



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

## TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

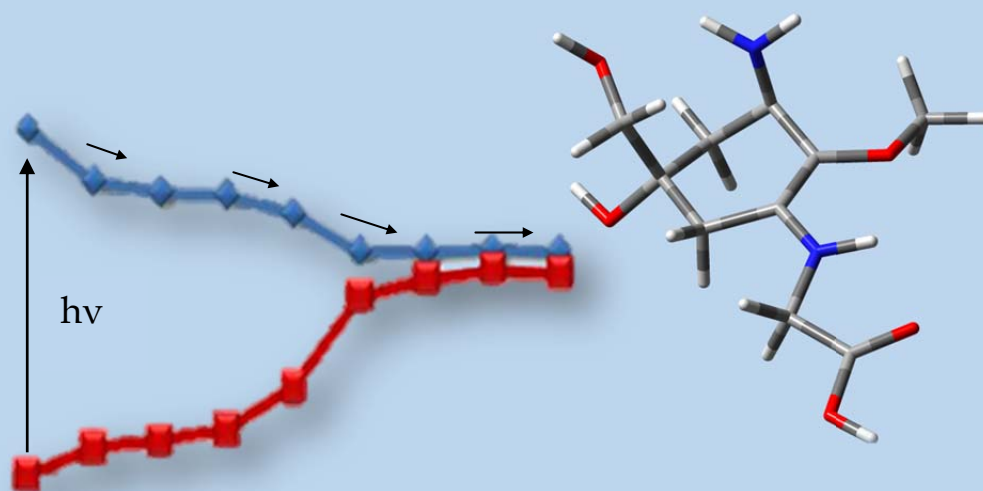
Título
<b>Síntesis y estudio fotoquímico de análogos de aminoácidos tipo micosporina</b>
Autor/es
<b>Raúl Losantos Cabello</b>
Director/es
Diego Sampedro Ruiz
Facultad
Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática
Titulación
Máster en Química Avanzada
Departamento
Curso Académico
2013-2014



**Síntesis y estudio fotoquímico de análogos de aminoácidos tipo micosporina,**  
trabajo fin de estudios  
de Raúl Losantos Cabello, dirigido por Diego Sampedro Ruiz (publicado por la Universidad  
de La Rioja), se difunde bajo una Licencia  
Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.  
Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los  
titulares del copyright.

© El autor  
© Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2014  
publicaciones.unirioja.es  
E-mail: publicaciones@unirioja.es

SÍNTESIS Y ESTUDIO FOTOQUÍMICO  
DE ANÁLOGOS DE AMINOÁCIDOS  
TIPO MICOSPORINA



Raúl Losantos Cabello  
Máster en Química Avanzada  
Julio 2014



**Diego Sampedro Ruiz**, Profesor Titular de Química Orgánica de la Universidad de La Rioja

**Certifica:**

Que la presente memoria titulada **“Síntesis y estudio fotoquímico de análogos de aminoácidos tipo micosporina”** ha sido realizada por el licenciado RAÚL LOSANTOS CABELLO en el departamento de Química de la Universidad de La Rioja bajo su inmediata dirección y reúne las condiciones exigidas para conseguir los 30 créditos ECTS correspondientes al periodo de investigación del Trabajo fin de Máster.

Logroño, Julio 2014

Fdo.: Diego Sampedro Ruiz



Ya son tres los años que llevo formando parte de este grupo de investigación, durante este tiempo he aprendido muchísimo y por ello me gustaría dar las gracias a las personas que lo han hecho posible.

En primer lugar a mi director **Diego** por todo lo que me ha enseñado, su paciencia, humor y disposición para ayudarme en cualquier cosa que he necesitado durante estos años.

Al resto de integrantes de mi grupo **Pedro, Miguel Ángel, David, Juanjo, Elena y Cris**, que gracias a ellos el rato en la universidad se hace más llevadero; y a los que ya no están pero también hemos compartido muchos ratos juntos **Funes, Héctor, y Alegría**.

A la gente de los demás grupos de investigación que siempre están dispuestos a ayudarte. Y a **Fer, Ernesto y Nines**, que con su trabajo facilitan mucho el nuestro y nos aportan buenas ideas para seguir.

A mi familia y amigos, tanto los de aquí como los de Alco, por estar siempre ahí.

Asimismo me gustaría agradecer a las siguientes instituciones la ayuda económica aportada para la realización de este proyecto de investigación.

- Ministerio de Ciencia e Innovación, MICINN/FEDER por los fondos aportados al proyecto CTQ 2011-24800.

Nunca dejes de sonreír...



