desprotección se sigue cuidadosamente por <sup>1</sup>H-RMN con la finalidad de optimizar las condiciones de reacción (Figura 2.36).

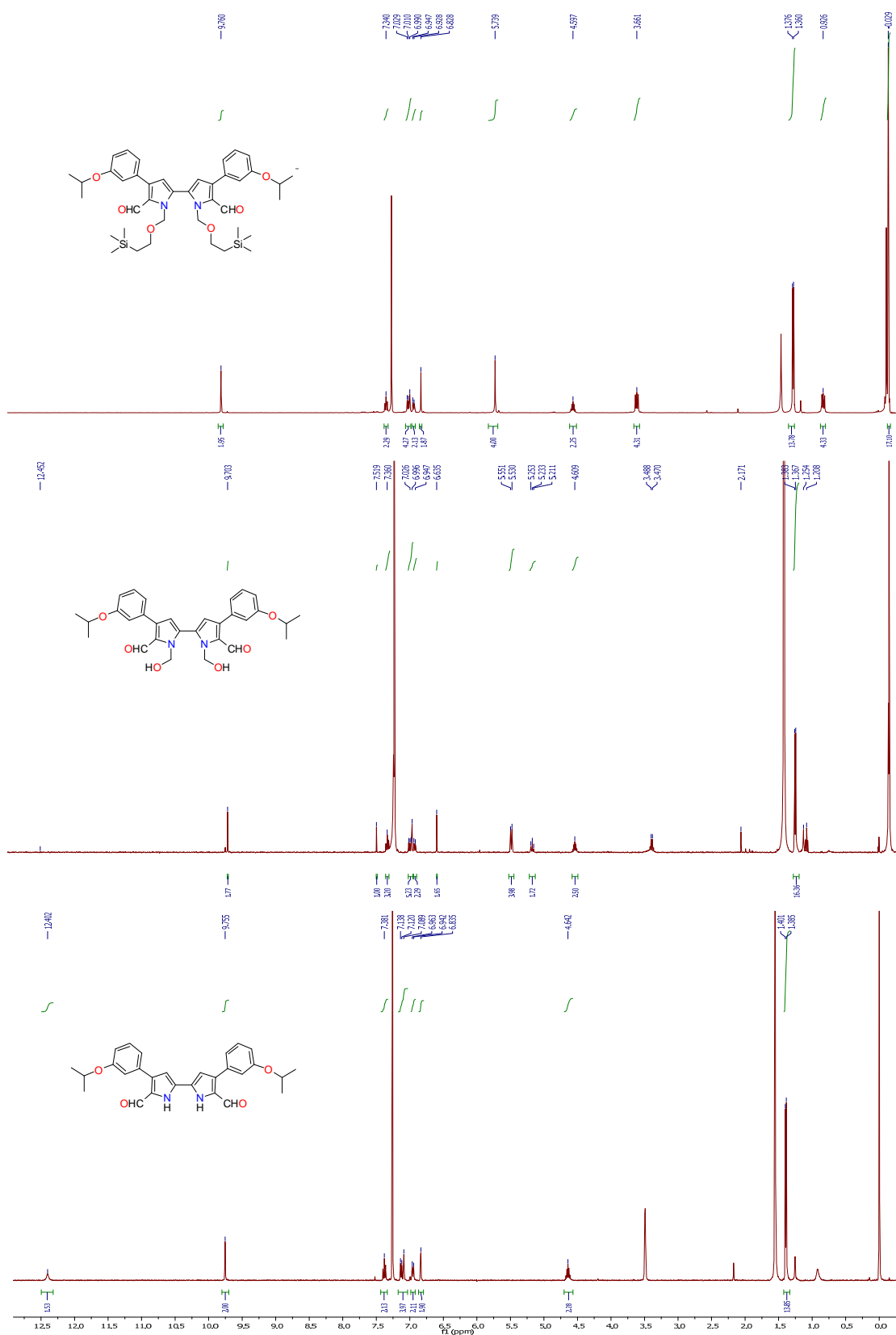
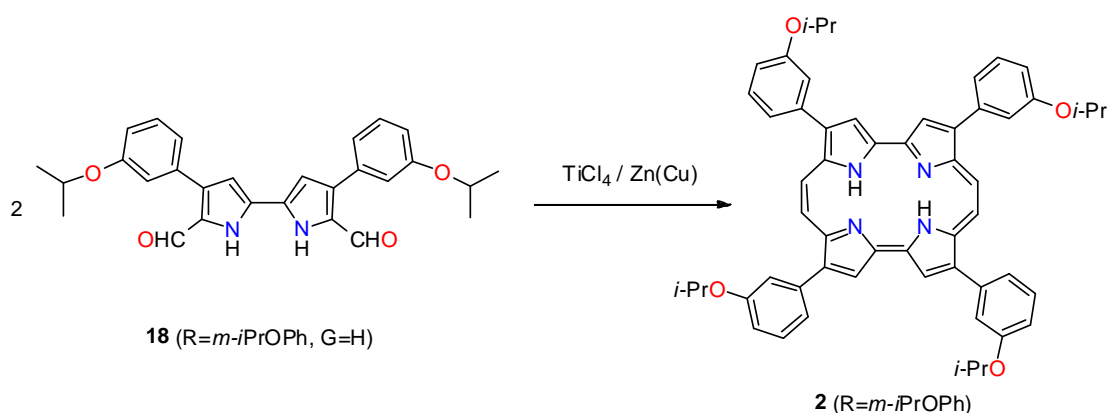


Figura 2.36: Espectros de <sup>1</sup>H-RMN del dialdehído protegido **18** (R=*m*-*i*PrOPh, G=SEM), el intermedio y el dialdehído desprotegido **18** (R=*m*-*i*PrOPh, G=H)

Síntesis del 2,7,12,17-tetra(*m*-isopropoxifenil)porfícenoFigura 2.37: Reacción de McMurry para preparar el porfíceno **2** (R=*m*-*i*PrOPh)

Para obtener el 2,7,12,17-tetra(*m*-isopropoxifenil)porfíceno **2** (R=*m*-*i*PrOPh) se sigue la metodología descrita por N. Bou<sup>34</sup>, cabe destacar la importancia del secado del THF y del material y a las condiciones de atmósfera inerte, ya que la reacción es muy sensible a la humedad (Figura 2.37). Una vez completada la reacción la mezcla se trata con una disolución concentrada de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se filtra sobre Celite<sup>®</sup> para separar el par Zn/Cu y evitar la posible reducción de los dobles enlaces del porfíceno. A continuación el crudo se purifica mediante cromatografía de gel de sílice con una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: Hexano 3:1 como eluyente. Se recogen tres fracciones diferentes: la primera de un azul poco intenso, la segunda, con bastante diferencia de relación R<sub>f</sub>, de un azul más intenso, y finalmente se recoge el crudo restante eluyendo la columna con MeOH. Se plantea la hipótesis que parte del porfíceno tetraprotegido **2** (R=*m*-*i*PrOPh) se haya desprotegido por acción de especies de titanio capaces de actuar como ácidos de Lewis. Estas especies de titanio formadas durante la reacción de McMurry podrían actuar como ácido de Lewis atacando el grupo isopropóxido para dejarlo en la forma desprotegida OH. Si este fuese el caso, el orden de elución esperable teniendo en cuenta la polaridad de los productos sería en primer lugar el porfíceno protegido y después el desprotegido. Para cada una de las fracciones se realizan otras purificaciones por capa fina preparativa. Se observa la presencia de múltiples subproductos formados (hay que recordar que los rendimientos máximos descritos en la reacción de McMurry son entre el 20 y el 30%), algunos de ellos con

fluorescencia roja muy intensa (que incluso enmascaran la fluorescencia de los porfícenos).

Se consiguen identificar las tres fracciones separadas mediante  $^1\text{H-RMN}$ , g-DQCOSY y HRMS, siendo los porfícenos obtenidos los mostrados en la Figura 2.38.

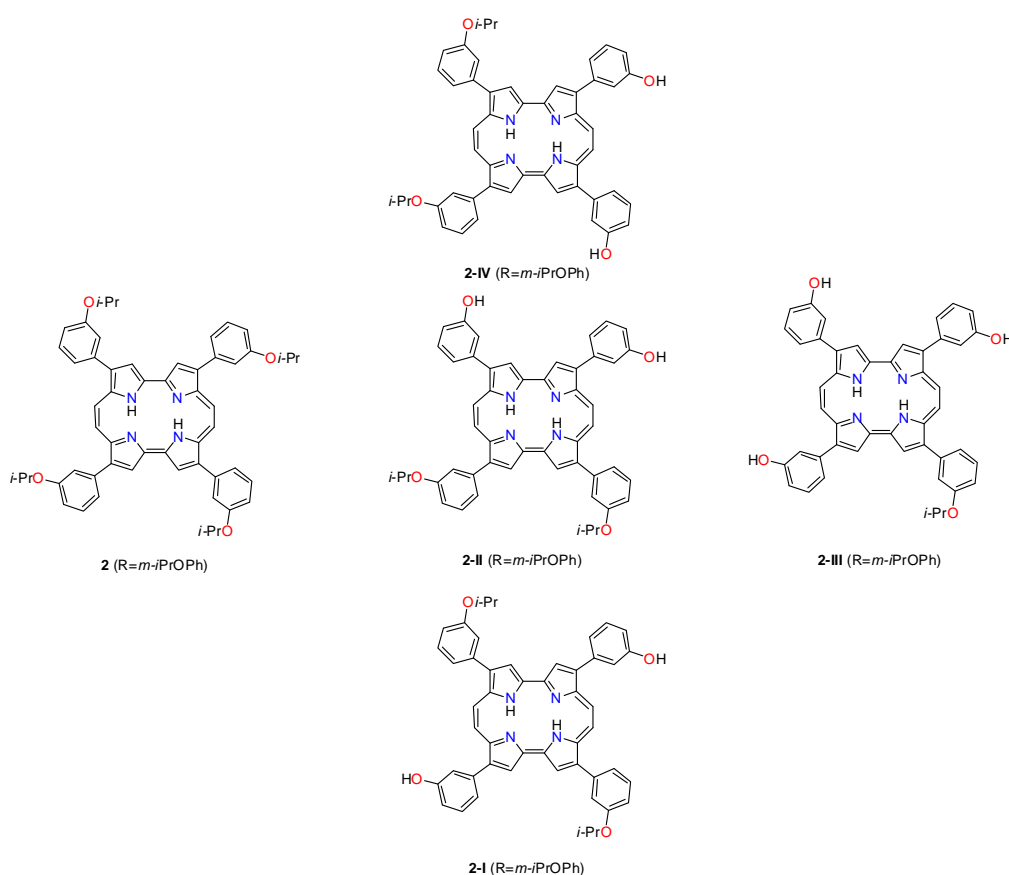


Figura 2.38: Porfícenos obtenidos en la reacción de McMurry a partir del dialdehído **18** (R=*m*-*i*PrOPh, G=H)

En el espectro de protón del porfícenos **2** (R=*m*-*i*PrOPh) se observa la presencia de dos singuletes a 9,98 ppm y 9,69 ppm (Figura 2.39) correspondientes a los cuatro protones de los pirroles y a los cuatro protones de las olefinas formadas durante el acoplamiento de McMurry.

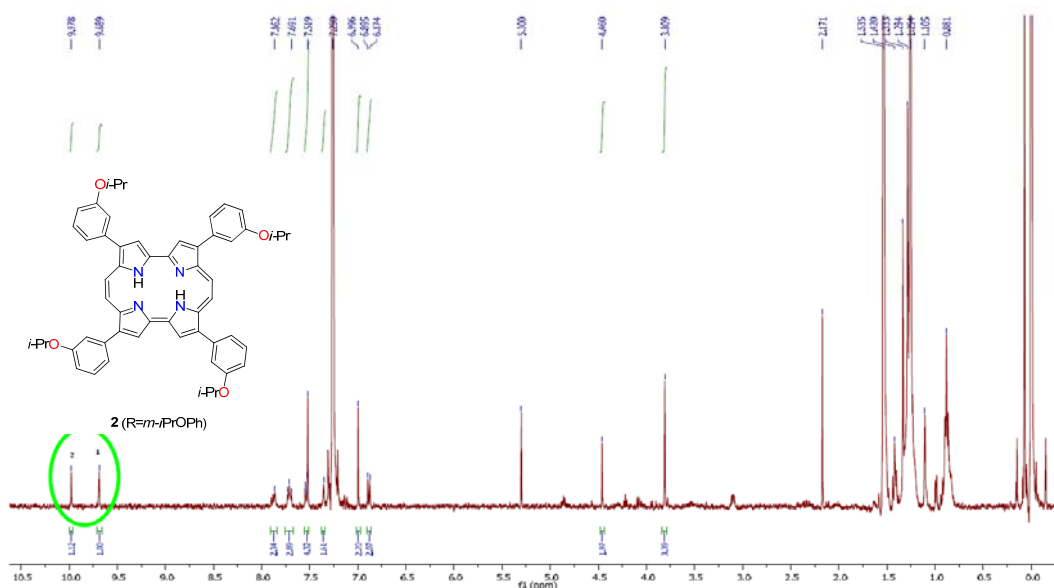


Figura 2.39: Espectro de <sup>1</sup>H-RMN del porfíreno **2** (R=*m*-iPrO)

La identificación del grupo isopropóxido es complicada debido a las impurezas presentes entre 1 y 1,5 ppm (el doblete aparece alrededor de 1,4 ppm), así que se decide realizar un espectro gDQCOSY (ver Figura 2.40) para verificar la correlación entre los protones de los grupo metilo y los de los metilenos. Se observa la correlación entre las señales a 1,29 y 4,09 ppm.

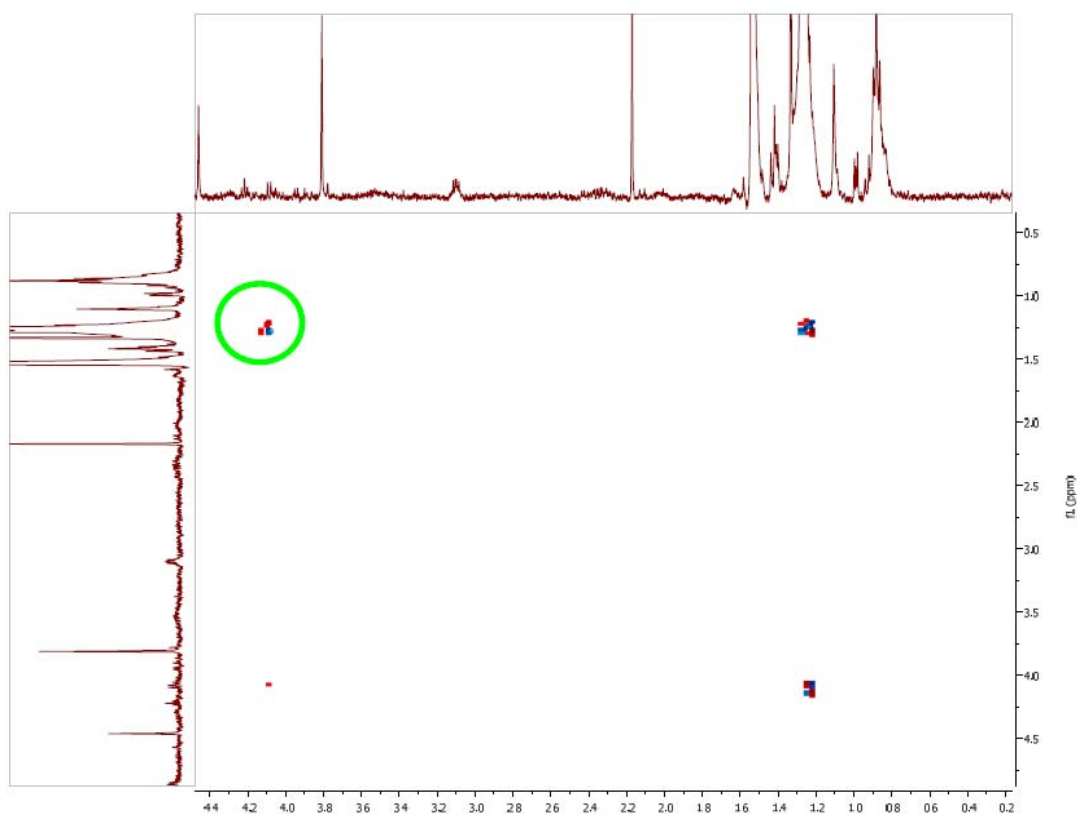


Figura 2.40: Espectro de gDQCOSY del porfírico **2** (R=*m*-*i*PrOPh)

El resultado del HRMS muestra una masa molecular de  $846,4154 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  frente a los  $846,4145 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  calculados. Por tanto, se confirma que el primer porfírico eluido es el porfírico **2** (R= *m*-*i*PrOPh).

La mezcla de porfíricos **2-I** (R=*m*-*i*PrOPh), **2-II** (R=*m*-*i*PrOPh) y **2-IV** (R=*m*-*i*PrOPh) también se ha analizado por  $^1\text{H}$ -RMN y por gDQCOSY. Así, en la zona de señales aromáticas en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (Figura 2.41) se observan cuatro singuletes a 9,96, 9,94, 9,68 y 9,65 ppm y dos dobletes a 9,83 y 9,53 ppm. En el espectro de gDQCOSY se observa la correlación entre los dos dobletes (Figura 2.42); estas señales corresponden a los protones olefínicos de los porfíricos **2-I** (R=*m*-*i*PrOPh) y **2-II** (R=*m*-*i*PrOPh). También se confirma la presencia del grupo isopropoxido (correlación entre las señales a 4,83 y 1,54 ppm). Es difícil hacer una buena asignación de las demás señales observadas. Pero lo que parece más probable es que el singulete a 9,96 ppm corresponda a los protones olefínicos de **2-IV** (R=*m*-*i*PrOPh), el singulete a 9,94 ppm a los protones pirrólicos de **2-II** (R=*m*-*i*PrOPh) (en



este caso la integral no sería correcta) y los singuletes a 9,68 y 9,65 ppm a los protones pirrólicos de **2-IV** (R=*m*-*i*PrOPh) y **2-I** (R=*m*-*i*PrOPh).

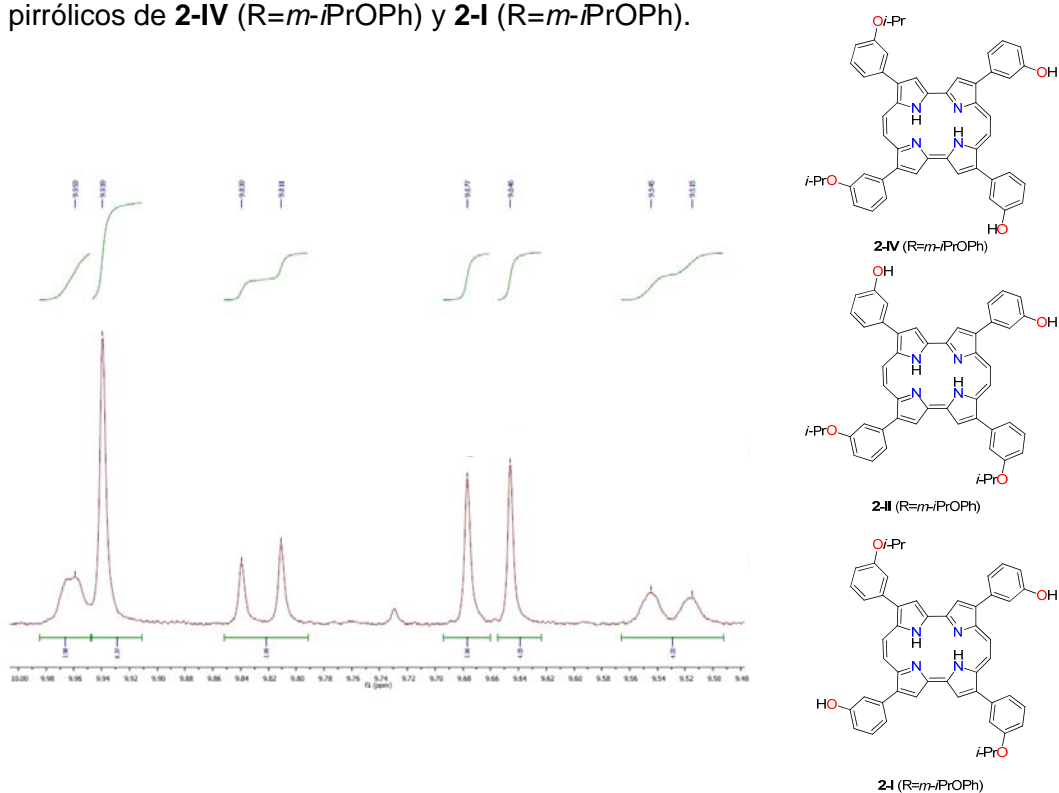


Figura 2.41: Zona de aromáticos del espectro de <sup>1</sup>H-RMN de la mezcla de porfíricos **2-I** (R=*m*-*i*PrOPh) **2-II** (R=*m*-*i*PrOPh) **2-IV** (R=*m*-*i*PrOPh).

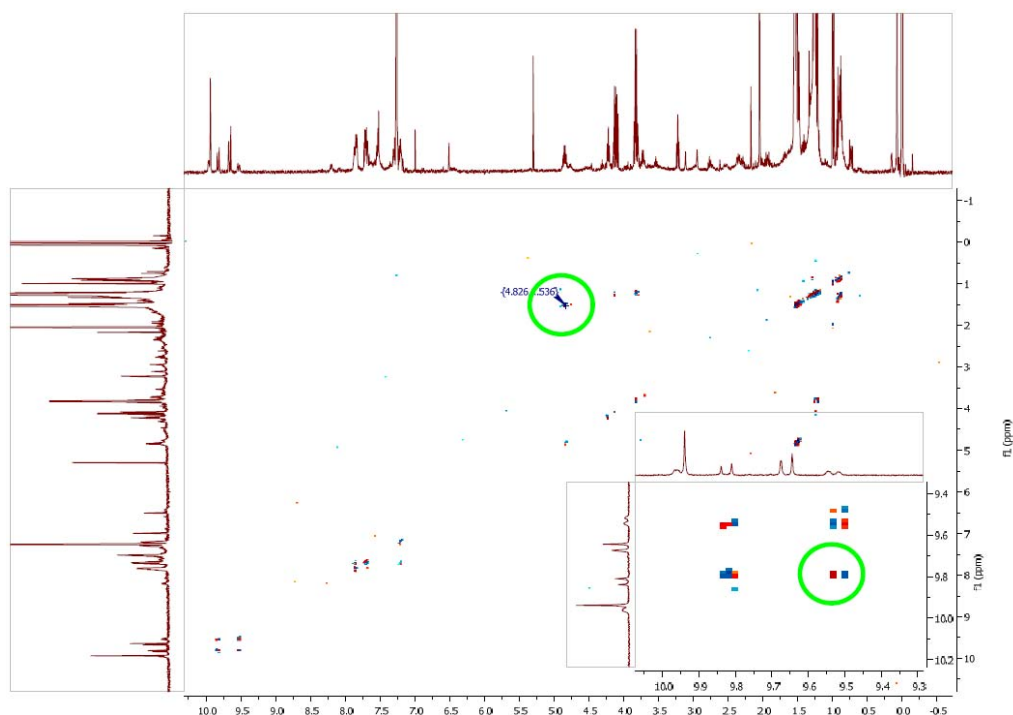


Figura 2.42: Espectro de gDQCOSY de la mezcla de porfíricos **2-I** (R=*m-i*PrOPh) **2-II** (R=*m-i*PrOPh) **2-IV** (R=*m-i*PrOPh).

Finalmente, la tercera fracción corresponde al porfírico **2-III** (R=*m-i*PrOPh). En el espectro de <sup>1</sup>H-RMN se observa un singulete de integral 3 a 9,90 ppm y un singulete de integral 1 a 9,36 ppm correspondiente a los protones pirrólicos y por otro lado un singulete de integral 2 a 9,95 ppm y dos dobletes de integral 1 a 9,78 y 9,50 ppm, señales correspondientes a los protones olefínicos (Figura 2.43).

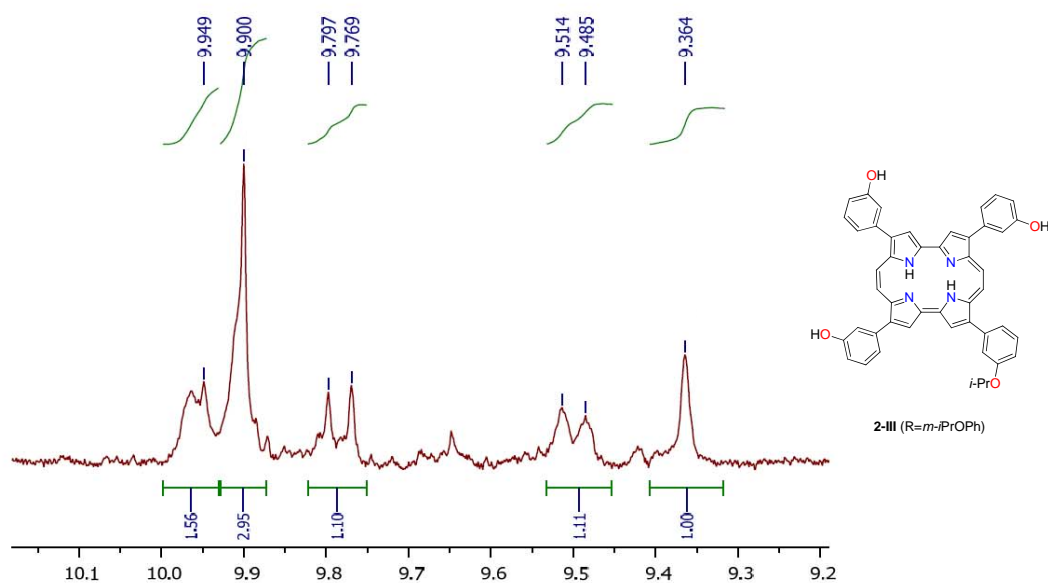


Figura 2.43: Espectro de  $^1\text{H-NMR}$  y estructura del porfírico **2-III** ( $R=m\text{-}i\text{PrPh}$ )

En el espectro gDQCOSY se observa de nuevo la correlación entre los dos dobletes y también la presencia del grupo isopropóxido (Figura 2.44).

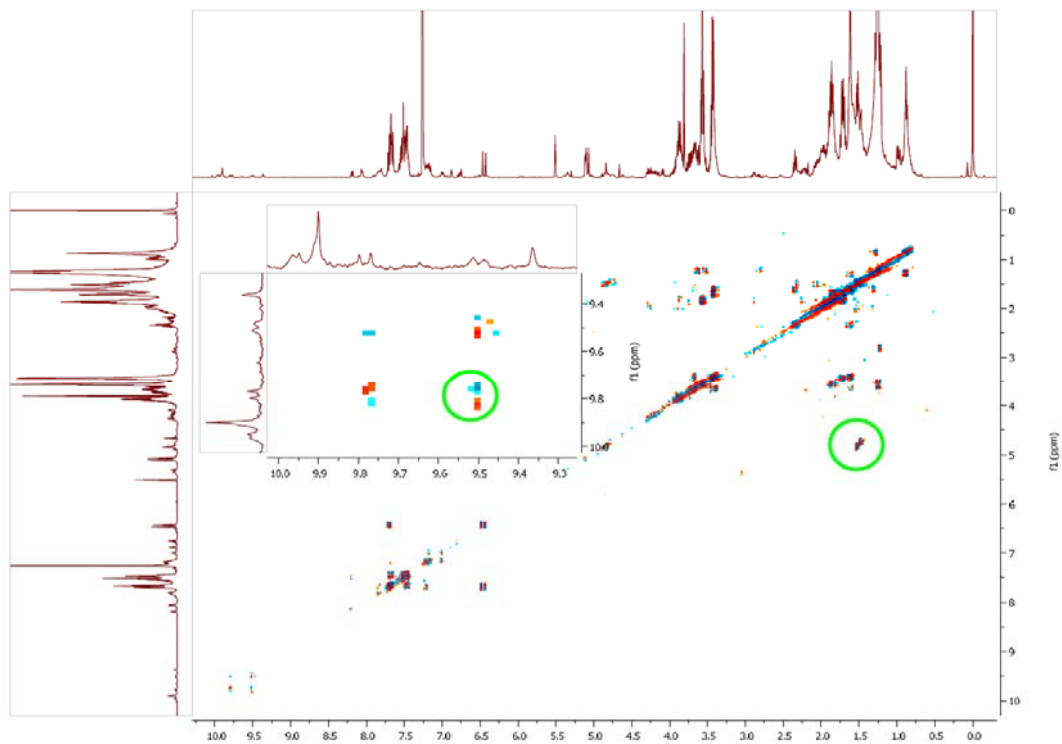


Figura 2.44: Espectro de gDQCOSY del porfírico **2-III** ( $R=m\text{-}i\text{PrPh}$ ).

Se corrobora la hipótesis planteada anteriormente, de tal manera que el porfícono eluído en primer lugar es el tetraprotegido **2** (R=*m*-*i*PrOPh), después se obtiene la mezcla de isómeros semidesprotegidos **2-I** (R=*m*-*i*PrOPh), **2-II** (R=*m*-*i*PrOPh) y **2-IV** (R=*m*-*i*PrOPh). Finalmente se eluye el porfícono **2-III** (R=*m*-*i*PrOPh), que tiene 3 fenoles desprotegidos y uno protegido. No se ha observado la presencia del porfícono tetradesprotegido **2** (R=*m*-HOPh).

#### Síntesis de 2,7,12,17-tetrakis(*m*-hidroxifenil)porfícono

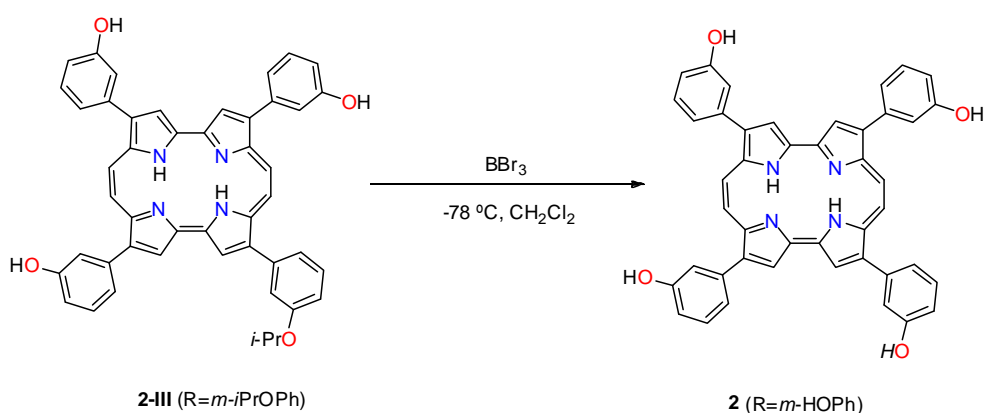


Figura 2.45: Desprotección del fenol del porfícono **2-III** (R=*m*-*i*PrOPh)

En este apartado se describe el último paso de reacción para obtener el *m*-THPPo (Figura 2.45). El estudio bibliográfico de las diferentes alternativas para realizar la desprotección de los fenoles revela que los agentes idóneos para este tipo de reacciones son los ácidos de Lewis. Los más utilizados son  $\text{AlCl}_3$ <sup>35</sup>,  $\text{BCl}_3$ <sup>36,37</sup> y  $\text{BBr}_3$ <sup>36,38</sup> siendo estos últimos los que suelen ofrecer los mejores rendimientos. También se ha documentado el uso de HBr en HAcO a reflujo<sup>39</sup>, pero se desestima esta opción ya que las condiciones no son tan suaves (a pesar de que en principio el medio ácido no debería afectar a los porfícenos).

En primer lugar, a modo de ensayo, se ha probado el  $\text{BCl}_3$  como ácido de Lewis empleando la metodología descrita por Fürstner<sup>36</sup>, partiendo de la mezcla de porfícenos **2-I** (R=*m*-*i*PrOPh), **2-II** (R=*m*-*i*PrOPh) y **2-IV** (R=*m*-*i*PrOPh) (que también ha de contener el porfícono deseado **2** (R=*m*-HOPh)). A pesar de que no se haya podido caracterizar el producto debido a la baja cantidad obtenida, sí que se observa por TLC

la desaparición del producto de partida y la aparición de una mancha azul que presenta fluorescencia roja bajo luz UV y que se retiene más que el producto inicial (como es de esperar en el porfírico **2** (R=*m*-HOPh), más polar que los anteriores).

Posteriormente se ha partido del porfírico **2-III** (R=*m*-*i*PrOPh) y, siguiendo la metodología descrita per Zhu<sup>38</sup> se ha obtenido el porfírico **2** (R=*m*-HOPh) mediante la adición de BBr<sub>3</sub> bajo agitación a -78 °C y atmósfera de Ar en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. En el espectro de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 2.46) se observa la simplificación de la zona de aromáticos, donde solo se observan dos singuletes a 9,85 y 9,42 ppm correspondientes a los 4 protones pirrólicos y a los 4 protones olefínicos de las posiciones meso.

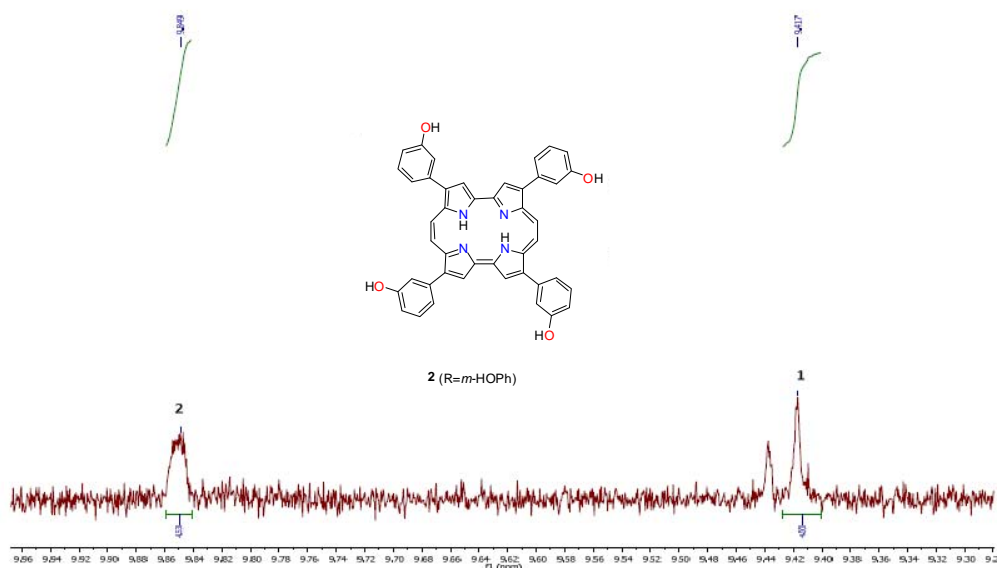


Figura 2.46: Ampliación del espectro de <sup>1</sup>H-RMN del porfírico **2** (R=*m*-HOPh)

De los cuatro grupos de porfíricos se ha realizado una caracterización fotofísica preliminar, registrando los espectros de UV-vis (Figura 2.47).

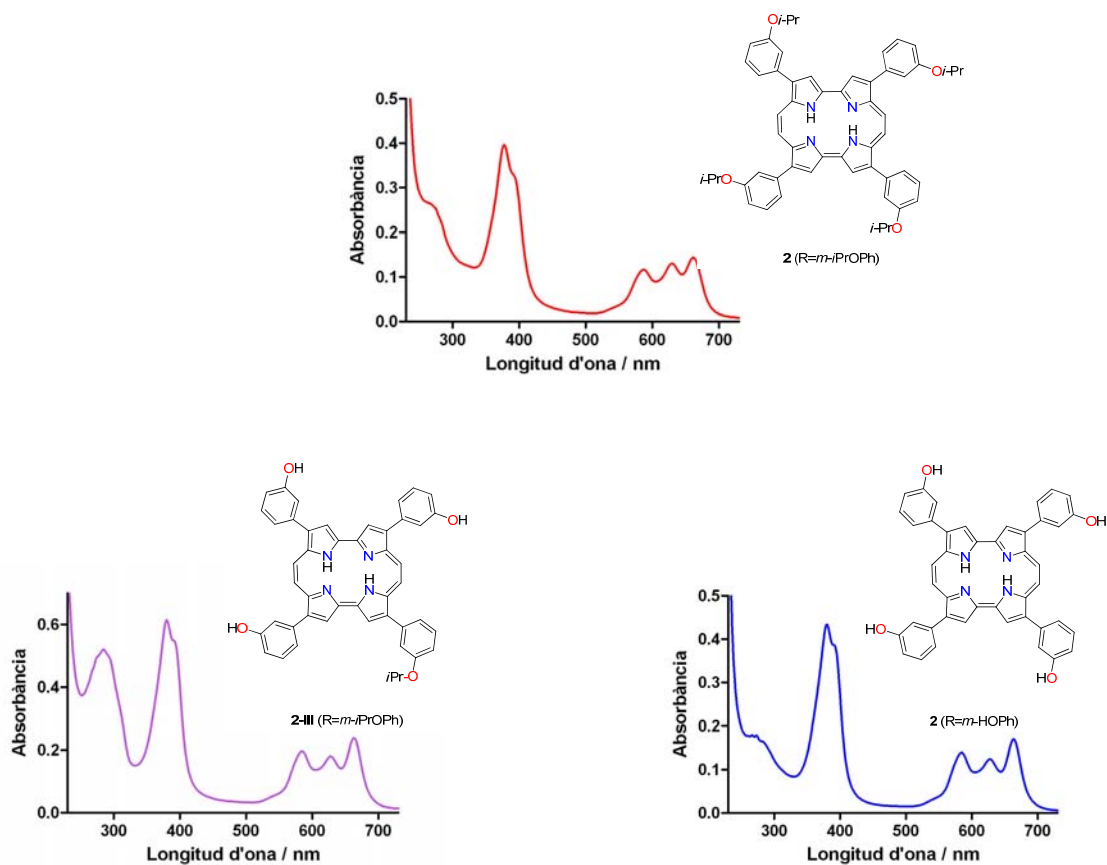
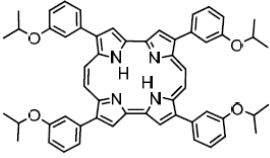
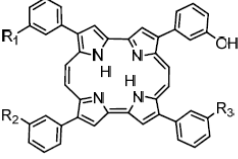
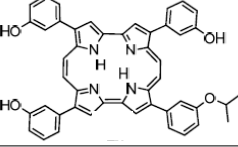
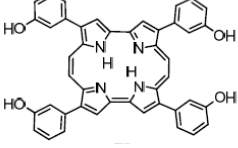
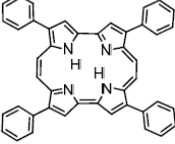


Figura 2.47: Espectros de absorción UV-vis de los porfíricos obtenidos

Los resultados muestran la estructura típica de los espectros de absorción de los porfíricos, con la banda de Soret intensa cerca de 400 nm y las tres bandas Q entre 550 y 700 nm. En la tabla siguiente (Tabla 2.4) se muestran los máximos de absorbancia de las bandas Q y la longitud de onda correspondiente a la banda de fluorescencia.

Tabla 2.4: Máximos de absorbanza y fluorescencia de los porfíricos obtenidos comparado con el TPPo

| Estructura  | $\lambda$ / nm |       |
|---|----------------|-------|
|   | Abs            | Fluo. |
|    | 661            | 670   |
| <br>: R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =O <sup>i</sup> Pr ; R <sub>3</sub> =OH<br>R <sub>4</sub> =OH ; R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =O <sup>i</sup> Pr<br>- R <sub>1</sub> =R <sub>3</sub> =O <sup>i</sup> Pr ; R <sub>2</sub> =OH | 661            | 669   |
|    | 663            | 672   |
|   | 663            | 671   |
|    | 659            | 668   |

Todos los máximos de absorbanza de la colección de porfíricos obtenidos tienen un desplazamiento batocrómico respecto del TPPo **2** (R=Ph) de entre 2 y 4 nm. La presencia de los grupos hidroxilo en **2** (R=*m*-HOPh) provoca un desplazamiento batocrómico de 2 nm con respecto a **2** (R=*m*-*i*PrOPh).

Por lo que respecta a los máximos de fluorescencia, las variaciones son menores y, a diferencia de la absorbanza, no parece razonable atribuir un patrón de comportamiento en relación con las estructuras.

## 2.4. Resumen

Se ha diseñado una ruta sintética que permite obtener una variedad de biperroles sustituidos **12** pasando por un tienodipirrol dibromado intermedio **36** (G=SEM). Dicho intermedio se puede derivatizar utilizando la química del paladio, en concreto mediante la reacción de Suzuki. Una vez obtenido el tienodipirrol sustituido se puede convertir cuantitativamente en el biperrol correspondiente mediante desulfuración con Ni Raney.

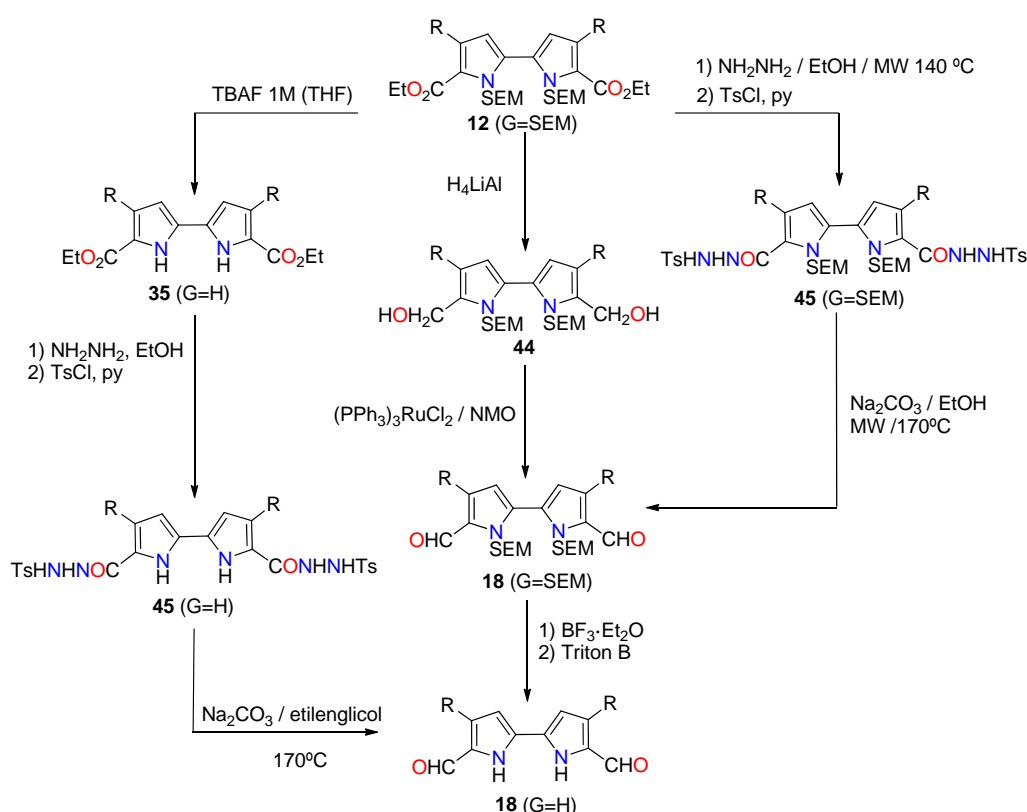


Figura 2.48: distintas rutas utilizadas para convertir los biperroles diéster SEM protegidos a biperroles dialdehídos

Para la utilización de estos diésteres en la síntesis de porfícenos es preciso su conversión en el dialdehído correspondiente. Se han ensayado varias alternativas para realizar esta conversión. La primera consiste en desproteger en primer lugar el grupo protector SEM de **12** y en segundo lugar aplicar las condiciones de McFadyen-Stevens. La segunda alternativa consiste en aplicar en primer lugar dichas condiciones



de McFadyen para posteriormente desproteger el dialdehído obtenido **18** (G=SEM). En último lugar se puede encadenar una reducción con hidruro de litio y aluminio con una oxidación con NMO catalizada por un complejo de rutenio para desproteger posteriormente.

Por otra parte, las condiciones de desprotección de los compuestos protegidos por SEM son diferentes en el caso que el compuesto protegido tenga aldehídos o ésteres. En el primer caso se ha de usar  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  frente a TBAF en el segundo.

Finalmente, una vez se han obtenido los dialdehídos correspondientes se han obtenidos los porfíricos **2** (R=*p*-MeOPh), **2** (R=*m*-iPrOPh) y **2** (R=*m*-HOPh) a escala analítica. Desgraciadamente el porfírico **2** (R=4-piridil) no se ha conseguido aislar.

## 2.5. Bibliografía

1. Nicolau, K.C.; Sorensen, E.J. *Classics in Total Synthesis*. Weinheim, VCH, **1996**.
2. Benincori, T.; Brenna, E.; Sanniccolo, F.; Zotti, G.; Zecchin, S.; Schiavon, G.; Gatti, C.; Frigerio, G., *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 1480.
3. Farnier, M.; Soth, S.; Fournari, P., *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1074.
4. Farnier, M.; Soth, S.; Fournari, P., *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1083.
5. Gavaldá, A.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Arad, O.; Grau, R.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Stockert, J.C., *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 846.
6. Feringa, B.L.; Hulst, R.; Rikers, R.; Brandsma, L. *Synthesis* **1988**, 316.
7. Walker, S. D.; Barder, T. E.; Martinelli, J. R.; Buchwald, S. L., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1871.
8. Ghosez, L.; Franc, C.; Denonne, F.; Cuisinier, C.; Touillaux, R., *Can. J. Chem.* **2001**, *79*, 1827-1839.
9. Handy, S.T.; Bregman, H.; Lewis, J.; Zhang, X.; Zhang, Y., *Tetrahedron. Lett.* **2003**, *44*, 427-430.
10. Handy, S.T.; Sabatini, J.J.; Zhang, Y.; Vulfova, I., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5057-5060.
11. Nonell, S.; Borrell, J. I.; Borrós, S.; Colominas, C.; Rey, O.; Rubio, N.; Sánchez-García, D.; Teixidó, J., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1635.
12. Banwell, M.G.; Flynn, B.L.; Hamel, E.H.; Hockless, D.C.R., *Chem. Commun.*, **1997**, 208.
13. Marfil, M.; Albericio, F.; Alvarez, M., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8659-8668.
14. S. Nonell, J. I. Borrell, S. Borrós, C. Colominas, O. Rey, N. Rubio, D. Sánchez, J. Teixidó, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1635-1640.
15. Farnier, M., Soth, S., Fournari, P., *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1074-1082.
16. Delgado, J., Clardy, J., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2862-2866.
17. Arad, O.; Morros, J.; Batllori, X.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Borrell, J.I., *Org. Lett.* **2006**, *8*, 847-850.
18. Rawal, V.H.; Cava, M.P., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2110-2112.
19. Molina, P.; Fresneda, P.M.; Delgado, S., *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 489-499.

20. Whitten, J.; Matthews, D.; McCarthy, J., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1891-1894.
21. Garg, N.K.; Sarpong, R.; Stoltz, B.M., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13179-13184.
22. Overman, L.E.; Rosen, M.D., *Angew. Chem.-Int. Ed.* **2000**, *39*, 4596.
23. Vakalopoulos, A.; Hoffmann, H.M.R., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2185-2188.
24. Vakalopoulos, A.; Hoffmann, H.M.R., *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1447-1450.
25. Muchowski, J.M.; Solas, D.R., *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 203-205.
26. Newkome, G.R.; Roper, J.M., *J. Org. Chem.* **1974**, *44*, 502-505.
27. Ducho, C.; Wendicke, S.; Gorbig, U.; Balzarini, J.; Meier, C., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4786-4791.
28. Asadolah, K.; Heravi, M.M.; Hekmatshoar, R.; Majedi, S., *Molecules* **2007**, *12*, 958-964.
29. Kanemoto, S.; Matsubara, S.; Takai, K.; Oshima, K.; Utimoto, K.; Nozaki, H., *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1988**, *61*, 3607-3612.
30. Kanemoto, S.; Tomioka, H.; Oshima, K.; Nozaki, H., *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1986**, *59*, 105-108.
31. Sharpless, K.B.; Akashi, K.; Oshima, K., *Tetrahedron Lett.* **1976**, 2503-2506.
32. Shusterman, A.J.; McDougal, P.G.; Glasfeld, A., *J. Chem. Ed.*, **1997**, *74*, 1222-1223.
33. Corey, E.J.; Gras, J.L.; Ulrich, P., *Tetrahedron Lett.* **1976**, 809-812
34. Nonell, S.; Bou, N.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Villanueva, A.; Juarranz, A.; Cañete, M., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3405-3408
35. Banwell, M.G.; Flynn, B.L.; Stewart, S.G., *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9139-9144.
36. Furstner, A.; Domostoj, M.M.; Scheiper, B., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8087-8094.
37. Fujikawa, N.; Ohta, T.; Yamaguchi, T.; Fukuda, T.; Ishibashi, F.; Iwao, M., *Tetrahedron* **2006**, *62*, 594-604.
38. Zhu, J.; Beugelmans, R.; Bourdet, S.; Chastanet, J.; Roussi, G., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6389-6396.
39. Thomas, J.B.; Zhang, L.; Navarro, H. A.; Carroll, F.I., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5597-5609.







# Capítulo 3

---

## Porfíricos asimétricos

Se describe la síntesis y caracterización de tres derivados del TPPo: 9-NO<sub>2</sub>-TPPo, 9-NH<sub>2</sub>-TPPo, 9-AcO-TPPo

---





### 3. Síntesis de porfíricos asimétricos

#### 3.1. Antecedentes.

La menor simetría del porfírico con respecto a las porfirinas hace que su absorción sea más intensa en la zona del rojo<sup>1,2</sup>. Como ya se ha comentado esta propiedad es muy importante en aplicaciones como la terapia fotodinámica (PDT) del cáncer ya que los tejidos son más transparentes a la luz roja. Esta ventaja combinada con la habilidad de los porfíricos de fotosensibilizar la producción de la especie citotóxica oxígeno singlete, hace de estas moléculas candidatos atractivos como fotosensibilizadores para la terapia fotodinámica de segunda generación<sup>3</sup>. De hecho los porfíricos han demostrado tener una actividad fotosensibilizadora excelente<sup>4</sup> y se continúa investigando su utilización para la PDT. Sin embargo, a pesar de las remarcables propiedades fotofísicas<sup>5</sup>, para usar estas moléculas como fármacos es necesario modular sus propiedades, como la biocompatibilidad, selectividad tumoral, localización subcelular, accesibilidad farmacológica, y ajustar sus propiedades fotofísicas. Esto se puede conseguir incorporando los sustituyentes adecuados en la molécula. Para ello en el primer capítulo de la presente tesis doctoral se ha desarrollado una aproximación que permite introducir una variedad de sustituyentes arilo en las posiciones 2, 7, 12 y 17 de los porfíricos<sup>6</sup>. Otra posibilidad de derivatización, introducida por E. Vogel en una serie de patentes<sup>7-11</sup>, es la inserción de funcionalidad en las posiciones *meso*. Esta estrategia permite la introducción de la funcionalidad en el último paso de síntesis. Además la regioselectividad de la reacción permite la introducción de solo un sustituyente rindiendo porfíricos asimétricos.

Nuestro grupo se ha centrado en la molécula de 2,7,12,17-tetrafenilporfírico<sup>12,13</sup> (TPPo, **2** (R=Ph)) debido al desplazamiento al rojo de su absorción frente a sus homólogos 2,7,12,17-tetraalquílicos, y sus excelentes propiedades como fotosensibilizador de PDT *in vitro*. En concreto se ha descubierto que el TPPo **2** (R=Ph) se localiza en los lisosomas de una variedad de células tumorales, uno de los sitios esenciales para desencadenar la apoptosis<sup>14-16</sup>. Una vez obtenido el 2,7,12,17-tetrafenilporfírico de forma reproducible y escalable se aborda la síntesis de sus

derivados. Se comparará en primer lugar las distintas metodías de obtención de *N*- y *O*- derivados en posición 9 de porfícenos para seleccionar la más idónea para aplicar en el caso del TPPo **2** (R=Ph).

En la patente de Vogel y col. del año 1992 (WO 92/12636)<sup>7</sup> se propone una síntesis para varios porfícenos, por ejemplo para el 9-amino-2,7,12,17-tetra-*n*-propilporfíceno (9-aminoTPrPn). Este compuesto se sintetiza a partir del nitroderivado con AgNO<sub>3</sub> en AcOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a 60 °C durante 25 minutos y a continuación se reduce con ditionito sódico Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> en medio básico, usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como disolvente, y llevándolo a reflujo durante 2 horas. También se describe la síntesis del 9-nitroporfíceno con ácido nítrico fumante y posterior reducción con hidrazina / Ni Raney pero los rendimientos son inferiores (76% y 37 % respectivamente frente a 85% y 50%).

En cambio en las patentes de los mismos autores del año 1996 (WO 96/31452<sup>9</sup> y WO 96/31451<sup>10</sup>) se encuentra una síntesis de 9-amino-2,7,12,17-tetrakis-(metoxietil)porfíceno (9-aminoTMPn) y el 9-amino-2,7,12,17-tetrakis-(propil)porfíceno (9-aminoTPrPn) sin necesidad de purificar el 9-nitroderivado.

Por otro lado el 9-hidroxiTPrPn se sintetiza a partir del 9-acetoxiTPrPn por tratamiento con Pb(AcO)<sub>4</sub> y a continuación se hidroliza el intermedio con metóxido sódico (WO 92/12636)<sup>7</sup>. Las condiciones descritas para la derivatización del porfíceno sin sustituyentes son más drásticas, seguramente por problemas de solubilidad en la mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/THF que se usa como disolvente.

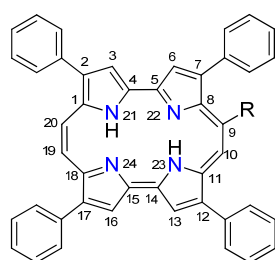
Tabla 3.1: Comparación entre las diferentes metodías de obtención de *N*- y *O*- derivados en la posición 9 de los porfícenos.

| producto                    | reactivo/<br>disolvente  | Temperatura/<br>tiempo   | Rendimiento                    | Referencias  |
|-----------------------------|--|--------------------------|--------------------------------|--|
| 9-nitroTPrPn<br>9-nitroTMPn | AgNO <sub>3</sub> /<br>AcOH/<br>(CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )                 | 60°C/<br>15-30 min       | 70-85%                         | WO 92/12636 <sup>7</sup> p/28<br>WO 96/31451 <sup>10</sup> p/24<br>WO 96/31452 <sup>9</sup> p/21 |
| 9-aminoTPrPn<br>9-aminoTMPn | Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | reflujo/<br>1-2h         | 50-85%<br>(85% desde<br>TPrPn) | WO 92/12636 <sup>7</sup> p/29<br>WO 96/31451 <sup>10</sup> p/24<br>WO 96/31452 <sup>9</sup> p/22 |
| 9-nitroporfíceno            | HNO <sub>3</sub>   | T <sub>amb</sub> / 1 min | 76%                            | WO 92/12636 <sup>7</sup> p/ 23   |

|                                 |  |                           |        |  |
|---------------------------------|--|---------------------------|--------|--|
| 9-aminoporfíceno                | Ni Raney<br>H <sub>2</sub> NNH <sub>2</sub> /<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | T <sub>amb</sub> / 1h     | 37%    | WO 92/12636 <sup>7</sup> p/ 24                                   |
| 9-acetoxiporfíceno              | PbAcO <sub>4</sub><br>AcOH   | 90°C/ 3.                  | 20%    | WO 92/12636 <sup>7</sup> p/25                                    |
| 9-hidroxiporfíceno              | KOH 5%/<br>MeOH  | T <sub>amb.</sub> / 5 min | 50%    | WO 92/12636 <sup>7</sup> p/26                                    |
| 9-acetoxiTMPn<br>9-acetoxiTPrPn | PbAcO <sub>4</sub><br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /<br>THF                   | reflujo /<br>10 min       | 30 %   | WO 92/12636 <sup>7</sup> p/30<br>WO 96 /31452 <sup>9</sup> p/17  |
| 9-hidroxiTPrPn<br>9-hidroxiTMPn | MeONa<br>éter/<br>MeOH   | T <sub>amb</sub> / 5 min  | 85-92% | WO 96 /31452 <sup>9</sup> p/19<br>WO 98/15271 <sup>11</sup> p/31 |

Como se puede observar en la Tabla 3.1 los rendimientos para obtener derivados *N*-sustituídos de porfícenos son mayores que los de los *O*-sustituídos.

En este capítulo se examinarán los efectos en la absorción, las propiedades fotofísicas y fotosensibilizadoras, de la sustitución en la posición 9 del TPPo. Para ello se ha propuesto la incorporación de un grupo aceptor de electrones, un donador de electrones y un grupo voluminoso electroneutro en el macrociclo como modelos de sustitución. En concreto, se decide sintetizar el 9-acetoxi (9-AcOTPPo), 9-nitro (9-NTPPo), y 9-amino-TPPo (9-ATPPo) (ver Figura 3.1). Finalmente, estos porfícenos se estudiarán usando una batería de técnicas fotofísicas.



- 2**, TPPo, R = -H  
**27**, 9-NTPPo, R = -NO<sub>2</sub>  
**28**, 9-ATPPo, R = -NH<sub>2</sub>  
**29**, 9-AcOTPPo, R = -OAc

Figura 3.1: Estructura química de TPPo, 9-acetoxi-, 9-nitro-, y 9-amino-TPPo

### 3.2 Síntesis y caracterización del 9-nitro-2,7,12,17-tetrafenilporfícono.

Se ensaya primero la síntesis del 9-nitroTPPo **27** por reacción con  $\text{AgNO}_3$  en  $\text{AcOH} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$  a  $60^\circ\text{C}$  a partir del TPPo **2** ( $\text{R}=\text{Ph}$ ) (Figura 3.2).

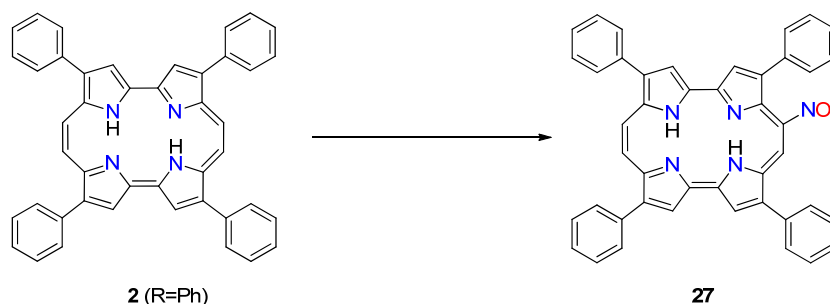


Figura 3.2: 9-nitroTPPo **27**

Dado que el  $\text{AgNO}_3$  no se suele emplear como agente nitrante ya que la cantidad de  $\text{NO}_2^+$  que libera en medio ácido es muy baja (de hecho no se ha encontrado ninguna referencia bibliográfica al respecto) parece obligado tratar de racionalizar la forma en que discurre dicha reacción. En este sentido hay que señalar que la densidad electrónica, calculada mediante métodos computacionales, del carbono 3 de los porfífenos es mayor que la del carbono 9<sup>17</sup>, por otro lado cálculos teóricos sugieren que los 3-nitroporfífenos son más estables que los 9-nitroporfífenos<sup>18</sup> (Figura 3.3 y Tabla 3.2). Por otra parte, es conocido que la reacción de nitración no transcurre por medio de una sustitución electrófila aromática en presencia de aminas.

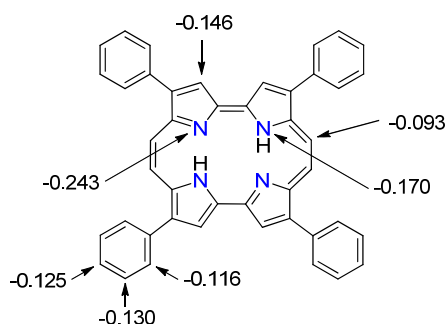


Figura 3.3: Densidad electrónica sobre diferentes átomos del TPPo **2** ( $\text{R}=\text{Ph}$ ).

Tabla 3.2: Energías de las distintas moléculas que intervienen en la SEAr.

| Molécula                     | Intermedio de Wheeland | Molécula Final   |
|------------------------------|------------------------|------------------|
| 9-nitrotetrametilporfícenico | -847950 Kcal/mol       | -847725 Kcal/mol |
| 3-nitrotetrametilporfícenico | -847957 Kcal /mol      | -847731 Kcal/mol |
| Diferencia                   | 7 Kcal/mol             | 5 Kcal/mol       |

En consecuencia parece lógico proponer para dicha reacción un mecanismo radicalario a través de un intermedio *N*-nitrado y posterior reordenamiento (Figura 3.4)<sup>19,20</sup> análogo a otros descritos en la literatura<sup>22,23</sup>.

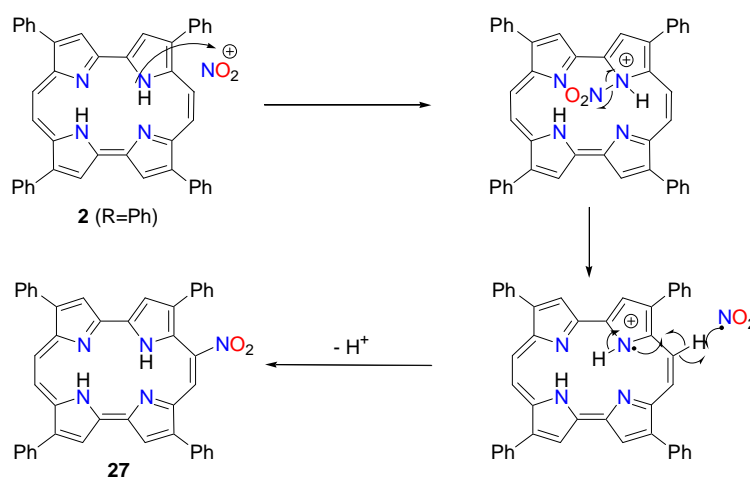


Figura 3.4: Posible mecanismo de la nitración por migración del grupo nitro.

En la metodología descrita se utilizan 3 eq de  $\text{AgNO}_3$  y 0,8 mL de mezcla  $\text{AcOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2:3) por mg de TMPn. En estas condiciones el TPPo queda en suspensión y aunque por CCF se observa la formación del producto de nitración, la conversión nunca es completa y no es posible aislar ningún producto. Se decide aumentar la cantidad de disolvente y la cantidad de nitrato de plata. Aumentando la

cantidad de disolvente a 4 mL de AcOH/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:3) para conseguir la disolución total del TPPo, el resultado es idéntico al primer experimento. Ocurre lo mismo al aumentar la cantidad de nitrato de plata a 26 equivalentes. Afortunadamente incrementar la cantidad de nitrato de plata y manteniendo el TPPo totalmente disuelto se obtiene, al cabo de 25 minutos, un crudo que se identifica posteriormente como una mezcla de TPPo, 9-nitroTPPo junto con los isómeros posicionales de dinitroTPPo. Al aumentar el tiempo de reacción para intentar incrementar la conversión se obtiene una mezcla más compleja de productos. Como comentario general hay que notar que para realizar reacciones térmicas con macrociclos de este tipo, es necesario cubrir el balón para evitar la formación de posibles fotoproductos.

Se procede a la purificación de la mezcla por cromatografía de columna de gel de sílice y usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Hexano (1:3) como eluyente. Los rendimientos de la cromatografía son bastante bajos (20%) ya que se forman colas y queda mucho producto retenido. En cambio en la cromatografía de capa fina (CCF) se consiguen buenas separaciones.

Tabla 3.3: R<sub>f</sub> de porfícenos en CCF (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ hexano 1:1)

|                    | R <sub>f</sub> |
|--------------------|----------------|
| TPPo               | 0,51           |
| <b>9-NTPPo</b>     | <b>0,26</b>    |
| mezcla dinitroTPPo | 0,18           |

Para evitar estos problemas en la separación se decide probar la purificación de los productos por "Dry-Flash Chromatography" dado que en esta técnica se emplea sólo una pequeña cantidad de sílice y, por tanto, se suelen minimizar las pérdidas de producto por agregación. Desgraciadamente tampoco se consiguen mejores separaciones. En la bibliografía se describen problemas similares con otros macrociclos tetrapirrólicos, algunos de los cuales no han podido ser purificados por cromatografía<sup>23</sup>.

Finalmente el 9-nitroTPPo se puede purificar mediante cromatografía de capa fina (CCF) preparativa y se consigue aislar en forma de sólido de color verde (figura 3.5). Además se obtiene una mezcla de dinitroporfícenos. Aunque los resultados son

bastante mejores en placa que en columna también mediante esta técnica siguen formándose colas. Otro fenómeno que se da en la CCF preparativa es la formación de sólido en la superficie de la placa en el punto de aplicación. Este fenómeno como se ha indicado podría ser debido a la agregación de los porfíricos.



Figura 3.5: disolución diluida de 9-nitroTPPo **27** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Se confirma por espectrometría de masas el ión molecular del 9-nitroTPPo con relación masa/carga 660 ( $M^+ + 1$ ) (Tabla 3.4).

Tabla 3.4: Espectro de masas (70 eV) de 9-nitroTPPo.

| m/z | fragmento      | Abundancia relativa (%) | Asignación      |
|-----|----------------|-------------------------|-----------------|
| 660 | $M^+ + 1$      | 41                      | $M^+ H$         |
| 630 | $M^+ H - 30$   | 28                      | $M^+ H - NO$    |
| 615 | $TPPo^+ + 1$   | 100                     | $TPPo^+ H$      |
| 536 | $TPPo^+ - 78$  | 17                      | $TPPo^+ H - Ph$ |
| 307 | $TPPo^+ - 307$ | 70                      | $(TPPo^+)/2$    |

La Tabla 3.5 recoge las bandas más importantes del espectro de IR del compuesto **27**. Como bandas más interesantes hay que destacar las tensiones a 1530 y 1330  $\text{cm}^{-1}$  atribuibles al grupo nitro.

Tabla 3.5: espectro de IR del 9-nitroTPPo (pastilla de KBr).

| $\nu / \text{cm}^{-1}$ | Asignación                               |
|------------------------|--|
| 3400-3200              | N-H                                      |
| 3055, 3025             | Csp <sup>2</sup> -H                      |
| 1530                   | t. asim C <sub>ar</sub> -NO <sub>2</sub> |
| 1330                   | t. sim C <sub>ar</sub> -NO <sub>2</sub>  |
| 762, 697               | Fenilos                                  |

Se confirma la estructura del compuesto **27** finalmente por <sup>1</sup>H-RMN. Se observa que el espectro de <sup>1</sup>H-RMN del 9-nitroTPPo es bastante más complicado que el del TPPo debido a la ruptura de la simetría anular (Figura 3.6).

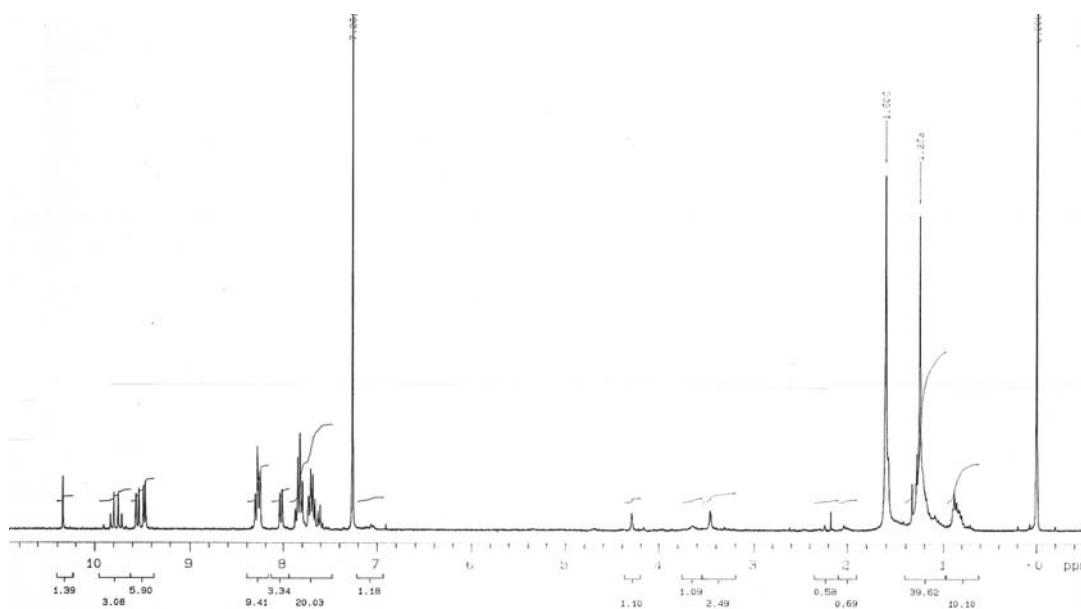


Figura 3.6: Espectro de <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) del 9-nitroTPPo **27**



En el TPPo todos los protones en *meso* aparecen como un singulete a 9,91 ppm respecto del TMS, en cambio en el 9-nitro TPPo el protón en  $\alpha$  del grupo nitro se desplaza a 10,34 ppm, y los otros 2 protones en *meso* aparecen como dos dobletes centrados en 9,78 ppm con una constante de acoplamiento de  ${}^3J_{\text{cis}} = 11,1$  Hz, pero que debido a que  $\Delta\nu/J = 2,2$  se aprecia un pronunciado efecto tejado. Los protones equivalentes a los de la posición 3 del TPPo que dan en éste una señal a 9,67 ppm, aparecen en el 9-nitroTPPo como 4 protones diastereotópicos dando 4 singuletes centrados en 9,51 ppm (Tabla 3.6).

Tabla 3.6: espectro de  ${}^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del 9-nitroTPPo (**27**).

| $\delta_{\text{TMS}}/\text{ppm}$ | Multiplicidad | Integral Relativa | ${}^3J/\text{Hz}$ | Asignación                        |
|----------------------------------|---------------|-------------------|-------------------|-----------------------------------|
| 10,34                            | s             | 1H                | -                 | C(10)-H                           |
| 9,82                             | d             | 1H                | 11,1              | C(19)-H                           |
| 9,74                             | d             | 1H                | 11,1              | C(20)-H                           |
| 9,57-9,46                        | 4s            | 4H                | -                 | 4 Csp <sup>2</sup> -H (3,6,13,16) |
| 8,32-7,61                        | m             | 20H               | -                 | 20H (Ph)                          |
| 3,45                             | s.d.          | 2H                | -                 | 2 N-H                             |

Como experiencia complementaria, se estudia la posibilidad de usar el ácido nítrico fumante como agente nitrante. Se ensaya esta posibilidad a pesar de que existe el riesgo de que se nitren también los anillos bencénicos de las posiciones 2, 7, 12 y 17 del TPPo **2** (R=Ph). Se prueban en primer lugar las condiciones de nitración del porfíceno **2** (R=Ph): 1 minuto de reacción a temperatura ambiente. Se obtiene una mezcla de porfícenos polinitrados. Lo mismo ocurre al disminuir la temperatura a 0 °C. Al purificar el crudo de reacción por cromatografía se aísla como fracción menos polar una mezcla de dinitroporfícenos.

Se deduce la naturaleza de la mezcla gracias al espectro de absorción de UV-VIS y al espectro de masas (Tabla 3.7), el espectro de  ${}^1\text{H}$ -RMN también es compatible con esta hipótesis.

Tabla 3.7: Espectro de masas (70 eV) de la mezcla de dinitroporfíricos.

| m/z | fragmento                            | Abundancia relativa (%) | Asignación                          |
|-----|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| 705 | M <sup>+</sup>                       | 11                      | M <sup>+</sup>                      |
| 675 | M <sup>+</sup> -30                   | 13                      | M <sup>+</sup> -NO                  |
| 660 | M <sup>+</sup> H-46                  | 40                      | M <sup>+</sup> H-NO <sub>2</sub>    |
| 630 | M <sup>+</sup> H-NO <sub>2</sub> -30 | 28                      | M <sup>+</sup> -NO <sub>2</sub> -NO |
| 615 | TPPo <sup>+</sup> +1                 | 100                     | TPPo <sup>+</sup> H                 |
| 536 | TPPo <sup>+</sup> -78                | 20                      | TPPo <sup>+</sup> H-Ph              |
| 307 | TPPo <sup>+</sup> -307               | 75                      | (TPPo <sup>+</sup> )/2              |

El espectro de absorción de UV-Vis muestra una banda intensa en el UV (Soret) y tres bandas en el rojo (zona Q), tal y como muestra el TPPo (ver Figura 3.7 y la Tabla 3.8). Cabe destacar que a diferencia del TPPo el 9-nitroTPPo no es fluorescente.

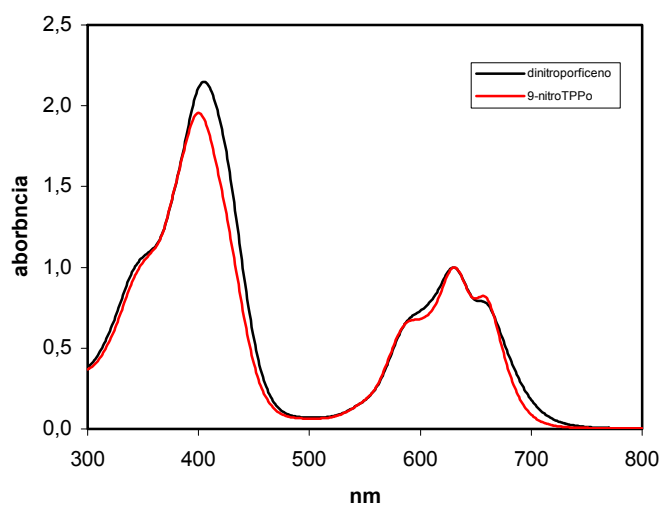


Figura 3.7: Espectro de absorción de UV-VIS del 9-nitroTPPo y de los dinitroporfíricos, ambos en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Se observa en la Tabla 3.8 que tanto en la banda de Soret como en la zona Q se produce un efecto batocrómico de unos 20 nm respecto del TPrPn además de un aumento del coeficiente de absorción. El efecto batocrómico se puede asignar principalmente a los fenilos ya que el TPPo ya lo presenta respecto del TPrPn. Se deduce que el efecto de introducir un grupo nitro en la molécula es sobre todo el aumento del coeficiente de absorción. Dicho aumento es justificable teniendo en cuenta la disminución de la simetría de la molécula.

Tabla 3.8: Comparación de los espectro de absorción de diversos porfíricos en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>26</sup>.

| TPPo                              |  | 9-nitroTPPo                       |  | 9-nitroporfírico        |  | 9-nitroTPrPn                      |  |
|-----------------------------------|--|-----------------------------------|--|-------------------------|--|-----------------------------------|--|
| $\lambda_{\text{max}}/ \text{nm}$ | $\epsilon/ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ | $\lambda_{\text{max}}/ \text{nm}$ | $\epsilon/ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ | $\lambda_{\text{max}}/$ | $\epsilon/ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ | $\lambda_{\text{max}}/ \text{nm}$ | $\epsilon/ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ |
| 659                               | $50\cdot 10^3$                               | 657                               | $56\cdot 10^3$                               | 630                     | $12,6\cdot 10^3$                             | 635                               | $30,0\cdot 10^3$                             |
| 628                               | $46\cdot 10^3$                               | 631                               | $69\cdot 10^3$                               | 603                     | $11,1\cdot 10^3$                             | 603                               | $26,1\cdot 10^3$                             |
| 586                               | $36\cdot 10^3$                               | 589                               | $43\cdot 10^3$                               | 562                     | $13,0\cdot 10^3$                             | 565                               | $23,7\cdot 10^3$                             |
| 392                               | $89\cdot 10^3$                               | 400                               | $133\cdot 10^3$                              | 388                     | $35,0\cdot 10^3$                             | 373                               | $76,0\cdot 10^3$                             |
| 378                               | $118\cdot 10^3$                              | -                                 | -  | 348                     | $18,4\cdot 10^3$                             | -                                 | -  |

Se estudia el compuesto **27** mediante la técnica de fotólisis de destello (espectroscopía de absorción de transitorios). Esta técnica analítica consiste en irradiar con láser en una región donde el estado fundamental absorba (570 nm en este caso) para formar una concentración elevada del primer estado excitado, y resolver en el tiempo el cambio de intensidad de un haz de análisis de luz blanca perpendicular. La resolución en el tiempo de dicho transitorio en el caso del 9-nitroTPPo, permite obtener el tiempo de vida del triplete, ajustando una curva monoexponencial. Dicha técnica permite también por variación de la longitud de onda de observación obtener el espectro del triplete menos el singlete (T-S). Registrando dicho espectro en tolueno y burbujeando argón se obtiene un tiempo de vida del triplete  $\tau_T = 25 \mu\text{s}$  (Figura 3.8). Este tiempo es suficiente para que se puedan dar numerosas reacciones fotoquímicas como por ejemplo la fotosensibilización de  $^1\text{O}_2$  o reacciones de transferencia de carga. Estos datos son prometedores para usar **27** como fotosensibilizador en la PDT.

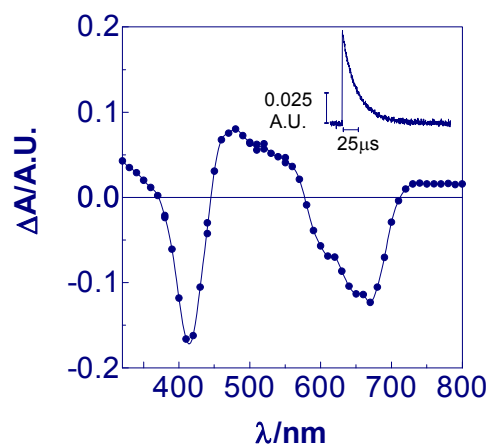


Figura 3.8: Espectro de absorción T-S del 9-nitroTPPo en tolueno (atmósfera de Argón) y señal del transitorio con absorbancia máxima ( $\lambda= 480$  nm).

### 3.3. Síntesis y caracterización del 9-amino-2,7,12,17-tetrafenilporfírico.

El 9-nitroTPPo **27** se reduce limpiamente a 9-aminoTPPo **28** por acción del ditionito en medio básico en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a reflujo. Esta reacción en la que se reduce un nitrocompuesto a una amina a través de sulfuros o polisulfuros se denomina reducción de Zinin<sup>24,25</sup>. Desde el punto de vista preparativo la mayor dificultad en la purificación de este amino derivado es la cromatografía ya que se comporta de forma similar al 9-nitroTPPo.

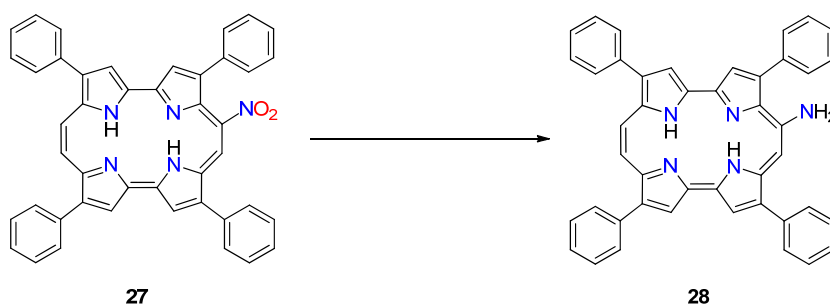


Figura 3.9: Reducción de **27**

Se obtiene un sólido de color verde con un rendimiento de un 22% que a diferencia de su precursor si presenta fluorescencia. Los datos espectroscópicos confirman la estructura del 9-aminoTPPo (ver Figura 3.9 y Tabla 3.9).

Tabla 3.9: Espectro de masas (70 eV) de 9-aminoTPPo.

| m/z | fragmento                      | Abundancia relativa (%) | Asignación                                      |
|-----|--------------------------------|-------------------------|---|
| 631 | $\text{M}^+ + 2$               | 1                       | $\text{M}^+ \text{H}_2$                         |
| 615 | $\text{TPPo}^+ \text{H}$       | 100                     | $\text{TPPo}^+ \text{H}$                        |
| 539 | $\text{TPPo}^+ \text{H} - 76$  | 13                      | $\text{TPPo}^+ \text{H} - \text{C}_6\text{H}_4$ |
| 307 | $\text{TPPo}^+ \text{H} - 308$ | 69                      | $(\text{TPPo}^+ \text{H})/2$                    |

El espectro de IR se resume en la Tabla 3.10. Como bandas a destacar hay que mencionar una banda ancha a  $3455\text{ cm}^{-1}$  característica del grupo amina.

Tabla 3.10: espectro de IR del 9-aminoTPPo (pastilla de KBr).

| $\nu / \text{cm}^{-1}$ | Asignación          |
|------------------------|---------------------|
| 3455                   | N-H amina           |
| 3400-3200              | N-H pirrol          |
| 3055,3025              | Csp <sup>2</sup> -H |
| 1560                   | t. -NH <sub>2</sub> |
| 798, 779               | f. -NH <sub>2</sub> |
| 764,702                | Fenilos             |

El espectro de <sup>1</sup>H-RMN confirma la estructura propuesta (Tabla 3.11). Como señal diagnóstica hay que destacar la aparición de un singulete a 6,01 ppm atribuible al grupo amina.

Tabla 3.11: espectro de <sup>1</sup>H-RMN(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del 9-aminoTPPo.

| $\delta_{\text{TMS}} / \text{ppm}$ | Multiplicidad | Integral Relativa | <sup>3</sup> J/ Hz | Asignación                        |
|------------------------------------|---------------|-------------------|--------------------|-----------------------------------|
| 9,58                               | D             | 1H                | 11,0               | C(19)-H                           |
| 9,31                               | D             | 1H                | 11,0               | C(20)-H                           |
| 8,67                               | S             | 1H                | -                  | C(10)-H                           |
| 9,26-9,14                          | 4s            | 4H                | -                  | 4 Csp <sup>2</sup> -H (3,6,13,16) |
| 8,26-7,21                          | M             | 20H               | -                  | 20H (Ph)                          |
| 6,01                               | s.d.          | 2H                | -                  | 2 -NH <sub>2</sub>                |
| 4,18-4,04                          | s.d.          | 2H                | -                  | N-H                               |

Se miden las propiedades fotofísicas más relevantes para determinar el interés del 9-aminoTPPo para la PDT. Hay que notar que este producto va descomponiendo lentamente en disolución de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> evolucionando el color de verde a violeta y de violeta a azul.

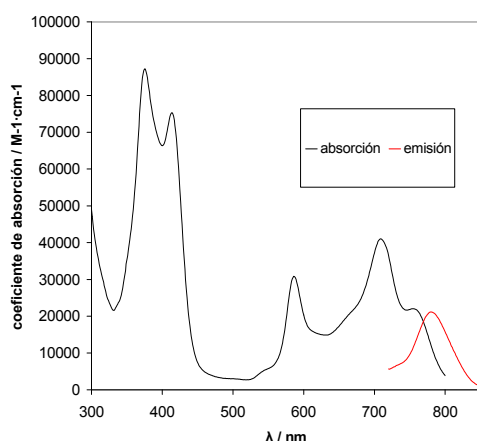


Figura 3.10: Espectros de absorción y de emisión de fluorescencia del 9-aminoTPPo en tolueno.

Cabe destacar en el espectro de absorción del 9-aminoTPPo (Figura 3.10 y Tabla 3.12) la aparición de una nueva banda respecto al TPPo, dicha banda aparece a 587 nm. A diferencia del 9-nitroTPPo el 9-aminoTPPo no presenta un claro aumento del coeficiente de absorción. Respecto al espectro de fluorescencia hay que señalar que el 9-aminoTPPo emite a 780 nm mientras que el 9-aminoTPPrPn lo hace a 729 nm.

Tabla 3.12: Espectro de absorción de UV-Vis de 9-aminoTPPo y 9-aminoTPPrPn en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>9</sup>.

| TPPo                |                                 | 9-aminoTPPo      |                                 | 9-aminoTPPrPn       |                                 |
|---------------------|---------------------------------|------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| $\lambda_{max}/ nm$ | $\epsilon/ M^{-1}\cdot cm^{-1}$ | $\lambda_{max}/$ | $\epsilon/ M^{-1}\cdot cm^{-1}$ | $\lambda_{max}/ nm$ | $\epsilon/ M^{-1}\cdot cm^{-1}$ |
| 659                 | $50\cdot 10^3$                  | 763              | $21\cdot 10^3$                  | -                   | -                               |
| 628                 | $46\cdot 10^3$                  | 709              | $49\cdot 10^3$                  | 703                 | $14\cdot 10^3$                  |
| 586                 | $36\cdot 10^3$                  | 663              | $25\cdot 10^3$                  | 668                 | $28\cdot 10^3$                  |
| -                   | -                               | 587              | $34\cdot 10^3$                  | 563                 | $22\cdot 10^3$                  |
| 392                 | $89\cdot 10^3$                  | 412              | $84\cdot 10^3$                  | 400                 | $60\cdot 10^3$                  |
| 378                 | $118\cdot 10^3$                 | 375              | $93\cdot 10^3$                  | 370                 | $82\cdot 10^3$                  |

La energía del singlete ( $E_s$ ) se puede determinar a partir del punto de intersección entre los espectro de emisión y el de absorción, ambos normalizados. Para poder realizar esta medida es necesario que la molécula sea fluorescente y que

su espectro de fluorescencia tenga simetría especular con el espectro de absorción. Además el desplazamiento de Stokes no puede ser demasiado grande. Cumpliéndose dichos requisitos para el 9-aminoTPPo, se determina que la longitud de onda de intersección es de 769 nm y por lo tanto  $E_s = 156 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

El rendimiento cuántico de formación de oxígeno singlete ( $\Phi_\Delta$ ) se define como el número de moléculas de  $\text{O}_2 (^1\Delta_g)$  formadas por cada fotón absorbido. Este rendimiento cuántico de formación de oxígeno singlete ( $\Phi_\Delta$ ) se ha medido por la técnica de espectroscopía de emisión en el IR cercano resuelta en el tiempo (TRNIR). En el presente caso se usa como referencia la fenalenona (PN) cuyo  $\Phi_\Delta = 0,92$ . Se mide la emisión de fosforescencia a 1270 nm característica del oxígeno singlete y se estudia el decaimiento de la señal en función del tiempo. Tanto la muestra como la referencia se excitan a 425 nm mediante la fuente láser. Se obtiene  $\Phi_\Delta = 0,07$  para el 9-aminoTPPo mientras que el 9-aminoTMPn tiene  $\Phi_\Delta = 0,3$ .

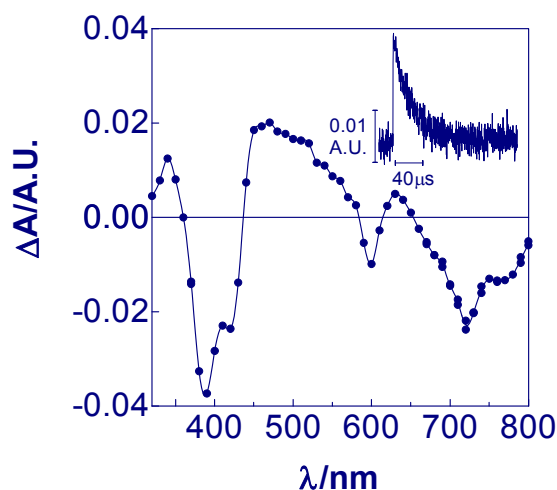


Figura 3.11: Espectro de absorción T-S del 9-aminoTPPo en tolueno (atmósfera de Ar) y señal del transitorio con absorbancia máxima ( $\lambda = 470 \text{ nm}$ ).

Los experimentos de fotólisis de destello ( $\lambda_{\text{excitación}} = 425 \text{ nm}$ ) muestran que el 9-aminoTPPo accede a su estado triplete, el cual tiene un tiempo de vida (en tolueno y atmósfera de argón) de  $\tau_T = 36 \mu\text{s}$ . (Figura 3.11)



### 3.4. Síntesis y caracterización del 9-acetoxi-2,7,12,17-tetrafenilporfírico.

El 9-acetoxiTPPo **29** se sintetiza por reacción con  $\text{Pb}(\text{AcO}_4)$  empleando una mezcla  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF}$  como disolvente. Al cabo de 10 minutos de reflujo se detiene la reacción ya que aunque la conversión no es completa, se observa por CCF la formación de un tercer producto.

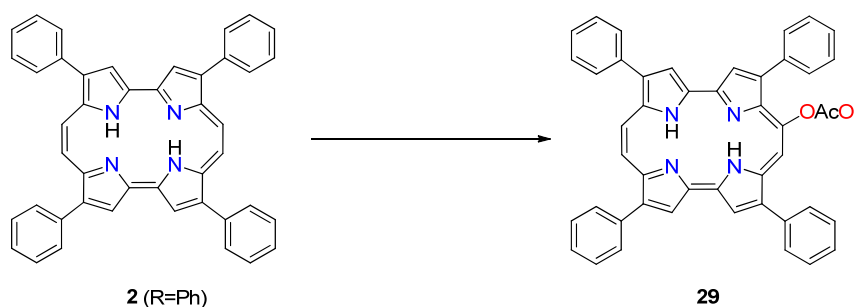


Figura 3.12: Preparación de **29**

El éster **29** se obtiene, con un rendimiento del 18%, un sólido de color azul y fluorescencia roja, excitando a 366 nm (ver Figuras 3.13 y 3.17).



Figura 3.13: disolución diluida de 9-acetoxiTPPo **29** en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

La primera evidencia de la naturaleza del producto la proporciona el análisis del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN que confirma la estructura propuesta (ver Tabla 3.13).

Tabla 3.13: espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del 9-acetoxiTPPo.

| $\delta_{\text{TMS}}$ / ppm | Multiplicidad | Integral Relativa | $^3J$ / Hz | Asignación                        |
|-----------------------------|---------------|-------------------|------------|-----------------------------------|
| 9,91                        | d             | 1H                | 12,2       | C(19)-H                           |
| 9,85                        | d             | 1H                | 12,2       | C(20)-H                           |
| 9,72                        | s             | 1H                | -          | C(10)-H                           |
| 9,64-9,50                   | 4s            | 4H                | -          | 4 Csp <sup>2</sup> -H (3,6,13,16) |
| 8,36-7,52                   | m             | 20H               | -          | 20H (Ph)                          |
| 4,31                        | s.d.          | 2H                | -          | 2 -NH                             |
| 1,80                        | s             | 3H                | -          | CH <sub>3</sub> COO-              |

Una evidencia adicional puede extraerse por espectrometría de masas ya que es posible detectar el ion molecular de **29** con relación masa/carga 673 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (Figura 3.14).

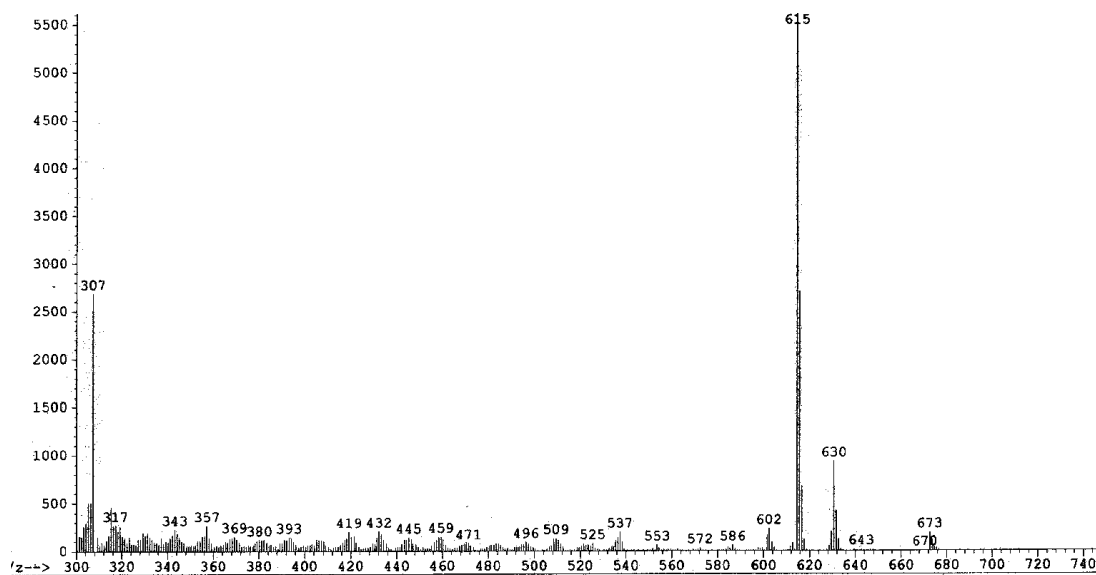


Figura 3.14: Espectro de masas de 9-acetoxiTPPo.

El listado completo de la fragmentación del espectro de masas de **29** se recoge en la tabla 3.14.

Tabla 3.14: Listado de la fragmentación del espectro de masas del 9-acetoxiTPPo.

| m/z | fragmento      | Abundancia relativa (%) | Asignación         |
|-----|----------------|-------------------------|--------------------|
| 673 | $M^{+}+1$      | 5                       | $M^{+}H$           |
| 630 | $M^{+}H-43$    | 17                      | $M^{+}H-CH_3CO$    |
| 615 | $TPPo^{+}H$    | 100                     | $TPPo^{+}H$        |
| 537 | $TPPo^{+}H-78$ | 6                       | $TPPo^{+}H-C_6H_6$ |
| 307 | $TPPo^{+}-307$ | 70                      | $(TPPo^{+})/2$     |

En la Figura 3.15 se muestra el espectro de IR del compuesto **29**.

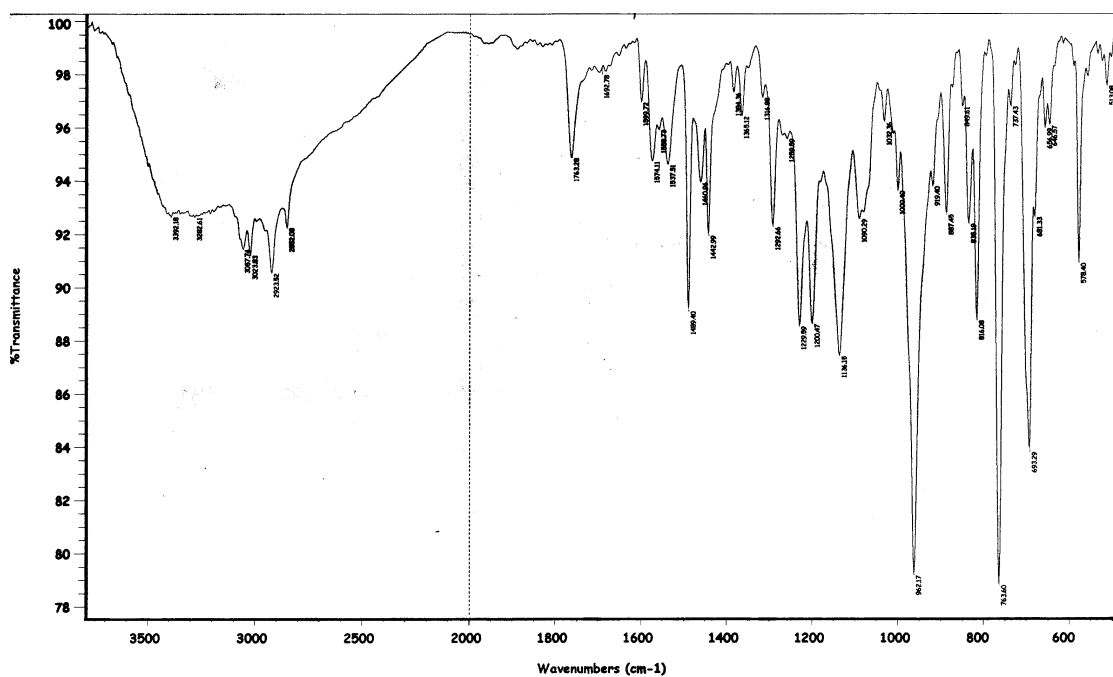


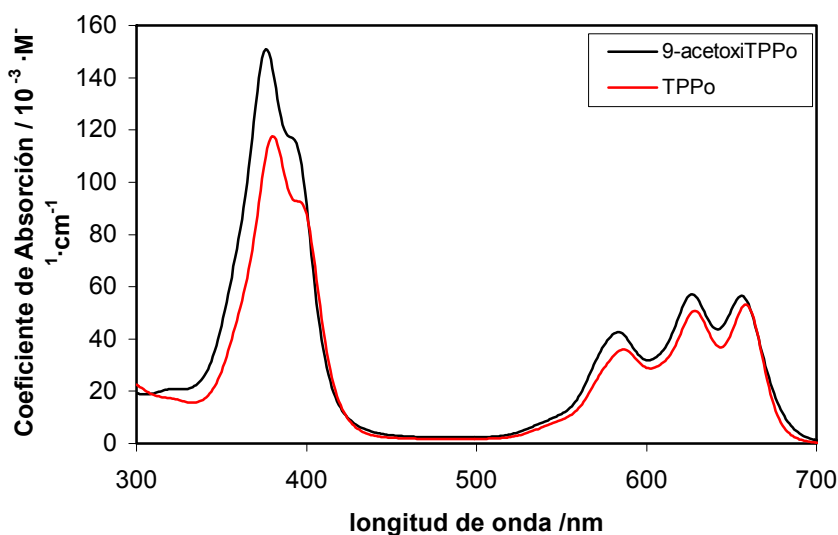
Figura 3.15: espectro de IR del 9-acetoxiTPPo.

El espectro de IR se resume en la Tabla 3.15. Se puede apreciar una banda a  $1763\text{ cm}^{-1}$  característica de carbonilos de ésteres.

Tabla 3.15: espectro de IR del 9-acetoxiTPPo.

| $\nu / \text{cm}^{-1}$ | Asignación          |
|------------------------|---------------------|
| 3400-3200              | N-H pirrol          |
| 3057,3024              | Csp <sup>2</sup> -H |
| 2924                   | t. C-H metilo       |
| 1763                   | C=O éster           |
| 1444                   | f. as. Metilo       |
| 1230                   | t.as. C-O Acetato   |
| 764,693                | Fenilos             |

Los espectros de absorción del porfícenico **2** (R=Ph) y **29** se muestran en la figura 3.16. Se puede apreciar que la estructura, tanto de las bandas de Soret como las Q, es muy similar. En cuanto a la absorción, el porfícenico **29** muestra unos valores de extinción molar ligeramente superiores a los del TPPo.

Figura 3.16: Espectro de absorción de 9-acetoxiTPPo **29** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, comparado con el TPPo.

En la figura 3.17 se muestran los espectros de absorción, emisión y excitación del 9-acetoxiTPPo **29** en tolueno. El espectro de emisión es imagen especular de la absorción y el desplazamiento de Stokes es pequeño, por lo tanto se puede evaluar la energía del singlete: siendo este valor  $E_S = 182 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

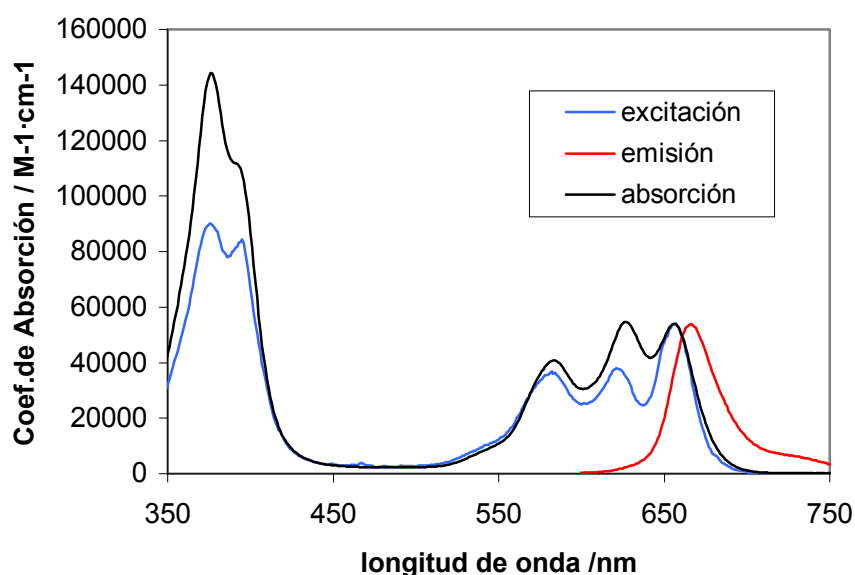


Figura 3.17: Espectro de absorción, emisión y excitación del 9-acetoxiTPPo **29** en tolueno.

En el espectro de UV-vis se observa que el 9-acetoxiTPPo presenta un desplazamiento de unos 20 nm hacia el rojo y un mayor coeficiente de absorción que el 9-acetoxiTPPrn (Tabla 3.16). Estos efectos son debido a los grupos fenilos y no al grupo funcional ya que el espectro de absorción del 9-acetoxiTPPo presenta pocas diferencias con respecto del TPPo.

Tabla 3.16: Espectro de absorción de UV-VIS de 9-acetoxiTPPo y 9-acetoxiTPrPn en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub><sup>59</sup>.

| 9-acetoxiTPPo              |   | 9-acetoxiTPrPn             |   |
|----------------------------|---|----------------------------|---|
| $\lambda_{\max}/\text{nm}$ | $\epsilon/\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ | $\lambda_{\max}/\text{nm}$ | $\epsilon/\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ |
| 656                        | $54\cdot 10^3$                              | 634                        | $32\cdot 10^3$                              |
| 627                        | $56\cdot 10^3$                              | 603                        | $33\cdot 10^3$                              |
| 583                        | $40\cdot 10^3$                              | 563                        | $30\cdot 10^3$                              |
| 387                        | $121\cdot 10^3$                             | 384                        | $94\cdot 10^3$                              |
| 376                        | $151\cdot 10^3$                             | 373                        | $143\cdot 10^3$                             |

El espectro de absorción T-S registrado en tolueno con atmósfera de argón demuestra la formación de triplete ( $\lambda_{\text{excitación}} = 570\text{ nm}$ ), dicho triplete tiene una vida media  $\tau_T = 57\ \mu\text{s}$  (figura 3.18).

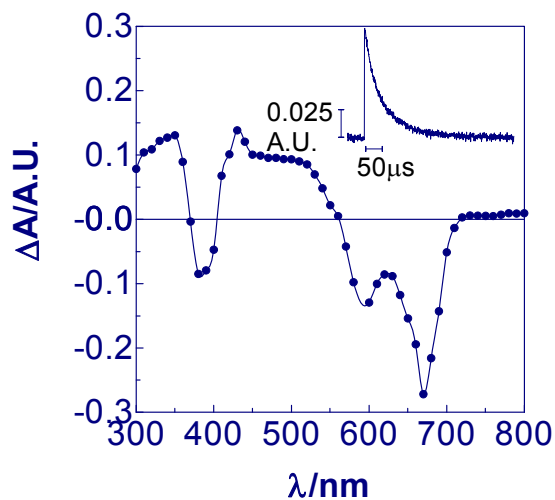


Figura 3.18: Espectro de absorción T-S (triplete menos singlete) del 9-acetoxiTPPo en tolueno (atmósfera de Ar) y señal del transitorio con absorbancia máxima ( $\lambda = 430\text{ nm}$ ).

### 3.5. Estudios fotofísicos de los porfíricos 9-sustituídos obtenidos

Las propiedades espectroscópicas de los porfíricos 9-sustituídos dependen en gran medida de la naturaleza específica de los sustituyentes (Figura 3.19). Aunque el grupo acetoxi introduce solamente un efecto hipsocrómico marginal de unos 2 o 3 nm en todas las bandas junto con un incremento de los coeficientes de absorción, particularmente en la región de Soret, las perturbaciones inducidas por los grupos nitro y amino son más significativas (Tabla 3.17, página 140).

En el caso del grupo nitro aparece un ensanchamiento claro de todas las bandas, en consecuencia de que el 9-NTPPo **27** es de un color verde esmeralda mientras el TPPo **2** (R=Ph) y el 9-AcOTPPo **29** son azules. Este efecto se debe a la absorción de luz azul por el 9-NTPPo **27** debido al ensanchamiento de la banda de Soret. Además se puede observar un cambio en las intensidades relativas de las bandas Q indicando que la transición  $S_2 \leftarrow S_1$  está ahora favorecida con respecto de la  $S_1 \leftarrow S_0$ .

Una perturbación aun mayor es inducida por el grupo amino, de forma que la banda de menor energía en el 9-ATPPo **28** sufre un desplazamiento hacia el rojo de más de 110 nm. Al igual que en el caso del 9-NTPPo **27**, este desplazamiento es menos intenso que en la banda de mayor energía más cercana. Asimismo las dos bandas que forman el sistema Soret aparecen mejor resueltas que en ningún otro TPPo con coeficientes de absorción sustancialmente menores. Estos cambios espectrales provocan que el 9-ATPPo **28** tenga un color violáceo característico.

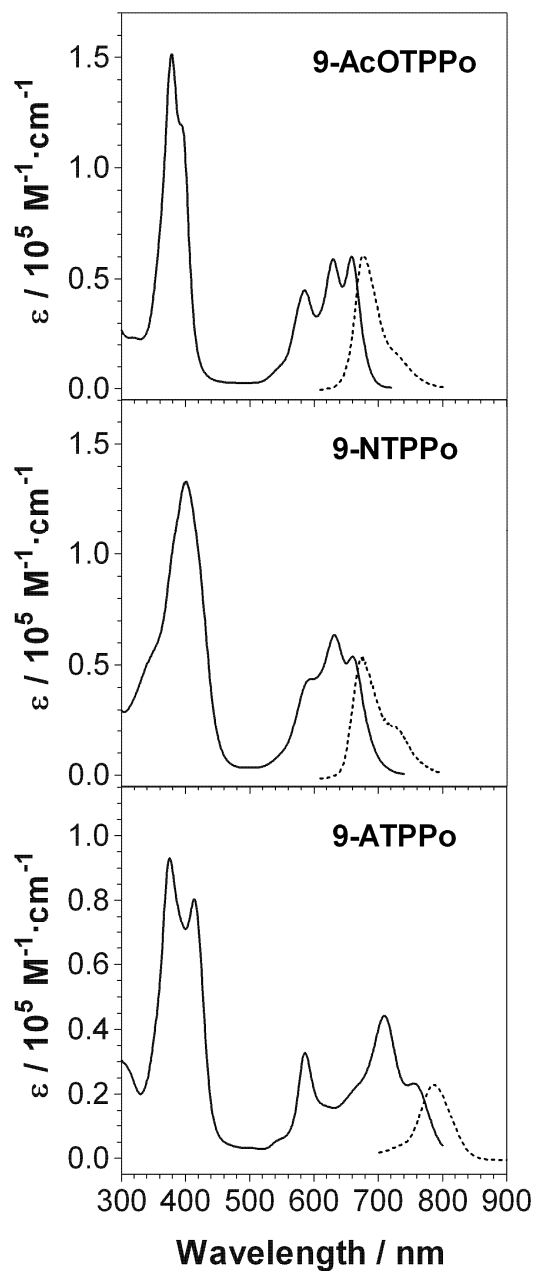


Figura 3.19: Espectros de absorción (-) y fluorescencia (---) de 9-acetoxi-, 9-nitro-, y 9-amino-TPPo.

Las perturbaciones electrónicas reveladas por el espectro de absorción también son aparentes en el comportamiento de la fluorescencia de los tres (Figura 3.19). Los rendimientos cuánticos de fluorescencia ( $\Phi_F$ ) y los tiempos de vida ( $\tau_S$ ) se recogen en la Tabla 3.17. De este modo, el 9-AcOTPPo **29** es fluorescente con un rendimiento



cuántico ligeramente superior de su predecesor sintético el TPPo **2** (R=Ph), mientras que la fluorescencia del 9-NTPPo **27** y particularmente del 9-ATPPo **28** está en gran medida inactivada. El decaimiento de la fluorescencia del 9-AcOTPPo **29** y del 9-NTPPo **27** sigue una cinética de primer orden con un tiempo de vida comparable al tiempo de vida del TPPo **2** (R=Ph). Por otro lado, el decaimiento de 9-ATPPo **28** es biexponencial y el tiempo de vida medio es substancialmente menor, 0.81 ns (Figura 3.20). No se dispone de una explicación obvia para este comportamiento.

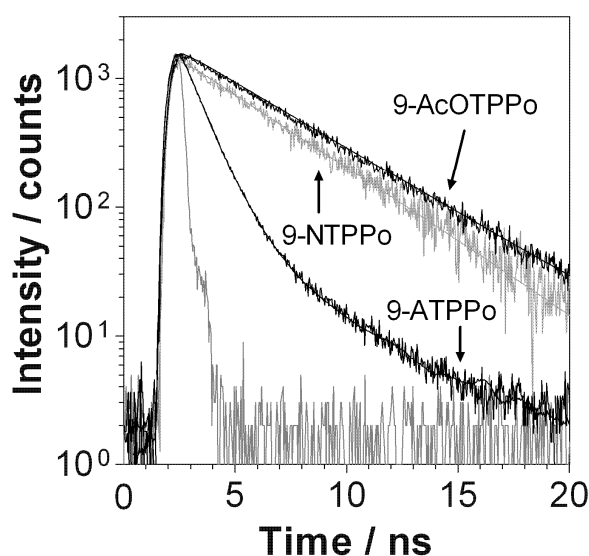


Figura 3.20: Decaimiento de la fluorescencia de 9-acetoxi-, 9-nitro-, y 9-amino-TPPo en tolueno saturado de aire. Las muestras fueron excitadas a 654 nm y la fluorescencia se observó a la emisión máxima.

Los transitorios claros de las señales observados en las muestras saturadas de argón demuestran que a pesar de los importantes cambios en el comportamiento de la fluorescencia, los tres compuestos son capaces de realizar un cruzamiento intersistémico al estado triplete (Figura 3.21). Estas transiciones fueron asignadas a la absorción triplete-triplete ya que el oxígeno pudo desactivarlas todas. El estado triplete decae con cinéticas de primer orden en las energías del laser utilizadas, y los tiempos de vida del estado triplete decrece con el siguiente orden TPPo  $\approx$  9-AcOTPPo > 9-ATPPo > 9-NTPPo (Tabla 3.17). Es importante mencionar que el efecto observado del grupo amino en el tiempo de vida del singulete no se observa en el triplete.

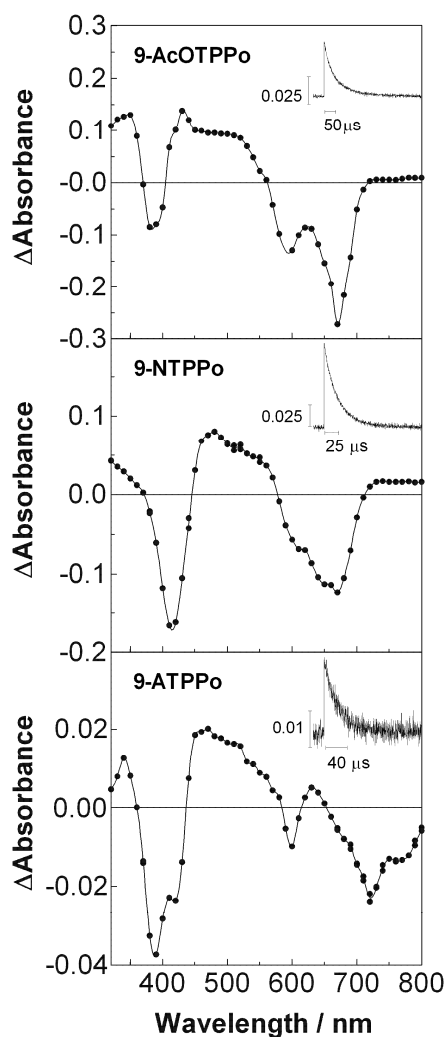


Figura 3.21: Espectros de absorción de transitorios triplete menos-singlete de 9-acetoxi-, 9-nitro-, y 9-amino-TPPo en tolueno saturado de argón. Los gráficos insertados muestran los transitorios a la longitud de onda de máxima amplitud.

Con tiempos de vida tan largos hay tiempo suficiente para que se den reacciones bimoleculares. En concreto al examinar la habilidad de los tres porfíricos de producir oxígeno singlete, se encontró en todos los casos señales respetables de fosforescencia  $O_2(^1\Delta_g)$  resuelta en el tiempo (Figura 3.22). El análisis de los datos de la fosforescencia de oxígeno singlete (ver Parte experimental) resuelta en el tiempo permite obtener los valores del tiempo de vida del triplete,  $\tau_T$ , el tiempo de vida de oxígeno singlete,  $\tau_\Delta$ , y la amplitud de la señal,  $S(0)$ , que es una medida del rendimiento cuántico de oxígeno singlete,  $\Phi_\Delta$ .

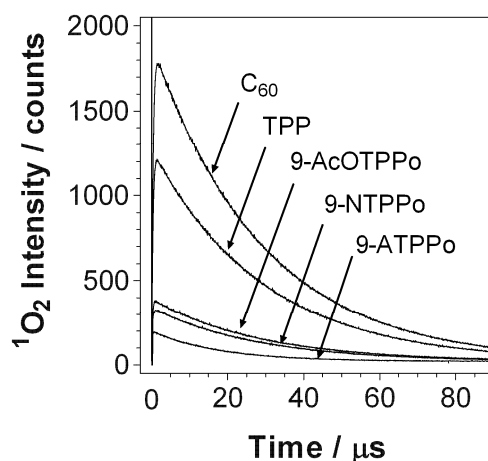


Figura 3.22: Señales de fosforescencia de oxígeno singlete para 9-acetoxi-, 9-nitro-, y 9-amino-TPPo y las referencias estándar  $C_{60}$  y TPP en tolueno saturado con aire. Las muestras fueron excitadas a 532 nm y la emisión fue observada a 1270 nm.

Los tiempos de vida de triplete se utilizaron para calcular las constantes de inactivación de oxígeno  $k_q^{O_2} = (1/\tau_T^{aire} - 1/\tau_T^{Ar})/[O_2]$ , asumiendo una concentración de oxígeno de 2.1 mM en tolueno saturado de aire. Los valores obtenidos se resumen en la Tabla 3.17 y son acordes con los obtenidos en porfirinoides típicos incluidos los porfíricos <sup>5, 27</sup>.

Se considera destacable que el 9-ATPPo muestra la constante de inactivación de oxígeno más elevada, bastante superior a las obtenidas para los otros porfíricos, lo que sugiere también efectos electrónicos particulares con este donador de electrones. Los valores de  $S_0$  fueron asimismo utilizados para obtener los rendimientos cuánticos de oxígeno singlete por comparación con  $C_{60}$  y TPPo **2** (R=Ph) como estándares. 9-AcOTPPo **29** y 9-NTPPo **27** presentaron los valores de  $\Phi_\Delta$  más elevados, sólo ligeramente inferiores que el TPPo **2** (R=Ph). Desde este punto de vista, ambos porfíricos podrían ser usados como fotosensibilizadores tipo II para la PDT. Esto confirma la validez de la estrategia de sustitución en 9 como una forma conveniente de introducir sustituyentes que modulen la solubilidad biológica de los tetrafenilporfíricos sin afectar significativamente sus propiedades fotofísicas. En contraste, la habilidad del 9-ATPPo para sensibilizar la producción de oxígeno singlete se reduce significativamente. Finalmente, los tiempos de vida de oxígeno singlete fueron usados para evaluar la habilidad del fotosensibilizador para inactivar el oxígeno singlete, bien físicamente o bien por medio de una reacción química. Todos los TPPos 9 sustituidos son mejores inactivadores de oxígeno singlete que el producto sin sustituir, el 9-ATPPo **28** mostró una constante 15 veces superior que el TPPo.

Tabla 3.17: Sumario de datos fotofísicos de 9-acetoxi-, 9-nitro-, y 9-amino-TPPo en tolueno. Se dan los valores para el TPPo como referencia.

| Compuesto  | TPPo <sup>a</sup>     | 9-AcOTPPo             | 9-NTPPo               | 9-ATPPo               |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| $\lambda_{\max}$ / nm  | 659                   | 656                   | 657                   | 763                   |
| $\varepsilon$ / M <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup>              | 5.0 x 10 <sup>4</sup> | 5.4 x 10 <sup>4</sup> | 5.6 x 10 <sup>4</sup> | 2.1 x 10 <sup>4</sup> |
| $\lambda_F$ / nm   | 667                   | 674                   | 671                   | 784                   |
| $\Phi_F$   | 0.15                  | 0.22                  | 0.033                 | 0.004                 |
| $\tau_s$ (air) / ns  | 4.8                   | 4.3                   | 3.9                   | 0.81 <sup>b</sup>     |
| $\tau_T$ (Ar) / $\mu$ s  | 51                    | 57                    | 25                    | 36                    |
| $k_q^{O_2}$ / 10 <sup>9</sup> M <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> | 2.9                   | 2.5                   | 2.0                   | 4.0                   |
| $\Phi_\Delta$  | 0.23                  | 0.19                  | 0.16                  | 0.09                  |
| $k_q^S$ / 10 <sup>7</sup> M <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup>     | 4.4                   | 8.1                   | 11                    | 61                    |

<sup>a</sup> ref. 27 <sup>b</sup> Medias ponderadas por la amplitud de los dos tiempos de vida observados (0.65 ns (75%) y 1.15 ns (25%)).

### 3.6. Resumen

Tres 2,7,12,17-tetrafenilporfíricos 9-sustituídos fueron sintetizados usando la metodología descrita por E. Vogel en una serie de patentes<sup>7-11</sup>. El 9-AcOTPPo **29** fue sintetizado usando tetraacetato de plomo en DCM y THF seco a reflujo durante 10 minutos obteniéndose el producto deseado con un 26% de rendimiento.

La síntesis del 9-NTPPo **27** se abordó usando dos metodologías diferentes desarrolladas por E. Vogel para la nitración de porfíricos en la posición *meso*. En primer lugar, se ensayó un tratamiento de TPPo **2** (R=Ph) con ácido nítrico fumante y ácido acético y se obtuvo una mezcla compleja de compuestos de color verde, probablemente porfíricos polinitrados. Una metodología alternativa, basada en el uso de nitrato de plata en ácido acético y DCM, rindió el 9-NTPPo **27** con un 20% de rendimiento. La reducción del grupo nitro a amina se consigue por tratamiento del 9-NTPPo con una solución de ditionito sódico en condiciones básicas<sup>25</sup>. Mediante esta

metodología se obtiene el 9-ATPPo con un 22% de rendimiento. Resultados óptimos se obtienen al usar CCF preparativa en vez de cromatografía de columna.

Se han investigado los efectos en las propiedades fotofísicas de la sustitución en la posición 9 de los tetrafenilporfíricos usando un aceptor de electrones, un donador de electrones y sustituyente voluminoso electroneutro como compuestos modelo. La introducción del voluminoso grupo acetoxi mejora la fluorescencia del compuesto sin inducir cambios en los procesos no radiativos, y la reducción en el rendimiento cuántico de oxígeno singlete es pequeña. Se considera que este hallazgo puede ser importante dado que en la terapia fotodinámica se usa la fluorescencia para mapear el área del tumor y evaluar la localización del fotosensibilizador. Se comunican por primera vez las propiedades ópticas y fotofísicas de un nitroporfírico. El 9-NTPPo **27** es verde contrastando con el típico color azul de los porfíricos. Mientras que es mucho menos fluorescente que el TPPo **2** (R=Ph), su rendimiento cuántico de oxígeno singlete es solo ligeramente inferior, prácticamente idéntico al 9-AcOTPPo **29**. Finalmente, se descubre que el grupo amino resulta ser el que mayores cambios induce en el espectro de absorción: un gran desplazamiento hacia el rojo en el espectro de absorción, una fluorescencia biexponencial muy débil, una constante de inactivación de oxígeno singlete elevada en el estado triplete, una baja eficiencia de producción de oxígeno singlete, y la mayor constante de inactivación de oxígeno singlete de entre los tres compuestos evaluados. Con la excepción de estos donadores de electrones, la introducción de sustituyentes en la posición 9 (*meso*) de los tetrafenilporfíricos no va en detrimento de sus propiedades fotofísicas y sus propiedades como fotosensibilizador y por lo tanto se podrían explotar para ser usados en terapia fotodinámica.

### 3.7. Bibliografía

1. Vogel, E.; Köcher, M.; Schmickler, H.; Lex, J., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 257- 259.
2. Sánchez-García, D.; Sessler, J.L., *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 215-232.
3. Richert, C.; Wessels, J.M.; Müller, M.; Kisters, M.; Benninghaus, T.; Goetz A.E., *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2797–2807.
4. Stockert, J.C.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Horobin, R.W.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Nonell, S., *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 997–1026.
5. Braslavsky, S.E.; Müller, M.; Martire, D.O.; Pörting, S.; Bertolotti, S.G.; Chakravorti, S.; Koç-Weier, G.; Knipp, B.; Schaffner, K., *J. Photochem. Photobiol., B.* **1997**, *40*, 191–198.
6. Arad, O.; Morros, J.; Batllori, X.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Borrell, J.I., *Org. Lett.* **2006**, *8*, 847.
7. Vogel, E.; Koch, P.A.; Rahbar, A.; Cross, A.D. Cytopharm, Inc. USA. 92-US364(9212636) 39. 6-8-1992. WO1-29-1992.
8. Vogel, E.; Benninghaus, T.; Richert, C.; Müller, M.; Cross, A.D., Cytopharm, Inc. USA. 92 US4624(9300087), 76. 7-1-1993. WO. 6-5-1992.
9. Vogel, E.; Müller, M.; Halpern, O.; Cross, A.D., Cytopharm, Inc. USA. 96-US4177(9631452), 30. 10-10-1996. WO. 4-4-1996.
10. Vogel, E.; Müller, M.; Halpern, O.; Cross, A.D., Cytopharm, Inc. USA. 96 US4176(9631451), 36. 10-10-1996. WO. 4-4- 1996.
11. Vogel, E.; Müller, M.; Halpern, O.; Cross, A.D., 97US17918(9815271), 62. 4-16-1998. WO. 10-9- 1997.
12. Hennig, W., *Neuartige Pyrrolische Porphyrinoide und Ihre Metallkomplexe*. Doctoral Thesis, Universität zu Köln: Köln, **1992**.
13. Nonell, S.; Bou, N.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Villanueva, A.; Juarranz, A.; Cañete, M., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3405–3408.
14. Cañete, M.; Lapeña, M.; Juarranz, A.; Vendrell, V.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Villanueva, A., *Anticancer Drug Des.* **1997**, *12*, 543–554.
15. Cañete, M.; Ortiz, A.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Nonell, S.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Stockert, J.C., *Anticancer Drug Des.* **2000**, *15*, 143–150.
16. Villanueva, A.; Cañete, M.; Nonell, S.; Borrell, J.I.; Teixidó, J., Juarranz A., *Anticancer Drug Des.* **1996**, *11*, 89–99.
17. De Pablos, A. Personal Communication **2001**.

18. Rey, O. Personal Communication **2002**.
19. Smith, M.B.; March, J., *Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms and Structure*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2001; pp 696.
20. Smith, M.B.; March, J., *Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms and Structure*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2001; pp 727.
21. Ridd, J.H.; Scriven, E.F.V., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 641.
22. White, W.N.; White, H.S.; Fentiman, A., *J. Org. Chem* **1976**, *42*, 166.
23. Görlach, B.; Dachtler, M.; Glase, T.; Albert, K.; Hanack, M. Synthesis and Separation of Structural Isomer of 2(3),9(10),16(17),23(24)-Tetrasubstituted Phtalocyanines. *Chem. Eur. J.* **2001**, *11*, 2459-2465.
24. Smith, M.B.; March, J. *Reduction of Nitro Compounds to amines. Advanced Organic Chemistry. Reactions, Mechanisms and Structure*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, **2001**; pp 1553.
25. Porter, H.K., *Org. React.* **1973**, *20*, 455.
26. Vogel, E.; Koch, P.A.; Rahbar, A.; Cross, A.D. Cytopharm, Inc. USA. 92- US364 (9212636), 39. 6-8-1992. WO. 1-29-1992.
27. Rubio, N.; Prat, F.; Bou, N.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Villanueva, A.; Juarranz, A.; Cañete, M.; Stockert, J.C.; Nonell, S., *New J. Chem.* **2005**, *29*, 378–384.









# Capítulo 4

---

## Parte experimental

Descripción detallada de las metodicas sintéticas y la metodología instrumental analítica

---



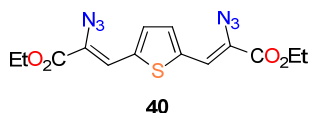
#### 4. Experimental Part

All melting points were determined with a Büchi 530 capillary apparatus and are uncorrected. Infrared spectra were recorded in a Nicolet Magna 560 FTIR spectrophotometer.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were determined in a Varian Gemini-300 operating in a field strength of 300 and 75.5 MHz, respectively. Elemental microanalyses were obtained in a Carlo-Erba CHNS-O/EA 1108. All MS were registered at the Unidade de Espectrometria de Masas (Universidade de Santiago de Compostela) using a Micromass Autospec spectrometer. MALDI-TOF experiments were realized with a Bruker Autoflex spectrometer. Flash chromatography was performed using silica gel 60 A C.C 35-70  $\mu\text{m}$  (SDS ref. 2000027 ).

## 4.1 Synthesis of 2,7,12,17 substituted porphycenes

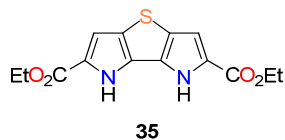
### 4.1.1 Synthesis of 2,2'-diarylsubstituted bipyrroles

#### 4.1.1.1. Bis(azido-2'-ethoxycarbonyl-2'-vinyl)-2,5-thiophene **40**



A solution of 16.2 g (0.12 mol) of 2,5-thiophenedicarboxaldehyde and 119 g (0.93 mol) of ethyl azidoacetate in 500 mL of dry absolute ethanol was added dropwise to 300 mL of a sodium ethoxide solution (21% in ethanol) at  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The resulting mixture was poured into a cold ammonium chloride solution. The yellow solid obtained was separated by filtration to give 21.1 g (50%) of **40**. The filtrate was extracted with diethyl ether, washed with water, dried ( $\text{MgSO}_4$ ), and concentrated *in vacuo* to give an extra crop of 2.4 g (4%) of **40**. Mp:  $134^{\circ}\text{C}^1$ .

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 162.6, 140.5, 131.6, 123.4, 118.3, 62.2, 14.2

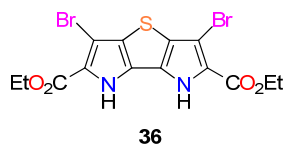
**4.1.1.2. Diethyl 4*H*,5*H*-thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **35****

32.0 g (88 mmol) of bis(azido-2'-ethoxycarbonyl-2'-vinyl)-2,5-thiophene were suspended in 1500 mL of xylene (mixture of isomers). The suspension was heated to 115 °C (nitrogen evolution) and then maintained at such temperature for 12 hours. The white solid obtained was separated by filtration, washed with hexane, and dried (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) to give 23 g (85%) of **35**. Mp: 254°C.

**IR (KBr)**  $\nu_{\text{max}}$ : 3420, 3045, 2807, 1699, 1659 cm<sup>-1</sup>

**<sup>13</sup>C NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 160.1, 126.9, 126.8, 124.4, 109.1, 60.1, 14.5

**Anal.** Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: C, 54.89; H, 4.61; N, 9.14; S, 10.47. Found: C, 55.12; H, 4.64; N, 9.19; S, 10.33.

4.1.1.3. Diethyl 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **36**

A solution of 3 mL of Br<sub>2</sub> in 45 mL of AcOH was added dropwise to a suspension of 3.0 g (9.7 mmol) of **35** in a mixture of 250 mL of AcOEt and 100 mL of AcOH. The resulting mixture was stirred for 8 h at room temp. The resulting precipitate was filtered, washed with 3x50 mL of an aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution, and dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> *in vacuo* (50 °C) to yield 4.1 g (8.7 mmol, 89%) of **36** as a white solid. Mp: > 290 (d).

**IR (KBr):**  $\nu_{\max}$ : 3417, 3327, 2924, 2853, 1686, 1649, 1375, 1230 cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 11.52 (s, 2H, NH), 4.34 (q, 4H, *J*=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.35 (t, 6H, *J*=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (100MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 158.9, 127.7, 125.2, 121.9, 96.1, 60.6, 14.3.

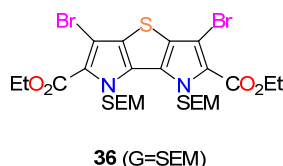
**MS (70 eV):** *m/z* = 463.6 ([M+2H]<sup>+</sup>), 419.6, 371.6, 264.7.

**HRMS:** calcd for C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, 461.8884, found 461.8892;

**Anal.** Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: C, 36.23; H, 2.61; N, 6.04; S, 6.91. Found: C, 36.11; H, 2.54; N, 5.98; S, 6.59.



#### 4.1.1.4. Diethyl 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **36** (G=SEM)



2.1 g (525 mmol) of NaH (60% in mineral oil) were added portionwise to a suspension of 11.0 g (24 mmol) of **36** (G=H) in 50 mL of anhydrous THF under Ar atmosphere. The resulting mixture was stirred for 15 min at room temp. Then, 15 mL (80 mmol) of trimethylsilylethoxymethyl chloride (SEM-Cl) were added dropwise and the resulting solution was stirred for 1 h at room temp. 100 g of crushed ice were added and the resulting mixture was stirred until a precipitate appeared. The solid was filtered, washed with MeOH until it became white, and dried (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) *in vacuo* (50 °C) to yield 13.4 g (18 mmol, 77%) of **36** (G=SEM). The mother liquor was extracted with hexane, dried with MgSO<sub>4</sub>, and concentrated *in vacuo* to yield an extra crop of 3.0 g (4 mmol, 17%) of **36** (G=SEM). Mp: 127-129°C.

**IR (KBr):**  $\nu_{\max}$  : 2952, 2902, 1705, 1382, 1319, 1228, 1088, 920, 859, 835 cm<sup>-1</sup>.

**<sup>1</sup>H NMR (300MHz CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 6.27 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.41 (q, 4H, *J*=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.51 (t, 4H, *J*=8.4Hz, O-CH<sub>2</sub>), 1.45 (t, 6H, *J*=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.83 (t, 4H, *J*=8.4 Hz, Si-CH<sub>2</sub>), -0.07 (s, 18H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 160.5, 130.7, 128.5, 123.9, 99.6, 75.0, 65.9, 61.1, 17.9, 14.4, -1.4.

**MS (ESI-TOF):** *m/z* = 747.0 ([M+Na+2H]<sup>+</sup>), 337.3, 236.1, 218.2, 163.0.

**HRMS (MALDI-TOF):** calcd for C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SSi<sub>2</sub>+Na 745.041, found 745.040.

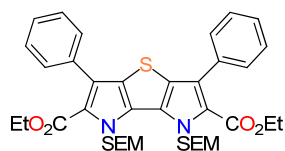
**Anal.** Calcd for C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SSi<sub>2</sub>: C, 43.09; H, 5.56; N, 3.87; S, 4.42. Found: C, 43.25; H, 5.37; N, 3.64; S, 4.21.

#### 4.1.2 Synthesis of diethyl 2,7-diaryl-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylates **37** (G=SEM)

##### General Procedure

An aqueous solution of 57 mg (412  $\mu\text{mol}$ ) of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in 1 mL of water was added to a solution of 100 mg (138  $\mu\text{mol}$ ) of **36** (G=SEM), 410  $\mu\text{mol}$  of the corresponding arylboronic acid in 60 mL of 1,4-dioxane. The resulting mixture was deoxygenated with  $\text{N}_2$  for 30 min. Then, 25 mg (22  $\mu\text{mol}$ ) of  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  were added and the resulting mixture was refluxed for 16 h under Ar atmosphere. Then, 30 mL of water were added to the cooled mixture and it was extracted with 3x50 mL of hexane. The organic extracts were dried ( $\text{MgSO}_4$ ) and concentrated *in vacuo* to afford the corresponding compound **37** (G=SEM).

#### 4.1.2.1. Diethyl 2,7-diphenyl-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (R=Ph, G=SEM)



**37** (R=Ph, G=SEM)

As above using phenylboronic acid. The residue obtained was column chromatographed using a 1:10 AcOEt/hexane mixture as eluent to give 76 mg (77%) of **37** (R=Ph, G=SEM) as a white solid. Mp: 90-92 °C.

**IR (KBr):**  $\nu_{\max}$ : 3061, 3029, 2980, 2953, 2897, 1948, 1882, 1698 1397, 1382, 1317, 1249, 1238, 1179, 1101, 1078, 860, 836, 699  $\text{cm}^{-1}$ .

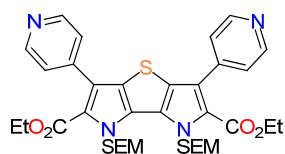
**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 7.5-7.3 (m, 10H, Ph), 6.33 (s, 4H, N- $\text{CH}_2$ ), 4,14 (q, 4H,  $J=6.9\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.61 (t, 4,  $J=8.4\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2$ ), 1.05 (t, 2H,  $J=6.9\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0.91 (t, 4H,  $J=8.4\text{ Hz}$ , Si- $\text{CH}_2$ ), -0.04 (s, 18H, Si- $(\text{CH}_3)_3$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 161.8, 134.5, 129.9, 129.2, 128.7, 127.8, 127.2, 126.8, 122.5, 74.6, 65.7, 60.5, 18.0, 13.8, -1.3.

**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  = 741.5 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 601.4, 416.5, 368.5, 288.4.

**HRMS (ESI-TOF):** calcd for  $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_6\text{SSi}_2+\text{Na}$  741.282, found 741.285.

**Anal.** Calcd for  $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_6\text{SSi}_2$ : C, 43.09; H, 5.56; N, 3.87; S, 4.42. Found: C, 43.25; H, 5.37; N, 3.64; S, 4.21.

**4.1.2.2. Diethyl 2,7-di(pyridin-4-yl)-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno [3,2-*b*,4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (R=4-pyridyl, G=SEM)****37** (R=4-piridilo, G=SEM)

As above using (pyridin-4-yl)boronic acid. The residue obtained was crystallized from water/EtOH to give 95 mg (95%) of **37** (R=4-pyridyl, G=SEM) as a white solid. Mp: 128-130 °C.

**IR (KBr):**  $\nu_{\max}$  3069, 3030, 2980, 2953, 2897, 1937, 1702, 1601, 1397, 1382, 1317, 1241, 1182, 1102, 1077, 860, 834,  $\text{cm}^{-1}$ .

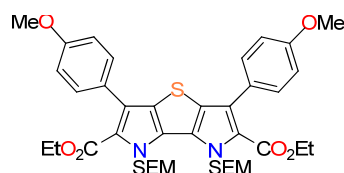
**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 8.65 (dd,  $J=1.7\text{Hz}$ ,  $J=4.5\text{Hz}$ , 4H, CH(Py)), 7.40 (dd,  $J=1.7\text{Hz}$ ,  $J=4.5\text{Hz}$ , 4H, CH(Py)), 6.34 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.21 (q, 4H,  $J=7.1\text{Hz}$ , O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.61 (m, 4H, O-CH<sub>2</sub>), 1.10 (t, 2H,  $J=7.2\text{Hz}$ , O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.91 (m, 4H, Si-CH<sub>2</sub>), -0.04 (s, 18H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 161.2, 149.4, 142.6, 129.1, 128.7, 124.0, 123.5, 123.1, 74.7, 65.9, 61.0, 18.0, 13.8, -1.4.

**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  = 721.5 ( $[\text{M}]^+$ ), 681.5, 642.4, 591.4, 524.3, 448.3.

**Anal.** Calcd for  $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_6\text{SSi}_2$ : C, 59.97; H, 6.71; N, 7.77; S, 4.45. Found: C, 60.13; H, 6.84; N, 7.66; S, 4.45.

#### 4.1.2.3. Diethyl 2,7-di(*p*-methoxyphenyl)-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-thieno[3,2-*b*,4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)



**37** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)

As above using *p*-methoxyphenylboronic acid. The residue obtained was column chromatographed using a 1:10 AcOEt/hexane mixture as eluent, and then crystallized from MeOH to give 138 mg (100%) of **37** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) as a white solid. Mp: 77-79 °C.

**IR (KBr):**  $\nu_{\max}$  3035, 2986, 2958, 2898, 2860, 2838, 1703, 1686, 1381, 1242, 1079, 833, 777  $\text{cm}^{-1}$ .

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 7.42 (dd,  $J=2.1\text{Hz}$ ,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H, CH(Ar)), 6.92 (dd,  $J=2.1\text{Hz}$ ,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H, CH(Ar)), 6.30 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.19 (q, 4H,  $J=7.2\text{Hz}$ , O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.59 (m, 4H, O-CH<sub>2</sub>), 1.11 (t, 2H,  $J=7.2\text{Hz}$ , O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.91 (m, 4H, Si-CH<sub>2</sub>), -0.05 (s, 18H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

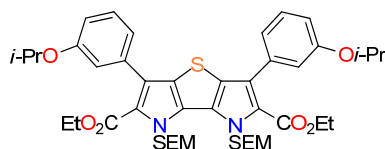
**$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 161.9, 158.7, 130.4, 130.0, 128.8, 126.8, 126.6, 122.3, 113.3, 74.7, 65.6, 60.4, 55.3, 18.0, 14.0, -1.3.

**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  = 801.3 ( $[\text{M}]^+$ ), 671.2, 456.2, 337.2, 301.1, 236.0.

**HRMS (MALDI-TOF):** calcd for C<sub>40</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>SSi<sub>2</sub>+Na 801.303, found 801.303.

**Anal.** Calcd for C<sub>40</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>SSi<sub>2</sub>: C, 61.66; H, 6.99; N, 3.60; S, 4.12. Found: C, 61.83; H, 7.09; N, 3.40; S, 4.54.

**4.1.2.4. Synthesis of diethyl 2,7-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilyl-ethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)**



**37** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)

An aqueous solution of 1.14 g (8.24 mmol) of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 4 mL of water was added to a solution of 2 g (2.76 mmol) of **36** (G=SEM) and 1.48 g (8.23 mmol) of *m*-isopropoxyphenylboronic acid in 150 mL of 1,4-dioxane. The resulting mixture was deoxygenated with N<sub>2</sub> for 30 min. Then, 500 mg (440 μmol) of Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> were added and the resulting mixture was refluxed for 16 h under Ar atmosphere. Then, 75 mL of water were added to the cooled mixture and it was extracted with 3x50 mL of hexane. The organic extracts were dried (MgSO<sub>4</sub>) and concentrated *in vacuo* to afford compound **37** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM) (59%).

**IR** (film evap. CHCl<sub>3</sub>) ν<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>): 3060, 2977, 2953, 2930, 2900, 2869, 1698, 1381, 1287, 1248, 1152, 1118, 1075, 835, 722, 694

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 7.26 (t, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, C-H Ph), 7.01 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, C-H Ph), 7.00 (s, 2H, C-H Ph), 6.85 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, C-H Ph), 6.30 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>-O (SEM)), 4.55 (mult, 2H, <sup>3</sup>J=6Hz, CH iPr), 4.17 (q, 4H, <sup>3</sup>J=7.2Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.59 (t, 4H, <sup>3</sup>J=8Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Si (SEM)), 1.34 (d, 12H, <sup>3</sup>J=6Hz, CH<sub>3</sub> iPr), 1.07 (t, 6H, <sup>3</sup>J=7.2Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.89 (t, 4H, <sup>3</sup>J=8Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Si (SEM)), -0.05 (s, 18H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (SEM))

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 162.2, 157.7, 136.0, 132.3, 129.0, 128.6, 126.9, 122.8, 121.8, 116.8, 115.1, 74.8, 69.9, 65.8, 60.6, 22.3, 18.0, 13.8, -1.3

**MS** (ESI-TOF): m/z = 834.3 ([M+Na]<sup>+</sup>), 689.2, 601.2, 279.1

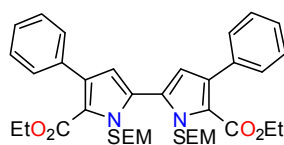
**HRMS** (FAB): Calcd for C<sub>44</sub>H<sub>62</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>SSi<sub>2</sub>+Na 834.3765, found 834.3068

### 4.1.3. Synthesis of diethyl 4,4'-diaryl-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylates (**12**)

#### General Procedure

0.13 mmol of the corresponding diethyl 2,7-diaryl-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (G=SEM) were added to a suspension of 0,5 g of Raney Nickel (caution pyrophoric) in 25 mL of deoxygenated EtOH. The Raney Nickel was previously washed with deoxygenated EtOH. The mixture was heated at reflux for 4 hours. The resulting suspension was filtered on Celite<sup>®</sup>, the residue was washed with acetone and the combined organic solvent was concentrated *in vacuo* to give the corresponding compound **12**.

#### 4.1.3.1. Diethyl 4,4'-diphenyl-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-5,5'-dicarboxylate **12** (R=Ph, G=SEM)



**12** (R=Ph, G=SEM)

As above using diethyl 2,7-diphenyl-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (R=Ph, G=SEM). The crude material obtained was crystallized from water/EtOH (1:9) to give 90 mg (100%) of **12** (R=Ph, G=SEM) as a white solid. Mp: 101-103 °C.

**IR (KBr):**  $\nu_{\max}$  3058, 3030, 2953, 2926, 2898, 1944, 1875, 1802, 1670, 1416, 1239, 1098, 1078, 836, 762, 698  $\text{cm}^{-1}$ .

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 7.41-7.29 (m, 10H, Ph), 6.50 (s, 2H,  $\text{C}_{\text{pyrrole-H}}$ ), 5.57 (s, 4H, N- $\text{CH}_2$ ), 4.15 (q, 4H,  $J=6.0\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.41 (m, 4H, O- $\text{CH}_2$ ), 1.06 (t, 6H,  $J=6.0\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0.86 (m, 4H,  $J=8.4\text{Hz}$ , Si- $\text{CH}_2$ ), -0.062 (s, 18H, Si-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 161.5, 135.9, 133.6, 129.3, 129.1, 127.5, 126.7, 115.0, 74.3, 65.7, 60.3, 55.3, 18.0, 13.8, -1.4.

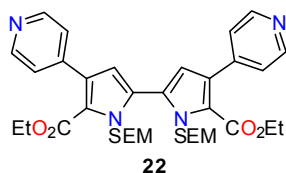
**MS (ESI-TOF):**  $m/z$  = 711.3 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 635.3, 543.2.

**HRMS (ESI-TOF):** calcd for  $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}_2+\text{Na}$  711.326, found 711.324.

**Anal.** Calcd for  $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_6\text{SSi}_2$ : C, 66.24; H, 7.61; N, 4.07. Found: C, 66.66; H, 7.86; N, 4.04.



#### 4.1.3.2. Diethyl 4,4'-(di(pyridin-4-yl))-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (R=4-pyridyl, G=SEM)



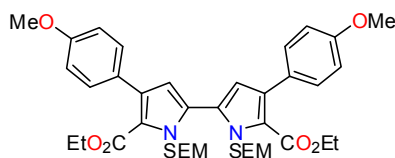
As above using diethyl 2,7-di(pyridin-4-yl)-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate (**37** (R=4-pyridyl, G=SEM)). The crude material obtained was treated with acetic acid, extracted with AcOEt and neutralized with sodium carbonate, dried (MgSO<sub>4</sub>) and evaporated *in vacuo* to give 125 mg (100%) of **12** (R=4-pyridyl, G=SEM) as a white solid. Mp: 144-145 °C.

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 8.61 (d, 4H, *J*=5.7 Hz, Py), 7.33 (d, 4H, *J*=5.7Hz, Py), 6.55 (s, 2H, C<sub>pyrrole</sub>-H), 5.58 (s, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 4.20 (q, 4H, *J*=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.50 (m, 4H, O-CH<sub>2</sub>), 1.12 (t, 6H, *J*=7.2 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.87 (m, 4H, Si-CH<sub>2</sub>), -0.05 (s, 18H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 161.0, 149.0, 143.9, 130.5, 129.1, 124.2, 121.2, 114.6, 113.0, 74.3, 66.0, 60.0, 18.1, 13.8, -1.4.

**MS (MALDI-TOF):** *m/z*= 691.3 ([M+H]<sup>+</sup>)

**HRMS (MALDI-TOF):** calcd for C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>2</sub>+H 691.335, found 691.334.

**4.1.3.3. Diethyl 4,4'-(*p*-methoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)****12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)

As above using diethyl 2,7-di(*p*-methoxyphenyl)-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (R=*p*-MeOPh, G=SEM). The crude material obtained was washed with water and dried (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) to give 92 mg (94%) of **12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) as a white solid. Mp: 77-78 °C.

**IR (KBr):**  $\nu_{\text{max}}$  2952, 2900, 2835, 1697, 1501, 1247, 836 cm<sup>-1</sup>.

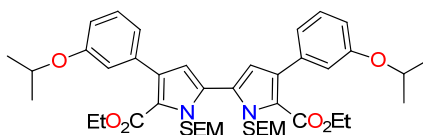
**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 7.35 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H, Ph), 6.90 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H, Ph), 6.46 (s, 2H, C<sub>pyrrole</sub>-H), 5.57 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.19 (q, 4H, *J*=6.0Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.85 (s, 6H, O-CH<sub>3</sub>), 3.46 (m, 4H, O-CH<sub>2</sub>), 1.13 (t, 6H, *J*=6.0 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.86 (m, 4H, *J*=8.4 Hz, Si-CH<sub>2</sub>), -0.05 (s, 18H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 161.5, 158.5, 133.3, 130.4, 129.2, 128.3, 120.4, 115.0, 113.0, 74.3, 65.7, 60.2, 55.3, 18.0, 14.0, -1.4.

**MS (ESI-TOF):** *m/z* = 771.6 ([M+Na]<sup>+</sup>), 701.6, 631.5, 603.4.

**HRMS (ESI):** calcd for C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>Si<sub>2</sub>+Na 771.347, found 771.344.

**4.1.3.4. Diethyl 2,7-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-1,1'- trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)**



**12** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)

As above using diethyl 2,7-di(*m*-isopropoxyphenyl)-4*H*,5*H*-bis(trimethylsilylethoxymethyl)thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate **37** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM). The crude material obtained was washed with water and dried (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) to give 92 mg (86%) of **12** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM) as a white solid.

**IR** (film evap. CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3065, 2978, 2953, 2899, 2869, 1699, 1413, 1283, 1240, 1120, 1098, 1079, 859, 836, 778, 694.

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 7.24 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 8Hz, C-H Ph), 6.96 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8Hz, C-H Ph), 6.95 (s, 2H, C-H Ph), 6.84 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8Hz, C-H Ph), 6.49 (s, 2H, C-H pyrrole), 5.56 (s, 4H, NCH<sub>2</sub>-O (SEM)), 4.56 (mult, 2H, <sup>3</sup>J = 6.4Hz, CH iPr), 4.17 (q, 4H, <sup>3</sup>J = 7.2Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.46 (t, 4H, <sup>3</sup>J = 8Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Si (SEM)), 1.34 (d, 12H, <sup>3</sup>J = 6.4Hz, CH<sub>3</sub> iPr), 1.09 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 7.2Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.86 (t, 4H, <sup>3</sup>J = 8Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Si (SEM)), -0.05 (s, 18H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (SEM))

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 161.8, 157.4, 137.5, 133.6, 129.3, 128.6, 121.9, 120.9, 117.3, 115.1, 114.5, 74.4, 69.9, 65.8, 60.4, 22.3, 18.1, 13.9, -1.4

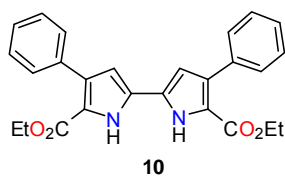
**MS** (ESI-TOF): m/z = 804.3 ([M+Na]<sup>+</sup>), 659.3, 541.2, 469.2, 369.1

**HRMS** (FAB): Calcd for C<sub>44</sub>H<sub>64</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>Si<sub>2</sub>+Na 804.4201, found 804.3163

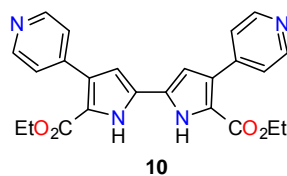
#### 4.1.4. Synthesis of diethyl 4,4'-diaryl-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylates (**12** (G=H))

##### General Procedure

A solution of the corresponding diethyl 4,4'-diaryl-1,1'-bis(trimethylsilylethoxy-methyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (G=SEM) (770  $\mu\text{mol}$ ) in 10 mL of dry 1,4-dioxane containing 0.8 mL (380  $\mu\text{mol}$ ) of ethylenediamine was heated at reflux and then 32 mL (168  $\mu\text{mol}$ ) of tetrabutylammonium fluoride (TBAF) (1M in THF) were added dropwise. The evolution of the reaction was monitored by TLC (24-48 h). The resulting mixture was poured into water and extracted with AcOEt (3 x 25 mL). The organic extracts were dried ( $\text{MgSO}_4$ ) and concentrated *in vacuo* to give the corresponding compound **12** (G=H).

**4.1.4.1. Diethyl 4,4'-diphenyl-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (R=Ph, G=H)**

As above using diethyl 4,4'-diphenyl-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-5,5'-dicarboxylate (**12** (R=Ph, G=SEM)). The crude material obtained was recrystallized from MeOH to give 424 mg (80%) of **12** (R=Ph, G=H) as a white solid. Mp: 265 °C(d)<sup>2</sup>.

**4.1.4.2. Diethyl 4,4'-di(pyridin-4-yl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (R=4-pyridyl, G=H)**

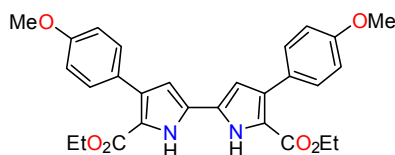
As above using 4,4'-(di(pyridin-4-yl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate (**12** (R=4-pyridyl, G=SEM)). The crude material obtained was washed with pentane and with MeOH yielding 295 mg (89%) of **12** (R=4-pyridyl, G=H) as a white solid. Mp: 275 °C(d).

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 12.32 (s, 2H, NH), 8.63 (d, *J* = 5.8 Hz, 4H, Py), 7.61 (d, *J* = 5.8 Hz, 4H, Ph), 7.04 (d, 2H, *J* = 2.0 Hz, C<sub>pyrrole</sub>-H), 4.27 (q, 4H, *J*=7.0Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.24 (t, 6H, *J*=7.0 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 160.2, 149.1, 142.5, 129.2, 127.8, 124.1, 118.6, 110.5, 60.4, 14.4.

**MS (ESI-TOF):** *m/z* = 437.3 ([M+Li]<sup>+</sup>), 316.4, 288.4, 158.1.

**HRMS (ESI-TOF):** calcd for C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 431.171, found 431.173.

**4.1.4.3. Diethyl 4,4'-(*p*-methoxyphenyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (R=*p*-MeOPh, G=H)****12** (R=*p*-MeOPh, G=H)

As above using diethyl 4,4'-(*p*-methoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate **12** (R=*p*-MeOPh, G=SEM). The crude material obtained was column chromatographed using a 1:2 AcOEt/hexane mixture as eluent to give 342 mg (91%) of **12** (R=*p*-MeOPh, G=H) as a white solid. Mp: 245 °C(d).

**<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 9.44 (s, 2H, NH), 7.52 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H, Ph), 6.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 4H, Ph), 6.53 (d, 2H, *J* = 3.0 Hz, C<sub>pyrrole</sub>-H), 4.27 (q, 4H, *J*=7.1Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.28 (t, 6H, *J*=7.1 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 160.2, 158.1, 131.9, 130.3, 127.5, 127.0, 117.1, 112.1, 110.0, 59.6, 55.0, 14.3.

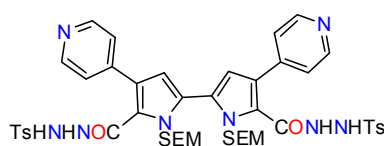
**MS (MALDI-TOF):** *m/z* = 489.6 ([M+H]<sup>+</sup>)

**Anal.** Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 68.84; H, 5.78; N, 5.73. Found: C, 68.69; H, 6.00; N, 5.55.

**HRMS (ESI-TOF):** Calcd per C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 431.171, found 431.171

#### 4.1.2. Synthesis of 2,7,12,17-tetraaryl-substituted porphycenes

##### 4.1.2.1. N',N''-(4,4'-di(pyridin-4-yl)-1,1'-bis((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*,1'*H*-[2,2'-bipyrrole]-5,5'-dicarbonyl)bis(4-methylbenzenesulfonohydrazide) **45** (R=4-pyridyl, G=SEM)



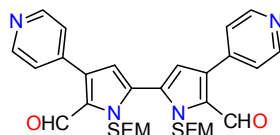
**45** (R=4-piridilo, G=SEM)

A suspension of hydrazine hydrate 80% (1.5 ml), ethanol (3 ml) and **12** (R=4-pyridyl, G=SEM) (100 mg, 145  $\mu$ mol) was refluxed for 48 h, cooled to room temperature, filtered, washed with water and dried. The resulting yellowish solid was dissolved in 2 mL of dry pyridine with 59 mg of *p*-toluenesulfonyl chloride. The mixture was stirred 40 minutes at room temperature and then poured into ice/water. The precipitate was filtered, washed with water and dried. 116 mg (89%) of **45** (R=4-pyridyl, G=SEM) were obtained.

**$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 8.49 (d, 4H,  $J=5.7$  Hz, Py), 7.81 (d, 4H,  $J=5.7$  Hz, Py), 7.38-7.35 (m, 8H, Ts), 6.71 (s, 2H,  $\text{C}_{\text{pyrrole-H}}$ ), 5.30 (s, 4H, N- $\text{CH}_2$ ), 3.50 (m, 4H, O- $\text{CH}_2$ ), 2.41 (s, 6H Ph $\text{CH}_3$ ), 0.8 (m, 4H, Si- $\text{CH}_2$ ), -0.05 (s, 18H, Si-( $\text{CH}_3$ ) $_3$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 159.3, 149.3, 144.6, 141.6, 134.4, 129.5, 128.3, 127.3, 127.2, 123.5, 123.2, 113.8, 74.0, 66.4, 21.8, 18.1, -1.4.

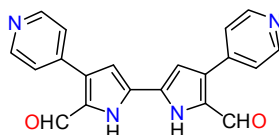


**4.1.2.2. 4,4'-di(pyridin-4-yl)-1,1'-bis((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H,1'H-[2,2'-bipyrrole]-5,5'-dicarbaldehyde****18** (R=4-piridilo, G=SEM)

A mixture of **45** (R=4-pyridyl, G=SEM) (100 mg, 103  $\mu\text{mol}$ ), anhydrous sodium carbonate (200 mg) and dry ethanol (3 mL) was irradiated in a microwave oven under nitrogen at 170°C for 1 min. The warm reaction mixture was poured into ice-water and extracted with DCM. The organic extracts were washed with water and dried over magnesium sulphate. The solvent was removed *in vacuo* to yield 62 mg (100%) of **18** (R=4-pyridyl, G=SEM) was obtained.

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 9.77 (s, 2H, CHO), 8.67 (d, 4H,  $J=5.7$  Hz, Py), 7.40 (d, 4H,  $J=5.7$ Hz, Py), 6.91 (s, 2H,  $\text{C}_{\text{pyrrole-H}}$ ), 5.74 (s, 4H, N- $\text{CH}_2$ ), 3.68 (m, 4H, O- $\text{CH}_2$ ), 0.91 (m, 4H, Si- $\text{CH}_2$ ), -0.04 (s, 18H, Si-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>).

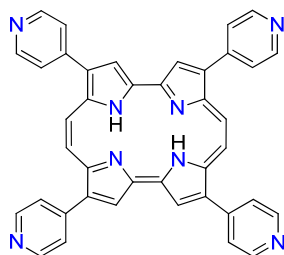
**$^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 179.9, 149.9, 140.8, 136.6, 131.2, 128.8, 124.2, 114.8, 74.0, 66.4, 18.2, -1.3.

**4.1.2.3. 4,4'-di(pyridin-4-yl)-1*H*,1'*H*-[2,2'-bipyrrole]-5,5'-dicarbaldehide **18** (R=4-pyridyl, G=SEM)****18** (R=4-piridilo, G=H)

To a stirred solution of 43 mg of compound **18** (R=4-pyridyl, G=SEM) in dichloromethane (5mL) cooled to 0 °C was added slowly boron trifluoride etherate (90  $\mu$ L). The resulting solution was brought to room temperature and stirred for 2 h. Sodium bicarbonate solution (10%) was added and the mixture was stirred for 1 h. The organic phase was extracted (AcOEt) and evaporated *in vacuo*. Acetonitrile and 3 equivalents of Triton B were added, and the solution was stirred at reflux temperature for 6.5 h. The resulting precipitate was recrystallized from a mixture of hexanes /EtOH to give the unprotected dialdehyde **18** (R=4-pyridyl, G=H) (100%).

**$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 12.40 (s, 2H, NH), 9.70 (s, 2H, CHO), 8.60 (d, 4H,  $J=5.7$  Hz, Py), 7.90 (d, 4H,  $J=5.7$ Hz, Py), 6.80 (s, 2H,  $\text{C}_{\text{pyrrole-H}}$ ).

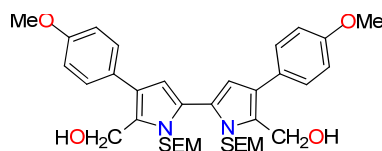
#### 4.1.2.4. Attempted synthesis of 2,7,12,17-tetrakis(*p*-pyridyl)porphycene **2** (R=4-pyridyl)



**2** (R=4-piridilo)

Activated Zn (350 mg) and CuCl<sub>2</sub> (50 mg) were suspended in dry THF (20 mL), TiCl<sub>4</sub> (250 μL) added dropwise under Ar atmosphere and the resulting mixture heated at reflux for 3h. A solution of 5,5'-diformil-4,4'-bis(4-pyridyl)-2,2'-bipyrrole **18** (R=4-pyridyl, G=H) (31 mg) in dry THF (100 mL) was added dropwise and the reaction mixture stirred at reflux for 3 min. Finally, the resulting product was hydrolyzed with 410 mL of 10% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solution and worked up: the solvent was removed under reduced pressure.

#### 4.1.2.5. Synthesis of 5,5'-dihydroxymethyl-4,4'-bis(*p*-methoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole **44** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)

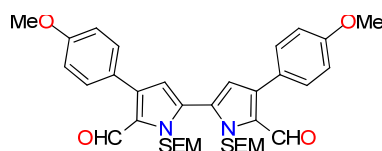


**44** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)

10 mL of LiAlH<sub>4</sub> (1 M in THF) was added dropwise to a suspension of 2.5 g (334 mmol) of the diethyl 4,4'-bis(*p*-methoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-5,5'-dicarboxylate **12** (R= *p*-MeOPh, G=SEM) in 20 mL of dry deoxygenated 1,4-dioxane with an ice bath. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, then heated under reflux for 8 h. The reaction was quenched with 100 mL of NaOH 2 M and the product was extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with Brine, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. Purification of the residue by chromatography on silica gel (hexane/ethyl acetate, 1:1) and further recrystallization with pentane yielded the alcohol **44** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) (99%) as a yellow solid.

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 7.44 (d, 4H, <sup>3</sup>J=8Hz, C-H Ph), 6.95 (s, 4H, C-H Ph), 6.36 (s, 2H, C-H pyrrole), 5.3 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>-O (SEM)), 4.73 (s, 4H, CH<sub>2</sub>OH), 3.84 (s, 6H, MeO), 3.47 (t, 4H, <sup>3</sup>J=8Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Si (SEM)), 0.89 (t, 4H, <sup>3</sup>J=8Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Si (SEM)), -0.03 (s, 18H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (SEM)).

#### 4.1.2.6. Synthesis of 4,4'-bis(4-methoxyphenyl)-1,1'-bis((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*,1'*H*-[2,2'-bipyrrole]-5,5'-dicarbaldehyde **18** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)



**18** (R=*p*-MeOPh, G=SEM)

222 mg de  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$  were added in one portion to a stirred solution of 2.2 g of the 5,5'-dihydroxymethyl-4,4'-bis(*p*-methoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole and 2.8 g (8 eq.) of *N*-methylmorpholine-*N*-oxide in 200 mL of dry acetone. The resulting mixture was stirred at room temperature for 24 h. The reaction was monitored by TLC (hexane/ethyl acetate, 2:1) and Brady's test for the detection of aldehydes was made over the TLC. The resulting suspension was filtered on Celite<sup>®</sup> and concentrated under reduced pressure. The mixture was poured into water, filtrated, washed and dried over magnesium sulphate. The combined organic solvent was concentrated *in vacuo* and the resulting solid was purified by Dry-Column Flash Chromatography to give the corresponding compound **18** (96%) as a yellow solid.

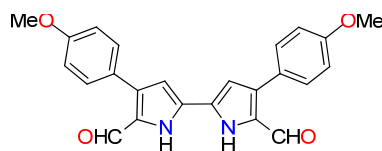
**IR (film evap.  $\text{CHCl}_3$ )**  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2946, 2929, 2893, 2849, 1668, 1611, 1501, 1436, 1265, 1181, 1074, 860, 830, 775

**$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 9.76 (s, 2H, CHO), 7.34 (d, 2H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ , C-H Ph), 7.00 (d, 2H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ , C-H Ph), 7.00 (s, 2H, C-H Ph), 6.80 (s, 2H, C-H pyrrole), 5.77 (s, 4H, N- $\text{CH}_2$ -O (SEM)), 3.89 (s, 6H, MeO), 3.70 (t, 4H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -Si (SEM)), 0.96 (t, 4H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -Si (SEM)), 0.00 (s, 18H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$  (SEM))

**$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 180.7, 159.5, 140.1, 131.5, 128.4, 125.4, 114.7, 114.0, 73.9, 66.0, 55.4, 18.2, -1.3

**Anal.** Calcd for  $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}_2$ : C, 65.42; H, 7.32; N, 4.24. Found: C, 65.29; H, 7.29; N, 4.33.

#### 4.1.2.7. Synthesis of 5,5'-diformil-4,4'-bis(*p*-methoxyphenyl)-2,2'-bipyrrole **18** (R=*p*-MeOPh, G=H)



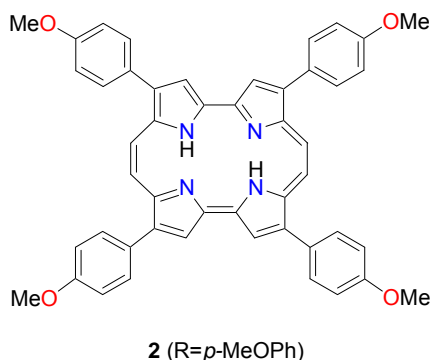
**18** (R=*p*-MeOPh, G=H)

To a stirred solution of 500 mg of compound **18** (R=*p*-MeOPh, G=SEM) in dichloromethane (20mL) cooled to 0 °C was added slowly boron trifluoride etherate (0.67 mL). The solution was left to come to room temperature after which time stirring was continued for 2 h. Sodium bicarbonate solution (10%) was added and the mixture was stirred for 1 h. The organic phase was extracted (AcOEt) and evaporated *in vacuo*. Acetonitrile (70mL) and TMAOH (3 equivalents) were added, and the solution was stirred at reflux temperature for 16 h. The solution was poured into water and extracted with AcOEt. The extract was washed twice with water, dried (MgSO<sub>4</sub>) and evaporated *in vacuo*. The crude was recrystallized with MeOH to give the unprotected dialdehyde **18** (R= *p*-MeOPh, G=H) (50%).

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 12.34 (s, 2H, NH), 9.58 (s, 2H, CHO), 7.54 (d, 4H, <sup>3</sup>J =8Hz, C-H Ph), 7.12 (s, 2H, C-H pyrrole), 7.08 (d, 4H, <sup>3</sup>J =8Hz, C-H Ph), 3.81 (s, 6H, MeO).

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 178.5, 159.1, 136.4, 130.1, 128.7, 125.5, 114.4, 110.1, 55.4

#### 4.1.2.8. Synthesis of 2,7,12,17-tetrakis(*p*-methoxyphenyl)porphycene **2** (R=*p*-MeOPh)

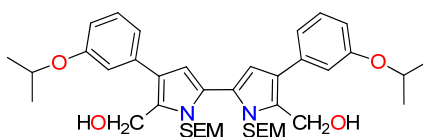


Activated Zn (2.47 g, 0.038 mol) and CuCl<sub>2</sub> (0.38 g, 3.8 mmol) were suspended in dry THF (150 mL), TiCl<sub>4</sub> (2.1 mL, 0.019 mol) added dropwise under Ar atmosphere and the resulting mixture heated at reflux for 3h. A solution of 5,5'-diformil-4,4'-bis(*p*-methoxyphenyl)-2,2'-bipyrrole **18** (R=*p*-MeOPh, G=H) (360.5 mg, 0.8 mmol) in dry THF (50mL) was added dropwise and the reaction mixture stirred at reflux for 3 min. Finally, the resulting product was hydrolyzed with 410 mL of 10% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solution and worked up: the solvent was removed under reduced pressure and the resulting product was chromatographed in silica gel (Hexane/Dichloromethane, 1:3). After removing the solvent under reduced pressure porphycenes **2** (R=*p*-MeOPh) was obtained (10%).

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 9.98 (s, 4H), 9.69 (s, 4H), 7.36 (d, 8H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 6.51 (d, 8H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 3.78 (s, 12H, OCH<sub>3</sub>).

**HRMS (FAB):** Calcd for C<sub>48</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 734.2893, found 734.2892

#### 4.1.2.9. Synthesis of 5,5'-dihidroxymethyl-4,4'-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole **44** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)



**44** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)

1 mL of LiAlH<sub>4</sub> (1 M in THF) was added dropwise to a suspension of 250 mg (310.8 μmol) of the diethyl 4,4'-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole-5,5'-dicarboxylate **12** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM) in 5 mL of dry deoxygenated 1,4-dioxane with an ice bath. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, than heated under reflux for 1 h. The reaction was quenched with 10 mL of NaOH 2 M and the product was extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with Brine, dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. Purification of the residue by chromatography on silica gel (hexane/ethyl acetate, 2:1) and further recrystallization with pentane yielded the alcohol **44** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM) (100%) as a yellow solid.

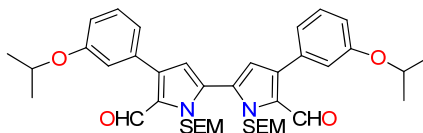
IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3473, 2954, 2925, 2856, 1602, 1251, 1066, 862, 836, 702

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 7.30 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 8Hz, C-H Ph), 7.07 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8Hz, C-HPh), 7.07 (s, 2H, C-H Ph), 6.83 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8Hz, C-H Ph), 6.40 (s, 2H, C-H pyrrole), 5.26 (s, 4H, NCH<sub>2</sub>-O (SEM)), 4.76 (d, 4H, <sup>3</sup>J = 6Hz, CH<sub>2</sub>OH), 4.60 (mult, 2H, <sup>3</sup>J = 6Hz, CH iPr), 4,12 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 6Hz), 3.47 (t, 4H, <sup>3</sup>J = 8Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-Si (SEM)), 1.36 (d, 12H, <sup>3</sup>J = 6Hz, CH<sub>3</sub> iPr), 0.90 (t, 4H, <sup>3</sup>J = 8Hz, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si (SEM)), -0.03 (s, 18H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (SEM))

<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 158.1, 136.9, 130.0, 129.5, 125.7, 124.8, 120.6, 115.7, 113.9, 111.9, 73.4, 69.8, 65.9, 54.8, 22.1, 18.0, -1.5.



#### 4.1.2.10. Synthesis of 5,5'-diformyl-4,4'-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole **18** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)



**18** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM)

121 mg (0.121 mmol) de  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$  were added in one portion to a stirred solution of 1.295 g (1.797 mmol) of the 5,5'-dihidroxymethyl-4,4'-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-2,2'-bipyrrole **44** and 1.52 g (13.0 mmol) of *N*-methylmorpholine-*N*-oxide in 5 mL of dry acetone. The resulting mixture was stirred at room temperature for 24 h. The reaction was monitored by TLC (hexane/ethyl acetate, 2:1) and Brady's test for the detection of aldehydes was made over the TLC. The resulting suspension was filtered on Celite<sup>®</sup> and concentrated under reduced pressure. The mixture was poured into water, filtrated, washed and dried over  $\text{MgSO}_4$ . The combined organic solvent was concentrated *in vacuo* and the resulting solid was purified with a dry-column Flash Chromatography to give the corresponding compound **18** (74%) as a yellow solid.

**IR (film evap.  $\text{CHCl}_3$ )**  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2976, 2953, 2896, 1655, 1605, 1453, 1249, 1077, 860, 837, 779, 698

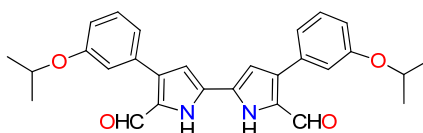
**$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 9.76 (s, 2H, CHO), 7.34 (t, 2H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ , C-H Ph), 7.00 (d, 2H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ , CH Ph), 7.00 (s, 2H, CH Ph), 6.94 (d, 2H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ , CH Ph), 6.40 (s, 2H, CH pyrrole), 5.74 (s, 4H,  $\text{NCH}_2\text{O}$  (SEM)), 4.60 (mult, 2H,  $^3\text{J} = 6\text{Hz}$ , CH iPr), 3.66 (t, 4H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Si}$  (SEM)), 1.37 (d, 12H,  $^3\text{J} = 6\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3$  iPr), 0.93 (t, 4H,  $^3\text{J} = 8\text{Hz}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Si}$  (SEM)), -0.03 (s, 18H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$  (SEM))

**$^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 181.0, 156.0, 140.3, 134.4, 131.4, 129.6, 128.6, 122.0, 117.3, 115.3, 114.9, 73.9, 70.0, 66.0, 22.0, 18.1, -1.4

**MS (ESI-TOF):**  $m/z = 717.4$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 571.3, 309.0, 231.0

**HRMS (FAB):** Calcd for  $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}_2+\text{Na}$  717.0534, found 717.3753

#### 4.1.2.11. Synthesis of 4,4'-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-2,2'-bipyrrole 5,5'-dicarboxaldehyde **18** (R=*m*-iPrOPh, G=H)



**18** (R=*m*-iPrOPh, G=H)

To a stirred solution compound **18** (R=*m*-iPrOPh, G=SEM) (587 mg, 0.82 mmol) in dichloromethane (30mL) cooled to 0 °C was added slowly boron trifluoride etherate (0.78 mL, 6.63 mmol). The solution was left to come to room temperature after which time stirring was continued for 1 h. Sodium bicarbonate solution (10%, 16 mL) was added and the mixture was stirred for 1 h. The organic phase was extracted (AcOEt) and evaporated *in vacuo*. Acetonitrile (50mL) and benzyltrimethylammonium hydroxide (Triton B, 40% in methanol, 3 equivalents) were added, and the solution was stirred at reflux temperature for 8 h. The solution was poured into water and extracted with AcOEt. The extract was washed twice with water, dried (MgSO<sub>4</sub>) and evaporated *in vacuo*. The crude was recrystallized with MeOH to give the unprotected dialdehyde **18** (R=*m*-iPrOPh, G=H) (50%).

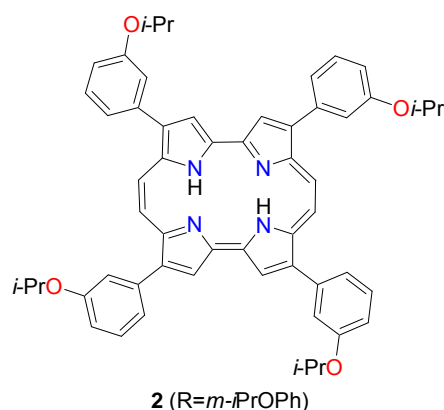
**IR** (pastilla de KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3433, 3263, 2977, 2926, 2852, 1619, 1122, 620

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 12.40 (s, 2H, NH), 9.76 (s, 2H, CHO), 7.38 (t, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 7.13 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 7.09 (s, 2H, CH Ph), 6.95 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 6.84 (s, 2H, CH pyrrole), 4.64 (mult, 2H, <sup>3</sup>J=6Hz, CH iPr), 1.39 (d, 12H, <sup>3</sup>J=6Hz, CH<sub>3</sub> iPr)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 177.7, 156.8, 135.2, 133.6, 129.0, 128.9, 128.0, 120.0, 114.8, 114.1, 109.4, 68.2, 20.9.

**HRMS (FAB):** Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 456.2049, found 456.2048

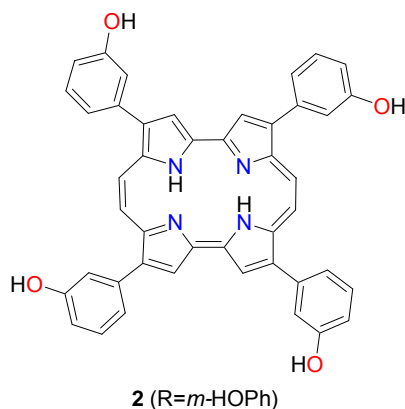
#### 4.1.2.12. Synthesis of 2,7,12,17-tetrakis(*m*-isopropoxyphenyl)porphycene **2** (R=*m*-*i*PrOPh)



Activated Zn (2.47 g, 0.038 mol) and CuCl<sub>2</sub> (0.38 g, 3.8 mmol) were suspended in dry THF (150 mL), TiCl<sub>4</sub> (2.1 mL, 0.019 mol) added dropwise under Ar atmosphere and the resulting mixture heated at reflux for 3h. A solution of 5,5'-diformil-4,4'-bis(*m*-isopropoxyphenyl)-2,2'-dipyrrole **18** (R=*m*-*i*PrOPh, G=H) (360.5 mg, 0.8 mmol) in dry THF (50mL) was added dropwise and the reaction mixture stirred at reflux for 3min. Finally, the resulting product was hydrolyzed with 410mL of 10% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solution and worked up: the solvent was removed under reduced pressure and the resulting product was chromatographed in silica gel (hexane/ dichloromethane, 1:3). After removing the solvent under reduced pressure a mixture of porphycenes was obtained.

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 9.98 (s, 4H), 9.69 (s, 4H), 7.86(m, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 7.51 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 7.09 (s, 2H, CH Ph), 7.00 (d, 2H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 4.09 (mult, 2H, <sup>3</sup>J=6Hz, CH *i*Pr), 1.29 (d, 12H, <sup>3</sup>J=6Hz, CH<sub>3</sub> *i*Pr)

**HRMS (FAB):** Calcd for C<sub>56</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 846.4145, found 846.4154

**4.1.2.13. Synthesis of 2,7,12,17-tetrakis(*m*-hydroxyphenyl)porphycene 2 (R=*m*-HOPh)**

To a solution of **2-III** (R=*m*-HOPh) (1.5 mg, mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at -78 °C was added BBr<sub>3</sub> (0.1 mL, mmol), precooled at -78 °C. After being stirred for 7 min at -78 °C, the reaction mixture was quenched with aqueous NH<sub>4</sub>Cl. The organic phase was extracted with diethyl ether, washed with brine, dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and evaporated. The residue was purified by column chromatography (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 10:1 MeOH)

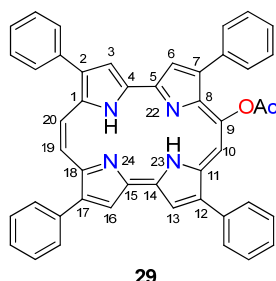
**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 10.14 (s, 4H), 10.06 (s, 4H), 9.93 (brs, 4H), 7.80(m, 8H, <sup>3</sup>J =8Hz, CH Ph), 7,68 (t, 4H, <sup>3</sup>J=8Hz, CH Ph), 7.13 (d, 2H, <sup>3</sup>J =4Hz, CH Ph), 3.76 (brs, 2H)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ<sub>TMS</sub> (ppm): 144.6, 142.7, 137.9, 135.8, 134.4, 131.5, 128.4, 123.9, 114.5, 74.7, 58.4.

**HRMS** (ESI-TOF) *m/z* Calc. for C<sub>44</sub>H<sub>31</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: 679.2340. Found: 679.2336

## 4.2 Assymmetric porphycenes

### 4.2.1. Preparation of 9-acetoxy-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (9-AcOTPPo, **29**)



To a solution of 25 mg (0.041 mmol) of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**2** (R=Ph)) in 6 mL of dry DCM and 3 mL of dry THF, were added 120 mg (0.28 mmol) of lead tetraacetate. After heating to reflux for 10 min the mixture was cooled down and quenched with 0.4 mL of glycol and washed with water. The organic phase was dried over  $\text{MgSO}_4$  and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified using preparative TLC with a mixture of hexanes and DCM (1:1) as eluent. 7 mg (28%) of starting material was recovered in the first fraction. Compound **29** was obtained in the second fraction as a blue powder in 26% yield (5 mg) from reacted porphycene.

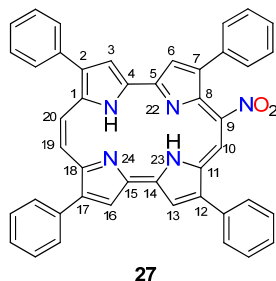
**IR (KBr)**  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3400-3200 (t. NH), 3057, 3024 ( $\text{Csp}^2\text{-H}$ ), 2924 (t. CH), 1763 (C=O), 1444 (Me), 1230 (C-O), 764, 693 (Ph).

**$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 9.91 (d, 1H,  $^3J = 12$  Hz, C(19)-H), 9.85 (d, 1H,  $^3J = 12$  Hz, C(20)-H), 9.72 (s, 1H, C(10)-H), 9.64- 9.50 (4s, 4H, C(3,6,13,16)-H), 8.36- 7.52 (m, 20H, 4 Ph), 4.31 (s.d., 2H, 2NH), 1.80 (s, 3H, Me).

**MS (70 eV) m/z (%)**: 673 (5) [ $\text{M}^+ + 1$ ], 630 (17), 615 (100), 537 (6), 307 (70).

**UV-VIS**  $\lambda_{\text{max}}$  / nm ( $\epsilon / \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ): 656 ( $5.4 \times 10^4$ ), 627 ( $5.6 \times 10^4$ ), 589 ( $4.0 \times 10^4$ ), 387 ( $1.21 \times 10^5$ ), 376 ( $1.51 \times 10^5$ ).

#### 4.2.2. Preparation of 9-nitro-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (9-NTPPo, 27)



To a solution of 61 mg (0.1 mmol) of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**2** (R=Ph)) in 100 mL of acetic acid in 150 mL of DCM, 470 mg (2.6 mmol) of silver nitrate were added. The resulting mixture was stirred at 60°C for 25 minutes. Then 50 mL of water was added and the two phases mixture were extracted with DCM. The combined organic phases were dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was evaporated. The residue was purified using preparative TLC with a mixture of hexanes and DCM (1:1) as eluent. Compound **27** was obtained in 20% yield (13 mg) as a green dark powder.

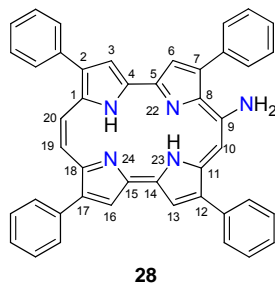
**IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>):** 3400-3200 (t. N-H), 3055, 3025, 1530 (t. as. C-NO<sub>2</sub>), 1330 (t. s. C-NO<sub>2</sub>), 762, 697 (Ph).

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm):** 10.34 (s, 1H, C(10)-H), 9.82 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(19)-H), 9.74 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(20)-H), 9.57-9.46 (4s, 4H, C(3,6,13,16)-H), 8.32-7.61(m, 20H, 4 Ph), 3.45 (s.d., 2H, 2 N-H).

**MS (70 eV) m/z (%):** 660 (41) [M<sup>+</sup>+1], 630 (28), 615 (100), 536 (17), 307 (70).

**UV-VIS  $\lambda_{\max}$  / nm ( $\epsilon$  / M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>):** 657 (5.6 x 10<sup>4</sup>), 631 (6.9 x 10<sup>4</sup>), 589 (4.3 x 10<sup>4</sup>), 400 (1.33 x 10<sup>5</sup>).

### 4.2.3. Preparation of 9-amino-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (9-ATPPo, **28**)



33 mg (0.05 mmol) of 9-nitro-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**2** (R=Ph)) were dissolved in 25 mL of DCM and mixed with 10 mL of an aqueous 10% sodium hydroxide solution. Then 2 g (10 mmol) of Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> were added and the reaction mixture was heated under reflux for 1 hour. The resulting reaction crude was washed with water and the organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified using preparative TLC with a mixture of hexanes and DCM (2:1) as eluent. The crude compound was recrystallised from a mixture of hexane and DCM and furnished compound **28** in 22% yield (7 mg) as a dark powder.

**IR (KBr)**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3455 (t.NH), 3400-3200 (t.N-H), 3055, 3025, 1560 (NH<sub>2</sub>), 798, 779 (f. -NH<sub>2</sub>), 764, 702 (Ph).

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta_{\text{TMS}}$  (ppm): 9.58 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(19)-H), 9.31 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(20)-H), 8.67 (s, 1H, C(10)-H), 9.26-9.14 (4s, 4H, CH (3,6,13,16)), 8.26-7.21 (m, 20H, 4Ph), 6.01 (s.d., 2H, -NH<sub>2</sub>), 4.18-4.04 (s.d., 2H, NH).

**MS (70 eV) m/z (%)**: 631 [M<sup>+</sup>+2] (1), 615 (100), 539 (13), 307 (69).

**UV-VIS**  $\lambda_{\max}$  / nm ( $\epsilon$  / M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>): 763 (2.1 x 10<sup>4</sup>), 709 (4.9 x 10<sup>4</sup>), 663 (2.5 x 10<sup>4</sup>), 587 (3.4 x 10<sup>4</sup>), 412 (8.4 x 10<sup>4</sup>), 375 (9.3 x 10<sup>4</sup>).

### 4.3. Photophysical characterization: techniques and methods

All photophysical measurements were carried out in spectroscopic grade toluene solutions. Absorption spectra were recorded on a Varian Cary 4E spectrophotometer and were used to calculate absorption coefficients from the corresponding Beer-Lambert plots. Fluorescence excitation and emission spectra were recorded on a Jobin Yvon-Spex Fluoromax-2 spectrofluorometer. Fluorescence quantum yields were determined by comparison of the areas under the emission curves for optically-matched solutions of the porphycenes and a standard, after correcting for the refractive index of the solvent. *Meso*-5,10,15,20-tetraphenyl porphine (TPP) was used as standard with  $\Phi_F = 0.11$  in DMSO<sup>3</sup>. The samples were excited at ( $\lambda_{exc} = 532$  nm) and the absorbance of the solutions was kept below 0.05 to prevent inner-filter effects. Fluorescence decays were recorded using a PicoQuant Fluotime 200 time-correlated single photon counting system equipped with a red-sensitive photomultiplier. A 654-nm picosecond diode laser working at 10 MHz repetition rate was used for excitation with counting frequency below 1%. The system was customized to detect near-IR phosphorescence using a CryLas FTSS355-Q diode-pumped Nd:YAG laser for excitation, working at 10 kHz repetition rate and delivering 1 ns; 1.2  $\mu$ J laser pulses. A Hamamatsu H9170-45 near-IR sensitive photomultiplier was used for detection in photon counting mode, its output being acquired with a Picoquant's NanoHarp 200 multichannel scaling board. The details of this system have been described in detail elsewhere<sup>4</sup>. The signals were analyzed using the Picoquant's FluoFit software to fit equation 1 to the data<sup>5</sup> :

$$S_t = S_0 \cdot \frac{\tau_\Delta}{\tau_T - \tau_\Delta} \cdot [\exp(-t/\tau_T) - \exp(-t/\tau_\Delta)] \quad , (Eq1)$$

where the amplitude of the signal,  $S_0$ , is a quantity proportional to the amount of  $^1O_2$  formed upon pulse excitation,  $\tau_T$  is the actual lifetime of the photosensitizer's triplet-state, and  $\tau_\Delta$  is the  $^1O_2$  lifetime. The quantum yield of singlet oxygen production,  $\Phi_\Delta$ , was determined in toluene comparing the  $S_0$  values of the porphycenes to that of TPP and  $C_{60}$  as standards with  $\Phi_\Delta = 0.65$  and  $\Phi_\Delta = 0.95$ , respectively<sup>6,7</sup>.



Triplet-triplet absorption was studied with a nanosecond flash photolysis system made up of a Continuum Surelite I-10 Q-switched Nd-YAG laser coupled to an SL OPO laser for excitation ( $\lambda_{\text{exc}} = 570 \text{ nm}$ , 5 ns pulsewidth ; ca. 5 mJ per pulse). Absorbance changes were monitored at 90 degrees by analyzing the beam produced by a 75W Xe lamp in combination with a monochromator and a Hamamatsu R928 red-sensitive photomultiplier. Photobleaching was assessed exposing air-saturated toluene samples to UV-A radiation in a Luzchem photoreactor. The radiation dose received by the samples was assessed by quinine chloride actinometry. All spectroscopic measurements were carried out in 1-cm quartz cuvettes (Hellma, Germany) and at room temperature.

#### 4.4. Bibliography

1. Farnier, M.; Soth, S.; Fournari, P., *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1074.
2. Gavaldà, A.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Arad, O.; Grau, R.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Stockert, J.C., *J. Porphryins. Phthalocyanines* **2001**, *5*, 846.
3. Darwent, J.R.; Douglas, P.; Harriman, A.; Porter, G.; Richoux M.C., *Coord. Chem. Rev.* **1982**, *44*, 83–126.
4. Jiménez-Banzo, A.; Ragàs, X.; Kapusta, P.; Nonell, S., *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 1003–1010.
5. Nonell, S.; Braslavsky, S.E., *Methods Enzymol.* **2000**, *319*, 37–49.
6. Wilkinson, F.; Helman, W.P.; Ross, A.B., *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1993**, *22*, 113–262.
7. Arbogast, J.W.; Darmanyan, A.P.; Foote, C.S.; Diederich, F.N.; Whetten, R.L.; Rubin, Y.; Alvarez, M.M.; Anz, S.J., *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 11–12.





# Capítulo 5

---

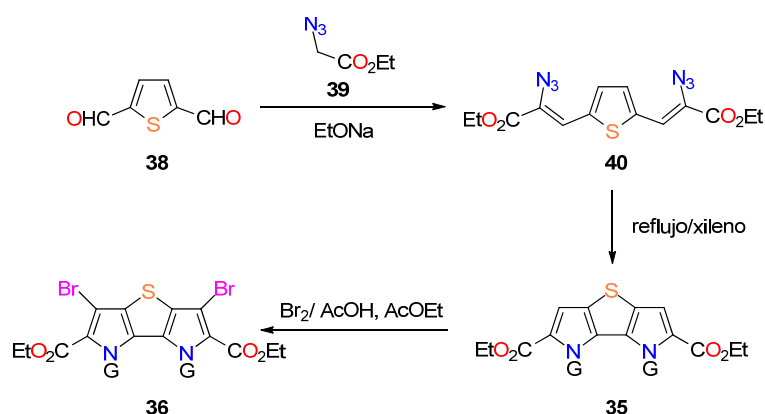
Conclusiones

---

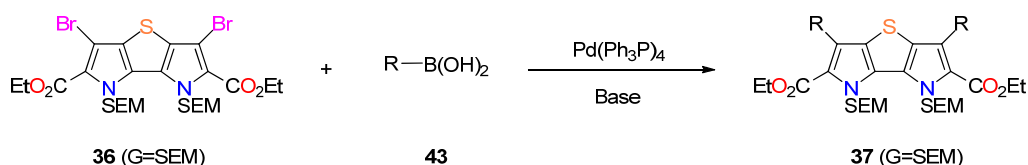


## 5. Conclusiones

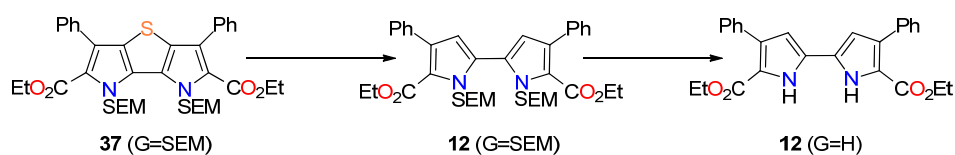
1. Se ha desarrollado una síntesis general de porfíricos enfocada a generar diversidad en las posiciones 2, 7, 12 y 17 del anillo porfírico **2**. Esta ruta sintética se basa en un intermedio común susceptible de ser derivatizado por reacciones catalizadas por paladio, en concreto la reacción de Suzuki-Miyaura que permite introducir una amplia diversidad de restos en el anillo. A continuación a partir de este intermedio se obtiene el dialdehído correspondiente que se cicla por reacción de McMurry para obtener los correspondientes porfíricos. Dicha ruta sintética evita desarrollar una síntesis *de novo* para cada sustituyente.
2. El intermedio común de esta ruta sintética es el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo **36**. Este intermedio se ha obtenido en la escala de las decenas de gramo. El compuesto **36** se sintetiza a partir del dialdehído del 2,5-diformiltiofeno **38** en cuatro etapas. En la primera, **38** se trata con azidoacetato de etilo **39**, en la segunda se forma el ciclo tienodipirrólico **35**, y en la tercera se halogena con bromo. Finalmente se enmascaran los nitrógenos del tienodipirrol**36** con el grupo trimetilsililetoximetil (SEM) para rendir el compuesto **36** (G=SEM).



3. El tienodipirrol 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo se trata con una serie de ácido borónicos en presencia de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> en las condiciones de Suzuki obteniendo una nueva familia de ariltienodipirroles: el 3,6-dietoxicarbonil-2,7-difenil-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol **37** (R=Ph, G=SEM), 3,6-dietoxicarbonil-2,7-di(4-piridil)-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol **37** (R=4-piridil, G=SEM), 3,6-dietoxicarbonil-2,7-di(*p*-metoxifenil)-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol **37** (R=*p*-metoxifenil, G=SEM), 3,6-dietoxicarbonil-2,7-di(*m*-isopropoxifenil)-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3, 2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol **37** (R=*m*-isopropoxifenil, G=SEM).

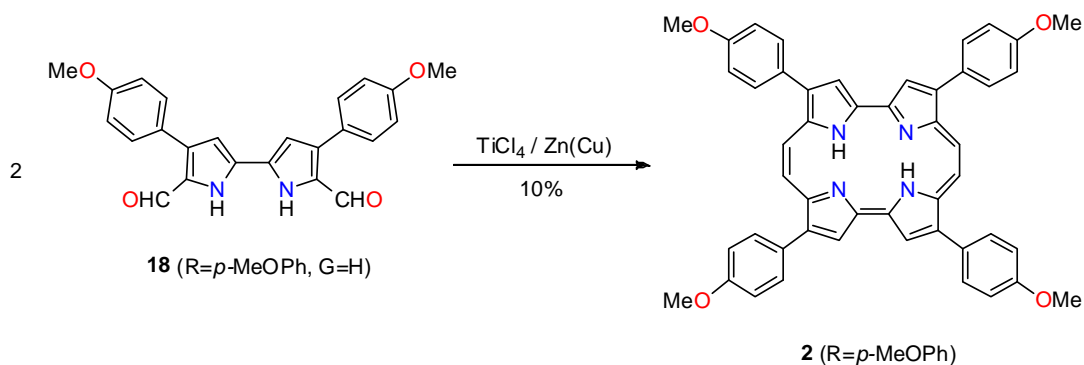


4. A partir de los compuestos **37** (R=Ph, G=SEM), **37** (R=4-piridil, G=SEM), **37** (R=*p*-metoxifenil, G=SEM), **37** (R=*m*-isopropoxifenil, G=SEM) se han sintetizado los bipirroles: 3,6-dietoxicarbonil-2,7-difenil-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)bipirrol **12** (R=Ph), 3,6-dietoxicarbonil-2,7-di(4-piridil)-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)bipirrol **12** (R=4-piridil), 3,6-dietoxicarbonil-2,7-di(*p*-metoxifenil)-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)bipirrol **12** (R=*p*-metoxifenil), 3,6-dietoxicarbonil-2,7-di(*m*-isopropoxifenil)-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)bipirrol **12** (R=*m*-isopropoxifenil) por tratamiento con Ni Raney y posterior desprotección con TBAF.

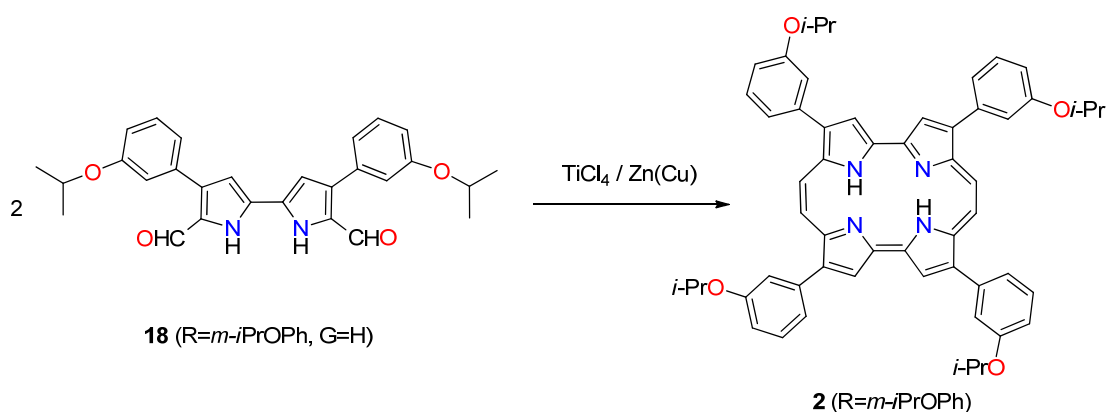


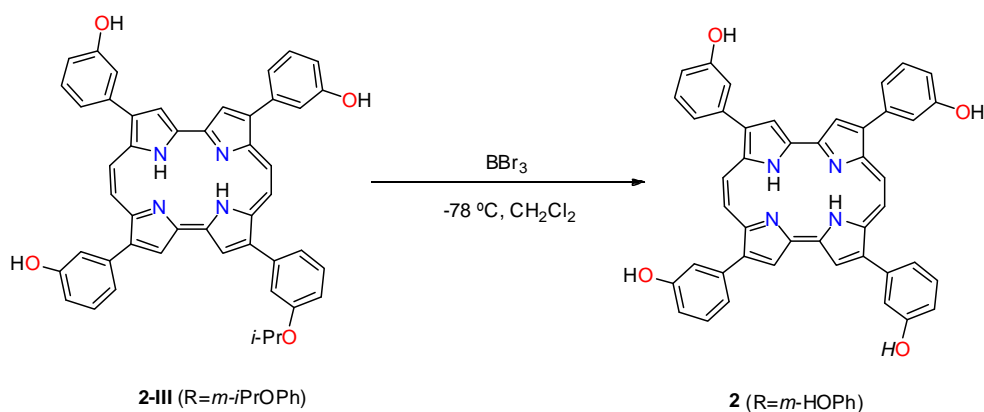


5. Se ha obtenido el 2,7,12,17-tetra(*p*-metoxifenil)porficceno **2** (R=*p*-MeOPh) a partir del bipirrol **12** (R=*p*-metoxifenil, G=SEM). El bipirrol **12** (R=*p*-metoxifenil, G=SEM) se reduce con hidruro de litio y aluminio para posteriormente oxidarlo a aldehído con  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ , a continuación se desprotege el grupo SEM con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  y finalmente se somete el producto a las condiciones de McMurry obteniendo el producto deseado **2** (R=*p*-MeOPh).

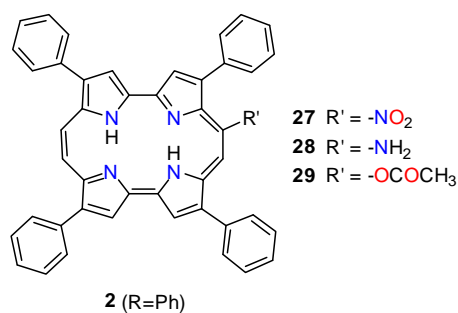


6. Siguiendo la misma metodología que para el porficceno **2** (R=*p*-MeOPh) se obtiene el 2,7,12,17-tetra(*m*-isopropoxifenil)porficceno **2** (R=*m*-iPrOPh). A través de los compuestos **12** (R=*m*-isopropoxifenil, G=SEM), 5,5'-dihidroximetil-4,4'-bis(*p*-metoxifenil)-1,1'-bis(trimetilsililetoximetil)-2,2'-bipirrol **44** (R=*m*-isopropoxifenil, G=SEM), 5,5'-diformil-4,4'-bis(*m*-isopropoxifenil)-1,1'-bis((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,2'-bipirrol **18** (R=*m*-isopropoxifenil, G=SEM) y 5,5'-diformil-4,4'-bis(4-metoxifenil)-1,1'-bis(trimetilsililetoximetil)-2,2'-bipirrol **18** (R=*m*-isopropoxifenil). Al tratar dicho porficceno con un ácido de Lewis se obtiene el 2,7,12,17-tetra(*m*-hidroxifenil)porficceno **2** (R=*m*-HOPh) a escala analítica.





7. Adaptando la metodología de McFadyen-Stevens y posterior desprotección del grupo SEM se obtiene el diformilbipirrol a partir del diésterbipirrol. Al someter el diformilbipirrol a las condiciones de McMurry no se ha obtenido ningún derivado porficcénico. Por lo tanto no ha sido posible obtener el 2,7,12,17-tetra(4-piridil)porficceno **2** (R=4-piridilo).
8. A partir del TPPo **2** (R=Ph) se ha sintetizado el derivado 9-nitro-2,7,12,17-tetrafenilporficceno **27** (9-NTPPo) por tratamiento con  $\text{AgNO}_3$ . Se obtiene el 9-amino-2,7,12,17-tetrafenilporficceno **28** (9-ATPPo) por reducción con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ . Se ha sintetizado el derivado 9-acetoxi-2,7,12,17-tetrafenilporficceno **29** (9-AcOTPPo) a partir del TPPo**2** (R=Ph) por tratamiento con tetraacetato de plomo.



9. La introducción del voluminoso grupo acetoxi mejora la fluorescencia del compuesto sin inducir cambios en los procesos no radiativos, y la reducción en el rendimiento cuántico de oxígeno singulete es pequeña. Se considera que este hallazgo puede ser importante dado que en la terapia fotodinámica se usa la fluorescencia para mapear el área del tumor y para evaluar la localización del fotosensibilizador. Todos los tetrafenilporfíricos 9 sustituidos son mejores inactivadores de oxígeno singulete que el producto sin sustituir. El 9-ATPPo mostró una constante 15 veces superior que el TPPo. Se observa tanto para el 9-NTPPo como para el 9-AcOTPPo un desplazamiento batocrómico de unos 20 nm en la zona Q respecto de sus respectivos homólogos con propilos en vez de fenilos. Este desplazamiento viene acompañado con un notable aumento del coeficiente de absorción. Estos resultados son favorables para posibles aplicaciones fotodinámicas de dichas moléculas.



# Anexo-I

---

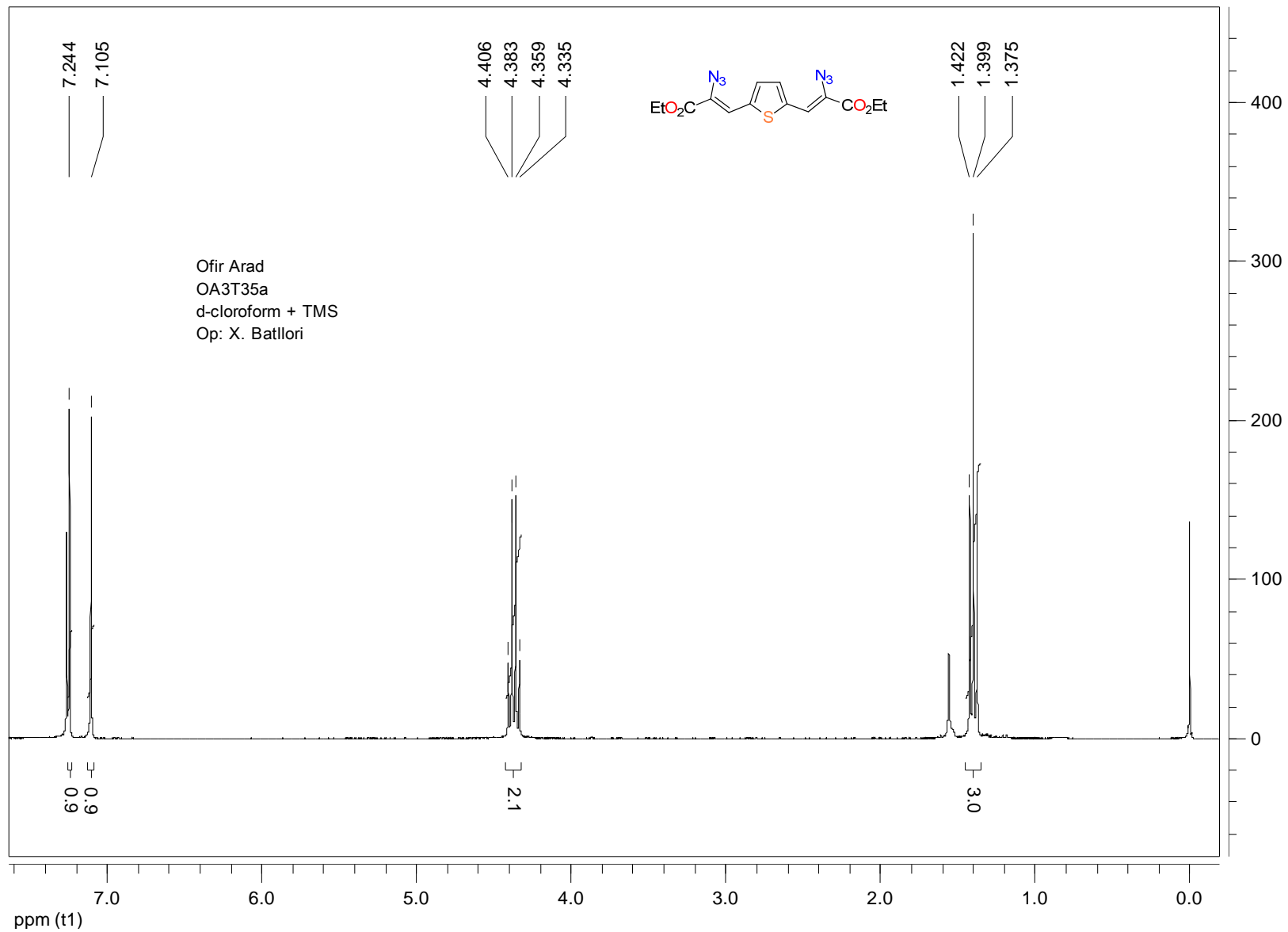
## Anexo

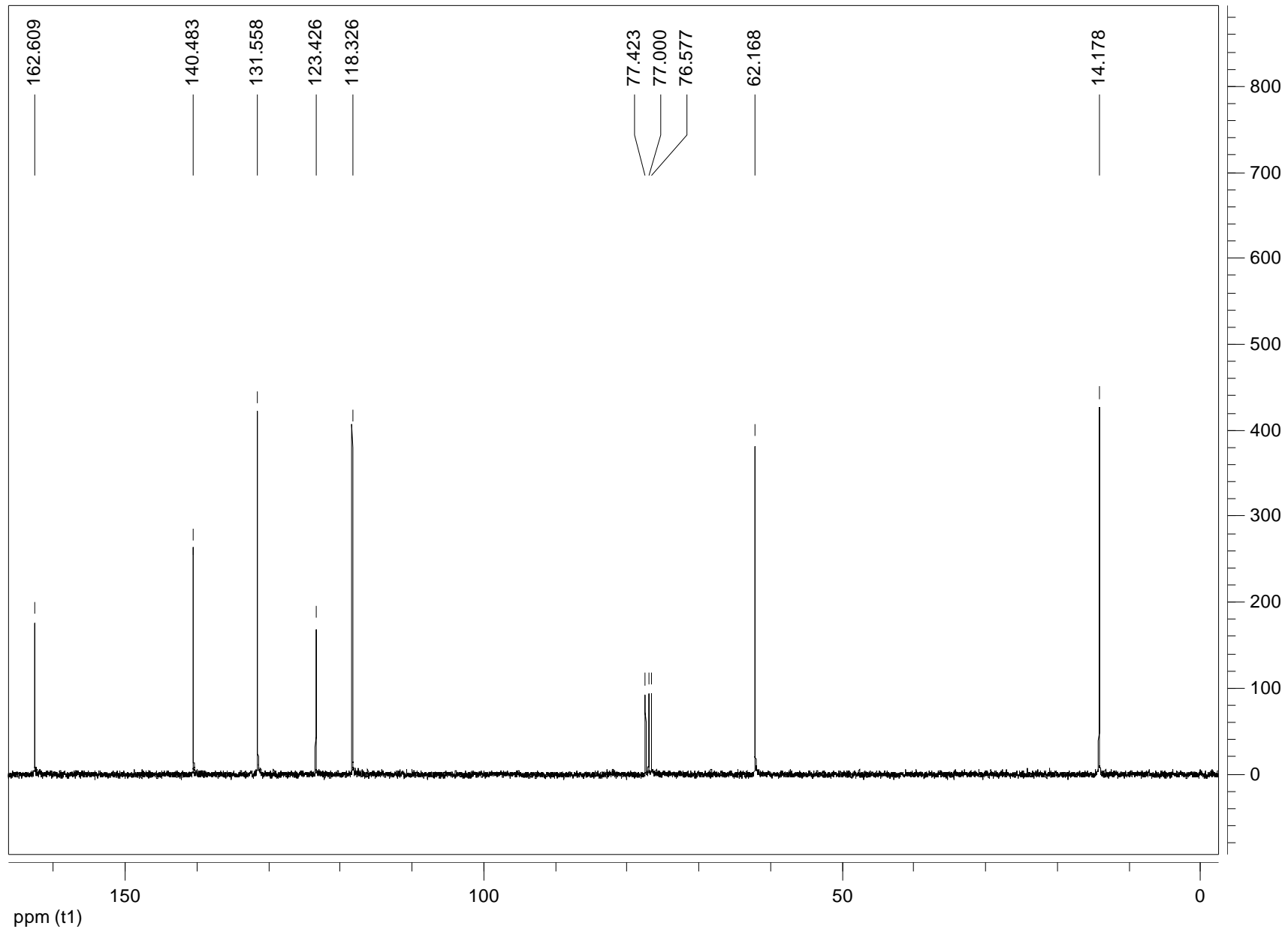
Ampliación de los espectros de resonancia magnética nuclear de una selección de los compuestos sintetizados

---



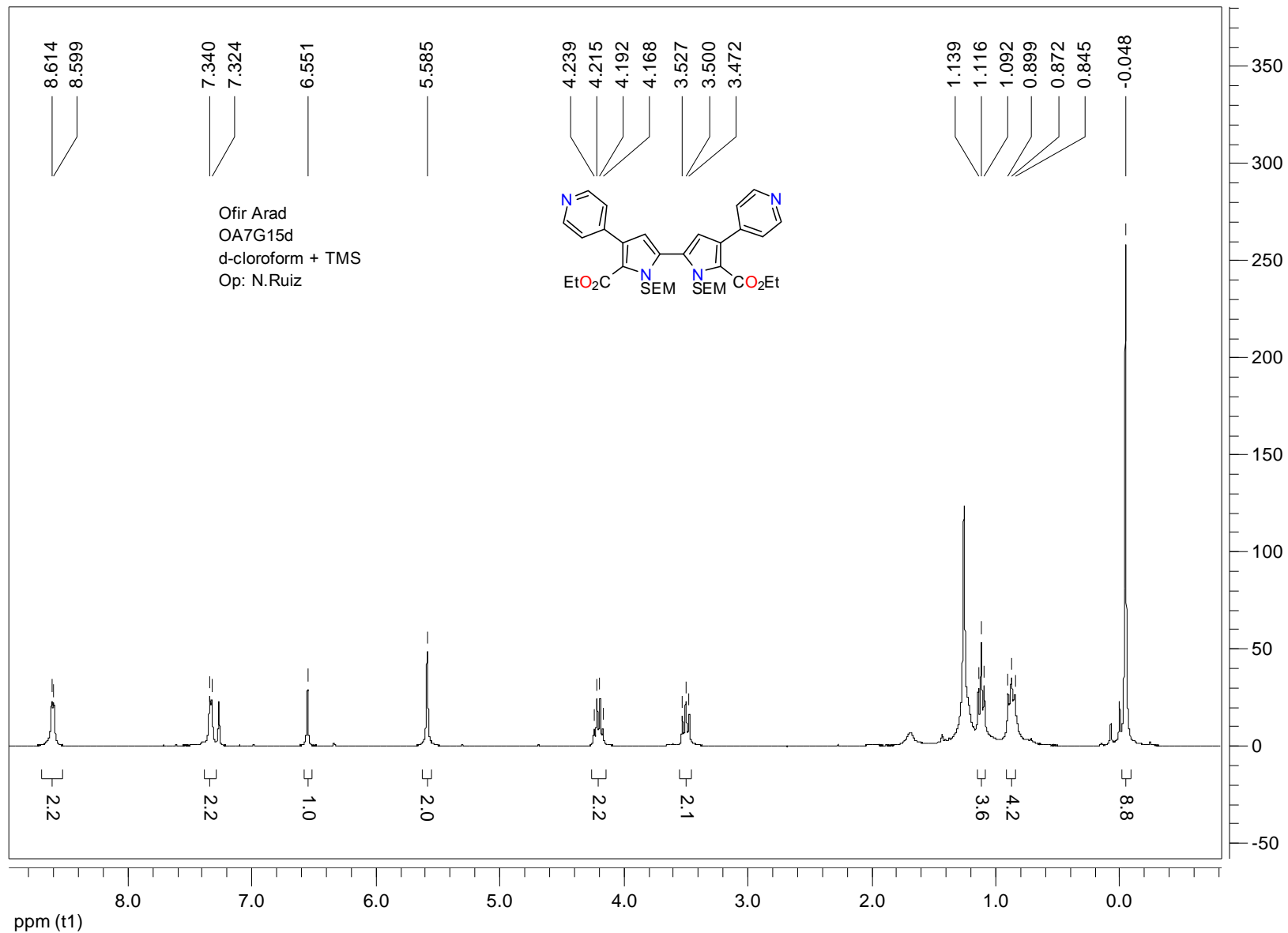
# Bis(azido-2'-ethoxycarbonyl-2'-vinyl)-2,5-thiophene 40

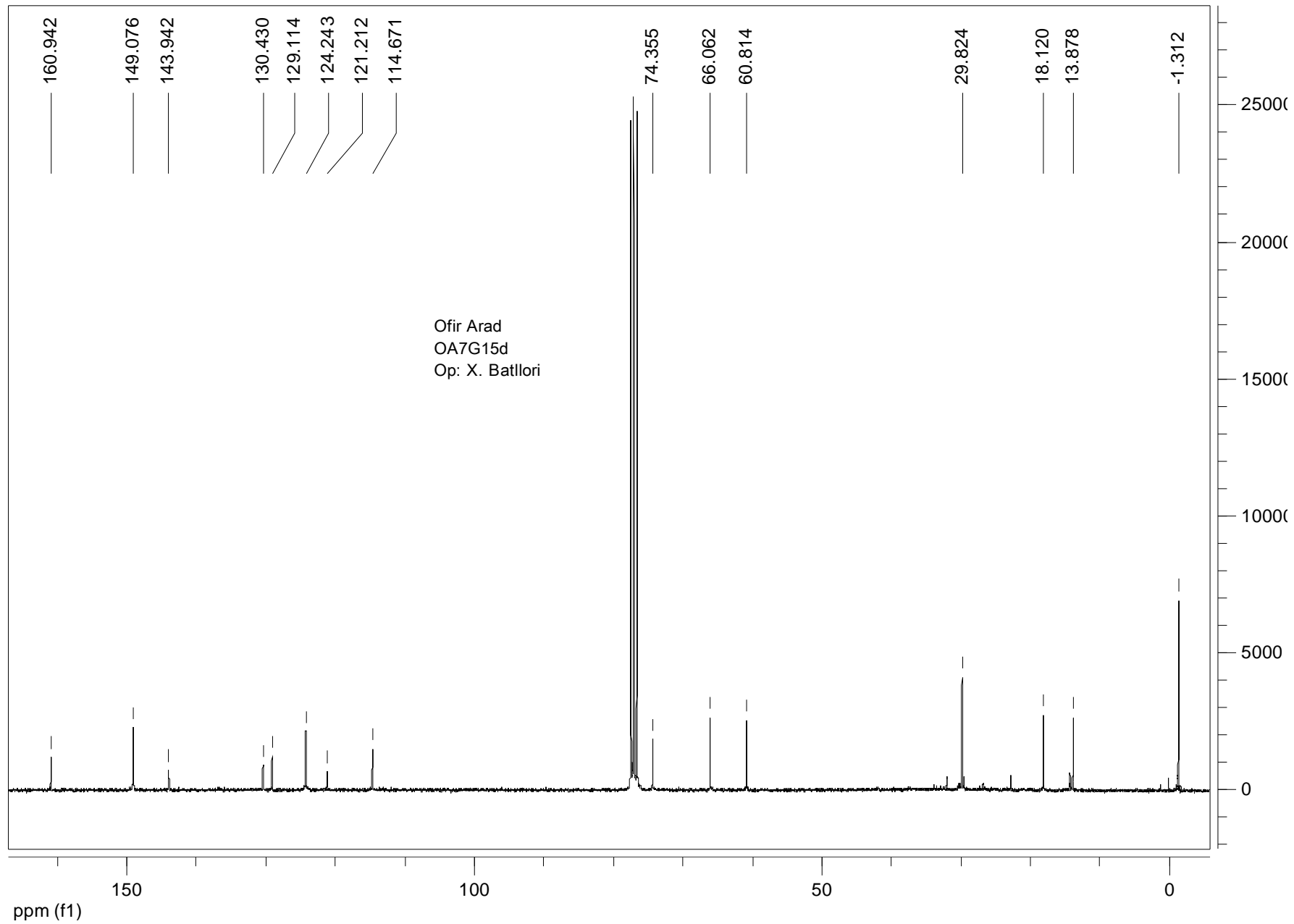




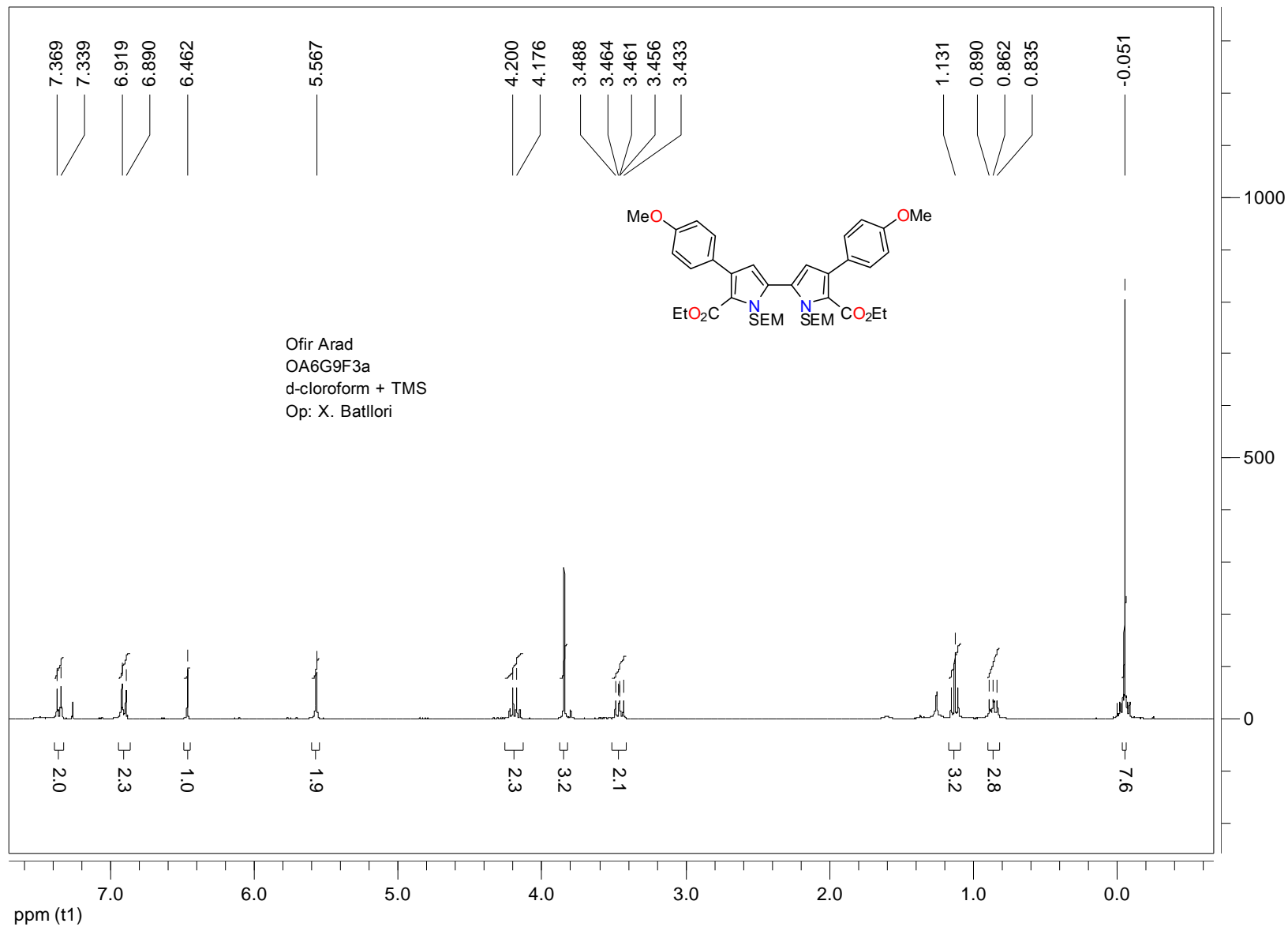


Diethyl 4,4'-(di(pyridin-4-yl)-1,1'-bis(trimethylsilyloxyethyl)-2,2'-bipyrrrole-3,6-dicarboxylate 12 (R=4-piridilo, G=SEM)





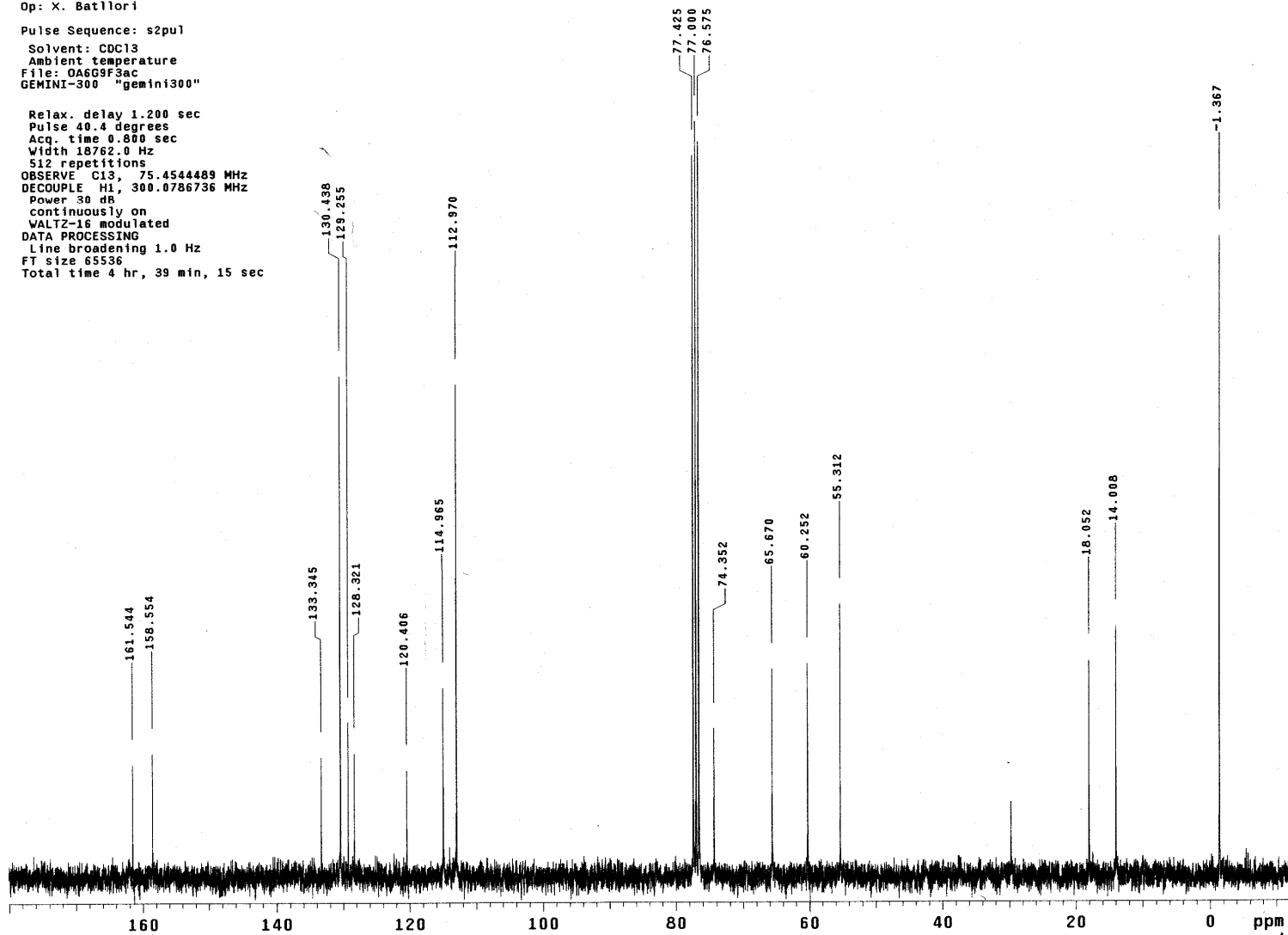
Diethyl 4,4'-(*p*-methoxyphenyl)-1,1'-bis(trimethylsilyloxyethyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate 12 (R=*p*-MeOPh, G=SEM)



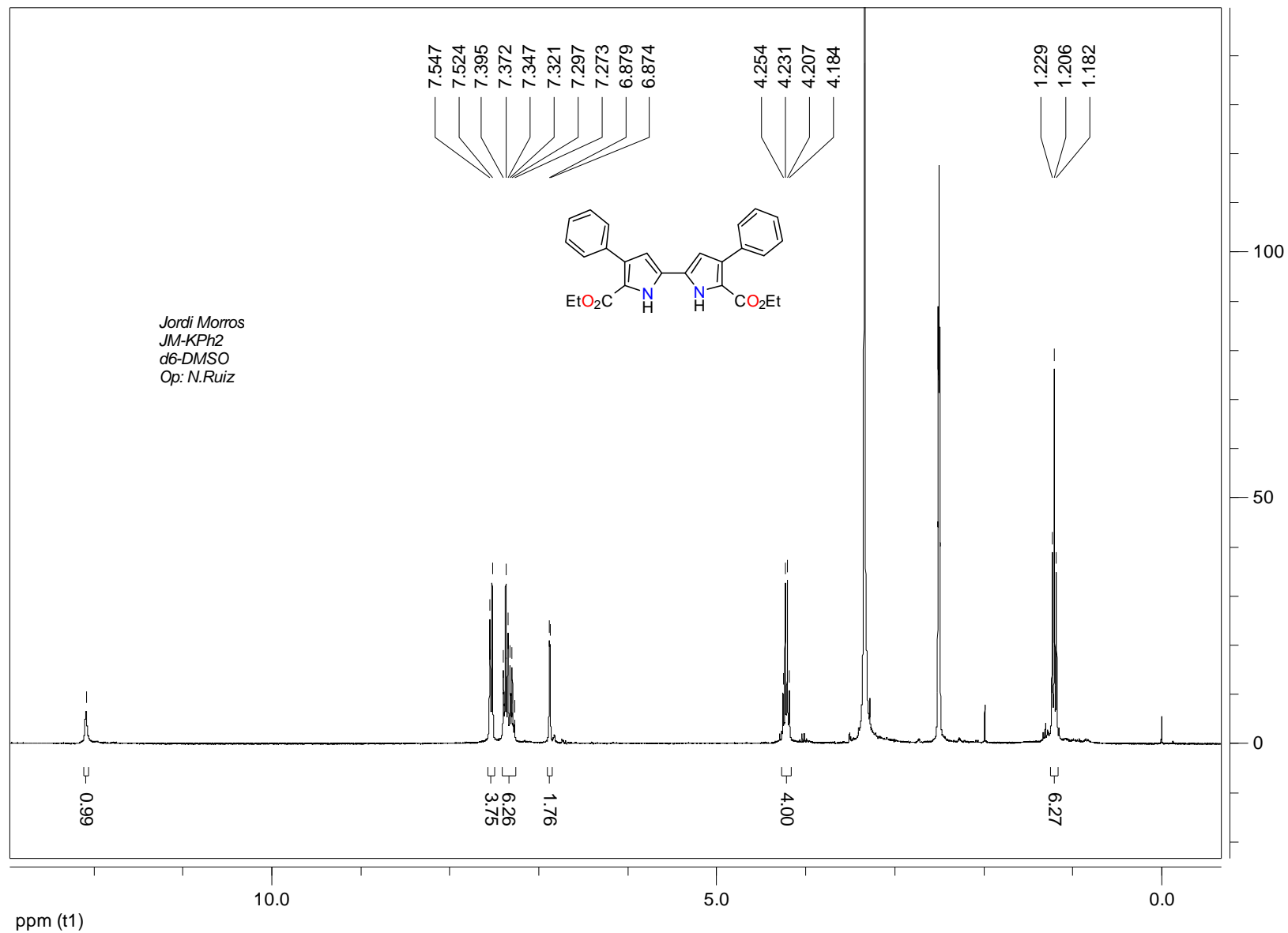
Ofir Arad  
0A6G9F3a  
Op: X. Batllori

Pulse Sequence: s2pu1  
Solvent: CDCl3  
Ambient temperature  
File: 0A6G9F3ac  
GEMINI-300 "gemini300"

Relax. delay 1.200 sec  
Pulse 40.4 degrees  
Acq. time 0.800 sec  
Width 18762.0 Hz  
512 repetitions  
OBSERVE C13, 75.4544489 MHz  
DECOUPLE H1, 300.0786736 MHz  
Power 30 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 4 hr, 39 min, 15 sec



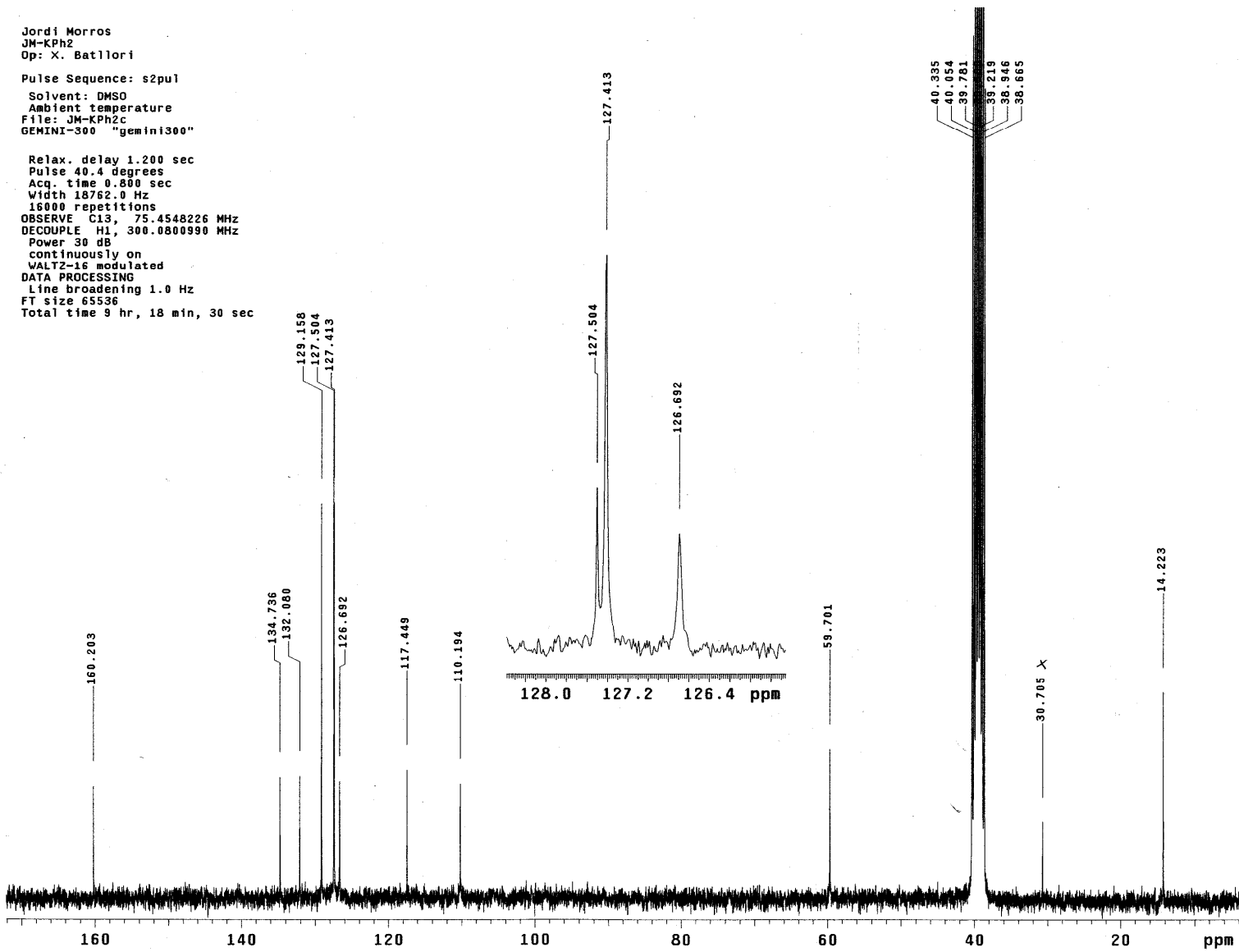
Diethyl 4,4'-diphenyl-2,2'-bipyrrrole-3,6-dicarboxylate 12 (R=Ph, G=H)



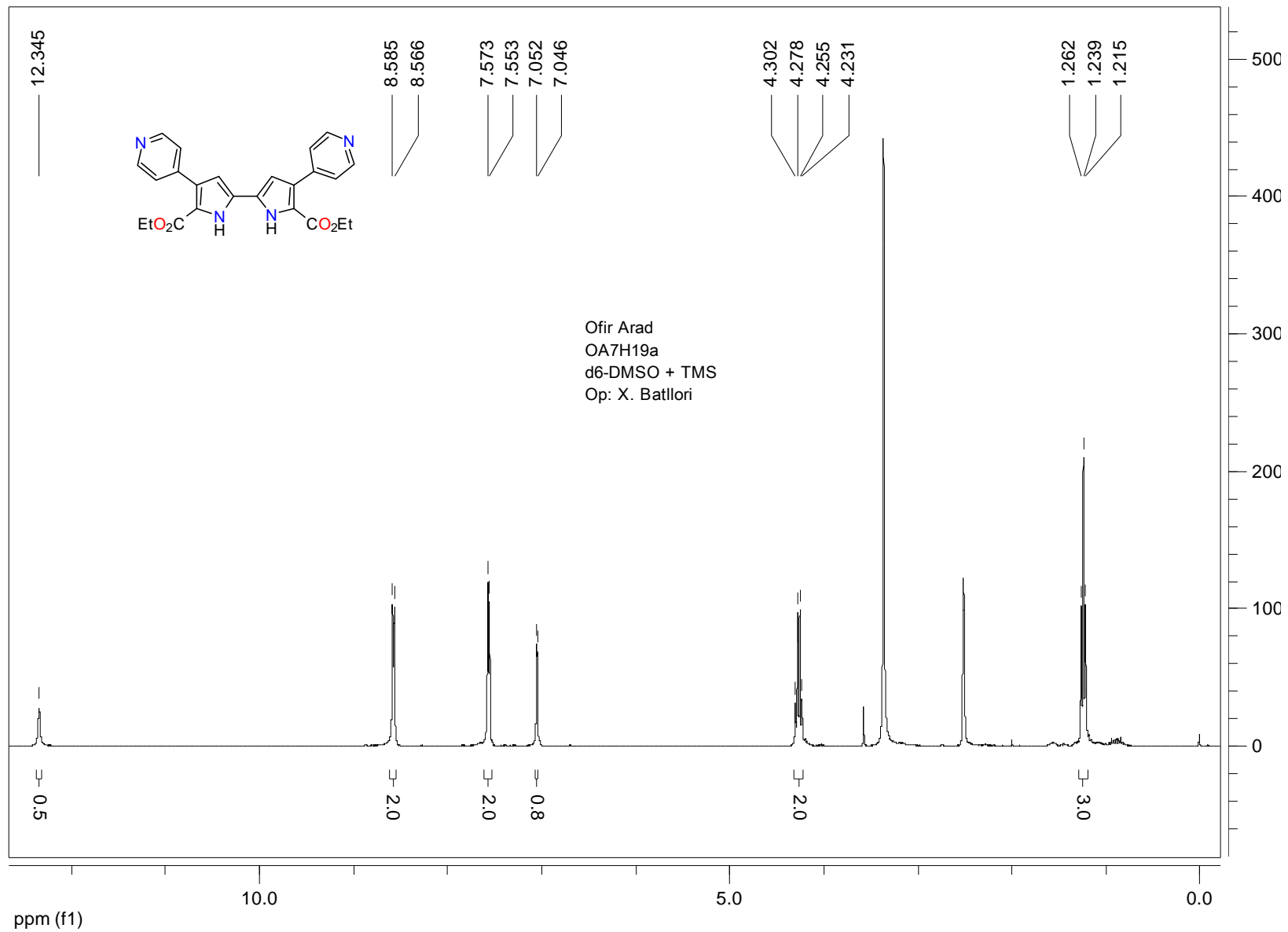
Jordi Morros  
JM-KPh2  
Op: X. Batllori

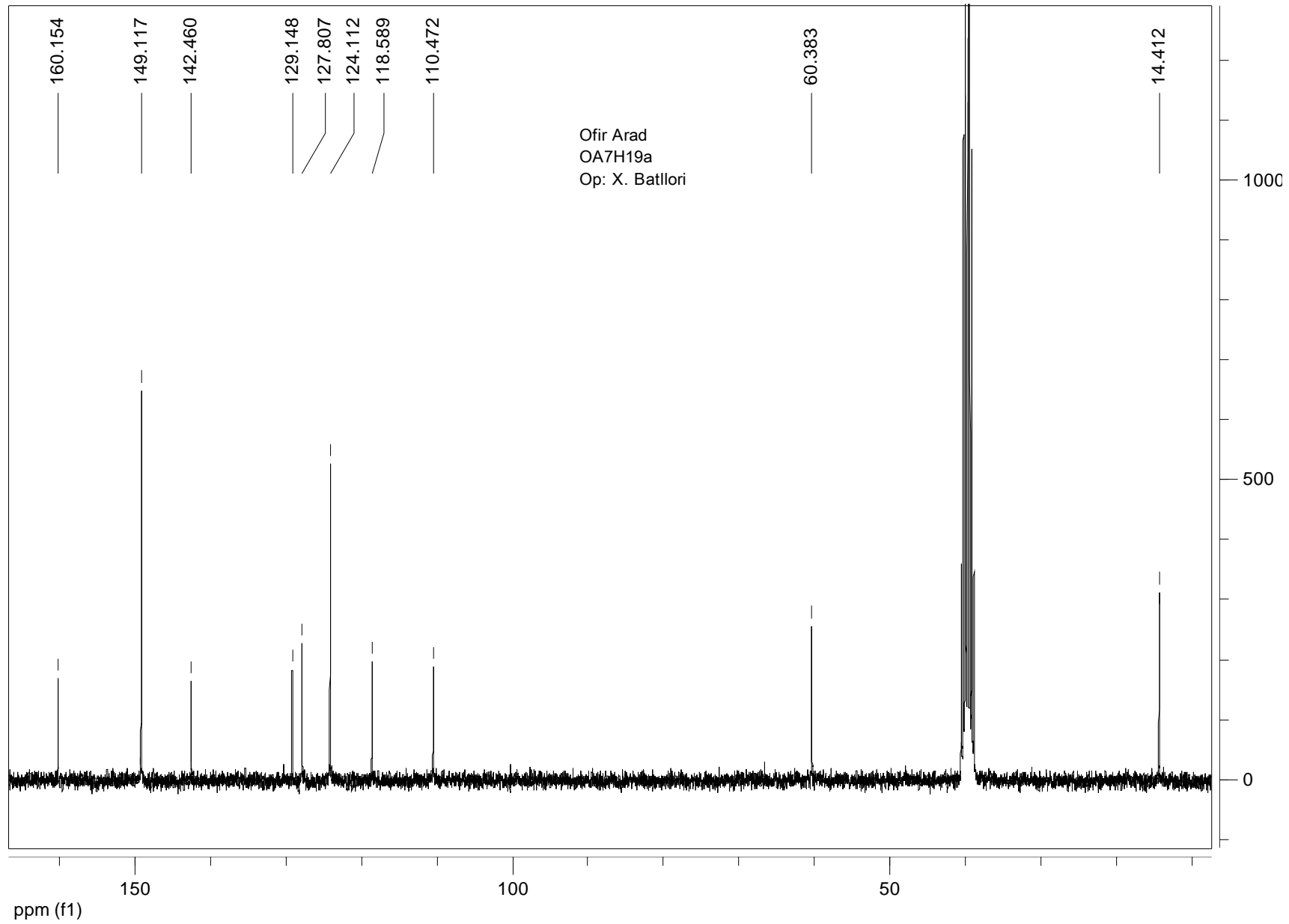
Pulse Sequence: s2pu1  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
File: JM-KPh2c  
GEMINI-300 "gemini300"

Relax. delay 1.200 sec  
Pulse 40.4 degrees  
Acq. time 0.800 sec  
Width 18762.0 Hz  
16000 repetitions  
OBSERVE C13, 75.4548226 MHz  
DECOUPLE H1, 300.0800990 MHz  
Power 30 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 9 hr, 18 min, 30 sec



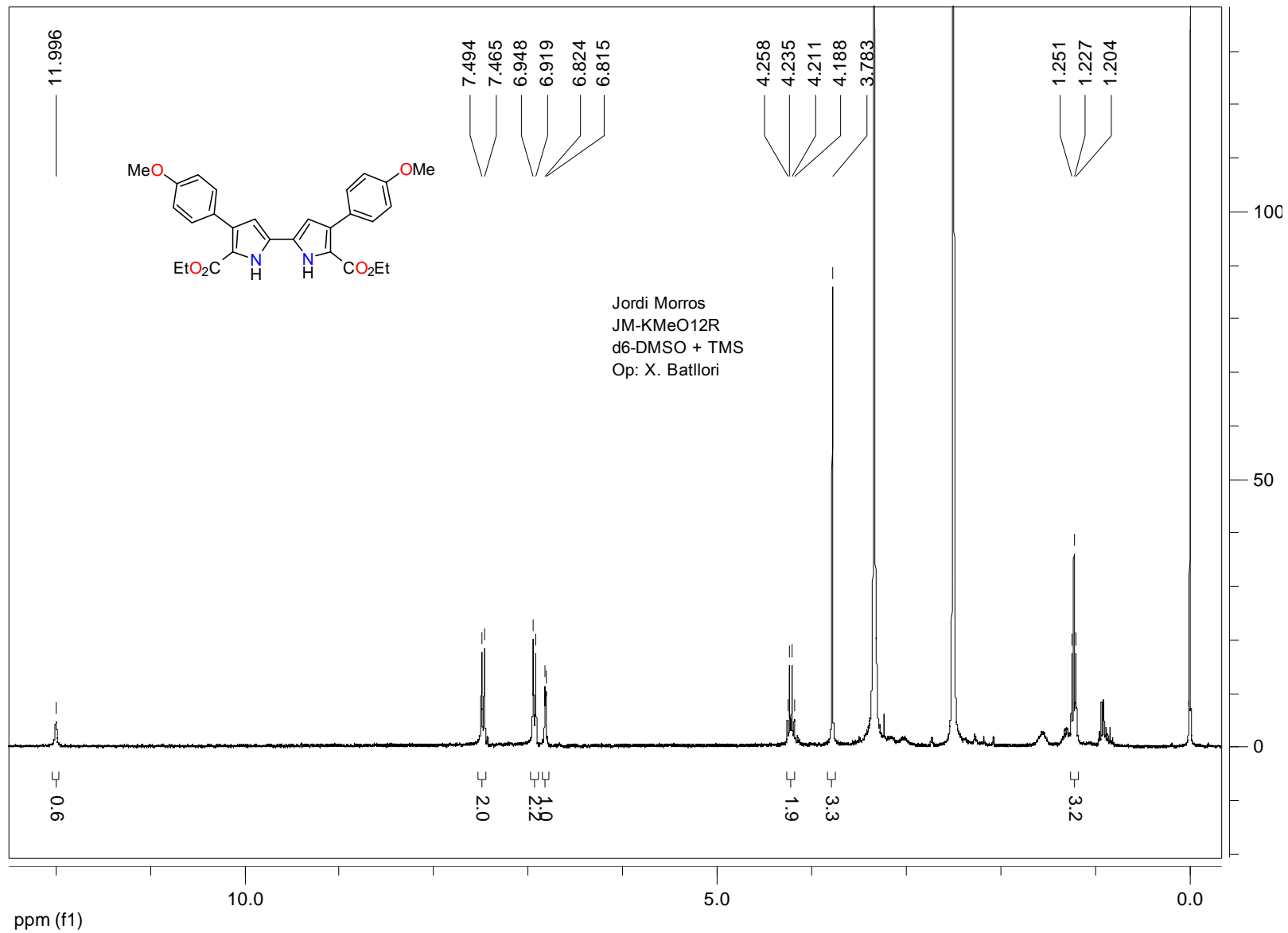
Diethyl 4,4'-(di(pyridin-4-yl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate 12 (R=4-piridilo, G=H)

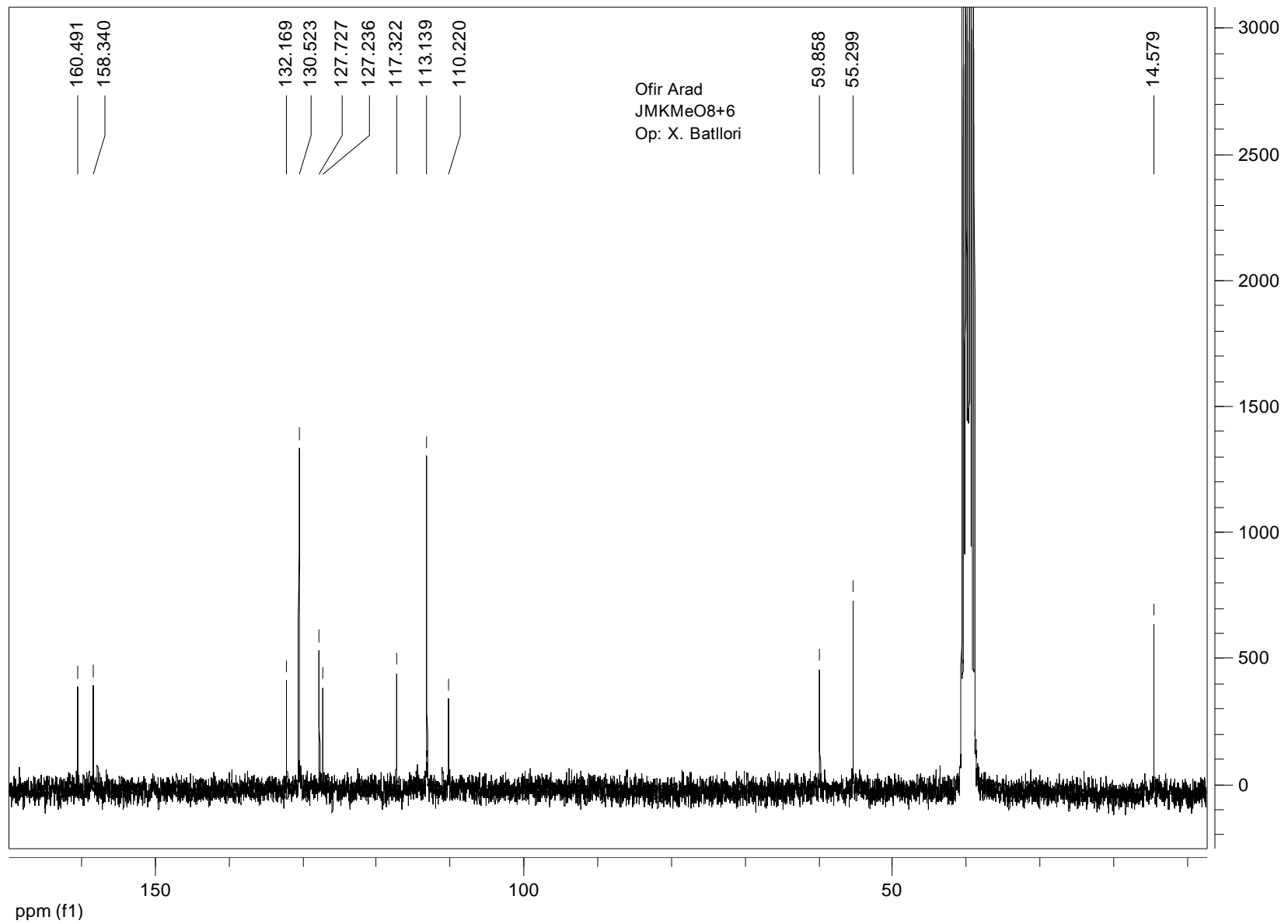






Diethyl 4,4'-(*p*-methoxyphenyl)-2,2'-bipyrrole-3,6-dicarboxylate 12 (R=*p*-MeOPh, G=H)









# Anexo-II

---

## Anexo

Artículos publicados por el autor durante el periodo de Tesis Doctoral

---



# A non-tetradecarboxylative synthesis of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene

ANA GAVALDA<sup>1</sup>, JOSÉ I. BORRELL<sup>1</sup>, JORDI TEIXIDO<sup>1</sup>, SANTIAGO NONELL<sup>1\*</sup>, OFIR ARAD<sup>1</sup>, ROSER GRAU<sup>1</sup>, MAGDALENA CAÑETE<sup>2</sup>, ANGELES JUARRANZ<sup>2</sup>, ANGELES VILLANUEVA<sup>2</sup> AND JUAN C. STOCKERT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grup d'Enginyeria Molecular, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull, Via Augusta, 390, E-08017 Barcelona, Spain

<sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, E-28049 Madrid, Spain

Received 28 July 2001; Revised 21 September 2001

Accepted 26 September 2001

**ABSTRACT:** A new synthetic method for 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (2e, TPPo) which avoids tetradecarboxylation by sublimation of the intermediate tetracarboxylic acid **8** is reported. Thus, the use of a pyrrol 13a bearing two orthogonal ester groups allows the synthesis of bipyrrrol 12a, from which the benzyl ester groups are selectively removed to afford diester 11. The latter is transformed to dialdehyde **10** by using the McFayden–Stevens reaction, thus avoiding the unstable bipyrrrol **9** formed during the tetradecarboxylation of **8**. Copyright © 2001 John Wiley & Sons, Ltd.

**KEYWORDS:** porphycene; tetraphenylporphycene; photodynamic therapy, (PDT); sensitizer; orthogonal protecting groups

## INTRODUCTION

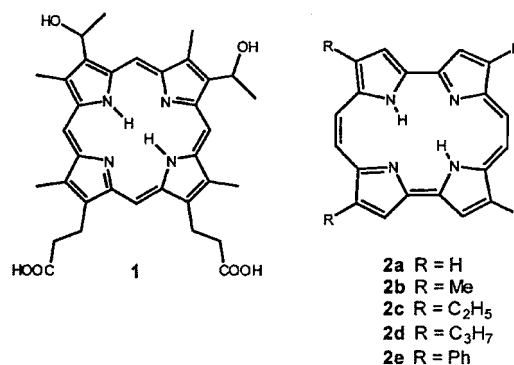
Photodynamic therapy (PDT) of cancer has evolved as a promising new clinical treatment for cancer diseases in the last 25 years. PDT involves the administration of a tumor-localizing photosensitizer and the subsequent exposition of the tumor to light of an appropriated wavelength ( $\lambda \geq 600$  nm). Cytotoxic agents generated upon illumination start a cascade of biochemical responses that inactivate cancer cells either directly or through the induction of vascular stasis [1–4]. The only photosensitizer that has been approved in different countries for PDT is Photofrin II<sup>®</sup>, a derivative of hematoporphyrin **1**. However, Photofrin II<sup>®</sup> is far from being an ideal photosensitizer because it presents important drawbacks, such as low purity, poor optical properties and skin photosensitivity. For these reasons, research has been focused on the development of alternative second-generation photosensitizers with improved properties. As a result of such efforts derivatives of porphyrins, benzoporphyrins, chlorins and phthalocyanines, among others, are in advanced stages of clinical trials [3].

In 1986, Vogel and co-workers described the synthesis of a new isomer of porphyrin, which was called porphycene (**2a**) [5]. Since then many derivatives have been synthesized but, among them, the 2,7,12,17-tetraalkylporphycenes (**2b–d**) [6] attracted our interest. The idea that aryl substituents would improve photophysical properties and would modulate—by a latter functionalization of the aryl group—properties such as solubility, absorption spectra and redox

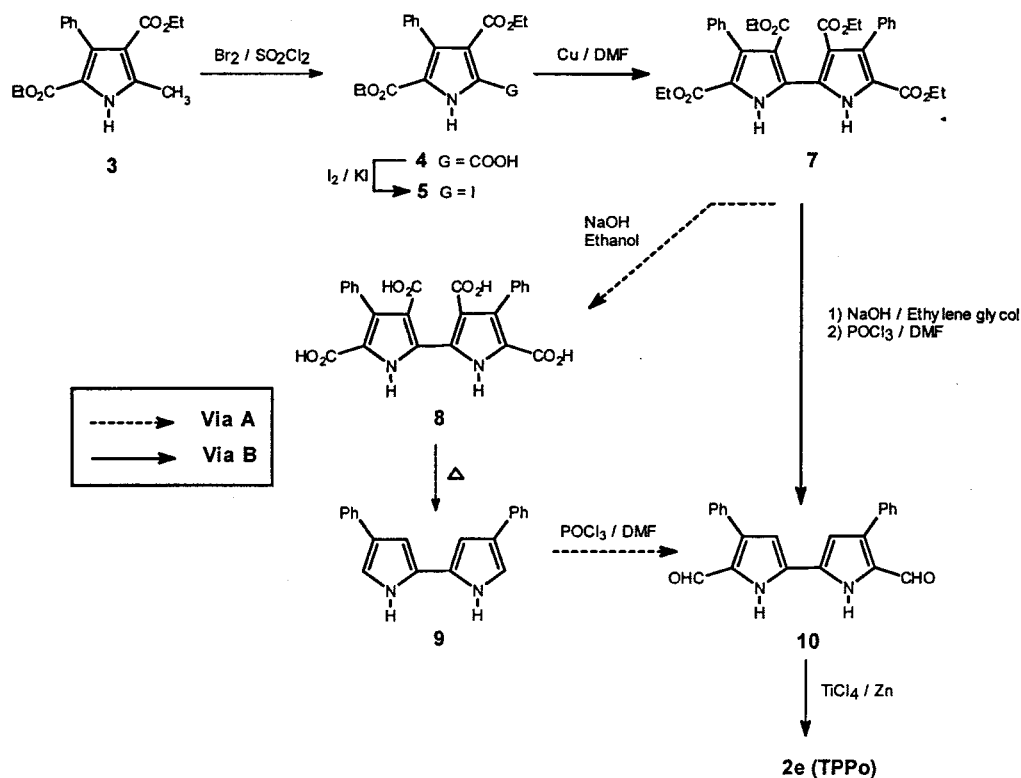
potential, prompted us to develop the synthesis of the 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**2e**) (TPPo) (Fig. 1).

Thus, in 1995, our group described the synthesis of TPPo [7] simultaneously to the presentation of a doctoral thesis by Hennig, Vogel's co-worker, in which the same compound was described [8]. The synthetic paths employed have several points in common, as can be seen in Scheme 1. However, both methods still present some drawbacks. Thus, the procedure described by Hennig (via A) includes a sublimation for the transformation of tetraacid **8** to bipyrrrole **9**, which would make difficult the scale-up of the synthesis of TPPo. In addition, bipyrrrole **9** is highly unstable, which further reduces the overall yield. Our method avoids this sublimation (via B) but the direct transformation of tetraester **7** to dialdehyde **10** suffers from a very low yield. As a result of this our method has an overall yield (2%) lower than Hennig's procedure (6%).

A common characteristic of both methods is the removal of the carbonyl groups in C5 and C5' of **7** by decarboxyla-



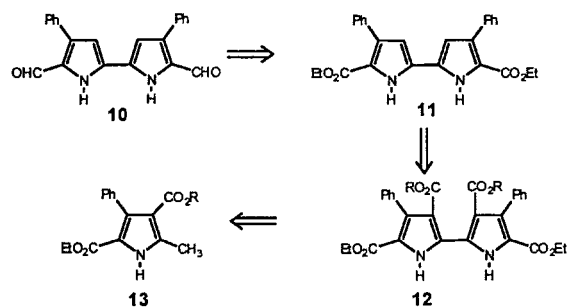
\*Correspondence to: S. Nonell, Grup d'Enginyeria Molecular, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull, Via Augusta, 390, E-08017 Barcelona, Spain.



**Scheme 1.** Previously described syntheses of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**2e**, TPPo).

tion. These carbonyl groups are reintroduced in the subsequent step by formylation. Such unnecessary elimination could be avoided if the general procedure was slightly modified. Consequently, a retrosynthetic analysis was carried out showing that it would be possible to maintain the carbonyl groups in C5 and C5' if the precursor of dialdehyde **10** was diester **11** (Scheme 2). Reduction of **11**, directly or indirectly, would obviate the tetradecarboxylation of **7** that leads to the unstable intermediate **9**. In order to achieve diester **11** by using the general procedure, a bipyrrrole **12** with two orthogonal ester groups in C5(C5') and C3(C3') would be required. The characteristics of both ester types should be different enough to allow the selective deprotection and subsequent decarboxylation of the ester groups present in C3(C3') without affecting those present in C5(C5'). Finally, the precursor of tetraester **12** would be a monopyrrole **13** also bearing two different ester groups at C2 and C4.

Our interest in porphycenes is related to the important photosensitizing properties of these compounds for possible applications in PDT of cancer. In this respect, both TPPo



**Scheme 2.** Retrosynthetic analysis of dialdehyde **10**.

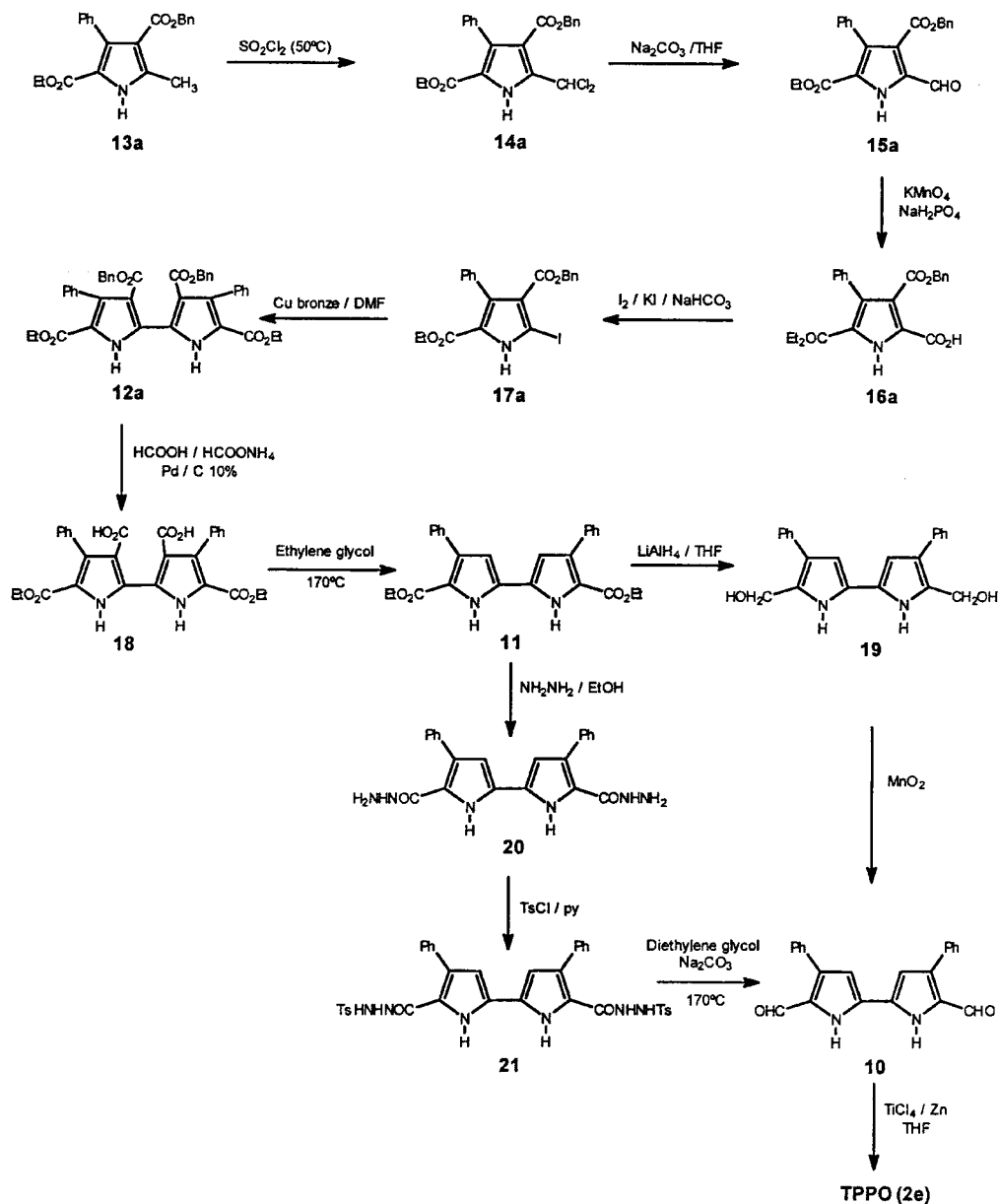
and its palladium(II) complex (PdTPPo) showed very efficient photokilling of cultured tumor cells under red-light irradiation [9–11]. The present paper deals with the results obtained during the exploration of this novel synthetic strategy for the synthesis of TPPo.

## RESULTS AND DISCUSSION

Pyrroles bearing two ester groups at C2 and C4 are usually obtained by the Knorr reaction [12]. In order to obtain a monopyrrole **13** bearing two different ester groups at C2 and C4, it is necessary to condense ethyl benzoylacetate with a  $\beta$ -ketoester bearing a different kind of ester group. For this purpose, two  $\beta$ -ketoesters were tested: benzyl acetoacetate ( $\text{R} = \text{CH}_2\text{Ph}$ ) and *tert*-butyl acetoacetate ( $\text{R} = \text{C}(\text{CH}_3)_3$ ). Surprisingly, the Knorr reaction only took place in the case of benzyl acetoacetate to afford benzyl 2-ethoxycarbonyl-5-methyl-3-phenylpyrrole-4-carboxylate (**13a**,  $\text{R} = \text{CH}_2\text{Ph}$ ) in 56% yield. Consequently, we decided to continue the synthetic strategy depicted in Scheme 3 by using the benzyl ester as the protecting group at C4.

The next step was the oxidation of the methyl group of the monopyrrole **13a** ( $\text{R} = \text{CH}_2\text{Ph}$ ) to the corresponding carboxylic acid **16a**. This transformation is usually carried out by treatment with bromine and sulfonyl chloride [13, 14] and in most cases high yields are obtained. However, in our case the treatment of **13a** with 1 equiv. of bromine and 3 equiv. of sulfonyl chloride at low temperature, followed by hydrolysis at 60 °C, afforded a mixture of **16a** and aldehyde **15a** in a 1:2 ratio. All attempts carried out to increase the yield of **16a** failed, even when sulfonyl chloride was used as oxidizing agent [8, 12]. Such unexpected behavior could be in principle attributed to the steric hindrance caused by the





**Scheme 3.** Non-tetradecarboxylative synthesis of TPPo (2e).

benzyl ester at C4. This supposition is supported by the observation that in a similar structure presenting a benzyl ester at C4 and an ethyl ester at C2, the treatment with  $\text{Br}_2/\text{SO}_2\text{Cl}_2$  afforded a low yield (27%) while, if the positions of the esters were exchanged, the yield was increased up to 60% [14].

This unexpected result led us to change our strategy, so we decided to obtain **16a** by further oxidation of aldehyde **15a**. Thus, we treated **13a** with sulfuryl chloride at 50 °C as described by Corwin *et al.* [13] but, surprisingly, we obtained the dichloromethyl derivative **14a** in 82% yield. Fortunately, **14a** was easily hydrolyzed with aqueous sodium carbonate yielding **15a** in 95% yield. Conversion of **15a** to carboxylic acid **16a** was achieved in 85% yield upon treatment with potassium permanganate in a buffered media as described by Abiko *et al.* [15]. The overall yield for the transformation of methyl pyrrole **13a** to carboxylic acid **16a** was 66%.

The subsequent synthetic step was the conversion of **16a**

to the corresponding iodo derivative **17a** by iodative decarboxylation [14] with sodium hydrogen carbonate and a mixture of iodine and potassium iodide at 70–80 °C. Thus, benzyl 2-ethoxycarbonyl-5-iodo-3-phenylpyrrole-4-carboxylate (**17a**) was obtained in 93% yield. Then, the Ullman coupling of **17a** dissolved in dimethyl formamide (DMF) with copper bronze at room temperature for 20 h afforded bipyrrrole **12a** in 89% yield. **12a** satisfies our initial design, bearing two different ester groups at C3 and C5. In order to selectively deprotect the benzyl ester group we carried out a hydrogenolysis using 10% Pd/C as catalyst and a mixture of formic acid and ammonium formate as the hydrogen source [16]. Thus, the dicarboxylic acid **18** was obtained in quantitative yield.

Pyrrolecarboxylic acids should be heated at or above their melting point to achieve decarboxylation. In the case of dicarboxylic acid **18**, with a very high melting point (275 °C), we assayed glycerol, 2-aminoethanol and ethylene glycol as heating mediums. Diester **11** was obtained in 91%

yield only by using ethylene glycol at 170 °C for 5 h. Longer times or higher temperatures caused both the decarboxylation of the carboxylic acids and the decomposition of the ethyl esters.

Once the diester **11** was obtained, we faced the key step of our synthetic strategy: reduction of **11** to afford dialdehyde **10**. We tested the direct reduction by using diisobutylaluminum hydride (DIBAH) [17, 18], LiAlH<sub>4</sub>/Et<sub>2</sub>NH [19] and Vitride [20], but either the starting material was recovered (DIBAH and Vitride) or a complex mixture was obtained (LiAlH<sub>4</sub>/Et<sub>2</sub>NH).

Consequently, we decided to reduce **11** to dialcohol **19** and oxidize it to dialdehyde **10** in a subsequent step. This strategy is commonly used to obtain pyrrole aldehydes from esters [21–24]. Thus, diester **11** was treated with NaBH<sub>4</sub> [22, 25], DIBAH [24] and LiAlH<sub>4</sub> [21, 23, 26, 27]. Only the treatment of **11** with LiAlH<sub>4</sub> according to N6vák *et al.* [26] yielded **19** in 44% yield. To improve this yield we modified the reaction conditions (temperature, time, LiAlH<sub>4</sub>/diester ratio), obtaining dialcohol **19** in 63% yield when the reaction time was shortened from 4 to 1.5 h and the LiAlH<sub>4</sub>/diester ratio was 11:1. However, the reaction conditions are highly sensitive to small changes and the reproducibility is low. Finally, transformation of dialcohol **19** to dialdehyde **10** was assayed by using manganese oxide as oxidizing agent [22, 23, 28]. A mixture of **10** and **19** was obtained using the procedure described by Carey and Giuliano [23]. Although the reaction conditions (amount of MnO<sub>2</sub>, reaction time, solvent) were systematically modified, it was impossible to obtain dialdehyde **10** in a yield higher than 34%.

The reproducibility problems found in the reduction of the diester **11** to dialcohol **19** and the very low yield in the subsequent oxidation to dialdehyde **10** forced us to change our synthetic strategy. Thus, we decided to assay the transformation of diester **11** to dialdehyde **10** by using the McFayden–Stevens reaction [29]. Consequently, **11** was treated with hydrazine at reflux for 48 h to afford dihydrazide **20** in 93% yield. Then, **20** was converted to the di(*p*-toluenesulfonyl)hydrazide **21** in quantitative yield upon treatment with *p*-toluenesulfonyl chloride in pyridine. Finally, the thermal decomposition of **21** in diethylene glycol at 170 °C for several minutes yielded dialdehyde **10** in 96% yield. The overall yield for the transformation **11** → **20** → **21** → **10** is 86% while the two-step sequence (**11** → **19** → **10**) described has only a 21% yield.

Finally, dialdehyde **10** was converted to TPPo (**2e**) by using activated zinc, copper(I) chloride and titanium tetrachloride in tetrahydrofuran (THF) in 30% yield [7].

In conclusion, we have described a new synthetic procedure for the synthesis of TPPo (Scheme 3) which obviates the decarboxylation of the carbonyl groups in C5(C5') and further formylation of these positions. Although this procedure includes more synthetic steps than those previously described, it has a higher overall yield (8%) and all the reactions are scalable.

## EXPERIMENTAL

Melting points were determined on a Büchi-Tottoli apparatus and are uncorrected. IR spectra were recorded on a Nicolet Magna 560 FTIR spectrophotometer. NMR spectra were recorded on a Varian Gemini 300 spectrometer (300 and 75.5 MHz for <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C, respectively) using

TSPNa or TMS as internal standard. MS spectra were obtained on a VG AutoSpec (Micromass Instruments) trisector EBE or a Hewlett-Packard 5995 AGC/MS System spectrometer. Elemental analyses were obtained on a Carlo-Erba CHNS-O/EA 1108 analyzer.

### Benzyl 2-Ethoxycarbonyl-5-methyl-3-phenylpyrrole-4-carboxylate (**13a**)

Ethyl benzoylacetate (38.4 g, 0.2 mol) was suspended in glacial acetic acid (100 ml), stirred and cooled to 4–8 °C and a saturated solution of sodium nitrite (13.8 g, 0.2 mol) was added dropwise. Fifteen minutes later, benzyl acetoacetate (38.4 g, 0.2 mol) and sodium acetate (25.0 g) were added. After that a mixture of zinc dust (35.0 g, 0.5 mol) and sodium acetate (10.0 g) was added portionwise for *ca* 30 min. Glacial acetic acid (100 ml) was added and the mixture was refluxed for 1 h. The mixture was poured into water, filtered and washed with ethanol. The product was recrystallized from 95% ethanol to yield 40.6 g (56%) of **13a**. m.p. 147–148 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>TMS</sub> (ppm): 10.03 (br s, 1H, NH), 7.30–7.20 (m, 8H, Ph), 6.95–6.92 (m, 2H, Ph), 5.06 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.08 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.58 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.99 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 164.6 (COOCH<sub>2</sub>Ph), 161.6 (COOEt), 139.6 (C2), 136.0 (*Cipso* benzyl Ph), 135.1 (*Cipso* Ph), 133.4 (C4), 129.8, 128.1, 127.6, 127.5, 127.0, 126.7 (C–H Ph), 118.3 (C5), 113.3 (C3), 65.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 60.3 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>), 13.6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (CHCl<sub>3</sub>) ν (cm<sup>-1</sup>): 3262 (t, NH), 1703, 1671 (t, C=O). MS *m/z* (%): 363 (100; M<sup>+</sup>), 272 (92), 226 (73), 210 (51), 91 (43). Anal. calc. for C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>: C 72.72, H 5.78, N 3.85. Found: C 72.73, H 5.87, N 3.97.

### Benzyl 2-Ethoxycarbonyl-5-dichloromethyl-3-phenylpyrrole-4-carboxylate (**14a**)

A suspension of **13a** (5.0 g, 14 mmol) in glacial acetic acid (7 ml) was heated to 50 °C and sulfuryl chloride (2.2 ml, 27 mmol) in glacial acetic acid (4 ml) was added between the limits of 50–60 °C. The solution was maintained at this temperature for several minutes and the flask then cooled slowly to room temperature (*ca* 3 h). The precipitate was filtered, washed with water and dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> to give 4.9 g (82%) of **14a** as a colorless solid. m.p. 145–148 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>TMS</sub> (ppm): 10.10 (br s, 1H, NH), 7.66 (s, 1H, CHCl<sub>2</sub>), 7.31–7.21 (m, 8H, Ph), 6.90–6.86 (m, 2H, Ph), 5.07 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.15 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.03 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163.3 (COOCH<sub>2</sub>Ph), 160.4 (COOEt), 136.6, 131.9, 121.6, 112.6 (C2, C3, C4, C5), 135.1 (*Cipso* benzyl), 133.6 (*Cipso* Ph), 129.8, 128.2, 127.8, 127.7, 127.3, 127.2 (C–H Ph), 66.2 (CH<sub>2</sub>Ph), 61.7 (CHCl<sub>2</sub>), 61.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 13.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (CHCl<sub>3</sub>) ν (cm<sup>-1</sup>): 3262 (t, NH), 1696, 1684 (t, C=O). MS *m/z* (%): 435 (6), 433 (30), 431 (41; M<sup>+</sup>), 398 (17), 396 (39), 224 (22), 91 (100). Anal. calc. for C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>: C 61.11, H 4.39, N 3.24. Found: C 61.38, H 4.33, N 3.33.

### Benzyl 2-Ethoxycarbonyl-5-formyl-3-phenylpyrrole-4-carboxylate (**15a**)

A saturated aqueous solution of sodium carbonate (64 ml) was added to a solution of **14a** (19.0 g, 44 mmol) in THF (114 ml) and the mixture was stirred for 1 h. The two layers were separated, and the aqueous layer was extracted with

ethyl acetate (3 × 30 ml). The combined organic extracts were dried (MgSO<sub>4</sub>) and the solvent was removed under reduced pressure to give 15.8 g (95%) of **15a** as a pale orange solid. m.p. 109–111 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>TMS</sub> (ppm): 10.29 (s, 1H, CHO), 7.35–7.24 (m, 8H, Ph), 7.01–6.97 (m, 2H, Ph), 5.14 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.16 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.08 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 182.5 (CHO), 162.9 (COOCH<sub>2</sub>Ph), 159.8 (COOEt), 135.0, 133.5, 133.2, 132.8, 124.0, 120.8 (C2, C3, C4, C5, *Cipso* benzyl, *Cipso* Ph), 129.8, 128.4, 128.1, 128.0, 127.6, 127.3 (C–H Ph), 66.6 (CH<sub>2</sub>Ph), 61.3 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 13.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (CHCl<sub>3</sub>) ν (cm<sup>-1</sup>): 3252 (t. NH), 1707, 1672 (t. C=O). MS *m/z* (%): 377 (22; M<sup>+</sup>), 359 (33), 286 (85), 240 (100), 91 (61). Anal. calc. for C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>: C 70.02, H 5.04, N 3.71. Found: C 69.86, H 5.10, N 3.72.

### 3-Benzoyloxycarbonyl-5-ethoxycarbonyl-4-phenylpyrrole-2-carboxylic acid (**16a**)

An aqueous solution of potassium permanganate (12.8 g, 82 mmol) was slowly added with vigorous stirring to a mixture of **15a** (10 g, 26 mmol), acetone (120 ml), *tert*-butanol (60 ml) and a solution of 5% sodium dihydrogen phosphate dihydrate (54 ml). The mixture was stirred for 16 h at room temperature. The oxidation was quenched by the addition of a saturated solution of sodium sulfite (50 ml) and to the mixture was added concentrated hydrochloric acid to dissolve the colloidal MnO<sub>2</sub>. The resulting white precipitate was filtered, washed with water and dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> to give 9.2 g (85%) of **16a** as a colorless solid. m.p. 132–133 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>TMS</sub> (ppm): 14.65 (br s, 1H, COOH), 10.57 (br s, 1H, NH), 7.34–7.16 (m, 8H, Ph), 6.81–6.79 (m, 2H, Ph), 5.11 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.14 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.06 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 168.3 (COOCH<sub>2</sub>Ph), 159.3 (COOH), 159.2 (COOEt), 133.7, 128.8, 123.0, 115.3 (C2, C3, C4, C5), 133.5 (*Cipso* benzyl), 133.2 (*Cipso* Ph), 129.5, 128.3, 128.0, 127.5, 127.3 (C–H Ph), 68.2 (CH<sub>2</sub>Ph), 61.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 13.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (CHCl<sub>3</sub>) ν (cm<sup>-1</sup>): 3245 (t. NH), 2800–2200 (t. OH), 1736, 1698, 1631 (t. C=O). MS *m/z* (%): 393 (37; M<sup>+</sup>), 287 (42), 286 (51), 285 (32), 240 (34), 91 (100). Anal. calc. for C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub>: C 67.17, H 4.87, N 3.56. Found: C 67.19, H 4.80, N 3.79.

### Benzyl 2-Ethoxycarbonyl-5-Iodo-3-phenylpyrrole-4-carboxylate (**17a**)

A mixture of **16a** (8.7 g, 22 mmol) and sodium hydrogen carbonate (6.7 g, 80 mmol) in ethanol (40 ml) and water (24 ml) was stirred at 70–75 °C. A solution of iodine (7.2 g, 28 mmol) and potassium iodide (11 g, 66 mmol) in water (84 ml) was added as fast as it was decolorized. The precipitate was filtered, washed with water and dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. The product was recrystallized from 95% ethanol to yield 10.2 g (97%) of **17a**. m.p. 168–169 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>TMS</sub> (ppm): 10.16 (br s, 1H, NH), 7.30–7.19 (m, 8H, Ph), 6.94–6.91 (m, 2H, Ph), 5.07 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.14 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.02 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163.1 (COOCH<sub>2</sub>Ph), 160.4 (COOEt), 135.4 (*Cipso* benzyl), 133.9 (*Cipso* Ph), 133.2 (C3), 129.7, 129.0, 128.0, 127.9, 127.6, 127.1 (C–H Ph), 125.2 (C2), 120.6 (C4), 78.3 (C5), 66.0 (CH<sub>2</sub>Ph), 61.0 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 13.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (CHCl<sub>3</sub>) ν (cm<sup>-1</sup>): 3268 (t. NH), 1693, 1670 (t. C=O). MS *m/z* (%): 475 (100; M<sup>+</sup>),

369 (32), 368 (29), 322 (53), 91 (35). Anal. calc. for C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub>I: C 53.05, H 3.77, N 2.95. Found: C 53.11, H 3.67, N 3.16.

### Dibenzyl 5,5'-Diethoxycarbonyl-4,4'-diphenyl-2,2'-bipyrrole-3,3'-dicarboxylate (**12a**)

The iodopyrrole **17a** (11.1 g, 23 mmol) was dissolved in DMF (70 ml), powdered copper bronze (6.9 g, 100 mmol) was added, and the mixture was stirred at room temperature for 20 h. Water (290 ml) was then added for 1 h and the resulting mixture was filtered through Celite<sup>®</sup> and washed with water. The residual solid was washed with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and the washings were washed three times with hydrochloric acid (1 N) and water. The solvent was dried (MgSO<sub>4</sub>) and removed under reduced pressure. The resulting solid was stirred for 20 min with acetone, filtered and dried to give 7.3 g (89%) of **12a** as a colorless solid. m.p. 204–206 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>TMS</sub> (ppm): 14.18 (br s, 2H, NH), 7.27–7.17 (m, 16H, Ph), 6.78–6.76 (m, 4H, Ph), 5.06 (s, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.18 (q, 4H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.14 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 167.5 (COOCH<sub>2</sub>Ph), 160.2 (COOEt), 135.1, 134.7 (*Cipso* Ph), 134.3 (C4, C4'), 129.7, 128.1, 128.1, 127.8, 127.2, 126.9 (C–H Ph), 129.3 (C2, C2'), 120.6 (C5, C5'), 113.7 (C3, C3'), 67.1 (CH<sub>2</sub>Ph), 60.5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 13.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (CHCl<sub>3</sub>) ν (cm<sup>-1</sup>): 3200–2700 (t. NH), 1695, 1663 (t. C=O). MS *m/z* (%): 696 (100; M<sup>+</sup>), 405 (34), 91 (96). Anal. calc. for C<sub>42</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C 72.41, H 5.17, N 4.02. Found: C 72.06, H 5.20, N 4.07.

### 5,5'-Diethoxycarbonyl-4,4'-diphenylpyrrole-2,2'-bipyrrole-3,3'-carboxylic acid (**18**)

To a solution of **12a** (4.0 g, 6 mmol) in 260 ml of THF was added methanol (60 ml), formic acid (4 ml, 100 mmol), ammonium formate (0.66 g, 10 mmol) and Pd/C 10% (0.96 g). The mixture was refluxed for 4 h, at which point thinlayer chromatography (TLC) analysis showed that the starting tetraester **12a** had been completely consumed. After cooling, DMF (50 ml) was added and stirred for 20 min. The resulting mixture was filtered through Celite<sup>®</sup> and washed several times with DMF. The filtrate and washings were distilled under reduced pressure. The resulting solid was digested at room temperature with acetonitrile, filtered and dried to give 2.9 g (100%) of **18** as a colorless solid. m.p. 275–278 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMF-*d*<sub>7</sub>) δ<sub>TMS</sub> (ppm): 15.00–12.20 (2 br s, 4H, NH, COOH), 7.38–7.36 (m, 10H, Ph), 4.12 (q, 4H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.11 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (THF-*d*<sub>8</sub>) δ (ppm): 169.8 (COOH), 160.3 (COOEt), 136.5 (*Cipso* Ph), 135.1 (C4, C4'), 130.8 (*Ortho* Ph), 130.1 (C5, C5'), 127.3 (*Cmeta* Ph), 127.1 (*Cpara* Ph), 121.2 (C3, C3'), 114.7 (C2, C2'), 60.6 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 14.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (KBr) ν (cm<sup>-1</sup>): 3400–2500 (t. NH, t. OH), 1683, 1656 (t. C=O). MS *m/z* (%): 516 (6; M<sup>+</sup>), 473 (61), 472 (100), 428 (48), 427 (30), 426 (90), 408 (36), 382 (66), 336 (33). Anal. calc. for C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C 65.11, H 4.68, N 5.42. Found: C 64.88, H 4.95, N 5.41.

### Diethyl 4,4'-Diphenyl-2,2'-bipyrrole-5,5'-dicarboxylate (**11**)

A suspension of **18** (0.75 g, 0.14 mmol) in ethylene glycol (15 ml) was heated at 170 °C for 5 h. After cooling, the precipitate was filtered, washed with water and dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. 0.59 g (93%) of the diester **11** was obtained as a

violet-grey solid. m.p. > 250 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>TSPNa</sub> (ppm): 12.12 (br s, 2H, <sup>4</sup>J = 3 Hz, NH), 7.57–7.54 (m, 4H, Ph), 7.41–7.31 (m, 6H, Ph), 6.90 (d, 2H, <sup>4</sup>J = 3 Hz, H3 H3'), 4.24 (q, 4H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.22 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 160.4 (C=O), 134.9 (C*ipso* Ph), 132.2 (C2, C2'), 129.3 (C*ortho* Ph), 127.6 (C4, C4'), 127.5 (C*meta* Ph), 126.8 (C*para* Ph), 117.6 (C5, C5'), 110.3 (C3, C3'), 59.7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (KBr) ν (cm<sup>-1</sup>): 3228 (t. NH), 1656 (t. C=O). MS *m/z* (%): 428 (88; M<sup>+</sup>), 382 (100), 336 (21), 279 (21). Anal. calc. for C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C 72.87, H 5.65, N 6.54. Found: C 72.99, H 5.45, N 6.40.

#### 4,4'-Diphenyl-5,5'-hydroxymethyl-2,2'-bipyrrrole (19)

To a stirred suspension of lithium aluminum hydride (0.1 g, 2.6 mmol) in dry tetrahydrofuran (6 ml) at 0 °C in inert atmosphere was added dropwise a solution of **11** (0.1 g, 0.23 mmol) in dry tetrahydrofuran (12 ml). The resulting mixture was stirred at 0 °C for 20 min, and then heated up to 55 °C for 1.5 h. After cooling, the reaction was quenched by the dropwise addition of water. The precipitate was filtered off and washed with THF. The filtrate and washings were distilled under reduced pressure and the residue was washed with dichloromethane. 0.05 g (63%) of the dialcohol **19** was obtained as a dark-green solid. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>TSPNa</sub> (ppm): 11.33 (br s, 2H, <sup>4</sup>J = 2 Hz, NH), 7.54–7.52 (m, 4H, Ph), 7.42–7.37 (m, 4H, Ph), 7.24–7.19 (m, 2H, Ph), 6.59 (d, 2H, <sup>4</sup>J = 2 Hz, H3, H3'), 5.30 (br s, 2H, OH), 4.54 (s, 4H, CH<sub>2</sub>OH). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 136.6 (C*ipso* Ph), 128.6 (C*ortho* Ph), 127.9, 124.8, 122.2 (C2, C2', C4, C4', C5, C5'), 127.1 (C*meta* Ph), 125.2 (C*para* Ph), 102.8 (C3), 54.9 (CH<sub>2</sub>OH). IR (KBr) ν (cm<sup>-1</sup>): 3423, 3254 (t. NH, t. OH), 1290, 1020 (t. C=O). MS *m/z* (%): 342 (3), 312 (71), 298 (100), 284 (61), 115 (48), 91 (45).

#### 5,5'-Dicarbazoyl-4,4'-diphenyl-2,2'-bipyrrrole (20)

A suspension of hydrazine hydrate 80% (15 ml), ethanol (30 ml) and **11** (1.5 g, 3.5 mmol) was refluxed for 48 h, cooled to room temperature, filtered, washed with water and dried. 1.3 g (93%) of **20** was obtained as a yellowish solid. m.p. > 270 °C (decomp.). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>TSPNa</sub> (ppm): 11.67 (br s, 2H, <sup>4</sup>J = 2 Hz, NH pyrrole), 8.44 (br s, 2H, NH), 7.53–7.51 (m, 4H, Ph), 7.42–7.37 (m, 4H, Ph), 7.31–7.26 (m, 2H, Ph), 6.72 (d, 2H, <sup>4</sup>J = 2 Hz, H3), 4.40 (br s, 4H, NH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 161.7 (CONHNH<sub>2</sub>), 135.4 (C*ipso* Ph), 128.5, 128.2 (C*ortho*, *meta* Ph), 127.0 (C2, C2'\*), 126.5 (C*para* Ph), 126.1 (C4, C4'\*), 120.9 (C5, C5'), 107.4 (C3, C3'). IR (KBr) ν (cm<sup>-1</sup>): 3408, 3282 (t. NH), 1640 (t. C=O). MS *m/z* (%): 400 (50), 369 (21), 338 (25), 337 (100). Anal. calc. for C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>: C 65.99, H 5.03, N 20.99. Found: C 65.99, H 4.95, N 20.99.

#### 4,4'-Diphenyl-5,5'-di-(*N*'-tosyl)-hydrazinocarbonyl-2,2'-bipyrrrole (21)

A solution of 0.33 g (1.7 mmol) of *p*-toluenesulfonyl chloride in 6 ml of pyridine was added to a solution of **20** (0.3 g, 0.75 mmol) in pyridine (40 ml). The mixture was stirred at room temperature for 1 h and then poured into ice/water. The precipitate was filtered, washed with water and dried. 0.51 g (96%) of **21** was obtained. m.p. > 270 °C (decomp.). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 11.67 (br s, 2H, <sup>4</sup>J = 2 Hz, NH pyrrole), 9.83 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 3 Hz, NH), 9.43 (d,

2H, <sup>3</sup>J = 3 Hz, NH), 7.77–7.74 (m, 4H, Ph), 7.39–7.30 (m, 14H, Ph), 6.71 (d, 2H, <sup>4</sup>J = 2 Hz, H3), 2.41 (s, 6H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 159.9 (C=O), 143.2 (C4 Ts), 136.2 (C1 Ts), 134.7 (C*ipso* Ph), 129.2 (C2 Ts), 129.0 (C2, C2'), 128.5, 128.0 (C*ortho*, *meta* Ph), 127.7 (C3 Ts), 126.7 (C4, C4'), 126.6 (C*para* Ph), 119.2 (C5, C5'), 108.4 (C3, C3'), 21.1 (CH<sub>3</sub>). IR (KBr) ν (cm<sup>-1</sup>): 3357, 3109 (t. NH), 1653 (t. C=O), 1334, 1161 (t. SO<sub>2</sub>). MS *m/z* (%): 380 (20), 352 (24), 285 (21), 284 (100), 283 (23). Anal. calc. for C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>: C 61.00, H 4.55, N 11.86, S 9.05. Found: C 61.07, H 4.27, N 11.53, S 8.80.

#### 5,5'-Diformyl-4,4'-diphenyl-2,2'-bipyrrrole (10)

**Method A.** To a solution of **19** (0.15 g, 0.44 mmol) in acetone (15 ml) was added MnO<sub>2</sub> 85% (1 g, 9.77 mmol) and stirring was maintained for 15 h at room temperature. The mixture was filtered through Celite<sup>®</sup> and the filter was washed with acetone. The green solid retained in the filter was washed with THF and the solvent was distilled under reduced pressure. The resulting solid was digested at room temperature with acetonitrile, filtered and dried to give 0.05 g (34%) of **10** as a dark-green solid.

**Method B.** A mixture of **21** (10.4 g, 15 mmol), anhydrous sodium carbonate (20.7 g) and dry diethylene glycol (124 ml) was stirred under nitrogen at 170 °C for 15 min. The warm reaction mixture was poured into ice-water, the precipitate was filtered, washed with water and dried, 4.6 g (92%) of **10** was obtained as a dark-green solid.

## REFERENCES

1. Fisher AM, Murphree AL and Gomer CJ. *Lasers Surg. Med.* 1995; **17**: 2.
2. Pass HI. *J. Natl. Cancer Inst.* 1993; **85**: 443.
3. Sharman WM, Allen CM and van Lier JE. *Drug Discovery Today* 1999; **4**: 507.
4. Brown SB and Truscott TG. *Chem. Br.* 1993; 955.
5. Vogel E, Köcher M, Schmickler H and Lex J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1986; **25**: 257.
6. Vogel E, Balci M, Pramod K, Koch P, Lex J and Ermer O. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1987; **26**: 928.
7. Nonell S, Bou N, Borrell JI, Teixidó J, Villanueva A, Juarranz A and Cañete M. *Tetrahedron Lett.* 1995; **36**: 3405.
8. Hennig W. Doctoral Thesis, Universität zu Köln, Köln, 1992.
9. Villanueva A, Cañete M, Nonell S, Borrell JI, Teixido J and Juarranz A. *Anticancer Drug Des.* 1996; **11**: 89.
10. Cañete M, Lapeña M, Juarranz A, Vendrell V, Borrell JI, Teixidó J, Nonell S and Villanueva A. *Anticancer Drug Des.* 1997; **12**: 543.
11. Cañete M, Ortiz A, Juarranz A, Villanueva A, Nonell S, Borrell JI, Teixidó J and Stockert JC. *Anticancer Drug Des.* 2000; **15**: 143.
12. Battersby AR, Hunt E, McDonald E, Paine III JB and Saunders J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* 1976; 1008.
13. Corwin AH, Bailey WA and Viohl P. *J. Am. Chem. Soc.* 1942; **64**: 1267.
14. Grigg R, Johnson AW and Wasley JWF. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* 1963; 359.

15. Abiko A, Roberts JC, Takemasa T and Masamune S. *Tetrahedron Lett.* 1986; **27**: 4537.
16. El-Amin B, Anantharamaiah GM, Royer GP and Means GE. *J. Org. Chem.* 1979; **44**: 3442.
17. Winterfeldt E. *Synthesis* 1998; 617.
18. Cushman M and Wong WC. *Tetrahedron Lett.* 1986; **27**: 2103.
19. Cha JS and Kwon SS. *J. Org. Chem.* 1987; **52**: 5486.
20. Bartlett PA and Johnson WS. *J. Am. Chem. Soc.* 1973; **95**: 7501.
21. Mattocks AR. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1978; 896.
22. Dumoulin H, Rault S and Robba M. *J. Heterocycl. Chem.* 1997; **34**: 13.
23. Carey FA and Giuliano RM. *J. Org. Chem.* 1981; **46**: 1366.
24. De Leon CY and Ganem B. *Tetrahedron* 1997; **53**: 7731.
25. Soai K, Oyamada H and Ookawa A. *Synth. Commun.* 1982; **12**: 463.
26. Novák L, Hanania M, Kovács P, Rohály J, Kolonits P and Szántay C. *Heterocycles* 1997; **45**: 2331.
27. Naylor MA, Jaffar M, Nolan J, Stephens MA, Butler S, Patel KB, Everett SA, Adams GE and Stratford IJ. *J. Med. Chem.* 1997; **40**: 2335.
28. Fatiadi AJ. *Synthesis* 1976; 69.
29. Rapoport H and Holden KG. *J. Am. Chem. Soc.* 1962; **84**: 635.



# AFINIDAD

REVISTA DE QUÍMICA TEÓRICA Y APLICADA  
EDITADA POR LA ASOCIACIÓN DE QUÍMICOS DEL INSTITUTO QUÍMICO DE SARRIÀ

## *Porfínicos para la fotoquimioterapia del cáncer y otras aplicaciones biomédicas*

Ofir Arad,<sup>a</sup> Ana Gavaldà,<sup>a</sup> Óscar Rey,<sup>a</sup> Noemi Rubio,<sup>a</sup> David Sánchez-García,<sup>a</sup> José I. Borrell,<sup>a</sup>  
Jordi Teixidó,<sup>a</sup> Santiago Nonell,<sup>a\*</sup> Magdalena Cañete,<sup>b</sup> Angeles Juarranz,<sup>b</sup> Angeles Villanueva,<sup>b</sup>  
Juan C. Stockert<sup>b</sup> y Pablo J. Díaz Jiménez<sup>c</sup>.

---

*Porphycene for cancer photochemotherapy and other biomedical applications.*

*Porfínicens per a la fotoquimioteràpia del càncer i altres aplicacions biomèdiques.*

*Recibido: 8-V-2002*

---

# Porfínicos para la fotoquimioterapia del cáncer y otras aplicaciones biomédicas

Ofir Arad,<sup>a</sup> Ana Gavaldá,<sup>a</sup> Óscar Rey,<sup>a</sup> Noemi Rubio,<sup>a</sup> David Sánchez-García,<sup>a</sup> José I. Borrell,<sup>a</sup> Jordi Teixidó,<sup>a</sup> Santiago Nonell,<sup>a\*</sup> Magdalena Cañete,<sup>b</sup> Angeles Juarranz,<sup>b</sup> Angeles Villanueva,<sup>b</sup> Juan C. Stockert<sup>b</sup> y Pablo J. Díaz Jiménez<sup>c</sup>.

---

*Porphycene for cancer photochemotherapy and other biomedical applications.*

*Porfínicos per a la fotoquimioteràpia del càncer i altres aplicacions biomèdiques.*

*Recibido: 8-V-2002*

## RESUMEN

La terapia fotodinámica (PDT) o fotoquimioterapia del cáncer es una modalidad terapéutica que consiste en la aplicación de compuestos fotosensibilizadores que se acumulan preferentemente en tejidos neoplásicos. La irradiación del área tumoral con luz visible ocasiona la formación de formas reactivas de oxígeno cuya elevada citotoxicidad produce la muerte de las células malignas. El desarrollo de fotosensibilizadores para la localización de tumores y su tratamiento es un campo de investigación de gran actualidad, a la vez que se descubren nuevas aplicaciones terapéuticas no oncológicas para esas moléculas. Nuestro grupo ha centrado sus esfuerzos en el estudio y desarrollo de porfínicos, isómeros estructurales de las porfirinas, con mejores propiedades fotoquímicas y fotosensibilizantes que éstas. Los porfínicos son candidatos muy atractivos para ser utilizados como fármacos en terapia fotodinámica y otras aplicaciones biomédicas.

**Palabras clave:** Cáncer. Fotodetección. Fotoquimioterapia. Fotosensibilizadores. Porfínicos. Terapia fotodinámica.

## SUMMARY

The photodynamic therapy (PDT) or photochemotherapy of cancer is a treatment modality that uses a photosensitizing drug with tumor-localizing properties. Irradiation of the tumor cells with light results in the formation of highly reactive, cytotoxic oxygen species that induce the death of malignant cells. The development of new photosensitizers for localization and treatment of tumors is a research area of current interest, paralleled by the development of novel non-oncological applications of these drugs. Our group is focused on the study and development of porphycenes, structural isomers of porphyrins, with better photochemical and photosensitizing properties. Porphycenes are highly attractive candidates to be used as photosensitizers for PDT and other biomedical applications.

**Key words:** Cancer. Photodetection (PD). Photochemotherapy. Photosensitizers. Porphycenes. Photodynamic therapy (PDT).

## RESUM

La teràpia fotodinàmica (PDT) o fotoquimioteràpia del càncer és una modalitat terapèutica que consisteix en l'aplicació de compostos fotosensibilitzadors que s'acumulen preferentment en teixits neoplàsics. La irradiació de l'àrea tumoral amb llum visible ocasiona la formació d'espècies reactives d'oxigen amb efectes citotòxics que porten a la mort de les cèl·lules tumorals. El desenvolupament de fotosensibilitzadors per a la localització de tumors i el seu tractament és una àrea de recerca de gran actualitat, a la vegada que es descobren aplicacions terapèutiques no oncològiques per a aquestes molècules. El nostre grup ha centrat el seus esforços en l'estudi i desenvolupament de porfínicos, isòmers estructurals de les porfirines amb millors propietats fotoquímiques i fotosensibilitzants. Els porfínicos són candidats molt atractius per a ser utilitzats com a fàrmacs en la teràpia fotodinàmica.

**Mots clau:** Càncer. Fotodetecció. Fotoquimioteràpia. Fotosensibilitzadors. Porfínicos. Teràpia fotodinàmica.

## 1. INTRODUCCIÓN

La terapia fotodinámica del cáncer (PDT) o fotoquimioterapia es una modalidad terapéutica que consiste en la aplicación de compuestos fotosensibilizadores que se acumulan preferentemente en tejidos tumorales. Estos fotosensibilizadores son moléculas orgánicas que transforman la energía luminosa en energía química al igual que

---

<sup>a</sup> Grup d'Enginyeria Molecular, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull, Via Augusta, 390, E-08017 Barcelona, Spain.

<sup>b</sup> Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, E-28049 Madrid, Spain.

<sup>c</sup> Unidad de Endoscopia Respiratoria y Láser. Servicio de Neumología. Ciudad Sanitaria y Universitaria de Bellvitge, Feixa Llarga, s/n. 08907 L'Hospitalet (Barcelona), Spain.

\* Autor a quien debe dirigirse la correspondencia.

---



lo hace la clorofila al catalizar la biosíntesis de glucosa. La irradiación del área tumoral con luz visible ocasiona la formación de especies reactivas de oxígeno con efectos citotóxicos que llevan a la muerte de las células tumorales. Actualmente se están desarrollando fotosensibilizadores para la localización de neoplasias y para su tratamiento, aunque también existen numerosas aplicaciones terapéuticas no oncológicas para esas moléculas.

La principal ventaja de la PDT sobre otros tratamientos convencionales del cáncer, es su selectividad para dañar exclusivamente el tejido tumoral sin inducir graves efectos secundarios en el organismo, ya que sólo en la zona tumoral irradiada se reúnen los tres agentes responsables del efecto fotodinámico: fotosensibilizador, luz y oxígeno. El fotosensibilizador más utilizado en la práctica clínica es el Photofrin® 4, una mezcla de porfirinas de composición y estructura aún hoy insuficientemente caracterizada. Aunque el Photofrin® está dando buenos resultados en distintos tratamientos fotoquimioterapéuticos, se encuentra lejos de ser el fotosensibilizador óptimo, debido a que presenta una escasa absorción en la zona roja del espectro (la cual presenta una mayor penetración a través de los tejidos), y además induce fotosensibilización cutánea en los pacientes, lo que les obliga a evitar la exposición solar durante 3-4 semanas después del tratamiento. Por ello en los últimos años se ha incrementado el interés en la investigación de fotosensibilizadores de segunda generación con mejores propiedades físicas, químicas y terapéuticas que el Photofrin®.

Nuestro grupo ha centrado sus esfuerzos en el estudio y desarrollo de porficeños 13, que son isómeros estructurales de las porfirinas. Los porficeños tienen un nivel de simetría menor que las porfirinas por lo que presentan una banda de absorción mucho más intensa en la zona roja del espectro. Esta y otras propiedades los hacen candidatos muy apropiados para ser utilizados como nuevos fármacos en la terapia fotodinámica.

## 2. TERAPIA FOTODINÁMICA: ANTECEDENTES

La curación de algunas enfermedades por mediación de la luz ya se conocía desde la antigüedad. Las antiguas culturas de Egipto, China, India y Grecia, más de tres mil años antes de la era moderna, trataban el raquitismo, entre otras enfermedades, mediante baños de sol (helioterapia)<sup>(1)</sup>. Estas prácticas pueden considerarse como fototerapias ya que combinan la acción de la luz sobre el cuerpo del paciente sin administrar ningún fármaco fotosensibilizador exógeno<sup>(2)</sup>.

Estas técnicas evolucionaron en la India y en Egipto en el siglo XIV a.C. con la administración de extractos de plantas que contienen psoralenos 1, a enfermos de psoriasis y vitiligo en combinación con la exposición a la luz solar<sup>(3)</sup>. Dichas técnicas se engloban en el término fotoquimioterapia ya que las acciones terapéuticas se obtienen mediante la absorción de un fotón por un fotosensibilizador exógeno<sup>(2)</sup>.

A principios de la era cristiana estas actividades entraron en declive por considerarse prácticas paganas. No fue hasta finales del siglo XVIII que los médicos abordaron científicamente el estudio de los efectos beneficiosos de la exposición solar para el tratamiento de diversas enfermedades. La fototerapia es en la actualidad una tecnología médica bien establecida, con aplicaciones tan diversas como la fotoestimulación de la biosíntesis de la vitamina D, el tratamiento de la hiperbilirrubinemia (ictericia) neonatal y el tratamiento de lesiones musculares por poner sólo algunos ejemplos.

Las primeras investigaciones científicas sobre las *fotoquimioterapias* fueron los estudios experimentales de Raab (1900), discípulo de von Tappeiner, sobre la toxicidad de colorantes de acridina frente al protozario de vida libre *Paramecium caudatum*<sup>(4,5)</sup>. Estos trabajos pusieron de relieve la existencia del fenómeno de la fotosensibilización, es decir la producción de daño celular inducido por la acción

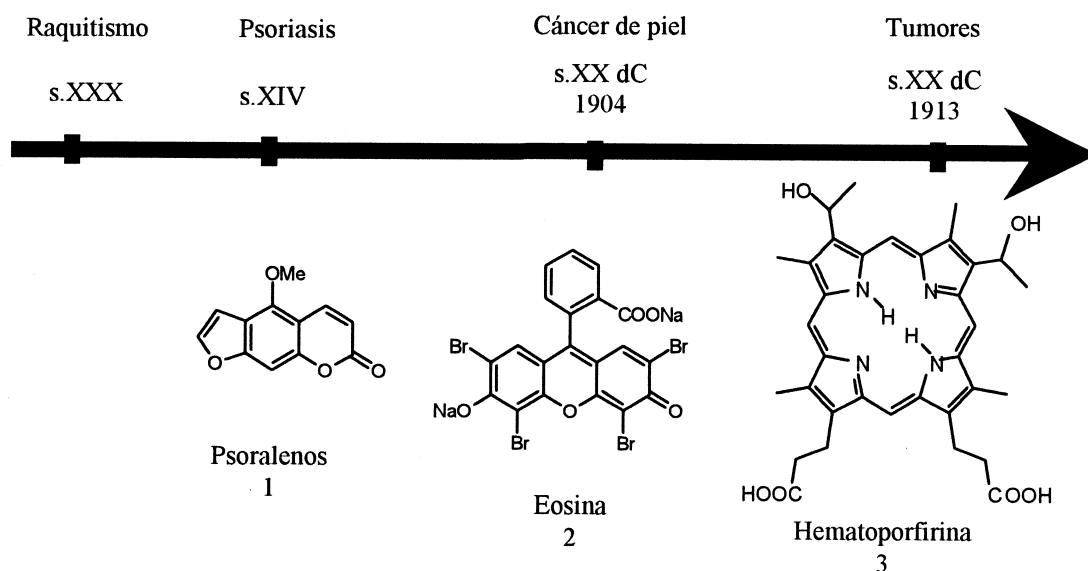


Figura 1. Evolución de las fototerapias y de los fotosensibilizadores a lo largo de la historia.

combinada de la luz y de ciertas sustancias fluorescentes. El médico danés Niels Finsen recibió el premio Nobel en 1903 por desarrollar la fototerapia como ciencia y popularizarla en el tratamiento del *lupus vulgaris*<sup>(1)</sup>. En 1904, von Tappeiner y Jodlbauer relacionaron la fotosensibilización con la presencia de oxígeno y llamaron a este fenómeno «acción fotodinámica» para distinguirla de la fotosensibilización fotográfica. Tres años más tarde publicaron un libro en el que se habla por primera vez de terapia fotodinámica. Se suele usar, refiriéndose a ésta técnica, el acrónimo PDT que deriva del inglés «Photodynamic Therapy»<sup>(6,7)</sup>.

Dichos investigadores aplicaron por primera vez un fotosensibilizador sobre un tumor. Concretamente trataron tumores de piel aplicando eosina 2 tanto tópicamente como por inyecciones intratumorales y lo iluminaron con luz solar y con luz artificial. Las mejorías de los pacientes fueron notables. A partir de este momento se puede hablar de PDT del cáncer, técnica que combina la acción de la luz sobre un fármaco fotosensibilizador y oxígeno, para fotooxidar biomoléculas de las células tumorales y producir su muerte de forma selectiva<sup>(8)</sup>.

El interés por los fotosensibilizadores de tipo porfirínico se inició en 1911 con los experimentos de Hausman con la hematoporfirina<sup>(9)</sup> (HP) 3. En 1913, Meyer-Betz demostró que las porfirinas podían actuar como fotosensibilizadores en humanos ya que tras inyectarse 200 mg de HP observó una severa hinchazón en las zonas que habían estado expuestas a la luz solar. Esta fotosensibilidad cutánea se mantuvo durante varios meses<sup>(10)</sup>.

En 1924, Policard observó fluorescencia roja en sarcomas de rata al exponerlos a una lámpara de Wood (de luz ultravioleta). La presencia de fluorescencia fue atribuida a la acumulación de porfirinas endógenas formadas al infectar el tumor con bacterias<sup>(11)</sup>.

Auler y Banzer (1942) observaron tras una inyección sistémica de HP, una localización y retención selectiva en tumores experimentales notando una necrosis posterior en los mismos<sup>(12)</sup>. Posteriormente, inyectaron HP a animales inoculados con sarcoma de Jensen y carcinoma de Flicks-Jobling e iluminaron los tumores con una potente lámpara de cuarzo. Debido a que se obtuvieron resultados muy prometedores, se empezó a experimentar en humanos pero las investigaciones se interrumpieron a causa de la Segunda Guerra Mundial.

En 1948, Figge confirmó la retención selectiva de la HP *in vivo* y reconoció la importancia de esta sustancia como herramienta para el diagnóstico de tumores<sup>(13)</sup>. Rasmussen-Taxdal, Ward y Figge observaron una acumulación selectiva en diferentes tumores, pero las elevadas dosis que se requerían de HP y los riesgos de fotosensibilidad asociados desaconsejaban la utilización de esta porfirina como método diagnóstico en humanos<sup>(14)</sup>.

En 1955, Schwartz demostró que las muestras de hematoporfirina comercial que se utilizaban en todas las investigaciones eran una mezcla de numerosas porfirinas y sólo contenían entre un 30 y un 65% de HP. Mediante una purificación parcial, las fracciones más ricas en HP resultaron ser las que peor se localizaban, mientras que el residuo mostraba una afinidad superior por los tumores. Por ello, se centraron los estudios en las fracciones residuales, ensayándose nuevos derivados (complejos con metales, uretanos...). Uno de estos derivados, que había sido obtenido tratando la HP con una mezcla de ácido acético y sulfúrico durante quince minutos y reprecipitando posteriormente con acetato sódico, resultó localizarse muy bien en tumores. A este nuevo compuesto se le dió el nombre de derivado de hematoporfirina (HpD)<sup>(15)</sup>.

Lipson *et al.* iniciaron los estudios con el HpD y observaron un aumento en la acumulación y una retención más duradera en tejidos tumorales en comparación con el teji-

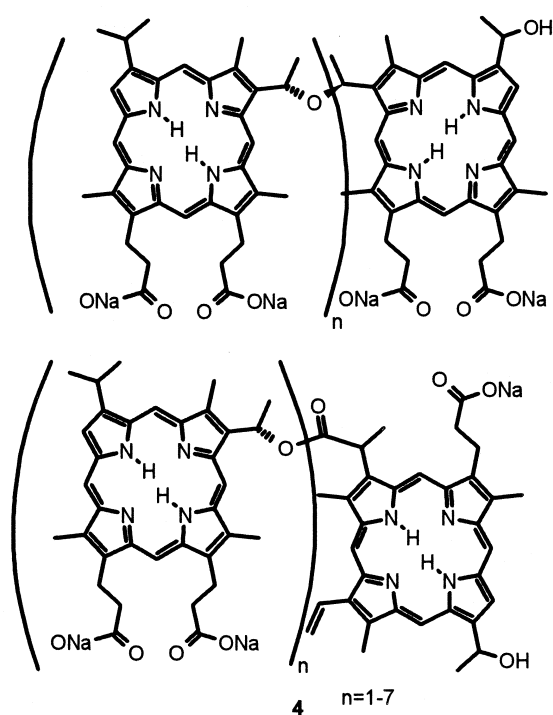


Figura 2. Photofrin® 4.

do normal, y con mejores propiedades fotoquímicas que la HP<sup>(16,17)</sup>. El HpD es una mezcla oligomérica de ésteres y éteres de la HP y por lo tanto no es una sustancia pura aunque su composición es más constante.

Este derivado se utilizó en humanos para diagnosticar tumores en bronquios, esófago y cuello uterino, con una buena correlación entre las zonas que mostraban fluorescencia y los resultados obtenidos mediante biopsia<sup>(18-21)</sup>. Después de resultados muy prometedores en ratas y ratones<sup>(22)</sup>, Dougherty (1978) realizó los primeros ensayos de PDT con HpD en humanos con diferentes tipos de tumores, los cuales mostraron en mayor o menor grado una respuesta a la terapia<sup>(23)</sup>.

En los últimos 20 años miles de pacientes han sido tratados mediante PDT, casi todos utilizando como fotosensibilizador el HpD o unas versiones más puras del mismo (Photofrin II® y Photofrin® 4). Canadá, Holanda, Japón, USA, Inglaterra y Francia aprobaron durante la década de los 90 el uso de la PDT en cánceres de esófago, pulmón y vejiga.

### 3. PRÁCTICA CLÍNICA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA DEL CÁNCER

El tratamiento mediante PDT se realiza en varias etapas. En primer lugar, se administra un fármaco fotosensibilizador al paciente vía tópica o intravenosa, según el cáncer a tratar y en función del fotosensibilizador y de su vía de administración, se espera entre 3 y 96 horas antes de proceder a la iluminación de la zona afectada. De esta forma, se consigue que los niveles de acumulación del fármaco en el tumor sean máximos respecto a los del tejido normal.

Posteriormente, se irradia el tejido tumoral mediante luz láser de longitud de onda adecuada, dirigiéndose a la zona

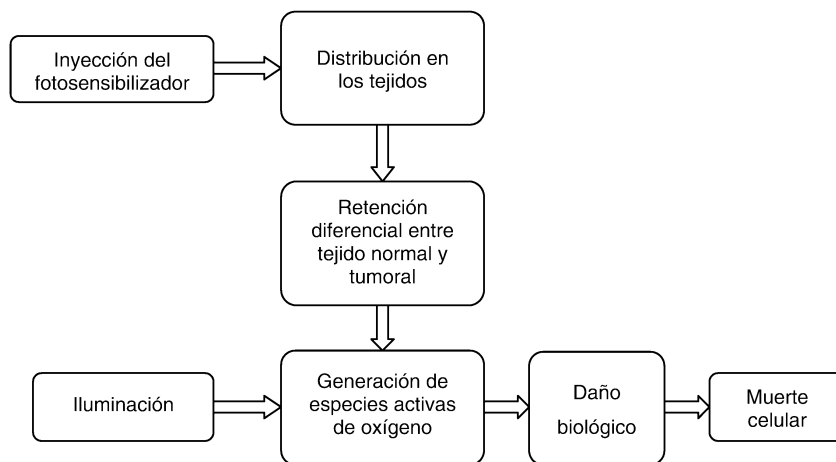


Figura 3. Esquema general de la terapia fotodinámica.

afectada mediante fibras ópticas. La emisión de fluorescencia por parte del fármaco permite al mismo tiempo detectar y localizar el cáncer<sup>(24)</sup>, hecho que facilita la óptima situación de las fibras ópticas. La dosis de luz suministrada ha de ser suficientemente alta como para causar una respuesta eficaz en el tejido canceroso. La acción combinada de la luz y del fotosensibilizador genera radicales y formas reactivas de oxígeno que producen un daño biológico irreversible en la zona tratada conduciendo a la muerte celular.

Esta técnica destaca por dos aspectos: en primer lugar el fármaco sólo produce toxicidad después de absorber luz y en segundo lugar la acumulación del fotosensibilizador se produce preferentemente en el tejido tumoral produciendo un daño mínimo en el tejido normal.

#### 4. BASE MOLECULAR DE LA PDT

##### a) Formulación y transporte de los fotosensibilizadores

Mientras que los fotosensibilizadores hidrofílicos se pueden administrar por inyección intravenosa directamente en soluciones acuosas, la baja solubilidad en agua de los fotosensibilizadores hidrofóbicos requiere su formulación en vehículos adecuados para conseguir un adecuado «targeting». Estos vehículos pueden ser pasivos o activos, los vehículos pasivos son: liposomas, dispersiones en aceites, partículas poliméricas biodegradables o conjugados fotosensibilizador-polímero hidrofílico. Los vehículos activos son complejos con lipoproteínas de baja densidad (LDL) o con anticuerpos monoclonales que dirigen el fotosensibilizador al tumor de forma mucho más selectiva consiguiéndose disminuir las dosis de aplicación y eliminar la fotosensibilización cutánea<sup>(25)</sup>.

El fotosensibilizador se localiza en el tumor mediante dos mecanismos, acumulación activa y simple retención, siendo la retención el factor mayoritario si el vehículo es pasivo. La localización y biodistribución del fotosensibilizador viene determinada por: (i) propiedades del mismo (hidrofobicidad, distribución de carga, pK, constante de agregación-disociación y peso molecular), (ii) propiedades de los tejidos tumorales (pH, sistema vascular, drenaje linfático, presencia de macrófagos, etc) y (iii) propiedades de los sistemas de administración del fármaco<sup>(26)</sup>. Hay que tener en cuenta sin embargo que algunas de estas pro-

piedades dependen de la especie y, por lo tanto, fármacos que han resultado eficaces en animales experimentales pueden ser inefectivos en humanos debido a la toxicidad sistémica, problemas farmacocinéticos, metabólicos, y a otros factores aún desconocidos.

Una vez inyectado el fotosensibilizador en la corriente sanguínea, puede asociarse con diferentes componentes del plasma, tales como lipoproteínas de densidad baja (LDL), de densidad elevada (HDL) o de densidad muy baja (VLDL), albúmina, globulinas, etc. El grado de asociación de un fotosensibilizador con dichos componentes parece estar relacionado con su grado de hidrofobicidad<sup>(27-29)</sup>. Así, si se inyecta un fotosensibilizador hidrofóbico por vía intravenosa, éste se une mayoritariamente a las lipoproteínas, mientras que si es hidrofílico, es principalmente transportado por albúmina y otras proteínas plasmáticas. Sin embargo, en fármacos con un considerable grado de hidrofobicidad un aumento en este parámetro no conduce a un aumento de la asociación<sup>(30)</sup>. Esta distribución depende también en parte de la concentración relativa y absoluta de los componentes del plasma sanguíneo, ya que esta composición varía en función de la especie animal e incluso puede variar entre individuos de la misma especie.

Uno de los objetivos prioritarios de los investigadores para aumentar el potencial de la PDT es mejorar la localización selectiva. Con la finalidad de aumentar esta localización se intenta aprovechar una serie de características específicas de las células malignas, como la presencia de determinados antígenos o receptores<sup>(31)</sup>. Se han estudiado una serie de transportadores que por sus características permiten dirigir preferentemente el fotosensibilizador a los tejidos tumorales, como son anticuerpos monoclonales<sup>(32)</sup>, LDL<sup>(33)</sup>, liposomas y lectinas<sup>(34)</sup>.

Las LDL son reconocidas por receptores específicos de la célula y el fotosensibilizador puede ser incorporado en la célula por endocitosis si se encuentra unido a las LDL. Este proceso está favorecido en células con un alto contenido de receptores de LDL tales como las células tumorales<sup>(35,36)</sup>, células endoteliales y ciertos órganos normales en concreto, glándulas adrenales, hígado y riñón<sup>(37-39)</sup>.

La fotoinmunoterapia es una técnica que está actualmente en estudio y consiste en utilizar anticuerpos monoclonales antitumorales (MAbs) como medio de transporte del fotosensibilizador<sup>(34,40)</sup>. Los MAbs que se unen a receptores específicos de determinados antígenos han mostrado buenos resultados dirigiendo fármacos al objetivo tumo-

ral. Para dirigir el fotosensibilizador al tumor es necesario preparar un complejo formado por un MAb y el máximo número de moléculas de fotosensibilizador sin perder la actividad del MAb. Esto se ha conseguido immobilizando previamente el fotosensibilizador en intermedios poliméricos (poliaminoácidos, dextrano o albúmina) y posteriormente uniendo este complejo al MAb<sup>(41, 42)</sup>. Esta técnica permitiría utilizar una gran variedad de fotosensibilizadores, incluso aquellos que no se retienen preferentemente en el tumor, y ofrecería una serie de ventajas como la reducción de la dosis y una mínima o nula fotosensibilidad cutánea. Actualmente, se están estudiando algunas limitaciones de la técnica, como son entre otras, la respuesta del sistema inmunológico a este complejo y la influencia del tamaño de dicho complejo.

### b) Los fotones como fármacos

Los fotones de luz ultravioleta o visible que el fotosensibilizador absorbe lo promociona a un estado singlete excitado. De allí puede volver al estado fundamental emitiendo fluorescencia o puede pasar al estado triplete por cruzamiento intersistémico. De nuevo el triplete puede decaer al estado fundamental emitiendo fosforescencia o reaccionar con oxígeno para dar oxígeno singlete<sup>(43-45)</sup> (mecanismo tipo II). El sensibilizador también puede reaccionar directamente con una biomolécula por transferencia de

electrón o de hidrógeno (mecanismo tipo I)<sup>(46)</sup>. Esta reacción puede darse también desde el estado singlete ( $^1S_1$ ), si bien el menor tiempo de vida de éste sugiere una menor probabilidad que desde el estado triplete. En ambos casos el resultado final es la oxidación de biomoléculas esenciales iniciándose una cadena autooxidativa<sup>(47)</sup>. Si los daños son suficientes se produce la muerte celular por un mecanismo apoptótico o necrótico dependiendo, entre otros factores, de la dosis de tratamiento fototerapéutico<sup>(48)</sup>.

La toxicidad de la PDT *in vivo* es debida principalmente a la producción de oxígeno singlete aunque pueden producirse ambas reacciones e incluso entrar en competencia. El mecanismo que predomina depende en cada caso de las características del fármaco y del medio.

Para ambas reacciones el oxígeno es un requisito. Experimentos *in vitro* utilizando Photofrin<sup>®</sup>, demostraron que se conseguía un efecto fotodinámico completo en tejidos con niveles normales de oxigenación, pero la efectividad no aumentaba al incrementar dichos niveles. En cambio, no se producía efecto fotodinámico si se reducía drásticamente el contenido de oxígeno en el área tratada<sup>(49)</sup>. Tanto los productos de reacción del tipo I como los del tipo II son muy reactivos, causando un daño muy localizado. Los tiempos de vida del oxígeno singlete y su distancia de difusión en un medio celular son muy limitados debido a su elevada reactividad y desactivación por par-

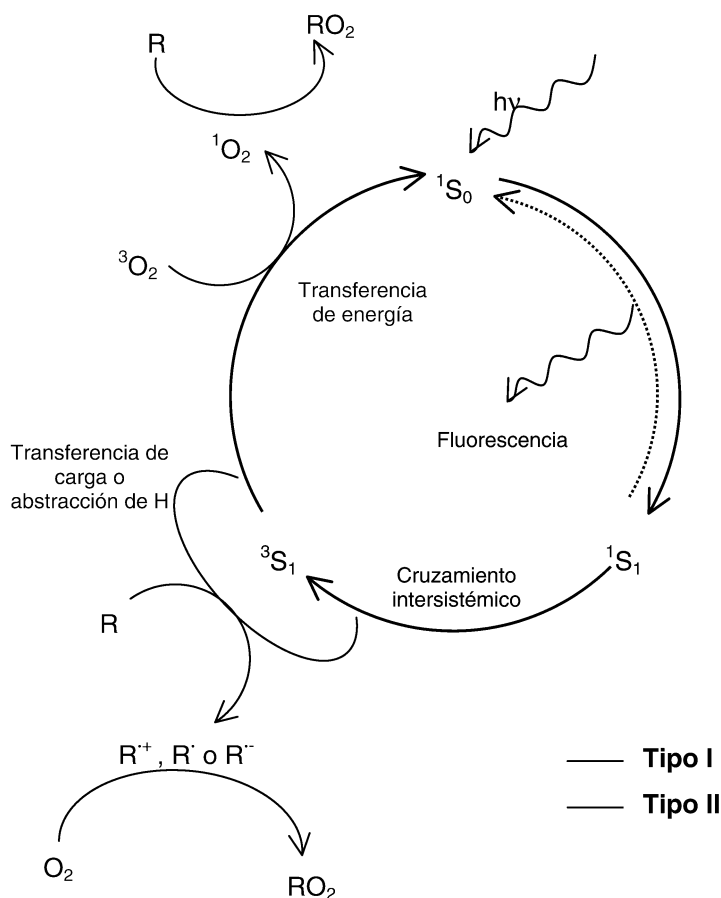


Figura 4. Esquema de los diferentes procesos primarios que tienen lugar en la PDT.

te de los componentes celulares. Se ha estimado que la distancia de difusión del oxígeno singlete en tejidos es de aproximadamente  $0.1 \mu\text{m}$ <sup>(45)</sup>.

Debido a la doble selectividad de la técnica y a que las especies citotóxicas tienen un tiempo de vida muy corto, el daño solamente se localiza en las células neoplásicas<sup>(45, 49)</sup>.

### c) Mecanismos de la muerte celular

La distribución del fotosensibilizador entre los componentes del plasma afecta también a la biodistribución en los tejidos y en consecuencia existen dos mecanismos distintos de destrucción del tumor mediante PDT<sup>(46)</sup>:

**Inducción indirecta de muerte celular** por destrucción de la vasculatura tumoral. Los fármacos hidrofílicos que se unen preferentemente a albúmina y globulina se acumulan en el estroma vascular y por lo tanto la muerte celular se produce indirectamente debido al daño causado a los vasos sanguíneos y a la consecuente reducción de la concentración de oxígeno y otros nutrientes.

**Inducción directa de muerte celular.** Los fotosensibilizadores con mayor afinidad por las lipoproteínas de baja densidad se incorporan en el interior de la célula localizándose concretamente en mitocondrias, lisosomas y membrana plasmática, y el efecto fotodinámico conduce a una pérdida de viabilidad o daño celular ya que afecta a la mayoría de componentes celulares. A pH fisiológicos la guanina es la base más sensible de los ácidos nucleicos, mientras que los aminoácidos más sensibles son histidina, triptófano, metionina y cisteína. La fotoperoxidación de los ácidos grasos insaturados de las membranas celulares conduce a cambios en la permeabilidad y pérdida de fluidez. Reacciones secundarias de residuos fotooxidados pueden llevar también a formar enlaces cruzados entre proteínas, ADN y proteínas, proteínas y lípidos, y ADN y lípidos. Todos estos efectos comprometen las funciones de la célula, lo que ocasiona su muerte. En muchos casos ambos efectos (inducción directa e indirecta de muerte celular) contribuyen a la destrucción del tumor.

## 5. LOS FOTOSENSIBILIZADORES

El primer fotosensibilizador utilizado en estudios clínicos fue el derivado de hematoporfirina HpD, el cual es una mezcla compleja de porfirinas. Actualmente se utiliza una versión más pura del mismo denominada Photofrin<sup>®</sup> 4 comercializada por Axcan Pharma Inc. Este fotosensibilizador está aprobado en varios países para tratar algunos tipos de cáncer cervical, de pulmón, esófago, vejiga y estómago, y está siendo ensayado en otros tipos de tumores, con buenos resultados terapéuticos.

Sin embargo, el Photofrin<sup>®</sup> no es el fotosensibilizador ideal para la PDT ya que presenta varios inconvenientes. En primer lugar, esta droga es una mezcla compleja de porfirinas<sup>(50)</sup> que contiene más de un 80% de componentes activos y menos del 20% de componentes inactivos. En segundo lugar, el espectro de absorción del Photofrin<sup>®</sup> presenta una banda más intensa sobre los 400 nm (banda de Soret) y unas bandas por encima de 600 nm muy poco intensas. La penetración de la luz en los tejidos depende de su longitud de onda, y para  $\lambda < 600 \text{ nm}$  ésta es muy limitada debido a la presencia de cromóforos endógenos y a la dispersión de la luz. Por último, la acumulación del fármaco en la piel provoca una elevada fotosensibilidad cutánea en los pacientes.

Por ello, en los últimos años se han desarrollado nuevos fotosensibilizadores que presentan propiedades más ade-

cuadas para la PDT. El fotosensibilizador ideal debería cumplir con los siguientes requisitos:

### Químicos:

1. Compuesto puro con estabilidad química y fotoquímica.
2. Elevado coeficiente de absorción en la zona del rojo (650-800 nm).
3. Elevado rendimiento cuántico de formación de triplete o de especies activas de oxígeno.

### Biológicos:

4. Solubilidad en fluidos biológicos. En caso contrario, debe poder transportarse al tumor utilizando algún tipo de formulación (liposomas, aceite de castor,...).
5. Localización y retención selectiva en el tumor.
6. Mínima toxicidad en ausencia de luz.
7. Rápida eliminación del fármaco en los tejidos no tumorales y mínima fotosensibilidad cutánea.

Por ello se están desarrollando nuevos sensibilizadores, llamados de segunda generación. Muchos de ellos se basan en macrociclos tetrapirrólicos aunque se están estudiando también macrociclos de 3 y de 5 unidades de pirroles así como otras familias de colorantes. Existen varias estrategias para mejorar las propiedades fotoquímicas del fármaco. La primera consiste en expandir el anillo de porfina 5 para desplazar la longitud de onda del máximo hacia el rojo. Otra estrategia consiste en introducir un heteroátomo, normalmente nitrógeno para obtener este mismo efecto<sup>(51)</sup>. Por otro lado se puede aumentar la intensidad de la absorción de la banda de menor energía, rompiendo la simetría del sistema  $\pi$  de la molécula<sup>(2)</sup>. Formando complejos metálicos de estos fotosensibilizadores se consigue mejorar sus propiedades fotoquímicas ya que por efecto de átomo pesado suele disminuir la fluorescencia y aumentar el rendimiento cuántico de formación de triplete.

Aplicando estas estrategias se obtienen clorinas 6, bacterioclorinas 7, purpurinas<sup>(52, 53)</sup> 8, azaporfirinas 9, ftalocianinas<sup>(54)</sup> 10, naftalocianinas 11, texafirinas 12, porfícenos 13<sup>(55-57)</sup>, etc, como posibles fármacos alternativos aplicables en la PDT del cáncer<sup>(58)</sup>.

Un caso especial es la protoporfirina IX (PpIX) 18 ya que es un fotosensibilizador generado endógenamente por el ácido 5-aminolevulínico (ALA)<sup>(59)</sup>. En un primer paso de la biosíntesis del grupo hemo se forma el ALA a partir de glicina y succinil CoA. El ALA evoluciona a PpIX en varios pasos regulados enzimáticamente y por último se incorpora un átomo de hierro al macrociclo de PpIX. Esta incorporación de hierro se realiza en la mitocondria bajo la acción del enzima ferroquelatasa. Bajo circunstancias normales, la biosíntesis está regulada y no se acumula PpIX, pero si se administra exógenamente un exceso de ALA, la PpIX se puede acumular debido a la capacidad limitada de la ferroquelatasa. En la figura 6 se muestran los principales pasos de la biosíntesis de la PpIX.

Aunque el PpIX no es un fotosensibilizador más eficiente que el Photofrin<sup>®</sup>, la aplicación tópica de su precursor ALA presenta una serie de ventajas. Se pueden tratar diversas enfermedades dermatológicas muy superficiales (1-2 mm) donde no se requiere longitudes de onda mayores a 630 nm, la terapia no es invasiva, tiene un periodo de fotosensibilización muy corto, produce excelentes resultados cosméticos y es muy bien tolerada por los pacientes.

Otra de las aplicaciones prometedoras del ALA que está en fase de estudio es su utilización como técnica de diagnóstico de cánceres del aparato digestivo, vejiga y pul-

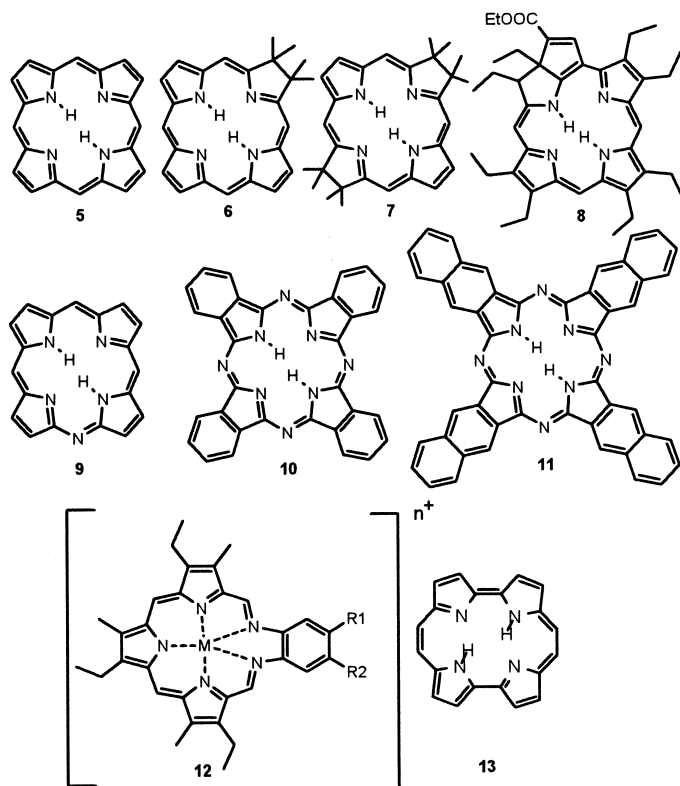


Figura 5. Estructuras de posibles fotosensibilizadores de segunda generación.

TABLA I

Propiedades de algunos fotosensibilizadores de segunda generación<sup>(55, 58, 60, 61)</sup> **Verteporfin 14**: monoácido del derivado benzoporfínico, **Puryltin™ 15**: etiopurpurina de estaño, **Foscan® 16**: metatetrahidroxifenilclorina, **NPe6 17**: monoaspartilclorina, **PpIX 18**: protoporfirina IX, **ALA**: ácido 5-aminolevulínico.  $\phi_F$  = rendimiento cuántico de fluorescencia,  $\phi_T$  = rendimiento cuántico de triplete y  $\phi_\Delta$  = rendimiento cuántico de oxígeno singlete.

| Compuesto              | $\lambda$ (nm)<br>$\epsilon$ ( $M^{-1} cm^{-1}$ ) | Rendimiento cuántico |          |               | Fotosensibilidad Cutánea |
|------------------------|---|----------------------|----------|---------------|--------------------------|
|                        |   | $\phi_F$             | $\phi_T$ | $\phi_\Delta$ |                          |
| Photofrin II® 4        | 628 (3000)  | 0.1                  | 0.6      | 0.3           | 6-12 semanas             |
| Verteporfin 14         | 690 (35000)                                       | 0.05                 | 0.75     | 0.7           | 5 días                   |
| Puryltin™ 15           | 665 (30000)                                       | 0.1                  | 0.8      | 0.6           | 4 semanas                |
| Foscan® 16             | 652 (35000)                                       | 0.1                  | 0.9      | 0.4           | 3-6 semanas              |
| Npe6 17                | 664 (38000)                                       | 0.1                  | 0.8      | 0.8           | 2-4 días                 |
| ALA-PpIX 18 (Levulan®) | 635 (5000)  | 0.1                  | 0.8      | 0.6           | -                        |

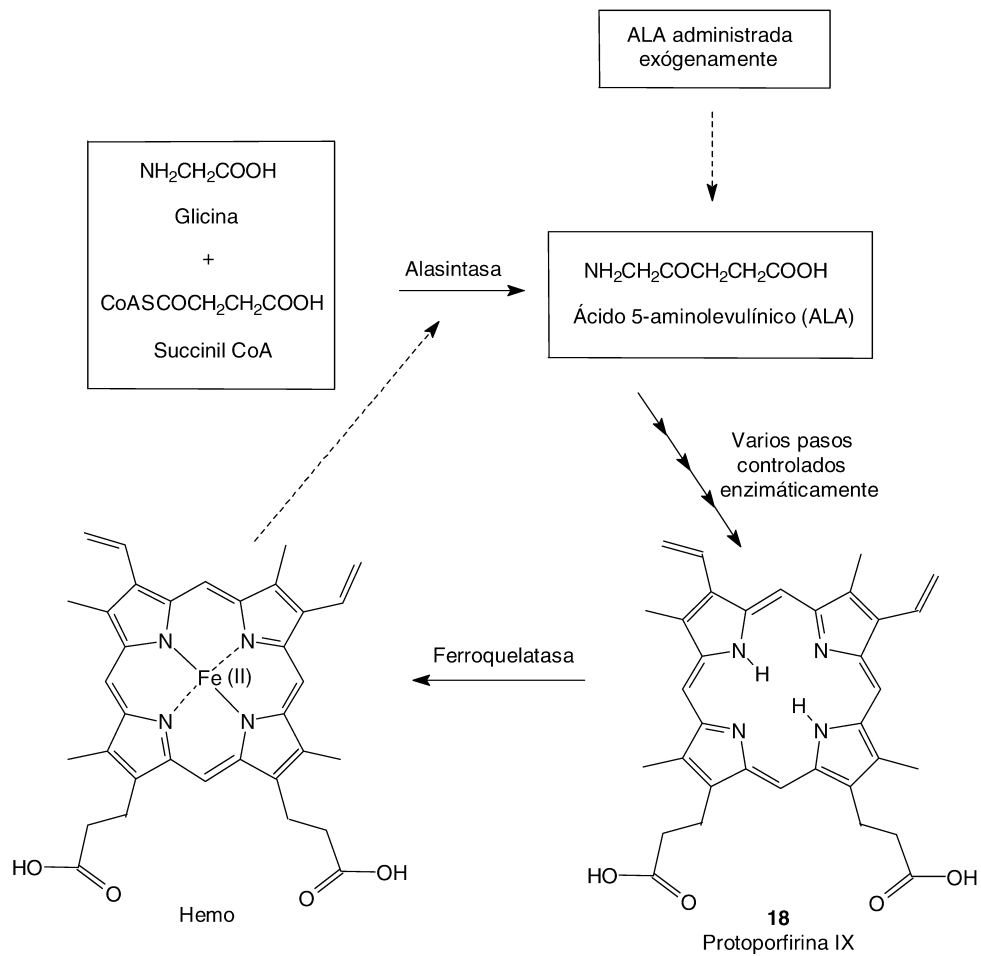


Figura 6. Biosíntesis de la PpIX 18.

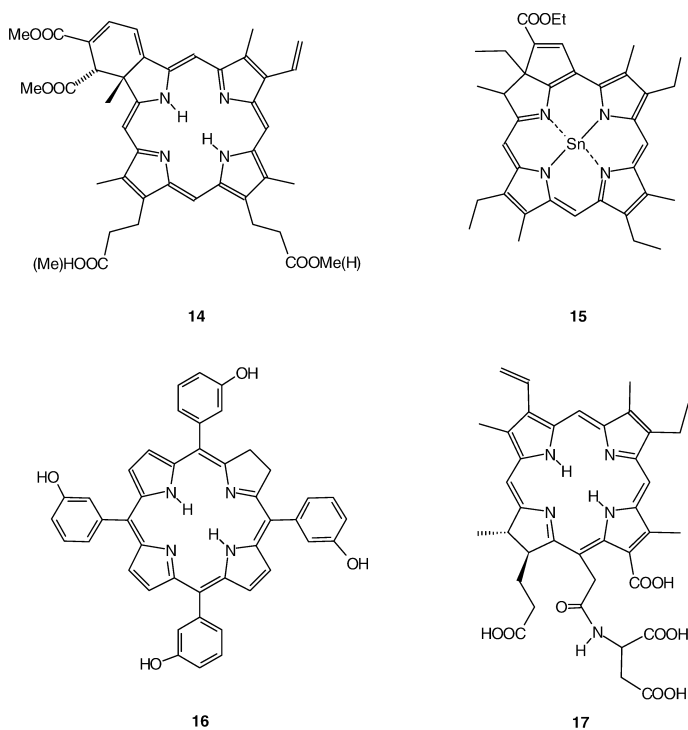


Figura 7. Estructura de 14: Verteporfin, 15: Purlytin™, 16: Foscan®, 17: NPe6.

món. En este caso el ALA se administra por vía sistémica o por inhalación.

En la Tabla I se muestran las principales características de los fotosensibilizadores de segunda generación que están en fases clínicas de investigación.

e estaño, Foscan® 16: meta-tetrahidroxifenilclorina, NPe6 17: monoaspartilclorina, PpIX 18: protoporfirina IX, ALA: ácido 5-aminolevulínico. (F = rendimiento cuántico de fluorescencia, T = rendimiento cuántico de triplete y (( = rendimiento cuántico de oxígeno singlete.

## 6. APLICACIONES NO ONCOLÓGICAS

Aunque la PDT ha estado principalmente enfocada al tratamiento del cáncer, en los últimos años se están evaluando nuevas aplicaciones en diferentes campos.

**Estética:** la fotodepilación se basa en usar un láser que irradia a una longitud de onda adecuada (en función del color del vello y del color de la piel) para eliminar de forma permanente el vello. Actualmente se está estudiando la acción del ALA aplicado tópicamente para mejorar la técnica de la fotodepilación.

**Dermatología:** mediante la PDT se tratan enfermedades dermatológicas no oncológicas como psoriasis, malformaciones vasculares y acné<sup>(60, 62)</sup>.

**Inactivación fotodinámica de bacterias:** el aumento de la resistencia de las bacterias a los antibióticos ha favorecido el estudio de técnicas antimicrobianas alternativas. Clásicamente se dividen las bacterias en organismos Gram-negativos y Gram-positivos, según su reacción frente a la tinción de Gram. Las Gram(+) poseen una sola pared celular gruesa y homogénea mientras que en las Gram(-) la pared celular es delgada y estratificada con un aspecto

trilaminar<sup>(63)</sup>. Varios estudios muestran que se pueden inactivar determinadas bacterias al ser iluminadas después de un periodo de incubación con ciertas porfirinas y ftalocianinas. Concretamente, derivados aniónicos y neutros de estos fotosensibilizadores producen un efecto fototóxico en las bacterias Gram(+), aunque en las Gram(-) el efecto tóxico sólo se produce si se permeabiliza previamente la membrana externa utilizando cloruro cálcico, EDTA o polimixina B<sup>(64)</sup>. Por el contrario, los derivados catiónicos de estos fotosensibilizadores son capaces de destruir tanto las Gram(+) como las Gram(-) sin previa permeabilización<sup>(65, 66)</sup>. Las causas de este comportamiento no están esclarecidas todavía pero parece ser que el fotosensibilizador catiónico se une electrostáticamente a grupos negativos de la membrana externa. De esta forma, al irradiar se produce un daño localizado que aumenta la permeabilidad de dicha membrana<sup>(67, 68)</sup>.

Esta nueva aplicación puede ser de gran utilidad en el tratamiento de tejidos infectados (limpieza de cavidades interiores y en el tratamiento de afecciones bucales, etc).

**Inactivación de virus:** Otra posibilidad que ha despertado mucho interés es la fotoinactivación de virus en la sangre humana como método para esterilizar sangre y productos derivados para transfusiones<sup>(69)</sup>. Actualmente es posible esterilizar plasma y algunos derivados sanguíneos como la albúmina y factores de coagulación utilizando calor o detergentes, pero los componentes celulares de la sangre no soportan este tratamiento debido a su fragilidad. Aunque la implantación de métodos preventivos como la selección de donantes y los análisis sanguíneos han disminuido el riesgo de contaminación por agentes infecciosos como el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y la hepatitis B y C, este riesgo no se puede eliminar completamente. La fotoinactivación de virus en componentes celulares está todavía en fase de estudio, pero diversos fotosensibilizadores han mostrado resultados prometedores en deter-

TABLA II

Fotosensibilizadores para diferentes aplicaciones fotodinámicas.

| Producto                                  | Aplicación   | Empresa                                      |
|---|--|--|
| Photofrin® (Porfimer sodium 4)            | Diagnóstico y tratamiento de tumores sólidos   | Axcan Pharma Inc.                            |
| LuTex (Motexafin Lutetium 8 M = Lu n = 2) | Lutrin™: tumores sólidos<br>Optrin™: oftalmología<br>Antrin™: enfermedades cardiovasculares                            | Pharmacyclics                                |
| Visudyne® (Verteporfin 14)                | Oftalmología (degeneración macular)  | Novartis Ophthalmics, QLT Photo Therapeutics |
| Puryltin™ (SnET2 15)                      | Aplicaciones oncológicas   | Pharmacia&UpJohn                             |
| Foscan® (Temoporfin 16)                   |  | QuantaNova Ltd.                              |
| Npe6 17                                   |  | Nippon Petrochemicals                        |
| Levulan® (ALA-PpIX 18)                    | Diagnóstico y tratamiento de tumores sólidos, dermatología, ginecología, enfermedades cardiovasculares, fotodepilación | Dusa Pharmaceuticals                         |



minados virus con y sin cobertura<sup>(70-72)</sup>. Es importante que los fotosensibilizadores no produzcan mutaciones en el ADN, y no alteren las funciones biológicas de los componentes de la sangre.

**Oftalmología:** La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una de las principales causas de ceguera en personas de más de 50 años y se debe a un rápido crecimiento anormal de vasos sanguíneos en la retina. La ruptura de estos vasos produce una progresiva pérdida de la capacidad visual y en el 80-90% de los casos no existe ningún tratamiento adecuado. Los excelentes resultados obtenidos al tratar esta enfermedad mediante PDT muestran un futuro esperanzador; concretamente el Visudyne® ya ha sido aprobado internacionalmente para el tratamiento de la DMAE.

**Arterioesclerosis:** La posibilidad de tratar esta enfermedad con la PDT se basa en el hecho de que las placas de aterosclerosis en las arterias dañadas retienen concentraciones más elevadas de porfirinas que la pared vascular normal<sup>(60)</sup>.

**Ginecología:** La ablación de endometrio mediante PDT es una técnica que evita la cirugía y es una alternativa a la histerectomía para mujeres con hemorragias uterinas disfuncionales<sup>(73, 74)</sup>.

En la tabla II se citan algunos fotosensibilizadores registrados para distintas aplicaciones fotodinámicas.

## 7. LOS PORFICENOS

El porfíceno **13** es un macrociclo tetrapirrólico, isómero estructural de la porfina **5** en el que en vez de intercalar puentes de un solo átomo de carbono entre los pirroles, se intercalan puentes de 2 átomos de carbono entre dos bipirroles. Por lo tanto existe una circulación de 18 electrones ( $\pi$ ), y el macrociclo es totalmente aromático. A estos sistemas porfirinoides se les denomina de forma sistemática [18]porfirina-(2.0.2.0).

Su descubrimiento se debe a E. Vogel en 1986, quien lo llamó porfíceno por ser un híbrido entre una porfina y un aceno<sup>(75)</sup>. Posteriormente se describieron los 2,7,12,17-tetraalquilporfícenos **19** con restos R = metilo, etilo y propilo<sup>(76)</sup>, y desde entonces no se han dejado de describir periódicamente derivados con sustituyentes en otras posiciones, así como determinados complejos metálicos<sup>(77)</sup>. Los análisis de rayos X muestran que los porfícenos son compuestos centrosimétricos de estructura casi plana y simetría  $D_{2h}$ . Debido a esta simetría menor que presentan los porfícenos respecto de las porfirinas, se observa un aumento del coeficiente de absorción en la zona visible del espectro. Este aumento de la absorbancia de las bandas Q es debido a que transiciones prohibidas por la simetría de las porfirinas pasan a ser permitidas en los porfícenos. Los estudios realizados sobre propiedades fotoquímicas de los porfícenos (rendimientos cuánticos de fluorescencia, de triplete y de formación de oxígeno singlete) muestran que son buenos candidatos para ser utilizados en la PDT del cáncer<sup>(78)</sup>.

En el Grupo de Ingeniería Molecular del Instituto Químico de Sarriá (GEM) se sintetizó el 2,7,12,17-tetrafenilporfíceno<sup>(79)</sup> (TPPo) **20** y posteriormente se desarrolló una síntesis industrializable para dicho compuesto<sup>(80)</sup>. La ventaja que presenta el grupo fenilo como sustituyente es que se pueden diseñar diversos derivados usando la química del benceno y regular sus propiedades fisicoquímicas.

El TPPo es un sólido de color violeta brillante, muy insoluble en agua aunque se puede disolver en disolventes apolares dando disoluciones de color azul intenso en diclo-

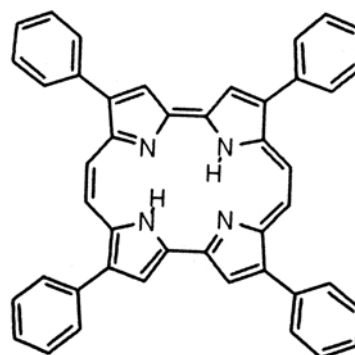


Figura 8. Estructura del 2, 7, 12, 17-tetrafenilporfíceno **20**.

TABLA III

Efecto de los sustituyentes en el máximo de absorción del porfíceno.

| Sustituyente en las posiciones 2,7, 12, 17 | Máximo de absorción (nm) |
|--|--------------------------|
| -H   | 633                      |
| -Pr  | 637                      |
| -Ph  | 663                      |

rometano y verdoso en hexano o éter. Es una molécula aromática y plana salvo por los fenilos que están inclinados con respecto al plano de la molécula. Como se puede observar en la tabla III, la introducción de los restos fenilo tiene un efecto batocrómico de 30 nm de las bandas Q, con respecto al porfíceno sin sustituyentes.

La reactividad del anillo de porfíceno se halla descrita en diversas patentes. En la figura 9 se puede apreciar las distintas estructuras a las que se puede llegar mediante diversas reacciones químicas<sup>(81-84)</sup>. A través de las mismas se pueden unir los porfícenos mediante enlaces éter, éster o amida a otras moléculas, con el objetivo de estudiar su interacción con el fotosensibilizador o para mejorar las propiedades de este último.

El estudio de los porfícenos y de sus complejos metálicos está revelando una información valiosa sobre los mecanismos de la PDT, y en concreto, de la inducción de muerte celular, de la localización de los fármacos en las células y de su interacción con biomoléculas<sup>(48, 90)</sup>. Pruebas *in vitro* en células tumorales humanas han dado muy buenos resultados<sup>(77, 91-93)</sup>.

El complejo de paladio del tetrafenilporfíceno (PdTPPo), desarrollado por nuestro grupo, tiene muy buenas propiedades como fotosensibilizador tal y como demuestran los estudios *in vitro* sobre las líneas celulares HeLa<sup>(48)</sup> y A549 (células de adenocarcinoma humano de pulmón)<sup>(94)</sup>. Estudios *in vitro* e *in vivo* con el derivado porfícénico ATMPn (9-acetoxi-2,7,12,17-tetraquis-( $\beta$ -metoxietil)porfíceno) (**19**, R =  $-(CH_2)_2OMe$ ) han mostrado una absorción inusualmente rápida del fotosensibilizador en las células tumorales, lo que sería una gran ventaja para disminuir la duración del tratamiento y la fotosensibilidad cutánea<sup>(93, 95)</sup>.

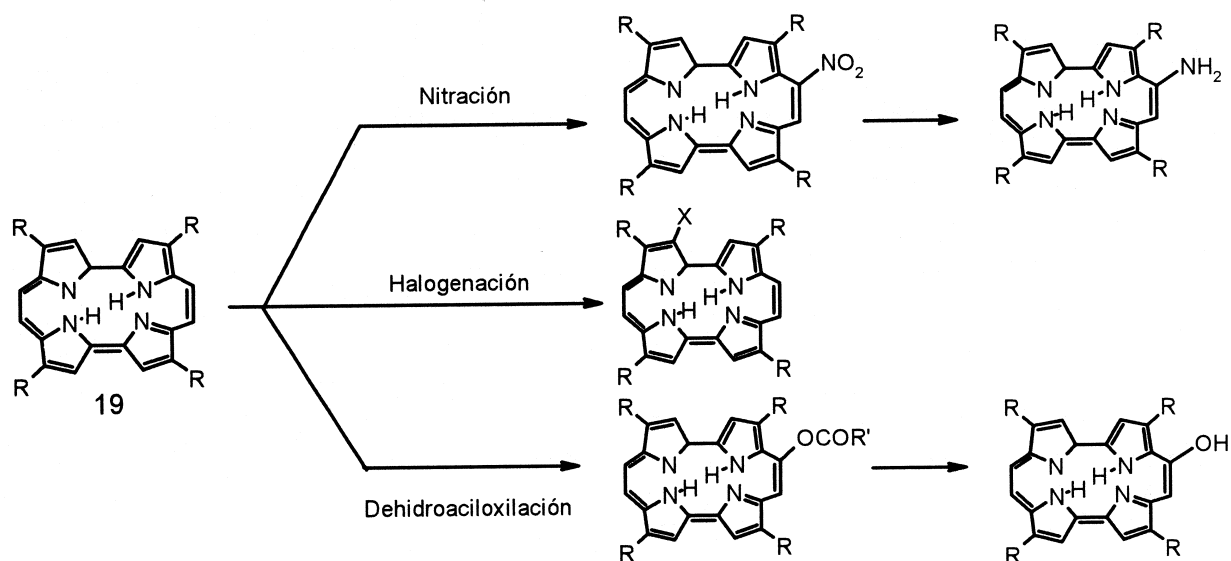


Figura 9. Reactividad de los porfíricos.

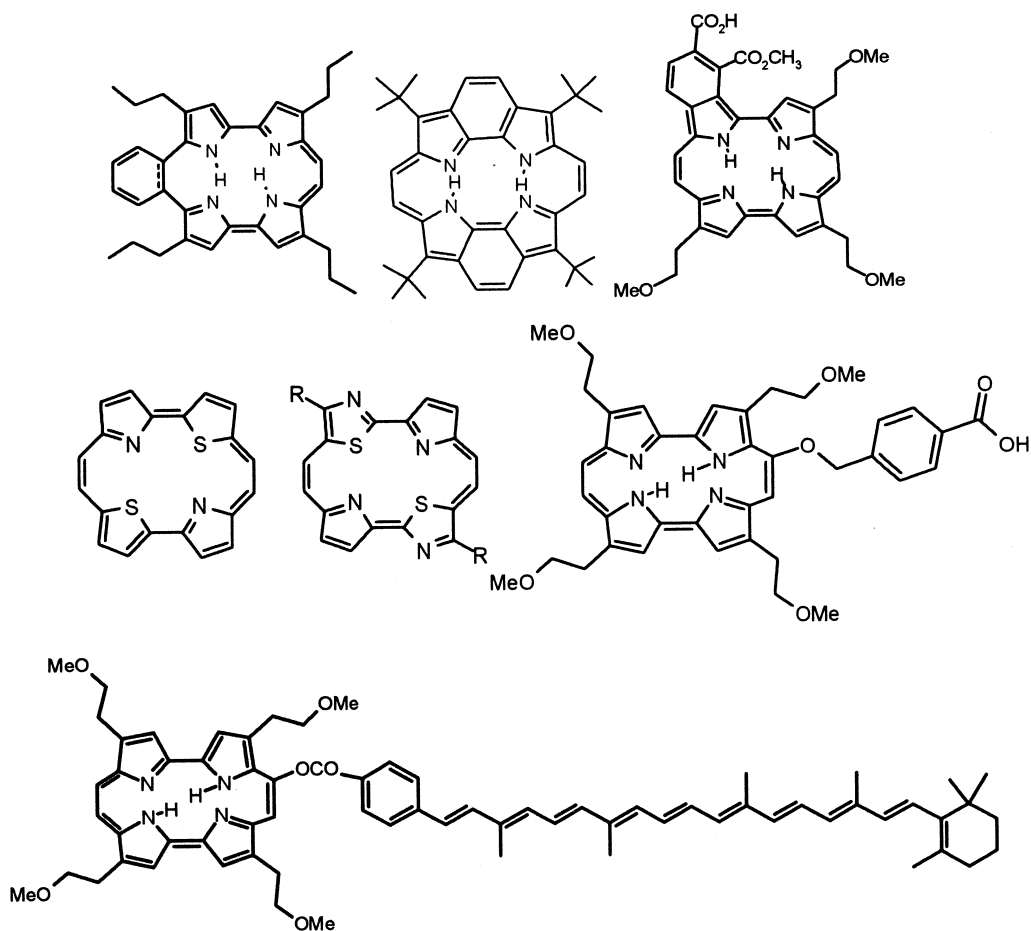


Figura 10. Ejemplos de derivados de porfíricos sintetizados<sup>77, 84-89</sup> (R = H, t-But, Ph).

## 8. CONCLUSIONES

La lucha contra el cáncer gana, con la terapia fotodinámica, una nueva y eficaz opción terapéutica que se suma a las técnicas convencionales quirúrgicas, radio- y quimioterapéuticas. Probablemente todas ellas se verán superadas por el desarrollo de las terapias génicas, aunque se calcula que éstas distan todavía unos 25 años. Hasta entonces, es previsible el desarrollo e implantación creciente de la terapia fotodinámica por sus muchas ventajas frente a los tratamientos convencionales. Parte integral de este crecimiento lo constituye el desarrollo de nuevas moléculas fotosensibilizantes con especificidad adecuada a cada tipo de tumor. Las propiedades únicas de los porfíricos los hacen muy interesantes para estas aplicaciones biomédicas.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado con la ayuda del Ministerio de Ciencia y Tecnología, ref. PM98-0017-C02. A. Gavaldá, O. Rey, N. Rubio y D. Sánchez-García agradecen al Institut Químic de Sarrià la concesión de sendas becas predoctorales.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1). Daniell, M.D.; Hill, J.S.: «A History of Photodynamic Therapy». *Aust. N. Z. J. Surg.* 1991, **61**, 340-348.
- (2). Bonnett, R.: «Chemical Aspects of Photodynamic Therapy»; Gordon and Breach Science Publishers: Amsterdam, 2000.
- (3). Spikes, J.D.: «Historical Review - Photodynamic Action: from Paramecium to Photochemotherapy». *Photochem. Photobiol.* 1997, **65**, 142-147.
- (4). Raab, O.: «Über die Wirkung Fluoreszierender Stoffe auf Infusorien». *Z. Biol.* 1900, **39**, 524-546.
- (5). Von Tappeiner, H.: «Über die Wirkung Fluoreszierender Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O. Raab». *Muench. Med. Wochenschr.* 1900, **47**, 5-7.
- (6). Von Tappeiner, H.; Jesionek, A.: «Therapeutische Versuche mit Fluoreszierenden Stoffen». *Muench. Med. Wochenschr.* 1903, **1**, 2042-2044.
- (7). Von Tappeiner, H.; Jodlbauer, A.: «Über die Wirkungen der Photodynamischen (Fluoreszierenden) Stoffe auf Protozoen und Enzyme». *Dtsch. Arch. Klin. Med.* 1904, **80**, 427-487.
- (8). Jesionek, A.; Von Tappeiner, H.: «Die Behandlung der Hautkarzinome mit Fluoreszierenden Stoffen». *Arch. Klin. Med.* 1905, **82**, 72-76.
- (9). Hausman, W.: «Die Sensibilisierende Wirkung des Hematoporphyrins». *Biochem. Z.* 1911, **30**, 276.
- (10). Meyer-Betz, Z.: «Untersuchungen über die Biologische (Photodynamische) Wirkung des Hämato porphyrins und anderer Derivate des Blut- und Gallenfarbstoffs». *Dtsch. Arch. Klin. Med.* 1913, **112**, 476-503.
- (11). Policard, A.: «Étude sur les Aspects Offerts par des Tumeurs Experimentales Examineés a la Lumière de Wood». *CR Soc. Biol.* 1924, **91**, 1423-1425.
- (12). Auler, H.; Banzer, G.: «Untersuchungen über die Rolle der Porphyrine bei Geschwulskranker Menschen und Tieren». *Z. Krebsforsch* 1942, **53**, 65-68.
- (13). Figge, F.H.J.; Weiland, G.S.; Manganiello, L.O.J.: «Cancer Detection and Therapy. Affinity of Neoplastic, Embryonic and Traumatized Tissue for Porphyrins and Metalloporphyrins». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1948, **68**, 640-641.

- (14). Rasmussen-Taxdal, D.S.; Ward, G.E.; Figge, F.H.J.: «Fluorescence of Human Lymphatic and Cancer Tissues Following High Doses of Intravenous Haematoporphyrin». *Cancer.* 1955, **8**, 78-81.
- (15). Schwartz, S.; Absolon, K.; Vermund, H.: «Some Relationships of Porphyrins, X-Rays, and Tumors». *Univ. Minn. Med. Bull.* 1955, **27**, 7-13.
- (16). Lipson, R.L.; Baldes, E.J.: «The Photodynamic Properties of a Particular Hematoporphyrin Derivative». *Arch. Dermatol.* 1960, **82**, 508-516.
- (17). Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Olsen, A.M.: «Hematoporphyrin derivative: A New Aid for Endoscopic Detection of Malignant Disease». *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1961, **42**, 623-629.
- (18). Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Olsen, A.M.: «The Use of a Derivative of Hematoporphyrin in Tumor Detection». *J. Natl. Cancer Inst.* 1961, **26**, 1-8.
- (19). Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Olsen, A.M.: «Further Evaluation of the Use of Hematoporphyrin Derivative as a New Aid for the Endoscopic Detection of Malignant Disease». *Dis. Chest.* 1964, **46**, 676-679.
- (20). Lipson, R.L.; Pratt, J.H.; Baldes, E.J.; Dockerty, M.B.: «Hematoporphyrin Derivative for Detection of Cervical Cancer». *Obstet. Gynecol.* 1964, **24**, 78-84.
- (21). Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Gray, M.J.: «Hematoporphyrin Derivative for Detection and Management of Cancer». *Cancer* 1967, **20**, 2255-2257.
- (22). Dougherty, T.J.; Grindey, G.B.; Fiel, R.; Weishaupt, K.R.; Boyle, D.: «Photoradiation Therapy. II. Cure of Animal Tumors with Hematoporphyrin and Light». *J. Natl. Cancer Inst.* 1975, **55**, 115-119.
- (23). Dougherty, T.J.; Kaufman, J.E.; Goldfarb, A.; Weishaupt, K.R.; Boyle, D.; Mittleman, A.: «Photoradiation Therapy for the Treatment of Malignant Tumors». *Cancer Res.* 1978, **38**, 2628-2635.
- (24). Ackroyd, R.; Kelty, C.; Brown, N.; Reed, M.: «The History of Photodetection and Photodynamic Therapy». *Photochem. Photobiol.* 2001, **74**(5), 656-669.
- (25). Konan, N.Y.; Gurny, R.; Alléman, E.: «State of the Art in the Delivery of Photosensitizers for Photodynamic Therapy». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2002, **66**, 89-106.
- (26). Kessel, D.; Woodburn, K.: «Biodistribution of Photosensitizing Agents». *Int. J. Biochem.* 1993, **25**, 1377-1383.
- (27). Reyftmann, J.P.; Morliere, P.; Goldstein, J.L.; Santus, R.; Dubertret, L.; Larange, D.: «Interaction of Human Serum Low Density Lipoproteins with Porphyrins: A Spectroscopic and Photochemical Study». *Photochem. Photobiol.* 1984, **40**, 721-729.
- (28). Kessel, D.; Thompson, P.; Saatio, K.; Nantwi, K.D.: «Tumor Localization and Photosensitization by Sulphonated Derivatives of Tetraphenylporphyrine». *Photochem. Photobiol.* 1987, **45**, 787-790.
- (29). Kongshaug, M.; Moan, J.; Brown, S.B.: «The Distribution of Porphyrins with Different Tumour Localising Ability Among Human Plasma Proteins». *Br. J. Cancer* 1989, **59**, 188.
- (30). Kongshaug, M.; Rimington, C.; Evensen, J.F.; Peng, Q.; Moan, J.: «Hematoporphyrin Diethers-V. Plasma Protein Binding and Photosensitizing Efficiency». *Int. J. Biochem.* 1990, **22**, 1127-1131.
- (31). Mosley, S.T.; Goldstein, J.L.; Brown, M.S.; Falck, J.R.; Anderson, R.G.W.: «Targeted Killing of Cultured Cells by Receptor-Dependent Photosensitization». *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1981, **78**, 5717-5721.
- (32). Jiang, F.N.; Jiang, S.; Liu, D.; Richter, A.M.; Levy, J.G.: «Development of Technology for Linking Photosensitizers to a Model Monoclonal Antibody». *J. Immunol. Methods* 1990, **134**, 139-149.

- <sup>(33)</sup> . Jiang, F.N.; Allison, B.; Liu, D.; Levy, J.G.: «Enhanced Photodynamic Killing of Target Cells by Either Monoclonal Antibodies or Low Density Lipoprotein Mediated Delivery Systems». *J. Controlled Release* 1992, **19**, 41-58.
- <sup>(34)</sup> . Klayshchitsky, B.A.; Nechaeva, I.S.; Ponomaryov, G.V.: «Approaches to Targetted Photodynamic Tumor Therapy». *J. Controlled Release* 1994, **29**, 1-16.
- <sup>(35)</sup> . Gal, D.; MacDonald, P.C.; Porter, J.C.; Simpson, E.R.: «Cholesterol Metabolism in Cancer Cells in Monolayer Culture. III. Low-Density Lipoprotein Metabolism». *Int. J. Cancer* 1981, **28**, 315-319.
- <sup>(36)</sup> . Norata, G.; Canti, G.; Ricci, L.; Trezzi, E.; Catapano, A.L.: «In Vivo Assimilation of Low Density Lipoproteins by a Fibrosarcoma Tumour Line in Mice». *Cancer Lett.* 1984, **25**, 203-208.
- <sup>(37)</sup> . Netland, P.A.; Zetter, B.R.; Via, D.P.; Voyta, J.C.: *In Situ* «Labelling of Vascular Endothelium with Fluorescent Acetylated Low Density Lipoprotein». *Histochem. J.* 1985, **17**, 1309-1320.
- <sup>(38)</sup> . Berenbaum, M.C.; Hall, G.W.; Hoyes, A.D.: «Cerebral Photosensitisation by Haematoporphyrin Derivative. Evidence for an Endothelial Site of Action». *Br. J. Cancer* 1986, **53**, 81-89.
- <sup>(39)</sup> . Vitols, S.; Angelin, B.; Ericsson, S.; Gahrton, G.; Juliusson, G.; Masquelier, M.; Paul, C.; Peterson, P.; Rudling, M.; Söderberg-Reid, K.; Tidelfelt, U.: «Uptake of Low Density Lipoproteins by Human Leukemic Cells *In Vivo*: Relation to Plasma Lipoprotein Levels and Possible Relevance for Selective Chemotherapy». *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990, **87**, 2598-2602.
- <sup>(40)</sup> . Mew, D.; Wat, C.; Neil Towers, G.H.; Levy, J.G.: «Photoimmunotherapy: Treatment of Animal Tumors with Tumor-Specific Monoclonal Antibody-Hematoporphyrin Conjugates». *J. Immunol.* 1983, **130**, 1473-1477.
- <sup>(41)</sup> . Pietersz, G.A.; Cunningham, Z.; McKenzie, I.F.C.: «Specific in Vitro Anti-Tumour Activity of Methotrexate-Monoclonal Antibody Conjugates Prepared Using Human Serum Albumin as an Intermediary». *Immunol. Cell. Biol.* 1988, **66**, 43-49.
- <sup>(42)</sup> . Shih, L.B.; Sharkey, R.M.; Primus, F.J.; Goldenberg, D.M.: «Site-Specific Linkage of Methotrexate to Monoclonal Antibodies Using an Intermediate Carrier». *Int. J. Cancer* 1988, **41**, 832-839.
- <sup>(43)</sup> . Rodgers, M.A.J.: «On The Problems Involved in Detecting Luminescence from Singlet Oxygen in Biological Specimens». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1988, **1**, 371-378.
- <sup>(44)</sup> . Patterson, M. S.; Madsen, S. J.; Wilson, B. C.: «Experimental Tests of the Feasibility of Singlet Oxygen Luminescence Monitoring in Vivo during Photodynamic Therapy». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1990, **5**, 69-84.
- <sup>(45)</sup> . Moan, J.: «On The Diffusion Length of Singlet Oxygen in Cells and Tissues». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1990, **6**, 343-347.
- <sup>(46)</sup> . Ochsner, M.: «Photophysical and Photobiological Processes in the Photodynamic Therapy of Tumors». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1997, **39**, 1-18.
- <sup>(47)</sup> . Dubbelman, T.M.A.R.; Van Steveninck, J.: «Photodynamically Induced Damage to Cellular Functions and its Relations to Cell Death». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1990, **6**, 345-348.
- <sup>(48)</sup> . Cañete, M.; Ortiz, A.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Nonell, S.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Stockert, J.C.: «Photosensitizing Properties of Palladium-Tetraphenylporphycene on Cultured Tumour Cells». *Anti-Cancer Drug Design* 2000, **15**, 143-150.
- <sup>(49)</sup> . Henderson, B.W.; Fingar, V.H.: «Relationship of Tumor Hypoxia and Response to Photodynamic Treatment in an Experimental Mouse Tumor». *Cancer Res.* 1987, **47**, 3110-3114.
- <sup>(50)</sup> . Byrne, C.J.; Marshallsay, L.V.: «The Composition of Photofrin II». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1990, **6**, 13-27.
- <sup>(51)</sup> . Schiwon, K.; Brauer, H.D.; Gerlach, B.; Müller, C.M.; Montforts, F.P.: «Potential Photosensitizers for Photodynamic Therapy IV. Photophysical and Photochemical Properties of Azaporphyrin and Azachlorin Derivatives». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1994, **23**, 239-243.
- <sup>(52)</sup> . Selman, S.H.; Garbo, G.M.; Keck, R.W.; Kreimer-Birbaum, M.; Morgan, A.R.: «A Dose Response Analysis of Purpurin Derivatives Used as Photosensitizers for the Photodynamic Treatment of Transplantable FANFT Induced Urothelial Tumors». *J. Urol.* 1987, **137**, 1255-1257.
- <sup>(53)</sup> . Morgan, A.R.; Garbo, G.M.; Keck, R.W.; Selman, S.H.: «New Photosensitizers for Photodynamic Therapy: Combined Effect of Metalloporpurin Derivatives and Light on Transplantable Bladder». *Cancer Res.* 1988, **48**, 194-198.
- <sup>(54)</sup> . Ginevra, F.; Biffanti, S.; Pagnan, A.; Biolo, R.; Reddi, E.; Jori, G.: «Delivery of the Tumour Photosensitizer Zinc(II)-Phthalocyanine to Serum Proteins by Different Liposomes: Studies In Vitro and In Vivo». *Cancer Lett.* 1990, **49**, 59-65.
- <sup>(55)</sup> . Sternberg, E.D.; Dolphin, D.; Brückner, C.: «Porphyrin-based Photosensitizers For Use in Photodynamic Therapy». *Tetrahedron* 1998, **54**, 4151-4202.
- <sup>(56)</sup> . Ali, H.; Van Lier, J.E.: «Metal Complexes as Photo- and Radiosensitizers». *Chem. Rev.* 1999, **99**, 2379-2450.
- <sup>(57)</sup> . Jasat, A.; Dolphin, D.: «Expanded Porphyrins and Their Heterologs». *Chem. Rev.* 1997, **97**, 2267-2340.
- <sup>(58)</sup> . Milgrom, L.; MacRobert, S.: «Light Years Ahead». *Chem. Br.* 1998, **45**-50.
- <sup>(59)</sup> . Peng, Q.; Warloe, T.; Berg, K.; Moan, J.; Kongshaug, M.; Giercksky, K.E.; Nesland, J.M.: «5-Aminolevulinic Acid-Based Photodynamic Therapy». *Cancer* 1997, **79**, 2282-2308.
- <sup>(60)</sup> . Fisher, A.M.; Murphree, A.L.; Gomer, C.J.: «Clinical and Preclinical Photodynamic Therapy». *Lasers Surg. Med.* 1995, **17**, 2-31.
- <sup>(61)</sup> . Sharman, W.M.; Allen, C.M.; Van Lier, J.E.: «Photodynamic Therapeutics: Basic Principles and Clinical Applications». *Drug Discovery Today* 1999, **4**, 507-517.
- <sup>(62)</sup> . Dierickx, C.C.; Rox Anderson, R.: «Why Use PDT in Dermatology?» *Int. Photodyn.* 1996, **1**, 2-5.
- <sup>(63)</sup> . Pumarola, A.; Rodríguez-Torres, A.; García-Rodríguez, J.A.; Piédrola-Angulo, G.: «Microbiología y Parasitología Médica». 1987; Barcelona.
- <sup>(64)</sup> . Nitzan, Y.; Gutterman, M.; Malik, Z.; Ehrenberg, B.: «Inactivation of Gram-Negative Bacteria by Photosensitized Porphyrins». *Photochem. Photobiol.* 1992, **55**, 89-96.
- <sup>(65)</sup> . Merchat, M.; Villanueva, A.; Giacomoni, P.; Bertoloni, G.; Jori, G.: «Photosensitization of Bacteria to Visible Light by meso-Substituted Porphyrines». *J. Braz. Chem. Soc.* 1995, **6**, 123-125.
- <sup>(66)</sup> . Minnock, A.; Vernon, D.I.; Schofield, J.; Griffiths, J.; Parish, J.H.; Brown, S.B.: «Photoinactivation of Bacteria. Use of a Cationic Water-Soluble Zinc Phthalocyanine to Photoinactivate both Gram-negative and Gram-positive Bacteria». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1996, **32**, 159-164.
- <sup>(67)</sup> . Merchat, M.; Giacomoni, P.; Villanueva, A.; Bertoloni, G.; Jori, G.: «Meso-substituted Cationic Porphyrins as Efficient Photosensitizers of Gram-positive and Gram-negative Bacteria». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1996, **32**, 153-157.

- <sup>(68)</sup> . Jori, G.; Tonlorenzi, D.: «Photodynamic Therapy for the Treatment of Microbial Infections». *Int. Photodyn.* 1999, 2, 2-3.
- <sup>(69)</sup> . Ben-Hur, E.; Horowitz, B.: «Advances in Photochemical Approaches for Blood Sterilization». *Photochem. Photobiol.* 1995, 62, 383-388.
- <sup>(70)</sup> . Gaspard, S.; Tempête, C.; Werner, G.H.: «Studies on Photoinactivation by Various Phthalocyanines of a Free or Replicating non-Enveloped Virus». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1995, 31, 159-162.
- <sup>(71)</sup> . Grandadam, M.; Ingrand, D.; Huraux, J.-M.; Aveline, B.; Delgado, O.; Vever-Bizet, C.; Brault, D.: «Photodynamic Inactivation of Cell-free HIV Strains by a Red-absorbing Chlorin-type Photosensitizer». *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1995, 31, 171-177.
- <sup>(72)</sup> . Allen, C.M.; Weber, J.M.; Van Lier, J.E.: «Sulfophthalocyanines for Photodynamic Inactivation of Viruses in Blood Products: Effect of Structural Modification». *Photochem. Photobiol.* 1995, 62, 184-189.
- <sup>(73)</sup> . Gannon, M.J.; Johnson, N.; Roberts, D.J.H.; Holroyd, J.A.; Vernon, D.I.; Brown, S.B.; Lilford, R.J.: «Photosensitization of the Endometrium using 5-Aminolevulinic Acid». *Obstet. Gynecol.* 1995, 173, 1826-1828.
- <sup>(74)</sup> . Van Vugt, D.A.; Krzemien, A.; Roy, B.N.; Foster, W.; Lundahl, S.; Marcus, S.L.; Reid, R.L.: «Photodynamic Endometrial Ablation in the Nonhuman Primate». *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2000, 7, 125-30.
- <sup>(75)</sup> . Vogel, E.; Koecher, M.; Schmickler, H.; Lex, J.: «Porphycene, a New Type of Porphine Isomer». *Angew. Chem.* 1986, 98, 262-264.
- <sup>(76)</sup> . Vogel, E.; Balci, M.; Pramod, K.; Koch, P.; Lex, J.; Ermer, O.: «2,7,12,17-Tetrapropylporphycene- Counterpart of Octaethylporphyrin in the Porphycene Series». *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1987, 26, 928-931.
- <sup>(77)</sup> . Richert, C.; Wessels, J.M.; Müller, M.; Kisters, M.; Benninghaus, T.; Goetz, A.E.: «Photodynamic Antitumor Agents:  $\beta$ -Methoxyethyl Groups Give Access to Functionalized Porphycenes and Enhance Cellular Uptake and Activity. *J. Med. Chem.* 1994, 37, 2797-2807.
- <sup>(78)</sup> . Aramendia, P. F.; Redmond, R. W.; Nonell, S.; Schuster, W.; Braslavsky, S. E.; Schaffner, K.; Vogel, E.: «The Photophysical Properties of Porphycenes: Potential Photodynamic Therapy Agents». *Photochem. Photobiol.* 1986, 44, 555-559.
- <sup>(79)</sup> . Nonell, S.; Bou, N.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Villanueva, A.; Juarranz, A.; Cañete, M.: «Synthesis of 2,7,12,17-Tetraphenylporphycene (TPPo). First Aryl-substituted Porphycene for the Photodynamic Therapy of Tumors». *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 3405-3408.
- <sup>(80)</sup> . Gavalda, A.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Arad, O.; Grau, R.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Stockert, J.C.: «A non-Tetradecarboxylative Synthesis of 2,7,12,17-Tetraphenylporphycene». *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2001, 5, 846-852.
- <sup>(81)</sup> . Vogel, E.; Koch, P. A.; Rahbar, A.; Cross, A. D.: «Preparation of Porphycenes Useful in Photodynamic Therapy or As Intermediates for Synthesis of Photoactivable Dyes Suitable for Photodynamic Therapy». *Cytopharm, Inc. USA. 92-US364(9212636)*, 39. 6-8-1992. WO. 1-29-1992. Patente.
- <sup>(82)</sup> . Vogel, E.; Benninghaus, T.; Richert, C.; Müller, M.; Cross, A. D.: «Preparation of Porphycene Compounds for Photodynamic Therapy». *(Cytopharm, Inc. USA. 92-US4624(9300087))*, 76. 7-1-1993. WO. 6-5-1992. Patent
- <sup>(83)</sup> . Vogel, E.; Müller, M.; Halpern, O.; Cross, A. D.: «Preparation of 9-Substituted Porphycenes as Photosensitizers». *(Cytopharm, Inc. USA. 96-US4177(9631452))*, 30. 10-10-1996. WO. 4-4-1996. Patente.
- <sup>(84)</sup> . Vogel, E.; Müller, M.; Halpern, O.; Cross, A. D.: «Preparation of Porphycene Esters and Amides for Use in Photodynamic Therapy». *(Cytopharm, Inc. USA. 96-US4176(9631451))*, 36. 10-10-1996. WO. 4-4-1996. Patente.
- <sup>(85)</sup> . Donnerstag, D.: «Benzoporphycene-Neuartige Tetrapyrrolische Porphyrinoide». 1993. Universität Köln. Tesis Doctoral.
- <sup>(86)</sup> . Hoppe, M.: «9,10-Benzotetrapropylporphycen-Synthese und Eigenschaften». 1994. Universität Köln. Tesis Doctoral.
- <sup>(87)</sup> . Nußbaumer, T.; Krieger, C.; Neidlein, R.: «21,23-Dithia-3,13-diazaporphycenes, Novel Aromatic Porphycene Analogues incorporating Thiazole». *Eur. J. Org. Chem.* 2000, 13, 2449-2457.
- <sup>(88)</sup> . Nußbaumer, T.; Neidlein, R.: «Syntheses of Thiazole-containing Macroheterocycles related to Porphycene». *Helv. Chim. Acta.* 2000, 83, 1161-1167.
- <sup>(89)</sup> . Vogel, E.; Müller, M.; Halpern, O.; Cross, A. D.: «Synthesis of C-9 Ethers of Porphycenes for Use in the Photodynamic Therapy». *Cytopharm, Inc. USA. 98-US17918(9815271)*, 62. 4-16-1998. WO. 10-9-1997. Patente.
- <sup>(90)</sup> . Cañete, M.; Lapeña, M.; Juarranz, A.; Vendrell, V.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Villanueva, A.: «Uptake of Tetraphenylporphycene and its Photoeffects on Actin and Cytokeratin Elements of HeLa Cells». *Anti-Cancer Drug Design* 1997, 12, 543-554.
- <sup>(91)</sup> . Guardiano, M.; Biolo, R.; Jori, G.; Schaffner, K.: «Tetra-n-propylporphycene as a Tumor Localizer: Pharmacokinetic and Phototherapeutic Studies in Mice». *Cancer Lett.* 1989, 44, 1-6.
- <sup>(92)</sup> . Villanueva, A.; Cañete, M.; Nonell, S.; Borrell, J.I.; Teixidó, J.; Juarranz, A.: «Photodamaging Effects of Tetraphenylporphycene in a Human Carcinoma Cell Line». *Anti-Cancer Drug Design* 1996, 11, 89-99.
- <sup>(93)</sup> . Karrer, S.; Szeimies, R.-M.; Ebert, A.; Fickweiler, C.; Abels, C.; Bäuml, W.; Landthaler, M.: «Dose-dependent Photodynamic Effects of 9-Acetoxy-2,7,12,17-tetrakis-( $\beta$ -methoxyethyl)-porphycene In Vitro». *Lasers Med. Sci.* 1997, 12, 307-312.
- <sup>(94)</sup> . Gavalda, A.: «Síntesis y Actividad Fotodinámica de Fotosensibilizadores Porfíricos». 2001. Universidad Ramón Llull. Tesis Doctoral.
- <sup>(95)</sup> . Karrer, S.; Abels, C.; Szeimies, R. M.; Bäuml, W.; Dellian, M.; Hohenleutner, U.; Goetz, A. E.; Landthaler, M.: «Topical Application of a First Porphycene Dye for Photodynamic Therapy-Penetration Studies in Human Perilesional Skin and Basal Cell Carcinoma». *Arch. Dermatol. Res.* 1997, 289, 132-137.



# Diethyl 2,7-Dibromo-4*H*,5*H*-thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate: A Key Intermediate for a Diversity Oriented Synthesis of 2,7,12,17-Tetraarylporphycenes

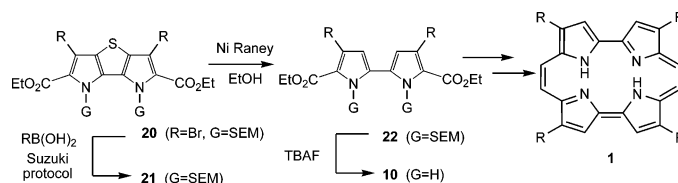
Ofir Arad, Jordi Morros, Xavier Batllori, Jordi Teixidó, Santiago Nonell, and José I. Borrell\*

Grup d'Enginyeria Molecular, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull, Via Augusta, 390, E-08017 Barcelona, Spain

j.i.borrell@iqs.url.edu

Received December 1, 2005

## ABSTRACT



A new Suzuki-based strategy for the synthesis of 4,4'-diaryl (or heteroaryl)-substituted 2,2'-bipyrroles (10), precursors of 2,7,12,17-tetraaryl (or heteroaryl)-substituted porphycenes, is described. Bromination of the previously described diethyl 4*H*,5*H*-thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate afforded dibromo compound 19, which is the key intermediate of such strategy.

Porphycenes (**1**) are porphyrin isomers with much higher absorption coefficients above 630 nm, which is the spectral region of interest for photodynamic therapy of cancer (PDT). In fact, studies of cell photoinactivation have demonstrated their usefulness as PDT photosensitizers.<sup>1</sup> However, since the synthesis by Vogel and co-workers of the parent

nonsubstituted compound **1**{*1*} in 1986,<sup>2</sup> only a few variants of the initial synthetic methodology have been described.<sup>3–5</sup> All of them are based on an Ullmann dimerization of a preformed pyrrole which carries the R substituent present in the resulting porphycene (Figure 1).

(1) (a) Guardiano, M.; Biolo, R.; Jori, G.; Schaffner, K. *Cancer Lett.* **1989**, *44*, 1. (b) Milanesi, C.; Biolo, R.; Jori, G.; Schaffner, K. *Laser Med. Sci.* **1991**, *6*, 437. (c) Richert, C.; Wessels, J. M.; Muller, M.; Kisters, M.; Benninghaus, T.; Goetz, A. E. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2797. (d) Aicher, A.; Müller, K.; Reich E.; Hautmann, R. *Urol. Res.* **1994**, *22*, 25. (e) Villanueva, A.; Cañete, M.; Nonell, S.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Juarranz, A. *Anti-Cancer Drug Des.* **1996**, *11*, 89. (f) Cañete, M.; Lapeña, M.; Juarranz, A.; Vendrell, V.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Villanueva, A. *Anti-Cancer Drug Des.* **1997**, *12*, 543. (g) Karrer, S.; Abels, C.; Szeimies, R.-M.; Baumler, W.; Dellian, M.; Hohenleutner, U.; Goetz, A. E.; Landthaler, M. *Arch. Dermatol. Res.* **1997**, *289*, 132. (h) Karrer, S.; Szeimies, R.-M.; Ebert, A.; Fickweiler, S.; Abels, C.; Bäumlner W.; Landthaler, M. *Laser Med. Sci.* **1997**, *12*, 307. (i) Cañete, M.; Ortiz, A.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Nonell, S.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Stockert, J. C. *Anti-Cancer Drug Des.* **2000**, *15*, 143. (j) Cañete, M.; Ortega, C.; Gavalda, A.; Cristóbal, J.; Juarranz, A.; Nonell, S.; Teixidó, J.; Borrell, J. I.; Villanueva, A.; Rello S.; Stockert, J. C. *Int. J. Oncol.* **2004**, *24*, 1221.

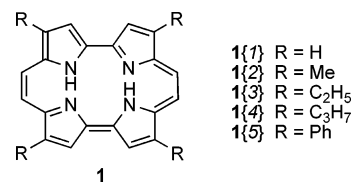
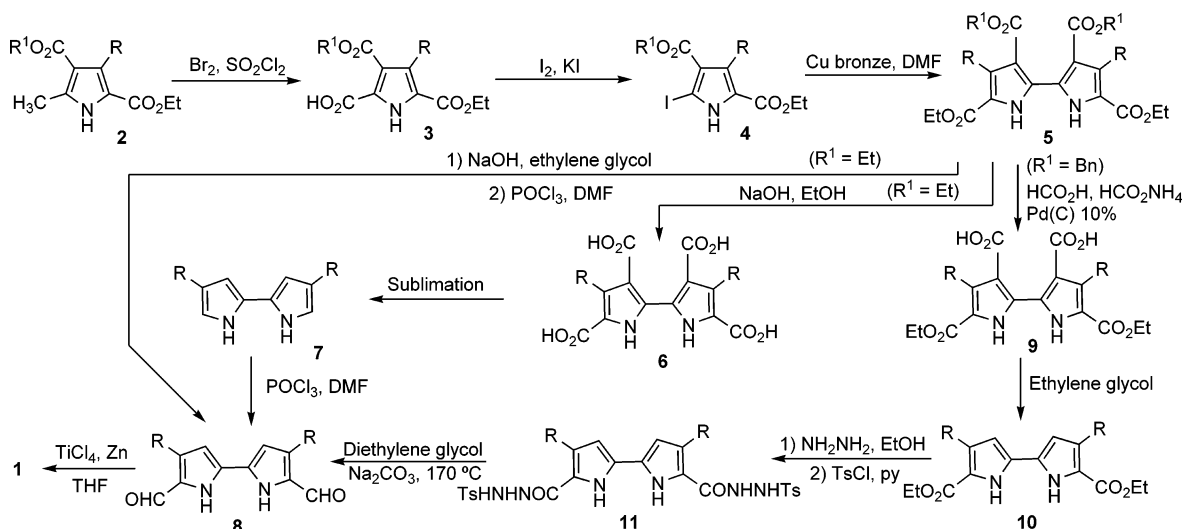


Figure 1. 2,7,12,17-Substituted porphycenes (**1**{*1*–*5*}).

Thus, the original methodology<sup>3</sup> starts from a diethyl 2-methylpyrrole-3,5-dicarboxylate (**2**, R<sup>1</sup> = Et) bearing the

**Scheme 1.** Described Methodologies for the Synthesis of 2,7,12,17-Tetrasubstituted Porphycenes **1**



desired R substituent (Scheme 1). Compound **2** is oxidized to the corresponding carboxylic acid **3** ( $R^1 = \text{Et}$ ) which, in turn, is converted to the iodo derivative **4** ( $R^1 = \text{Et}$ ). This later undergoes de-halogen coupling to the tetraester **5** ( $R^1 = \text{Et}$ ), which is hydrolyzed to the tetraacid **6**. Sublimation of **6** yields the unstable bipyrroles **7** that underwent formylation to give the corresponding diformyl derivative **8**. This latter compound is transformed to the desired porphycene (**1**) by a McMurry coupling. Such a procedure has been used for the synthesis of several alkyl-substituted porphycenes such as **1**{2} ( $R = \text{Me}$ ), **1**{3} ( $R = \text{C}_2\text{H}_5$ ), and **1**{4} ( $R = \text{C}_3\text{H}_7$ ).<sup>6</sup>

Our group described in 1995 the synthesis of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**1**{5},  $R = \text{Ph}$ ) by a slight variation of the aforementioned methodology by which the tetraester **5**{5} ( $R^1 = \text{Et}$ ,  $R = \text{Ph}$ ) is directly transformed into the 5,5'-diformyl-2,2'-bipyrrole **8**{5} ( $R = \text{Ph}$ ), avoiding the intermediate sublimation.<sup>3</sup>

More recently, we reported a non-tetradecarboxylative method to obtain **1**{5} ( $R = \text{Ph}$ ) that avoids passing through the unstable intermediate **7**{5} ( $R = \text{Ph}$ ).<sup>4</sup> We started from a pyrrole **2**{5} ( $R = \text{Ph}$ ,  $R^1 = \text{Bn}$ ) bearing two orthogonal ester groups, which was transformed to the corresponding bipyrrole **5**{5} ( $R = \text{Ph}$ ,  $R^1 = \text{Bn}$ ). The benzyl ester groups were selectively removed to afford diacid **9**{5} ( $R = \text{Ph}$ ) that was subsequently decarboxylated to diester **10**{5} ( $R = \text{Ph}$ ). **10**{5} was converted in dialdehyde **8**{5} ( $R = \text{Ph}$ ), precursor of tetraphenyl porphycene **1**{5}, using the McFadyen–Stevens reaction. A similar concept has been used

recently by Hayashi et al. to obtain the first fluorine-containing porphycenes.<sup>5</sup>

All of the preceding methods present two major drawbacks: (a) A change of substituent R, to improve the drugability and photochemical properties of the final porphycene, forces the development of a de novo synthesis, and (b) such methodologies are far from being of general applicability.

Thus, the nature of R greatly influences the performance of the reactions precluding the synthesis of some target compounds. This was the case, for instance, of the 2,7,12,17-tetra(pyridin-4-yl)porphycene **5**{6} ( $R = \text{C}_6\text{H}_4\text{N}$ ), which failed in our hands in the steps previous to the Ullmann coupling.

All of these synthetic limitations combined with our interest in 2,7,12,17-tetraaryl-substituted porphycenes, due to the interesting photophysical properties<sup>7</sup> and biological activity<sup>1e,i,j</sup> found in 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**1**{5},  $R = \text{Ph}$ ), impelled us to develop a synthetic route for such porphycenes in which the aryl (or heteroaryl) R substituents will be introduced on a preformed 2,2'-bipyrrole in the later stages of the itinerary. Such a concept was used by our group in 2003 to obtain 2,7,12,17-tetraaryl-3,6,13,16-tetraazaporphycenes (**13**) from a dibromo-substituted biimidazole (**12**) (Figure 2).<sup>8</sup>

A literature search carried out revealed 4,4'-dibromo-1,1'-bis(trimethylsilyl)bipyrrole (**14**)<sup>9</sup> as a possible starting material for our purpose. However, the very low yield (10%) in the formation of the starting 1,1'-bis(trimethylsilyl)bipyrrole precluded its use.

Consequently, we focused on structure **15**, described by Farnier et al. in 1976,<sup>10</sup> as a possible precursor of 2,7,12,17-

(2) Vogel, E.; Köcher, M.; Schmickler, H.; Lex, J. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 257.

(3) Nonell, S.; Bou, N.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Villanueva, A.; Juarranz, A.; Cañete, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3405.

(4) Gavalda, A.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Nonell, S.; Arad, O.; Grau, R.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A.; Stockert, J. C. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 846.

(5) Hayashi, T.; Nakashima, Y.; Ito, K.; Ikegami, T.; Aritome, I.; Suzuki, Hisaeda, Y. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2845.

(6) Vogel, E.; Balci, M.; Pramod, K.; Koch, P.; Lex, J.; Ermer, O. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 928.

(7) Rubio, N.; Prat, F.; Bou, N.; Borrell, J. I.; Teixidó, J.; Villanueva, A.; Juarranz, A.; Cañete, M.; Stockert, J. C.; Nonell, S. *New J. Chem.* **2005**, *29*, 378.

(8) Nonell, S.; Borrell, J. I.; Borrós, S.; Colominas, C.; Rey, O.; Rubio, N.; Sánchez-García, D.; Teixido, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1635.

(9) Benincori, T.; Brenna, E.; Sannicolò, F.; Zotti, G.; Zecchin, S.; Schiavon, G.; Gatti, C.; Frigerio, G. *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 1480.



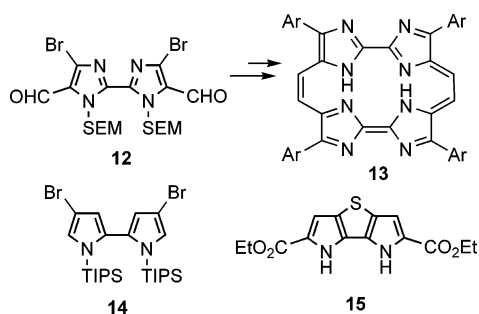


Figure 2.

tetraarylporphycenes. This compound fulfills the requirements needed for our synthetic approach: (i) The pyrrole rings of **15** only present free those positions in which we want to introduce the bromine atoms; (ii) the sulfur bridge, easily removable with Raney nickel according to Farnier,<sup>11</sup> blocks the two inner positions of the bipyrrolic system present in **15** avoiding further substitution there, which would compromise planarity of the resulting porphycene;<sup>5</sup> and (iii) **15** contains two ester groups easily transformable into the required aldehydes by using the aforesaid McFadyen–Stevens protocol.<sup>4</sup>

The thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole (**15**) is obtained (Scheme 2) starting from the commercially available thiophene-2,5-dicarboxaldehyde (**16**), also accessible from thiophene,<sup>12</sup> by treatment with ethyl azidoacetate (**17**) in NaOEt/EtOH to afford bis(azido-2'-ethoxycarbonyl-2'-vinyl)-2,5-thiophene (**18**) in 54% yield. Compound **18** is transformed in the desired thienodipyrrole **15** by heating in xylene at reflux (85% yield). This optimized procedure allows us to obtain **15** in 100 g scale.<sup>13</sup>

Bromination of **15** was first assayed by using *N*-bromo-succinimide or 1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin, typical brominating agents for pyrroles, in a wide range of organic solvents, but in no case was compound **19** even detected. Thus, we treated **15** with Br<sub>2</sub> in a 2:5 AcOH/AcOEt mixture to yield the desired dibromo derivative **19** in 89% yield as a white precipitate of high purity that can be directly used

for the next steps without further purification. Once the dibromo compound was obtained, we faced the key step of our synthetic strategy: the introduction of the R-substituent by a Suzuki reaction.

We treated **19** with phenylboronic acid (RB(OH)<sub>2</sub>, R = Ph) using a wide range of reaction conditions which include the following: Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, PdCl<sub>2</sub>(dppf) or Pd(OAc)<sub>2</sub> and Buchwald ligand<sup>14</sup> as catalysts; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> or CsF as bases; DMF, dimethoxyethane, or 1,4-dioxane as solvents; the use of conventional or microwave heating. However, the desired diphenyl-substituted derivative was not formed in any case. These results are in agreement with literature reports, indicating that, in some cases, the Suzuki coupling does not proceed on unprotected pyrroles.<sup>15</sup>

Consequently, we decided to protect both nitrogen atoms of dibromothienodipyrrole **19**. Treatment with methyl chloroformate using NaH as base and anhydrous THF as solvent afforded the monoprotected derivative **23** in 60% yield. All efforts carried out to achieve diprotection failed. Thus, when **19** was treated with MeOCOCI/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/TBAI (tetrabutylammonium iodide) in DMF,<sup>16</sup> the *N,N'*-dimethyl-substituted thienodipyrrole **24** was surprisingly obtained (Figure 3).

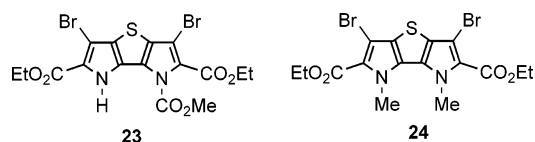
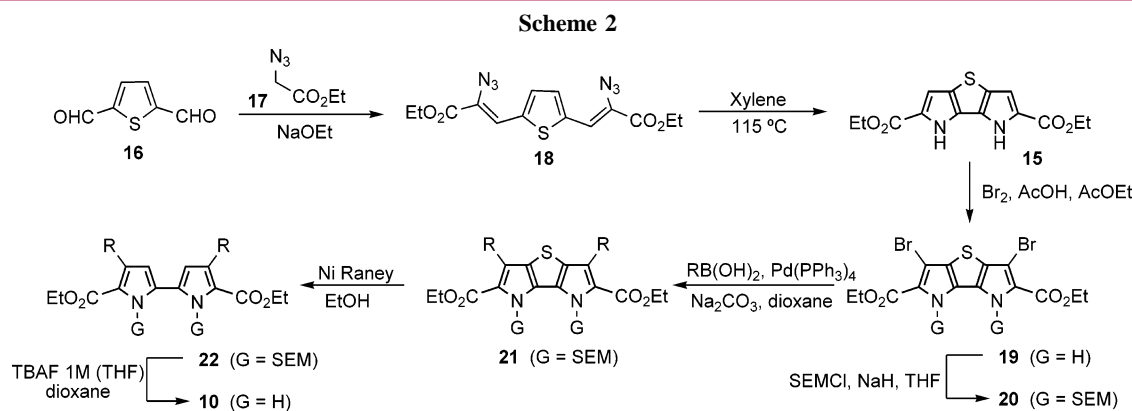


Figure 3.

Fortunately, treatment of **19** with trimethylsilylethoxy-methyl chloride (SEM-Cl) with NaH in THF yielded the *N,N'*-di(SEM) protected thienodipyrrole **20** (G = SEM) in 94% yield (Scheme 2).<sup>17</sup>

The Suzuki coupling between **20** and RB(OH)<sub>2</sub> (R = Ph) in the presence of Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 1,4-dioxane gave the diphenyl-substituted thienodipyrrole **21**{5} (R = Ph) in quantitative yield. Similarly obtained were the di(pyridin-4-yl)-substituted derivative **21**{6} (R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N) and the di-



(*p*-methoxyphenyl)-substituted one **21**{7} (R = *p*-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), in 95% and 100% yield, respectively, upon treatment of **20** with the corresponding boronic acids.

Desulfurization of **21**{5}, **21**{6}, and **21**{7} was carried out by treatment with Raney Ni in ethanol to afford bipyrrroles **22**{5} (R = Ph) and **22**{6} (R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N) in quantitative yield, while bipyrrrole **22**{7} (R = *p*-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) was obtained in 94% yield (Scheme 2).

During the removal of the SEM protecting groups of **22**{5}, **22**{6}, and **22**{7}, we found problems similar to those described by Rawal and Cava.<sup>18</sup> Finally, the reaction was achieved by using TBAF in 1,4-dioxane at reflux to yield **10**{5} (R = Ph), **10**{6} (R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N), and **10**{7} (R = *p*-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) in 93%, 89%, and 91% yield, respectively (Scheme 2), proving the general applicability of this synthetic approach.

The preparation of **10**{5} (R = Ph), **10**{6} (R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>N), and **10**{7} (R = *p*-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) completes, in one side, a new

synthesis of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**1**{5}, R = Ph) (see Scheme 1) and, on the other, opens a new general route for the synthesis of 2,7,12,17-tetraaryl (or heteroaryl)-substituted porphycenes.

An application of such methodology to the production of porphycene libraries is currently underway.

**Acknowledgment.** Financial support by the Spanish MCyT is gratefully acknowledged (Grant No. SAF2002-04034-C02-02). O.A. thanks Fundació Patronal Institut Químic de Sarrià for a predoctoral fellowship.

**Supporting Information Available:** Detailed synthetic procedures and spectroscopic characterization of compounds. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

OL052913+

(16) Handy, S. T.; Sabatini, J. J.; Zhang, Y.; Vulfova, I. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5057.

(17) **Diethyl 2,7-Dibromo-4H,5H-bis(trimethylsilylethoxymethyl)-thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate (20).** NaH (2.1 g, 60% in mineral oil) was added portionwise to a suspension of 11 g (24 mmol) of **19** in 50 mL of anhydrous THF under Ar atmosphere. The resulting mixture was stirred for 15 min at room temperature. Then, 15 mL of trimethylsilylethoxymethyl chloride (SEM-Cl) was added dropwise, and the resulting solution was stirred for 1 h at room temperature. Crushed ice (100g) was added, and the resulting mixture was stirred until a precipitate appeared. The solid was filtered, washed with MeOH until it became white, and dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in vacuo (50 °C) to yield 13.4 g (18 mmol, 77%) of **20**. The mother liquor was extracted with hexane, washed (MgSO<sub>4</sub>), and concentrated in vacuo to yield an extra crop of 3.0 g (4 mmol, 17%) of **20**: mp 127–129 °C; IR (KBr)  $\nu_{\max}$  2952, 2902, 1705, 1382, 1319, 1228, 1088, 920, 859, 835 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.27 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.41 (q, 4H, *J* = 7.2 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.51 (t, 4H, *J* = 8.4 Hz, O-CH<sub>2</sub>), 1.45 (t, 6H, *J* = 7.2 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.83 (t, 4H, *J* = 8.4 Hz, Si-CH<sub>3</sub>), -0.07 (s, 18H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  160.5, 130.7, 128.5, 123.9, 99.6, 75.0, 65.9, 61.1, 17.9, 14.4, -1.4; MS (ESI-TOF) *m/z* = 747.0 ([M + Na + 2H]<sup>+</sup>), 337.3, 236.1, 218.2, 163.0; HRMS (MALDI-TOF) calcd for C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>-Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SSi<sub>2</sub> + Na 745.041, found 745.040. Anal. Calcd for C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>-SSi<sub>2</sub>: C, 43.09; H, 5.56; N, 3.87; S, 4.42. Found: C, 43.25; H, 5.37; N, 3.64; S, 4.21.

(18) Rawal, V. H.; Cava, M. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108* (8), 2110.

(10) Farnier, M.; Soth, S.; Fournari, P. *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1074.

(11) Farnier, M.; Soth, S.; Fournari, P. *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1083.

(12) Feringa, B. L.; Hulst, R.; Rikers, R.; Brandsma, L. *Synthesis* **1988**, 316.

(13) **Diethyl 2,7-Dibromo-4H,5H-thieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipyrrole-3,6-dicarboxylate (19).** A solution of 3 mL of Br<sub>2</sub> in 45 mL of AcOH was added dropwise to a suspension of 3.0 g (9.7 mmol) of **15** in a mixture of 250 mL of AcOEt and 100 mL of AcOH. The resulting mixture was stirred for 8 h at room temperature. The resulting precipitate was filtered, washed with 3 × 50 mL of an aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution, and dried over P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in vacuo (50 °C) to yield 4.1 g (8.7 mmol, 89%) of **19** as a white solid: mp > 290 °C dec; IR (KBr)  $\nu_{\max}$  3417, 3327, 2924, 2853, 1686, 1649, 1375, 1230 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  11.52 (s, 2H, NH), 4.34 (q, 4H, *J* = 7.2 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.35 (t, 6H, *J* = 7.2 Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  158.9, 127.7, 125.2, 121.9, 96.1, 60.6, 14.3; MS (70 eV) *m/z* 463.6 ([M + 2H]<sup>+</sup>), 419.6, 371.6, 264.7; HRMS calcd for C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S 461.8884, found 461.8892. Anal. Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: C, 36.23; H, 2.61; N, 6.04; S, 6.91. Found: C, 36.11; H, 2.54; N, 5.98; S, 6.59.

(14) Walker, S. D.; Barder, T. E.; Martinelli, J. R.; Buchwald, S. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1871.

(15) (a) Ghosez L.; Franc C.; Denonne F.; Cuisinier C.; Touillaux R. *Can. J. Chem.* **2001**, *79*, 1827. (b) Handy, S. T.; Bregman, H.; Lewis, J.; Zhang, X.; Zhang, Y. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 427.



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 275 416**

② Número de solicitud: 200501764

⑤ Int. Cl.:

**C07D 495/14** (2006.01)

**C07D 209/00** (2006.01)

**C07D 209/00** (2006.01)

**C07D 333/00** (2006.01)

**A61K 31/407** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61N 5/067** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **15.07.2005**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **01.06.2007**

Fecha de la concesión: **02.04.2008**

⑤ Fecha de anuncio de la concesión: **01.06.2008**

⑤ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**01.06.2008**

⑦ Titular/es: **INSTITUT QUÍMIC DE SARRIÀ CETS**  
**Vía Augusta, 390**  
**08017 Barcelona, ES**

⑦ Inventor/es: **Arad Hadar, Ofir;**  
**Borrell Bilbao, José Ignacio;**  
**Morros Camps, Jordi;**  
**Nonell Marrugat, Santiago y**  
**Teixidó Closa, Jordi**

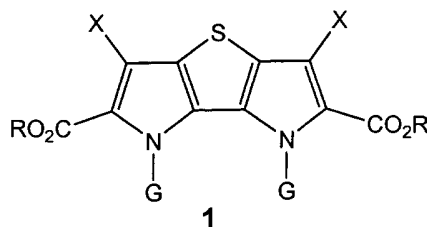
⑦ Agente: **No consta**

④ Título: **Derivados halogenados de 4H,5H-tieno[3,2-b:4,5-b']dipirroles y procedimiento y utilizaciones correspondientes.**

⑦ Resumen:

Derivados halogenados de 4H,5H-tieno[3,2-b:4,5-b']dipirroles y procedimiento y utilizaciones correspondientes.

La presente invención desarrolla la síntesis de sistemas 2,7-dihalo-4H,5H-tieno[3,2-b:4,5-b']dipirroles de fórmula general (1), donde R puede ser alquilo (C<sub>1-5</sub>), bencilo o bencilo sustituido; G puede ser hidrógeno o trimetilsililmetil (SEM) y X puede ser cloro, bromo o yodo. Se describe el uso de los compuestos (1) como antecedentes de 2,2'-dipirroles 4,4'-diaril sustituidos y precursores de porfíricos sustituidos en las posiciones 2,7,12,17 por grupos alquenoilo, arilo o heteroarilo.



ES 2 275 416 B1

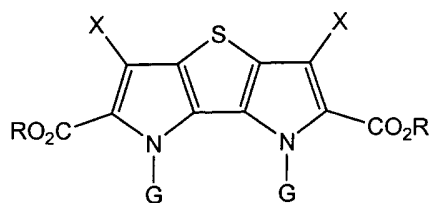
Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Derivados halogenados de 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirroles y procedimiento y utilizaciones correspondientes.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a los derivados halogenados de 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirroles de fórmula general 1, y a un procedimiento para su obtención.



20 G= H, SEM

X= Cl, Br, I

R= alquilo C<sub>1-5</sub>, bencilo o bencilo sustituido

25 donde R puede ser alquilo C<sub>1-5</sub>, bencilo o bencilo sustituido, G puede ser hidrógeno o trimetilsililetoximetil (SEM) y X puede ser cloro, bromo o yodo.

**Estado de la técnica**

30 Actualmente, en la lucha contra el cáncer se dispone, principalmente, de tres tipos de tratamientos: la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia. A pesar de sus éxitos parciales presentan grandes inconvenientes como el trauma postoperatorio, la inmunodepresión o la toxicidad producida por la poca selectividad de los fármacos. Con el fin de mejorar y/o complementar dichas terapias convencionales, en los últimos años han surgido nuevas formas de tratamiento como la Terapia Fotodinámica del Cáncer (Photodynamic Therapy, PDT).

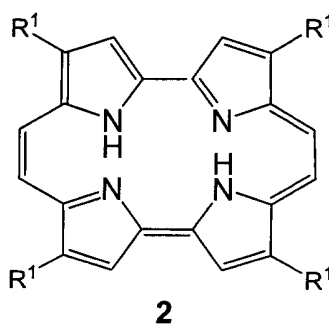
35 La PDT consiste en administrar por vía tópica o sistémica un fármaco fotosensibilizador, el cual una vez acumulado en el tejido neoplásico, debido a que los tumores tienen una mayor vascularización, pero un pobre drenaje linfático, se irradia con el haz de un láser. La acción de la luz sobre el fotosensibilizador produce el efecto fotodinámico, esto es, la generación de especies oxidantes tóxicas, principalmente oxígeno singlete, produciendo la apoptosis o la necrosis celular. Así pues, es una técnica doblemente selectiva. El efecto fotodinámico también se ha aplicado en dermatología, y en la inactivación de virus como el VIH y bacterias (G. Jori, D. Tonlorenzi, *Int. Photodyn.* **1999**, 2(1), 2-3).

40 Actualmente, la terapia se aplica haciendo uso de un fotosensibilizador de origen natural llamado Photofrin<sup>®</sup> II. No obstante, presenta diversos inconvenientes. En primer lugar, el fármaco es, químicamente, una mezcla compleja de oligómeros de hematoporfirina lo cual provoca una baja reproducibilidad en los tratamientos. En segundo lugar, su máximo de absorción se halla muy por debajo del margen de longitudes de onda en el que la piel es transparente. Además presenta una gran fototoxicidad debido a la lentitud con la que se elimina del organismo. Estos hechos limitan la técnica.

50 Así pues, un fotosensibilizador ideal debería poseer las siguientes características:

- Estabilidad química y fotoquímica.
- Estructura perfectamente determinada.
- 55 • Coeficiente de absorción lo más elevado posible entre 650 y 800 nm.
- Elevado rendimiento cuántico de triplete o de formación de especies activas de oxígeno.
- Localización en tumores.
- 60 • Mínima toxicidad en ausencia de luz.
- Facilidad de eliminación del organismo.

65 Con el fin de mejorar las propiedades del Photofrin<sup>®</sup> II han aparecido fotosensibilizadores de segunda generación. Entre estos cabe destacar las porfirinas, clorinas, bacterioclorinas, azaporfirinas, purpurinas, M(II)-texafirinas, ftalocianinas, naftalocianinas. y los porfíricos (2).



15 En efecto, el porfíceno (2, R<sup>1</sup> = H), descubierto por E. Vogel en 1986 (E. Vogel, M. Köcher, H. Schmickler, J. Lex, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 257-259), puede considerarse un isómero estructural de la porfirina el cual presenta un máximo de absorción a 630 nm (G. Jori, E. Vogel, A. D. Cross, Cytopharm, Inc., U.S. 4,913907).

20 El 2,7,12,17-tetrafenilporfíceno (2, R<sup>1</sup> = Ph) descrito por un grupo que comprende algunos de los inventores de la presente invención (S. Nonell, N. Bou, J. I. Borrell, J. Teixidó, A. Villanueva, A. Juarranz, M. Cañete, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 3405-3408), presenta un desplazamiento batocrómico de 30 nm respecto al porfíceno no sustituido. Las propiedades fotofísicas del derivado G=Ph, y su complejo con paladio han sido estudiadas y lo convierten en un firme candidato para la terapia fotodinámica del cáncer (M. Cañete, M. Lapeña, A. Juarranz, V. Vendrell, J. I. Borrell, J. Teixidó, S. Nonell, A. Villanueva, *Anti-Cancer Drug Design*, **1997**, 12, 543-554; M. Cañete, A. Ortiz, A. Juarranz, A. Villanueva, S. Nonell, J. I. Borrell, J. Teixidó, J. C. Stockert, *Anti-cancer Drug Design*, **2000**, 15, 143-150).

25 No obstante, los porfícenos se sintetizan mediante una síntesis lineal de ocho pasos que incorpora los sustituyentes R<sup>1</sup> desde el inicio. Este hecho dificulta, o incluso puede llegar a imposibilitar, la generación de derivados capaces de modelar las propiedades del fotosensibilizador.

30 Así pues, cabe considerar el diseño de fotosensibilizadores que por una parte posean un máximo de absorción desplazado hacia el rojo y que por otra parte, se obtengan por un itinerario sintético que permita un enfoque combinatorio con el fin de incorporar sustituyentes para mejorar propiedades como la selectividad o la solubilidad.

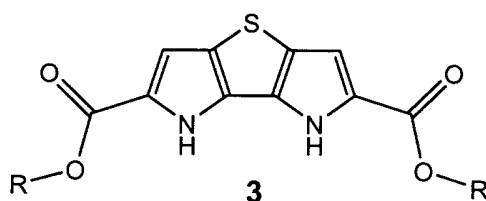
35 La posibilidad real de incorporar sustituyentes muy diversos en esqueletos porfícénicos amplía las posibilidades apuntadas en la literatura de usar los porfícenos para otras aplicaciones, tanto biomédicas como industriales. Se podría citar como ejemplos las unidades de almacenamiento de información (TW552262, JP2002137547, JP2002114923), fotosensibilizadores para fotografía (US6372419, JP2001100353) o incluso sensores de oxígeno (JP2003344382).

40 Desde el punto de vista sintético resulta atractiva una estrategia que permita introducir los sustituyentes en las posiciones 4 y 4' de un sistema bipirrólico preformado. Para ello es necesario disponer de un bipirrol con halógenos en dichas posiciones. Actualmente existen muchas posibilidades sintéticas para funcionalizar heterociclos halogenados, entre las reacciones organometálicas destacan las catalizadas por Pd. La reacción de Suzuki por ejemplo permitiría introducir sustituyentes aromáticos en el heterociclo. Las posibilidades son muy diversas dado que existe una gran variedad de ácidos borónicos comerciales para realizar la reacción de Suzuki.

45 En nuestro grupo ya se ha realizado la reacción de Suzuki sobre sistemas 2,2'-biimidazólicos como estrategia para obtener azaporfícenos (S. Nonell, J. I. Borrell, S. Borrós, C. Colominas, O. Rey, N. Rubio, D. Sánchez, J. Teixidó, *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 1635-1640); la presente invención utiliza los tienodipirroles halogenados 1 como antecedentes de 2,2'-bipirroles 4,4'-diaril sustituidos susceptibles de ser transformados en porfícenos 2 mediante reacciones químicas previamente descritas por nuestro equipo (A. Gavaldá, J. I. Borrell, J. Teixidó, S. Nonell, O. Arad, R. Grau, M. Cañete, A. Juarranz, A. Villanueva, J. C. Stockert, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2001**, 5, 846-852).

### Objeto de la invención

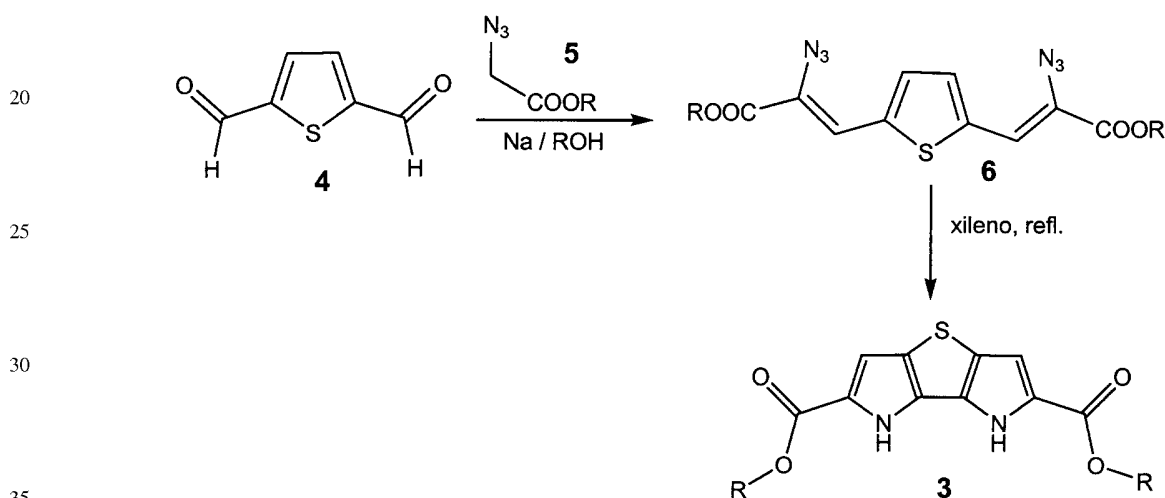
55 Los autores de la presente invención han diseñado un procedimiento o itinerario nuevo que permite la obtención de los nuevos tienodipirroles halogenados 1 a partir de 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilatos de di(R) (3), donde R puede ser alquilo C<sub>1-5</sub>, bencilo o bencilo sustituido.



La invención tiene asimismo por objeto la utilización preferente de dichos compuestos 1 como antecedentes de 2,2'-dipirroles 4,4'-diaril sustituidos como precursores de porfíricos 2 sustituidos en las posiciones 2,7,12,17 por grupos alquenoilo, arilo o heteroarilo.

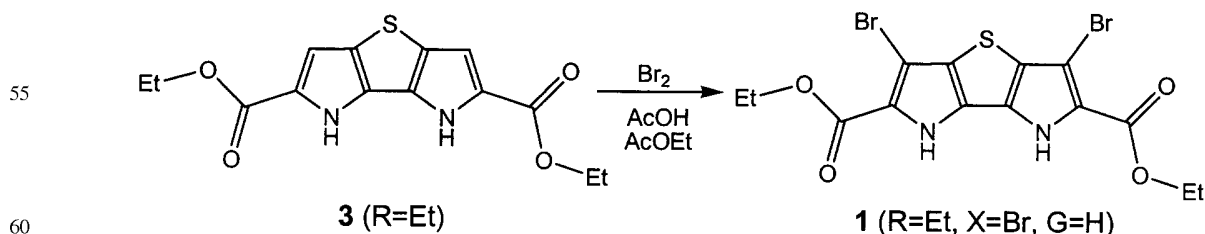
### 5 Descripción detallada de una forma de realización de la invención

El procedimiento de obtención de los tienodipirroles 1 se inicia con la obtención de los 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilatos de di(R) (3) mediante el procedimiento descrito en 1976 por Farnier *et al.* para la síntesis del 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo (3, R = Et) (M. Farnier, S. Soth, P. Fournari, *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1074-1082). Así, se trata el comercialmente asequible tiofeno-2,5-dicarboxaldehído (4) con el correspondiente azidoacetato de (R) (5), donde R es alquilo C<sub>1-5</sub>, bencilo o bencilo sustituido, en presencia del alcohol ROH y sodio molecular para rendir 2,5-bis(2-azido-2-(R)oxycarbonilvinil)tiofeno (6), donde R es alquilo C<sub>1-5</sub>, bencilo o bencilo sustituido. Los compuestos 6 se transforman en el correspondiente 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de di(R) (3) por calefacción en xileno. El diéster 3 es el intermedio común a partir del cual se obtienen los tienodipirroles halogenados 1. El grupo R es preferentemente el grupo etilo.



El procedimiento de obtención de los compuestos 1 (R = Et) se inicia con la halogenación del tienodipirrol 3 (R = Et). Las dificultades encontradas para bromar 3 (R = Et) con diversos agentes bromantes tradicionales en la química de pirroles tales como la *N*-bromosuccinimida, la 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina, etc en un gran número de disolventes, llevaron a los inventores de la presente invención a ensayar el bromo elemental como agente bromante pese a no ser utilizado habitualmente en pirroles.

Sorprendentemente al tratar con bromo el tienodipirrol 3 (R = Et) utilizando una mezcla 5:2 de acetato de etilo y ácido acético como disolvente se obtiene por precipitación el dibromotienodipirrol 1 (R = Et, X = Br, G = H) con un rendimiento del 90%. Dicha precipitación no se da con el derivado diiodado, en principio más reactivo que el bromado para una posterior reacción de Suzuki, lo que hace necesario el empleo de cromatografía de columna para su aislamiento. Por su parte, el derivado diclorado, obtenible por tratamiento con Cl<sub>2</sub>, es de menor interés al ser menos reactivo que el dibromado en condiciones de Suzuki. Todo ello hace que el derivado dibromado 1 (R = Et, X = Br, G = H) sea el compuesto idóneo para manipulaciones sintéticas posteriores.

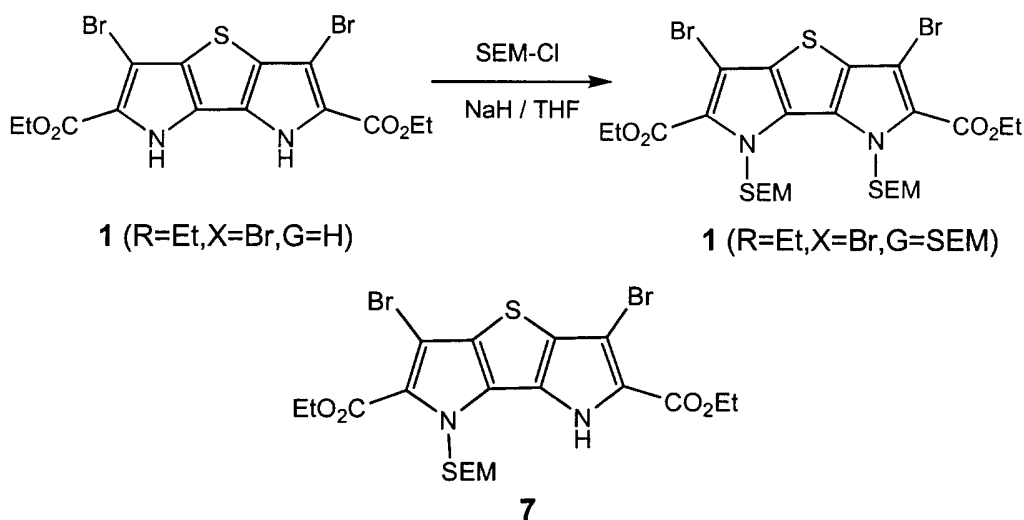


Se han hecho numerosas pruebas con el tienodipirrol dibromado 1 (R = Et, X = Br, G = H) y se ha llegado a la conclusión que esta molécula no da la reacción de Suzuki con buenos rendimientos. En la bibliografía aparecen ejemplos de Suzuki en pirroles donde este problema se soluciona protegiendo los nitrógenos del heterociclo (Handy *et al.*, *Tetrahedron. Lett.* **2003**, *44*, 427-430, Ghosez *et al.*, *Can. J. Chem.* **2001**, *79*, 1827-1839). Teniendo en cuenta estos precedentes se ensayó la protección de los nitrógenos del tienodipirrol bromado 1 (R = Et, X = Br, G = H).

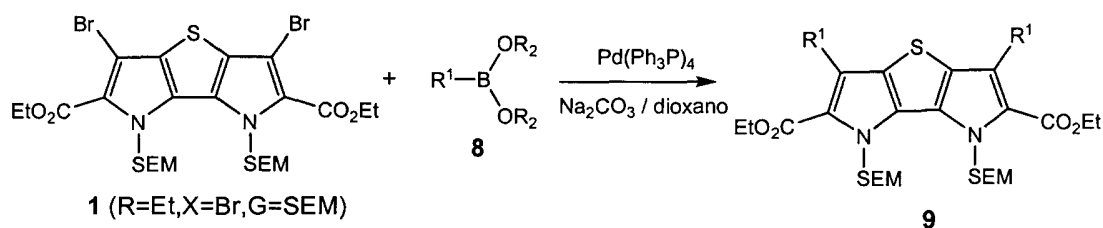
La protección con cloroformiato de metilo en presencia de ioduro de tetrabutilamonio y carbonato sódico conduce a la metilación de los nitrógenos. Dado que el grupo metilo es un grupo protector muy difícil de eliminar, ésta no es una buena aproximación. Se intentó la protección con cloroformiato de metilo mediante la ionización previa con hidruro sódico pero sólo se consiguió proteger uno de los nitrógenos, lo cual es insuficiente para poder realizar la reacción de Suzuki.

Finalmente, se ha conseguido la protección simultánea de los dos nitrógenos de **1** (R = Et, X = Br, G = H) mediante el grupo protector trimetilsililetoximetil (abreviado como SEM) por tratamiento con cloruro de trimetilsililetoximetil (SEM-Cl) en THF utilizando NaH como base para rendir el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno [3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo **1** (R = Et, X = Br, G = SEM).

El SEM, aunque voluminoso, permite la doble protección, a diferencia de otros grupos protectores voluminosos pero de estructura no lineal. Esta doble protección se ha de realizar a temperatura ambiente porque si se hace a baja temperatura solamente se obtiene el término de monoprotección **7**. Además el SEM es muy estable en una gran variedad de condiciones lo que permite la posterior utilización de dicha molécula en reacciones de sustitución del halógeno por otros restos. Otra ventaja que presenta este grupo protector es la de dar solubilidad al tienodipirrol en numerosos disolventes orgánicos, entre ellos el hexano, lo que permite su aplicación en numerosas reacciones que se dan en medio apolar.



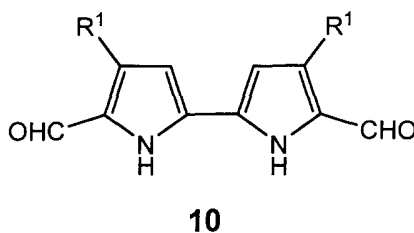
Se ha comprobado que es posible sustituir los dos halógenos de los tienodipirroles halogenados **1**, cuyos nitrógenos anulares estén protegidos con el grupo SEM, por restos alqueno, arilo o heteroarilo mediante la reacción de Suzuki en condiciones similares a las previamente descritas por nuestro grupo para obtener azaporfíenos (S. Nonell, J. I. Borrell, S. Borrós, C. Colominas, O. Rey, N. Rubio, D. Sánchez, J. Teixidó, *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 1635-1640). Así, el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo **1** (R = Et, X = Br, G = SEM) sufre reacción de Suzuki en dioxano y en presencia de un catalizador de paladio, tal como el complejo tetrakis (trifenilfosfina) paladio (0), y de una base, tal como carbonato sódico o fluoruro de cesio, con un derivado borónico **8**, donde R<sub>2</sub> puede ser hidrógeno (ácido borónico) o ambos R<sub>2</sub> formar parte de una misma cadena hidrocarbonada (éster borónico del propilenglicol o del pinacol) y R<sub>1</sub> puede ser un grupo alqueno (vinilo o estirilo), o un grupo arilo el cual puede estar no sustituido o sustituido por uno o varios grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, amino, mono- o dialquilamino o hidroxicarbonilo, o un grupo heteroarilo el cual puede estar no sustituido o sustituido por uno o más grupos alquilo C<sub>1-6</sub> para rendir el correspondiente sistema disustituido **9**.



Los sistemas **9** pueden ser transformados en 5,5'-diformal-2,2'-bipirroles.4,4'-di(R<sup>1</sup>) sustituidos **10** (donde R<sup>1</sup> puede ser alqueno, arilo o heteroarilo según la definición anterior), precursores inmediatos de porfíenos 2,7,12,17-tetrasustituidos **2**, por desulfurización según el método descrito por Farnier *et al.* (M. Farnier, S. Soth, P. Fournari, *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1074-1082), seguido de eliminación del grupo protector SEM según el método descrito por Delgado (A. Delgado, J. Clardy, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2862-2866) y posterior transformación de los grupos éster

## ES 2 275 416 B1

en aldehído según el método previamente descrito por nuestro grupo (A. Gavaldá, J. I. Borrell, J. Teixidó, S. Nonell, O. Arad, R. Grau, M. Cañete, A. Juarranz, A. Villanueva, J. C. Stockert, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2001**, 5, 846-852).



15 Además, los 2,2'-bipirroles 10 son intermedios en la síntesis de numerosos fotosensibilizadores a parte de los porfíricos (corroles, safrinas, rosarinas, rubirinas,...). Por lo tanto se puede extender la aplicación de los tienodipirroles 1 a la síntesis de otros fotosensibilizadores.

20 A continuación, para una mejor comprensión de la presente invención, sin que deba ser interpretado como limitaciones a la misma, se exponen los siguientes

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

25 *Obtención del 2,7-dibromo-4H,5H-tieno[3,2-b:4,5-b']dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = H)*

30 Se añade una disolución de 3 mL de Br<sub>2</sub> en 45 mL de AcOH sobre una suspensión de 3,0 g (9,7 mmol) del tienodipirrol 3 (R = Et) en una mezcla de 250 mL de AcOEt y 100 mL de AcOH. A continuación se agita durante ocho horas a temperatura ambiente. El precipitado resultante se filtra, se lava con 3x50 mL de solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> y, finalmente, se seca en desecador de vacío a 50°C sobre pentóxido de fósforo. Se obtienen 4,1 g (8,7 mmol, 89%) de 1 (R = Et, X = Br, G = H) como un sólido blanco, p. fus. > 290 (d). IR (KBr)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3417, 3327, 2924, 2853, 1686, 1649, 1375, 1230; <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 11.52 (s, 2H, NH), 4.34 (q, 4H, J=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.35 (t, 6H, J=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 75.5 MHz)  $\delta$  (ppm): 158.9, 127.7, 125.2, 121.9, 96.1, 60.6, 14.3; MS (70 eV): m/z = 463.6 ([M+2H]<sup>+</sup>), 419.6, 371.6, 264.7; HRMS (High Resolution Mass Spectrometry - Espectrometría de Masas de Alta Resolución): C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, calculado: 461.8884, obtenido: 461.8892; Análisis Elemental (AE) Calculado para C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: C, 36.23; H, 2.61; N, 6.04; S, 6.91. Obtenido: C, 36.11; H, 2.54; N, 5.98; S, 6.59.

#### Ejemplo 2

40 *Obtención de 2,7-dibromo-4H,5H-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-b:4,5-b']dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = SEM)*

45 Se hace una suspensión de 11 g (24 mmol) del dibromotienobipirrol 1 (R = Et, X = Br, G = H) en 50 mL de THF anhidro bajo atmósfera de argón. A continuación se añade, en pequeñas porciones, 2.1 g (0.52 mol) de NaH al 60% en parafina. La mezcla resultante se deja en agitación durante 15 min a temperatura ambiente. Se adicionan lentamente 15 mL (80 mmol) de cloruro de trimetilsililetoximetilo (SEM-Cl) y se deja agitando durante 1 hora a temperatura ambiente. Se adicionan 100 g de hielo y se agita hasta la aparición de un precipitado. El precipitado resultante se filtra, se lava con MeOH hasta que el sólido quede blanco y se seca en un desecador de vacío a 50°C sobre pentóxido de fósforo obteniéndose 13.4 g (18 mmol, 77%) de 1 (R = Et, X = Br, G = SEM). Las aguas madres se extraen con hexano, se secan sobre MgSO<sub>4</sub>, y se elimina el disolvente a vacío recuperándose 3.0 g (4 mmol, 17%) más de 1 (R = Et, X = Br, G = SEM), p. fus. 127-129°C. IR (KBr)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2952, 2902, 1705, 1382, 1319, 1228, 1088, 920, 859, 835; <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 6.27 (s, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.41 (q, 4H, J=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.51 (t, 4H, J=8.4Hz, O-CH<sub>2</sub>), 1.45 (t, 6H, J=7.2Hz, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 0.83 (t, 4H, J=8.4 Hz, Si-CH<sub>2</sub>), -0.07 (s, 18H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 75.5 MHz)  $\delta$  (ppm): 160.5, 130.7, 128.5, 123.9, 99.6, 75.0, 65.9, 61.1, 17.9, 14.4, -1.4; MS (ESI-TOF): m/z = 747.0 ([M+Na+2H]<sup>+</sup>), 337.3, 236.1, 218.2, 163.0. HRMS (MALDI-TOF): C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SSi<sub>2</sub>+Na, Calculado: 745.041; obtenido 745.040; AE: Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>SSi<sub>2</sub>: C, 43.09; H, 5.56; N, 3.87; S, 4.42. Obtenido: C, 43.25; H, 5.37; N, 3.64; S, 4.21.

#### Ejemplo 3

65 *Obtención de 2,7-difenil-4H,5H-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-b:4,5-b']dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 9 (R<sup>1</sup> = Ph)*

Se disuelven 100 mg (138  $\mu$ mol) del 2,7-dibromo-4H,5H-di(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-b:4,5-b']dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = SEM), 50 mg (410  $\mu$ mol) de ácido fenilborónico 8 (R<sup>1</sup> = Ph, R<sub>2</sub> = H) en



## ES 2 275 416 B1

60 mL de 1,4-dioxano. A continuación, se añade una disolución acuosa saturada de 57 mg (412  $\mu\text{mol}$ ) de carbonato potásico en 1 mL de agua y se desoxigena toda la mezcla con  $\text{N}_2$  durante media hora. Finalmente se añaden 25 mg (22  $\mu\text{mol}$ ) de tetrakis(trifenilfosfina) de paladio (0) y la mezcla se lleva a reflujo, bajo atmósfera de argón, durante 16 horas. La solución resultante se deja enfriar, se añaden 30 mL de agua y se extrae con 3x50 mL de hexano.

5

Los extractos orgánicos se secan sobre  $\text{MgSO}_4$ , se elimina el disolvente a vacío y el residuo se cromatografía usando una mezcla 1:2 de acetato de etilo/hexano como eluyente. Se obtienen 76 mg (106  $\mu\text{mol}$ , 77%) de 9 ( $\text{R}^1 = \text{Ph}$ ) como un sólido blanco, p. fus. 90-92°C. IR (KBr)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3061, 3029, 2980, 2953, 2897, 1948, 1882, 1698 1397, 1382, 1317, 1249, 1238, 1179, 1101, 1078, 860, 836, 699;  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  (ppm): 7.5-7.3 (m, 10H, Ph), 6.33 (s, 4H, N- $\text{CH}_2$ ), 4.14 (q, 4H,  $J=6.9\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.61 (t, 4,  $J=8.4\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2$ ), 1.05 (t, 2H,  $J=6.9\text{Hz}$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0.91 (t, 4H,  $J=8.4\text{ Hz}$ , Si- $\text{CH}_2$ ), -0.04 (s, 18H, Si-( $\text{CH}_3$ ) $_3$ );  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 75.5 MHz)  $\delta$  (ppm): 161.8, 134.5, 129.9, 129.2, 128.7, 127.8, 127.2, 126.8, 122.5, 74.6, 65.7, 60.5, 18.0, 13.8, -1.3. MS (ESI-TOF):  $m/z = 741.5$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ), 601.4, 416.5, 368.5, 288.4.

15

20

25

30

35

40

45

50

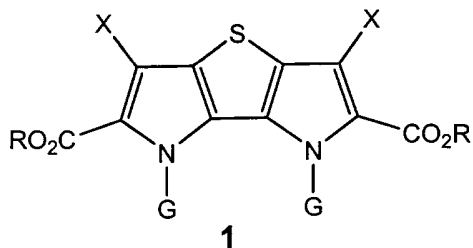
55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula 1, donde R puede ser alquilo C<sub>1-5</sub>, bencilo o bencilo sustituido, G puede ser hidrógeno o trimetilsililetoximetil (SEM) y X puede ser cloro, bromo o yodo:

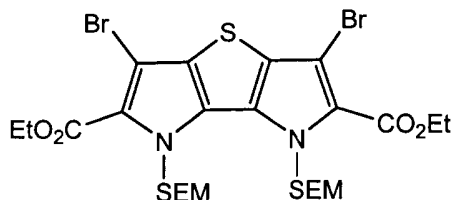


G= H, SEM

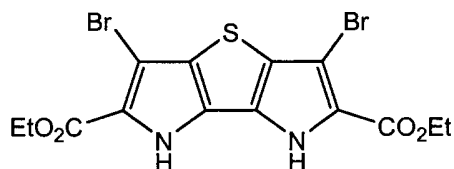
X= Cl, Br, I

R= alquilo C<sub>1-5</sub>, bencilo o bencilo sustituido

2. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque G = SEM, R = Et y X = Br.

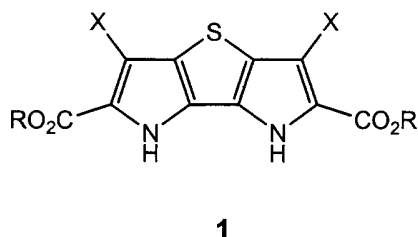
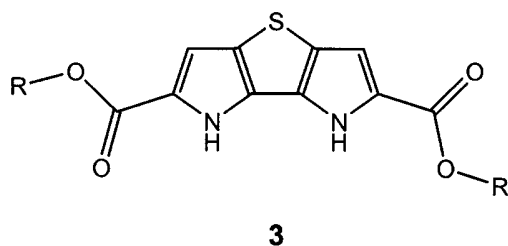


3. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque G = H, R = Et y X = Br.

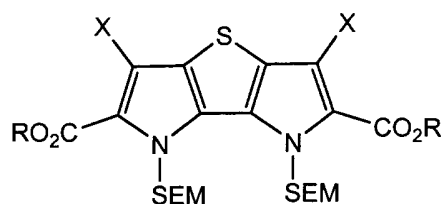


4. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula 1 según por lo menos una de las reivindicaciones 1 a 3 **caracterizado** porque comprende las siguientes etapas:

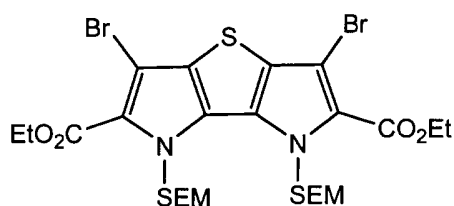
- (a) Halogenar 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de di(R) (3), para rendir el 2,7-dihalo-4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de di(R) (1) (G = H).



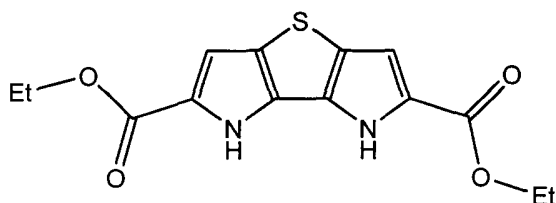
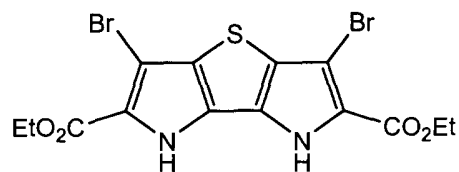
- (b) Opcionalmente, proteger los nitrógenos del tienodipirrol 2,7-dihalo sustituido 1 (G = H) con cloruro de trimetilsililetoximetil para obtener el 2,7-dihalo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de di(R) (1) (G = SEM).

**1 (G=SEM)**

5. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula 1 (R = Et, X = Br, G = SEM) como se ha definido en la segunda reivindicación que comprende:

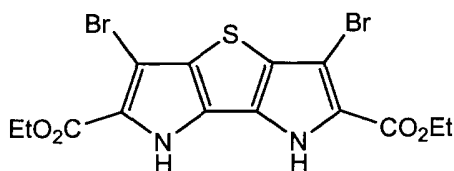
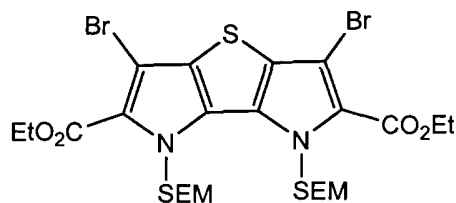
**1 (R=Et,X=Br,G=SEM)**

(a) Bromar el 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 3 (R = Et) para rendir el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = H).

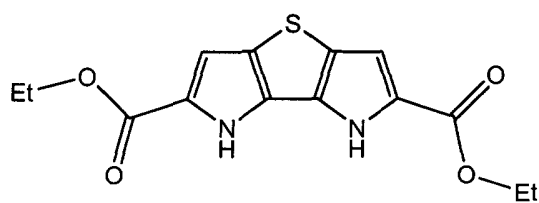
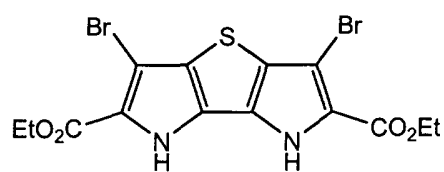
**3 (R=Et)****1 (R=Et,X=Br,G=H)**

(b) Proteger los nitrógenos del tienodipirrol 2,7-dibromo sustituido 1 (R = Et, X = Br, G = H) con cloruro de trimetilsililetoximetil para obtener el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = SEM).

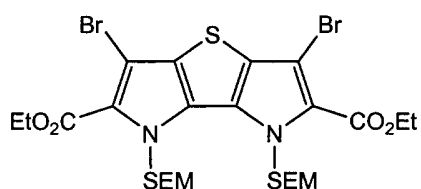
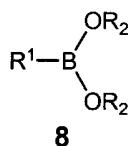
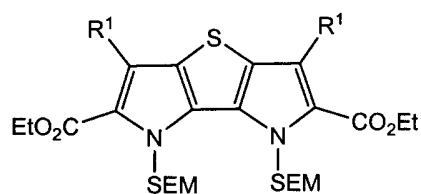
6. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula 1 (R = Et, X = Br, G = SEM) como se ha definido en la tercera reivindicación que consiste en proteger los nitrógenos del 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = H) con cloruro de trimetilsililetoximetil (SEM-Cl) para obtener el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = SEM).

**1 (R=Et,X=Br,G=H)****1 (R=Et,X=Br,G=SEM)**

7. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula 1 (R = Et, X = Br, G = H) como se ha definido en la segunda reivindicación que comprende: bromar el 4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 3 (R = Et) para rendir el 2,7-dibromo-4*H*,5*H*-tieno[3,2-*b*:4,5-*b'*]dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 1 (R = Et, X = Br, G = H).

**3** (R=Et)**1** (R=Et,X=Br,G=H)

8. Un procedimiento para la transformación de un compuesto de fórmula 1 (R = Et, X = Br, G = SEM) en un compuesto 9, donde R<sup>1</sup> puede ser un grupo alquenilo (vinilo o estirilo), o un grupo arilo el cual puede estar no sustituido o sustituido por uno o varios grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxilo C<sub>1-6</sub>, hidroxilo, amino, mono- o dialquilamino o hidroxycarbonilo, o un grupo heteroarilo el cual puede estar no sustituido o sustituido por uno o más grupos alquilo C<sub>1-6</sub>, que comprende: someter 1 (R = Et, X = Br, G = SEM) a la reacción de Suzuki en dioxano y en presencia de un catalizador de paladio, tal como el complejo tetrakis(trifenilfosfina) paladio (0), y de una base, tal como carbonato sódico o fluoruro de cesio, con un derivado borónico 8, donde R<sub>2</sub> puede ser hidrógeno (ácido borónico) o ambos R<sub>2</sub> formar parte de una misma cadena hidrocarbonada (éster borónico del propilenglicol o del pinacol) para rendir el 2,7-di(R<sup>1</sup>)-4H,5H-bis(trimetilsililetoximetil)tieno[3,2-b:4,5-b']dipirrol-3,6-dicarboxilato de dietilo 9.

**1** (R=Et,X=Br,G=SEM)**8****9**



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 275 416

② Nº de solicitud: 200501764

③ Fecha de presentación de la solicitud: 15.07.2005

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.:** Ver hoja adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | Documentos citados  | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|---|----------------------------|
| A         | NONELL, S. et al. "Synthesis of 2,7,12,17-Tetraphenylporphycene (TPPo). First Aryl-Substituted Porphycene for the Photodynamic Therapy of Tumors". Tetrahedron Letters, 1995, Volumen 36, Número 19, páginas 3405-3408. | 1-8                        |
| A         | ES 2197818 A1 (INSTITUT QUÍMIC DE SARRIÀ CETS) 01.01.2004, todo el documento.   | 1-8                        |
| A         | JP 1172387 A (SUMITOMO CHEMICAL COMPANY) 07.07.1989 (resumen; figura, compuestos I y II) [en línea] [recuperado el 03.04.2007]. Recuperado de EPO/WPI Database. Número de acceso AN: 1989-237744 [33]; DW:198933.       | 1-8                        |
| A         | US 6906050 B2 (ROBINSON, B.C.) 14.06.2005, esquema 2.   | 1-8                        |

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

09.04.2007

Examinador

G. Esteban García

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**C07D 495/14** (2006.01)

C07D 209/00 (2006.01)

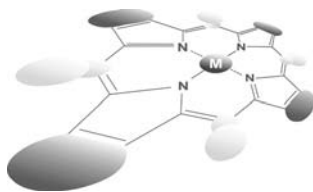
C07D 209/00 (2006.01)

C07D 333/00 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61N 5/067 (2006.01)



# Asymmetric porphycenes: synthesis and photophysical properties of 9-substituted 2,7,12,17-tetraphenylporphycenes

Ofir Arad, Noemí Rubio<sup>†</sup>, David Sánchez-García, José I. Borrell and Santi Nonell\*

Grup d'Enginyeria Molecular, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull, Via Augusta 390, 08017-Barcelona, Spain

Received 12 September 2008

Accepted 27 September 2008

**ABSTRACT:** The effects of 9-substitution on the photophysical properties of tetraphenylporphycenes (TPPo) have been examined using an electron acceptor, an electron donor, and an electroneutral substituent as model compounds. Introduction of the acetoxy group enhances the fluorescence ability of the compound, with only a small reduction in the singlet oxygen quantum yield. The optical and photophysical properties of a nitro-porphycene are reported for the first time. The compound is emerald green, contrasting with the typical blue color of porphycenes. While this compound is much less fluorescent than unsubstituted TPPo, its singlet oxygen quantum yield is only slightly lower, almost identical to that of the 9-acetoxy compound (9-AcOTPPo). Finally, the electron-donor amino group is found to induce the greatest changes in the porphycene photophysics, decreasing strongly its fluorescence and singlet oxygen quantum yields. With the exception of such electron donors, introduction of substituents at the 9 (*meso*) position of tetraphenylporphycenes is not detrimental to their photophysics and photosensitizing ability and thus can be exploited for targeted photodynamic therapy purposes.

**KEYWORDS:** photodynamic therapy, photosensitizers, porphycenes, porphyrinoids, singlet oxygen.

## INTRODUCTION

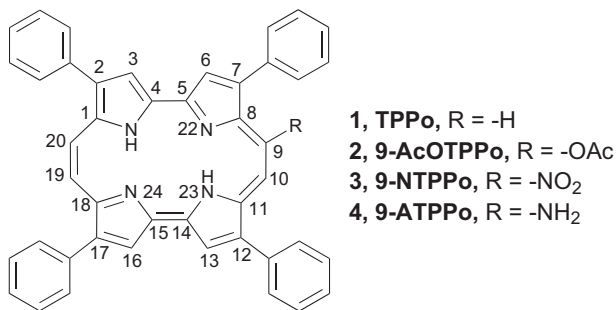
Among all porphyrin isomers synthesized to date, porphycene, first obtained by Vogel *et al.* in 1986 [1], is probably the most studied one [2]. This is mainly due to synthetic reasons, since the route to porphycene implies a convenient and also elegant double McMurry coupling between two 2,2'-bipyrole dialdehydes. The lower symmetry of porphycene compared with porphyrins is responsible for the enhanced absorption in the red region, particularly important for applications such as photodynamic therapy (PDT) of tumors since tissues are more transparent to red light. This feature, combined with the ability of porphycene to photosensitize the production of the cytotoxic species singlet oxygen, make these molecules attractive candidates as second-generation PDT photosensitizers [3].

Indeed, porphycenes have shown excellent photosensitizing activity and continue to be screened for PDT purposes [4]. However, although the photophysical properties of porphycenes are excellent [5], in order to use these molecules *in vivo*, it is still necessary to modulate their drugability, biological compatibility, tumor selectivity, and subcellular localization. This could be achieved by incorporating adequate substituents into the molecule. In this regard, our group has developed a combinatorial approach in order to generate libraries of 2,7,12,17 alk-enyl- or aryl-tetrasubstituted porphycenes [6]. Another possibility of derivatization, introduced by Vogel in a series of patents [7–11], is the insertion of functionalities at the *meso* positions. This strategy allows for introduction of the functionality in the last step of the synthesis. Also, the regioselectivity of the reaction enables the introduction of only one substituent, yielding asymmetric porphycenes.

Our group has focused on the 2,7,12,17-tetraphenylporphycene [12, 13] molecule (hereafter TPPo) due to its red-shifted absorption compared to the 2,7,12,17-tetraalkyl counterparts, and its excellent *in vitro* PDT

\*Correspondence to: Santi Nonell, email: [santi.nonell@iqs.url.edu](mailto:santi.nonell@iqs.url.edu), tel: +34 932-67-20-00, fax: +34 932-05-62-66

<sup>†</sup>Current address: Wellman Center for Photomedicine, Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, Thier-224, Boston, MA 02114, USA



**Chart 1.** Chemical structure of TPPo, 9-acetoxy-, 9-nitro-, and 9-amino-TPPo

photosensitizing properties. Specifically, TPPo is found in the lysosomes of a variety of tumor cells, one of the key sites for triggering apoptosis [14–16]. In this paper, the effects of 9-substitution on the absorption, photophysical, and photosensitizing properties of TPPo are examined. We have used an electron acceptor, an electron donor, and an electroneutral substituent as model substituents (Chart 1). Thus, 9-acetoxy (9-AcOTPPo), 9-nitro (9-NTPPo), and 9-amino-TPPo (9-ATPPo) have been synthesized and studied using a battery of photophysical techniques. The results of this work provide clues for the further development of tetraphenylporphyrines as photoactive agents.

## EXPERIMENTAL

### Chemicals

All solvents were purchased from SDS (Solvents Documentation Synthesis, Peypin, France). Dichloromethane (DCM) and spectroscopic grade toluene were used as received. Tetrahydrofuran (THF) was distilled over potassium metal and benzophenone. The starting materials for synthesis were used as received (Aldrich). *Meso*-5,10,15,20-tetraphenylporphine (TPP) was likewise obtained from Aldrich. Pristine C<sub>60</sub> was obtained from Texas Fullerenes Corporation. 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (TPPo) was synthesized as described previously [17].

**Preparation of 9-acetoxy-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (9-AcOTPPo, 2).** To a solution of 25 mg (0.041 mmol) of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**1**) in 6 mL of dry DCM and 3 mL of dry THF were added 120 mg (0.28 mmol) of lead tetraacetate. After heating to reflux for 10 min, the mixture was cooled down, quenched with 0.4 mL of glycol, and washed with water. The organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub> and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified using preparative TLC with a mixture of hexanes and DCM (1:1) as eluent. 7 mg (28%) of starting material was recovered in the first fraction. Compound **2** was obtained in the second fraction as a blue powder in 26% yield (5 mg) from reacted porphycene. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>TMS</sub>, ppm 9.91 (d, 1H,

<sup>3</sup>J = 12 Hz, C(19)-H), 9.85 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 12 Hz, C(20)-H), 9.72 (s, 1H, C(20)-H), 9.64–9.50 (4s, 4H, C(3,6,13,16)-H), 8.36–7.52 (m, 20H, 4Ph), 4.31 (s.d., 2H, 2NH), 1.80 (s, 3H, Me). IR (KBr): ν, cm<sup>-1</sup> 3400–3200, 3057, 3024, 2924, 1763, 1444, 1230, 764, 693. MS (70 eV): *m/z* (%) 673 (5) [M + 1]<sup>+</sup>, 630 (17), 615 (100), 537 (6), 307 (70). HRMS (FAB<sup>+</sup>) *m/z* calcd. for C<sub>46</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 673.2603, found 673.2598. UV-vis: λ<sub>max</sub>, nm (ε, M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) 656 (5.4 × 10<sup>4</sup>), 627 (5.6 × 10<sup>4</sup>), 589 (4.0 × 10<sup>4</sup>), 387 (1.21 × 10<sup>5</sup>), 376 (1.51 × 10<sup>5</sup>).

**Preparation of 9-nitro-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (9-NTPPo, 3).** To a solution of 61 mg (0.1 mmol) of 2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**1**) in 100 mL of acetic acid and 150 mL of DCM were added 470 mg (2.6 mmol) of silver nitrate. The resulting mixture was stirred at 60 °C for 25 min. Then 50 mL of water were added and the two-phase mixture was extracted with DCM. The combined organic phases were dried with MgSO<sub>4</sub> and the solvent was evaporated. The residue was purified using preparative TLC with a mixture of hexanes and DCM (1:1) as eluent. Compound **3** was obtained in 20% yield (13 mg) as a dark green powder. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>TMS</sub>, ppm 10.34 (s, 1H, C(10)-H), 9.82 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(19)-H), 9.74 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(20)-H), 9.57–9.46 (4s, 4H, C(3,6,13,16)-H), 8.32–7.61 (m, 20H, 4Ph), 3.45 (s.d., 2H, 2N-H). IR (KBr): ν, cm<sup>-1</sup> 3400–3200, 3055, 3025, 1530, 1330, 762, 697. MS (70 eV): *m/z* (%) 660 (41) [M + 1]<sup>+</sup>, 630 (28), 615 (100), 536 (17), 307 (70). HRMS (FAB<sup>+</sup>): *m/z* calcd. for C<sub>44</sub>H<sub>30</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> 660.2399, found 660.2397. UV-vis: λ<sub>max</sub>, nm (ε, M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) 657 (5.6 × 10<sup>4</sup>), 631 (6.9 × 10<sup>4</sup>), 589 (4.3 × 10<sup>4</sup>), 400 (1.33 × 10<sup>5</sup>).

**Preparation of 9-amino-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (9-ATPPo, 4).** 33 mg (0.05 mmol) of 9-nitro-2,7,12,17-tetraphenylporphycene (**1**) were dissolved in 25 mL of DCM and mixed with 10 mL of an aqueous 10% sodium hydroxide solution. Then 2 g (10 mmol) of Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> were added and the reaction mixture was heated under reflux for 1 hour. The resulting reaction crude was washed with water, the organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub>, and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified using preparative TLC with a mixture of hexanes and DCM (2:1) as eluent. The crude compound was recrystallized from a mixture of hexane and DCM, yielding compound **4** in 22% yield (7 mg) as a dark powder. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>TMS</sub>, ppm 9.58 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(19)-H), 9.31 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11 Hz, C(20)-H), 8.67 (s, 1H, C(10)-H), 9.26–9.14 (4s, 4H, C(3,6,13,16)-H), 8.26–7.21 (m, 20H, 4Ph), 6.01 (s.d., 2H, -NH<sub>2</sub>), 4.18–4.04 (s.d., 2H, NH). IR (KBr): ν, cm<sup>-1</sup> 3455, 3400–3200, 3055, 3025, 1560, 798, 779, 764, 702. MS (70 eV): *m/z* (%) 631 [M + 2]<sup>+</sup> (1), 615 (100), 539 (13), 307 (69). HRMS (FAB<sup>+</sup>): *m/z* calcd. for C<sub>44</sub>H<sub>32</sub>N<sub>5</sub> 630.2658, found 630.2652. UV-vis: λ<sub>max</sub>, nm (ε, M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) 763 (2.1 × 10<sup>4</sup>), 709 (4.9 × 10<sup>4</sup>), 663 (2.5 × 10<sup>4</sup>), 587 (3.4 × 10<sup>4</sup>), 412 (8.4 × 10<sup>4</sup>), 375 (9.3 × 10<sup>4</sup>).



## General techniques

IR spectra were recorded on a Nicolet Magna 560 FTIR spectrophotometer. NMR spectra were recorded on a Varian Gemini 300 spectrometer (300 and 75.5 MHz for  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , respectively) using TMS as internal standard. MS spectra were obtained on a VG AutoSpec (Micro-mass Instruments) trisector EBE or a Hewlett-Packard 5995 AGC/MS System spectrometer. All reactions were monitored by TLC (silica gel). The preparative TLC was eluted over a Merck PLC silica gel F<sub>254</sub> 2 mm.

## Photophysical techniques and methods

All photophysical measurements were carried out in spectroscopic grade toluene solutions. Absorption spectra were recorded on a Varian Cary 4E spectrophotometer and were used to calculate absorption coefficients from the slopes of the corresponding linear Beer-Lambert plots. Fluorescence excitation and emission spectra were recorded on a Jobin Yvon-Spex Fluoromax-2 spectrofluorometer. Fluorescence quantum yields were determined by comparison of the areas under the emission curves for optically matched solutions of the porphycenes and a standard, after correcting for the refractive index of the solvent; *meso*-5,10,15,20-tetraphenylporphine (TPP) was used as standard with  $\Phi_{\text{F}} = 0.11$  in DMSO [18]. The samples were excited at  $\lambda_{\text{exc}} = 532$  nm and the absorbance of the solutions was kept below 0.05 to prevent inner-filter effects. Fluorescence decays were recorded using a PicoQuant Fluotime 200 time-correlated single photon counting system equipped with a red-sensitive photomultiplier. A 654-nm picosecond diode laser working at 10 MHz repetition rate was used for excitation with counting frequency below 1%. The system was customized to detect near-IR phosphorescence using a CryLas FTSS355-Q diode-pumped Nd:YAG laser for excitation, working at 10 kHz repetition rate and delivering 1 ns, 1.2  $\mu\text{J}$  laser pulses. A Hamamatsu H9170-45 near-IR sensitive photomultiplier was used for detection in photon counting mode, its output being acquired with a PicoQuant's NanoHarp 200 multichannel scaling board. The details of this system have been described elsewhere [19]. The signals were analyzed using the FluoFit software from PicoQuant to fit Equation 1 to the data [20]:

$$S_t = S_0 \cdot \frac{\tau_{\Delta}}{\tau_{\text{T}} - \tau_{\Delta}} \cdot \left[ \exp(-t/\tau_{\text{T}}) - \exp(-t/\tau_{\Delta}) \right], \quad (1)$$

where the amplitude of the signal,  $S_0$ , is a quantity proportional to the amount of  $^1\text{O}_2$  formed upon pulse excitation,  $\tau_{\text{T}}$  is the actual lifetime of the photosensitizer's triplet-state, and  $\tau_{\Delta}$  is the  $^1\text{O}_2$  lifetime. The quantum yield of singlet oxygen production,  $\Phi_{\Delta}$ , was determined in toluene comparing the  $S_0$  values of the porphycenes to that of TPP and C<sub>60</sub> as standards with  $\Phi_{\Delta} = 0.65$  and  $\Phi_{\Delta} = 0.95$ , respectively [21, 22].

Triplet-triplet absorption was studied with a nanosecond flash photolysis system made up of a Continuum

Surelite I-10 Q-switched Nd:YAG laser coupled to an SL OPO laser for excitation ( $\lambda_{\text{exc}} = 570$  nm, 5 ns pulse-width; *ca.* 5 mJ per pulse). Absorbance changes were monitored at 90 degrees by an analyzing beam produced by a 75W Xe lamp in combination with a monochromator and a Hamamatsu R928 red-sensitive photomultiplier. All spectroscopic measurements were carried out in 1-cm quartz cuvettes (Hellma, Germany) and at room temperature.

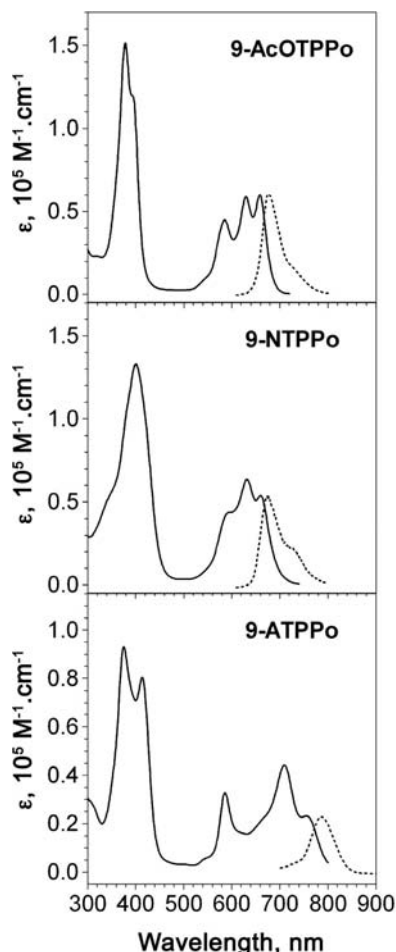
## RESULTS AND DISCUSSION

### Synthesis

The 9-substituted-2,7,12,17-tetraphenylporphycenes were synthesized using the methodology described by Vogel and co-workers in a series of patents [7–11]. 9-AcOTPPo **2** was synthesized using lead tetraacetate in DCM and dry THF at reflux for 10 minutes, yielding 26% from reacted porphycene. The synthesis of 9-NTPPo was addressed using the two different methodologies developed by Vogel and co-workers for the nitration of porphycenes in the *meso* position. Treatment of TPPo with fuming nitric acid in DCM and acetic acid yielded a complex mixture of green-colored compounds, probably polynitrated porphycenes. An alternative methodology, based on the use of silver nitrate in acetic acid and DCM, furnished the desired 9-NTPPo **3** in 20% yield. Reduction of the nitro group to amine was then achieved by treating the 9-NTPPo with a solution of sodium dithionite in basic conditions [23]. This methodology yielded 9-ATPPo with 22% yield. Optimal results were obtained when preparative TLC was used instead of column chromatography.

### Absorption spectra

The spectrum of 9-substituted TPPos depends to a large extent on the nature of the specific substituent (Fig. 1). Thus, relative to TPPo [24], an acetoxy- group introduces only a marginal hypsochromic effect of 2–3 nm in all bands along with an increase in the absorption coefficients, particularly in the Soret region (Table 1). In contrast, nitro and amino substituents induce more significant perturbations. In the case of the nitro group, a clear broadening of all bands is apparent, the main consequence being that 9-NTPPo is emerald green while TPPo and 9-AcOTPPo are blue. Responsible for this effect is the stronger absorption of blue light by 9-NTPPo as a result of the Soret band broadening. Also, a change in the relative intensities of the Q bands is observed, indicating that the  $S_2 \leftarrow S_1$  transition is now favored over the  $S_1 \leftarrow S_0$  one. The amino substituent induces the largest perturbation and the lowest-energy band in 9-ATPPo shifts to the red by more than 110 nm and, as in the case of 9-NTPPo, is less intense than the nearest higher-energy band. Likewise, the two bands forming the Soret system



**Fig. 1.** Absorption (—) and fluorescence (---) spectra 9-acetoxy-, 9-nitro-, and 9-amino-TPPo

**Table 1.** Summary of photophysical data for 9-acetoxy-, 9-nitro-, and 9-amino-TPPo in toluene. Average values of at least three independent determinations are quoted. Uncertainties, calculated as the standard deviation of the results, are  $\pm 1$  nm for wavelengths,  $\pm 5\%$  for absorption coefficients and lifetimes, and  $\pm 15\%$  for quantum yields and rate constants. Values for TPPo are given for reference

| Compound                                | TPPo <sup>a</sup> | 9-AcOTPPo         | 9-NTPPo           | 9-ATPPo           |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| $\lambda_{\max}$ , nm                   | 659               | 656               | 657               | 763               |
| $\epsilon$ , $M^{-1}\cdot cm^{-1}$      | $5.0 \times 10^4$ | $5.4 \times 10^4$ | $5.6 \times 10^4$ | $2.1 \times 10^4$ |
| $\lambda_F$ , nm                        | 667               | 674               | 671               | 784               |
| $\Phi_F$                                | 0.15              | 0.22              | 0.033             | 0.004             |
| $\tau_s$ (air), ns                      | 4.8               | 4.3               | 3.9               | 0.81 <sup>b</sup> |
| $\tau_T$ (Ar), $\mu s$                  | 51                | 57                | 25                | 36                |
| $k_q^{O_2}$ , $10^9 M^{-1}\cdot s^{-1}$ | 2.9               | 2.5               | 2.0               | 4.0               |
| $\Phi_\Delta$                           | 0.23              | 0.19              | 0.16              | 0.09              |
| $k_q^S$ , $10^7 M^{-1}\cdot s^{-1}$     | 4.4               | 8.1               | 11                | 61                |

<sup>a</sup> [24]. <sup>b</sup> Amplitude-weighted average of the two lifetimes observed (0.65 ns (75%) and 1.15 ns (25%)).

appear better resolved than in any other TPPo with substantially lower absorption coefficients. These spectral changes endow 9-ATPPo with a distinct purple color. These observations are in line with those observed in

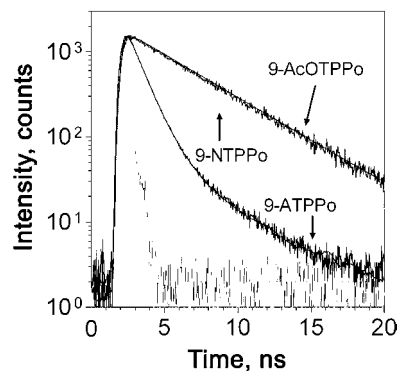
the tetra-alkyl series for amino and, to a lesser extent, hydroxy and methoxy substituents, although the spectral shift was not as large [5].

### Photophysical and photosensitizing properties

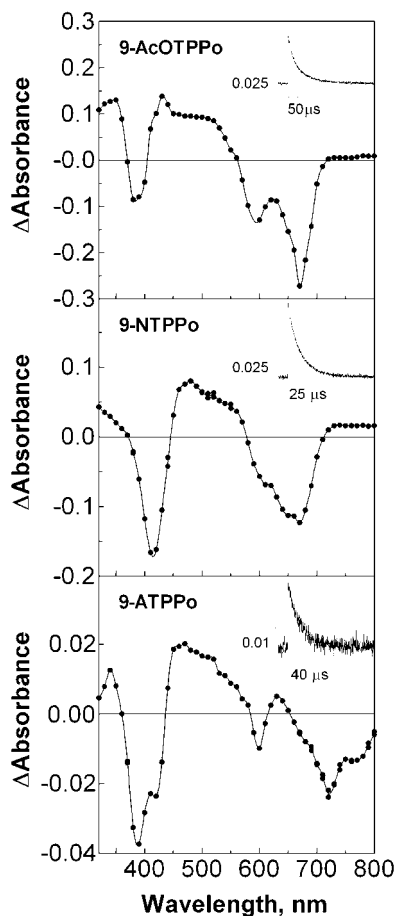
The electronic perturbations revealed by the absorption spectra are also apparent in the fluorescence behavior of the three compounds (Fig. 1). The fluorescence quantum yields ( $\Phi_F$ ) and lifetimes ( $\tau_s$ ) are collected in Table 1. Thus, 9-AcOTPPo is fluorescent with a quantum yield slightly higher than that of the parent TPPo [24], while in 9-NTPPo and particularly 9-ATPPo, the fluorescence is largely quenched. Interestingly, an acetoxy group decreases the fluorescence quantum yield in its tetraalkyl counterpart [5], which suggests a particular electronic effect of the phenyl groups in the current compounds. The fluorescence decay of 9-AcOTPPo and 9-NTPPo follows first-order kinetics with a lifetime comparable to that of TPPo. In contrast, the decay of 9-ATPPo is biexponential and the average lifetime, 0.81 ns, is substantially shorter (Fig. 2). Unfortunately there are no lifetime data on the tetraalkyl counterparts available for comparison, nor is there any obvious explanation for this behavior, which is currently being investigated.

Despite the substantial changes in the fluorescence behavior, the three compounds are able to undergo intersystem crossing to the triplet state as demonstrated by the clear transient absorption signals observed in argon-saturated samples (Fig. 3). They were assigned to triplet-triplet absorption since oxygen could quench them all. The triplet state decays with first-order kinetics at the laser energies used and the triplet lifetimes decrease in the order TPPo  $\approx$  9-AcOTPPo > 9-ATPPo > 9-NTPPo (Table 1). It is noteworthy that the effect of the amino group on the singlet-state decay kinetics does not show in the triplet state.

With such long lifetimes, there is plenty of time for bimolecular reactions to take place. In particular, when we examined the three porphycenes for their ability to

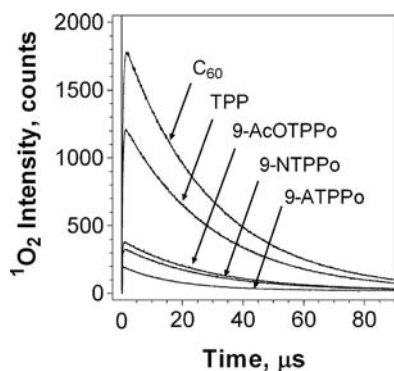


**Fig. 2.** Fluorescence decay of 9-acetoxy-, 9-nitro-, and 9-amino-TPPo in air-saturated toluene. The samples were excited at 654 nm and the fluorescence was observed at the emission maximum of each compound. The instrument response function and the fitted lines are also shown for reference



**Fig. 3.** Triplet-minus-singlet transient absorption spectra of 9-acetoxy-, 9-nitro-, and 9-amino-TPPo in argon-saturated toluene. The insets show the transients at the maximum-amplitude wavelength

sensitize the production of singlet oxygen, we found respectable time-resolved  $O_2(a^1\Delta_g)$  phosphorescence signals in all cases (Fig. 4). It is worth noting that such measurements could not be carried out on the tetraalkyl counterpart of 9A-TPPo because this compound was too labile [5]. Again, this suggests a protective role of the phenyl substituents. Analysis of the time-resolved singlet



**Fig. 4.** Singlet oxygen phosphorescence signals for 9-acetoxy-, 9-nitro-, 9-amino-TPPo, and the standards  $C_{60}$  and TPP in air-saturated toluene. Samples were excited at 532 nm and the emission was observed at 1270 nm

oxygen phosphorescence data according to Equation 1 afforded the values of the triplet lifetime,  $\tau_T$ , the singlet oxygen lifetime,  $\tau_\Delta$ , and the amplitude of the signal,  $S_0$ , which is a measure of the singlet oxygen quantum yield,  $\Phi_\Delta$ .

The triplet lifetimes were used to calculate the rate constants for oxygen quenching as  $k_q^{O_2} = (1/\tau_T^{air} - 1/\tau_T^{Ar})/[O_2]$ , assuming an oxygen concentration of 2.1 mM in air-saturated toluene. The values obtained are collected in Table 1 and are in line with those of typical porphyrinoids, including porphycenes [5, 24].

It is worth noting that 9-ATPPo shows the largest quenching rate constant, well above those obtained for all other porphycenes, which suggests once again particular electronic effects for this electron donor. The values of  $S_0$  were likewise used to derive the singlet oxygen quantum yields by comparison with  $C_{60}$  and TPP as standards. 9-AcOTPPo and 9-NTPPo show the largest  $\Phi_\Delta$  values, only slightly below that of the parent TPPo [24]. From this point of view, both porphycenes could well find use as PDT type-II photosensitizers. This confirms the validity of the 9-substitution strategy as a means to conveniently introduce substituents that modulate the biological solubility of the tetraphenylporphycenes without significantly affecting their photophysical properties. In contrast, the ability of 9-ATPPo to sensitize the production of singlet oxygen is strongly reduced. Finally, the singlet oxygen decay lifetimes were used to assess the sensitizer's ability to quench singlet oxygen, either physically or as a result of a chemical reaction. The rate constants for singlet oxygen quenching by the porphycenes ( $k_q^s$ ) are collected in Table 1. All 9-substituted TPPos are better singlet oxygen quenchers than the parent unsubstituted compound, 9-ATPPo showing a rate constant 15-fold larger than that of TPPo.

## CONCLUSION

The effects of 9-substitution on the photophysical properties of tetraphenylporphycene have been examined using an electron acceptor, an electron donor, and an electroneutral substituent as model compounds. Introduction of the acetoxy group enhances the fluorescence ability of the compound, with no detectable changes in the non-radiative processes and only a small reduction in the singlet oxygen quantum yield. This may be relevant for photodynamic therapy purposes, where fluorescence is used to map the tumor area and to assess the sensitizer's localization. The optical and photophysical properties of a nitro-porphycene are reported for the first time. 9-NTPPo is green, contrasting with the typical blue color of porphycenes. While it is much less fluorescent than TPPo, its singlet oxygen quantum yield is only slightly lower, almost identical to that of 9-AcOTPPo. Finally, the amino group is found to induce the greatest changes in the porphycene photophysics: large red shifts in the absorption spectrum, a very weak and biexponential

fluorescence, a large rate constant for oxygen quenching of the triplet state, low singlet oxygen production efficiency, and the largest rate constant for quenching singlet oxygen among all tested compounds. With the exception of such electron donors, introduction of substituents at the 9 (*meso*) position of tetraphenylporphycenes is not detrimental to their photophysics and photosensitizing ability and thus can be exploited for targeted photodynamic therapy purposes.

### Acknowledgements

This work was supported by a grant of the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (CTQ2007-67763-C03-01/BQU).

### REFERENCES

- Vogel E, Köcher M, Schmickler H and Lex J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1986; **25**: 257–259.
- Sánchez-García D and Sessler JL. *Chem. Soc. Rev.* 2008; **37**: 215–232.
- Richert C, Wessels JM, Müller M, Kisters M, Benninghaus T and Goetz AE. *J. Med. Chem.* 1994; **37**: 2797–2807.
- Stockert JC, Cañete M, Juarranz A, Villanueva A, Horobin RW, Borrell JI, Teixidó J and Nonell S. *Curr. Med. Chem.* 2007; **14**: 997–1026.
- Braslavsky SE, Müller M, Martire DO, Pörting S, Bertolotti SG, Chakravorti S, Koç-Weier G, Knipp B and Schaffner K. *J. Photochem. Photobiol., B.* 1997; **40**: 191–198.
- Arad O, Morros J, Batllori X, Teixidó J, Nonell S and Borrell JI. *Org. Lett.* 2006; **8**: 847.
- Vogel E, Koch PA, Rahbar A and Cross AD. *Preparation of porphycenes useful in photodynamic therapy or as intermediates for synthesis of photoactivatable dyes suitable for photodynamic therapy.* Cytopharm, Inc. USA. 92-US364(9212636), 39. 6-8-1992. WO. 1-29-1992.
- Vogel E, Benninghaus T, Richert C, Müller M and Cross AD. *Preparation of porphycene compounds for photodynamic therapy.* Cytopharm, Inc. USA. 92-US4624(9300087), 76. 7-1-1993. WO. 6-5-1992.
- Vogel E, Müller M, Halpern O and Cross AD. *Preparation of 9-substituted porphycenes as photosensitizers.* Cytopharm, Inc. USA. 96-US4177(9631452), 30. 10-10-1996. WO. 4-4-1996.
- Vogel E, Müller M, Halpern O and Cross AD. *Preparation of porphycene esters and amides for use in photodynamic therapy.* Cytopharm, Inc. USA. 96-US4176(9631451), 36. 10-10-1996. WO. 4-4-1996.
- Vogel E, Müller M, Halpern O and Cross AD. *Synthesis of C-9 ethers of porphycenes for use in the photodynamic therapy (PDT) treatment of cancer, dermatological conditions and diseases associated with hyperproliferative tissue generally.* 97-US17918(9815271), 62. 4-16-1998. WO. 10-9-1997.
- Hennig W. *Neuartige Pyrrolische Porphyrinoide und Ihre Metallkomplexe.* Doctoral Thesis, Universität zu Köln: Köln, 1992.
- Nonell S, Bou N, Borrell JI, Teixidó J, Villanueva A, Juarranz A and Cañete M. *Tetrahedron Lett.* 1995; **36**: 3405–3408.
- Cañete M, Lapeña M, Juarranz A, Vendrell V, Borrell JI, Teixidó J, Nonell S and Villanueva A. *Anticancer Drug Des.* 1997; **12**: 543–554.
- Cañete M, Ortiz A, Juarranz A, Villanueva A, Nonell S, Borrell JI, Teixidó J and Stockert JC. *Anticancer Drug Des.* 2000; **15**: 143–150.
- Villanueva A, Cañete M, Nonell S, Borrell JI, Teixidó J and Juarranz A. *Anticancer Drug Des.* 1996; **11**: 89–99.
- Gavaldá A, Borrell JI, Teixidó J, Nonell S, Arad O, Grau R, Cañete M, Juarranz A, Villanueva A and Stockert JC. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2001, **5**: 846.
- Darwent JR, Douglas P, Harriman A, Porter G and Richoux MC. *Coord. Chem. Rev.* 1982; **44**: 83–126.
- Jiménez-Banzo A, Ragàs X, Kapusta P and Nonell S. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2008; **7**: 1003–1010.
- Nonell S and Braslavsky SE. *Methods Enzymol.* 2000; **319**: 37–49.
- Wilkinson F, Helman WP and Ross AB. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 1993; **22**: 113–262.
- Arbogast JW, Darmany AP, Foote CS, Diederich FN, Whetten RL, Rubin Y, Alvarez MM and Anz SJ. *J. Phys. Chem.* 1991; **95**: 11–12.
- Porter HK. *Org. React.* 1973; **20**: 455.
- Rubio N, Prat F, Bou N, Borrell JI, Teixidó J, Villanueva A, Juarranz A, Cañete M, Stockert JC and Nonell S. *New J. Chem.* 2005; **29**: 378–384.

Copyright of the works in this Journal is vested with World Scientific Publishing. The article is allowed for individual use only and may not be copied, further disseminated, or hosted on any other third party website or repository without the copyright holder's written permission.



---

### **Nota**

La parte experimental de la presente tesis doctoral se finalizó el 3 de febrero de 2009, la bibliografía está actualizada hasta esta fecha.

---