## Índice

Abreviaturas.....	7
1. Introducción .....	9
2. Antecedentes .....	15
3. Objetivos .....	31
4. Síntesis de análogos de los MAAs.....	35
4.1 Síntesis de derivados oxigenados en posición 2. ....	37
4.2 Síntesis de derivados con fragmentos carbonados en posición 2. .	40
4.3 Síntesis de otros derivados con heteroátomos en posición 2. ....	41
4.3.1 Fotosustitución intermolecular de yodoenaminonas .....	42
5. Estudio fotoquímico de análogos de los MAAs.....	47
5.1 Espectros UV-Vis .....	49
5.2 Estudio comparativo frente a compuestos comerciales. ....	50
5.3 Estudio de las propiedades luminiscentes.....	52
5.4 Estudio de la solubilidad en diferentes disolventes. ....	53
6. Conclusiones .....	55
7. Parte experimental.....	59
7.1 Consideraciones generales. ....	61
7.2 Caracterización y síntesis de intermedios de MAAs.....	63
7.3 Aspectos fotoquímicos.....	68
Anexo I: Espectros RMN .....	69





<b>A</b>	Absorbancia
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>Bz</b>	Benzoilo
<b><sup>13</sup>C RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C
<b>CASSCF</b>	Complete active space-self-consistent field
<b>CASPT2</b>	Complete active space-perturbation theory of second order
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>CI</b>	Intersección cónica
<b>d</b>	doblete (en RMN)
<b>EM</b>	Espectrometría de Masas
<b>ES+</b>	Electrospray con detección de ión positivo
<b>g/mol</b>	gramos/mol
<b><sup>1</sup>H RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H
<b>hν</b>	luz, fotones, irradiación
<b>J</b>	constante de acoplamiento (en RMN)
<b>Kcal/mol</b>	kilocalorías / mol
<b>M</b>	molaridad
<b>mM</b>	milimolar
<b>m</b>	multiplete (en RMN)
<b>MAAs</b>	Mycosporine like Amino Acid o Aminoácido de tipo micosporina
<b>ml</b>	mililitros
<b>mmol</b>	milimoles
<b>OMe</b>	grupo metoxi
<b>PCM</b>	Polarizable continuum model
<b>Ph</b>	Fenilo
<b>q</b>	cuatriplete (en RMN)
<b>s</b>	singlete (en RMN)
<b>S<sub>0</sub></b>	estado fundamental
<b>S<sub>n</sub></b>	estado excitado singlete
<b>t</b>	triplete (en RMN)

<b>T<sub>n</sub></b>	estado excitado triplete
<b>THF</b>	Tetrahidrofurano
<b>u. A.</b>	unidades de absorbancia
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta- visible
<b>δ</b>	desplazamiento químico
<b>ε</b>	coeficiente de absorción molar
<b>λ</b>	longitud de onda

# 1. Introducción

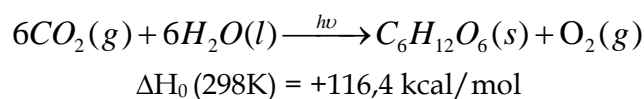


La fotoquímica es conocida como la rama de la química que estudia las reacciones inducidas por la luz.

Desde la antigüedad se conoce la importancia de la luz en el desarrollo de la vida en la tierra y su aprovechamiento por el ser humano para llevar a cabo numerosos procesos, como por ejemplo el secado y curtido de pieles o tejidos.

Además, la luz solar como fuente energética, desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la naturaleza ya que interviene en gran cantidad de procesos biológicos, como la transformación de la provitamina D en vitamina D o en algunos casos perjudiciales como la mutación del ADN por exposición a luz ultravioleta.<sup>1</sup>

Pero posiblemente el proceso foto-biológico más importante sea la fotosíntesis,<sup>2</sup> ésta es una de las transformaciones más simples conceptualmente y con un papel fundamental en el desarrollo de la vida. Es la reacción con la que las plantas, algas y algunas bacterias obtienen sus nutrientes a partir de algo tan simple como CO<sub>2</sub> y agua.



**Figura 1.1:** Esquema de la reacción fotoquímica de la fotosíntesis

Hasta hace unas décadas no se conocía la importancia de la absorción de luz por la materia y los cambios tanto físicos como químicos que se derivan de ésta. En la actualidad se estudia la relación

---

<sup>1</sup> Y. Wang, A. Casadevall, *Appl. Environ. Microbiol.* **1994**, 3864-3866.

<sup>2</sup> K. K. R. Hall, *Photosynthesis (Studies in Biology)*, Vol. 6, Cambridge University Press, Cambridge, **1999**.

estructura-absorción, la interacción radiación-materia y las posibles transformaciones que puedan suceder, bien en la luz (emisión de fluorescencia) o en la materia (reacción fotoquímica). Durante el siglo XIX se estudiaron un gran número de transformaciones fotoquímicas, las que intervienen en múltiples tipos de procesos industriales.

Hasta principios del siglo XIX no se empieza a relacionar la estructura de los compuestos orgánicos con el color que emiten. En este momento la industria de los colorantes tiene un gran auge, convirtiéndose en el sector más importante de la industria química del momento.

A mediados de siglo se demostró experimentalmente la existencia del estado triplete de las moléculas, lo cual supuso el comienzo de cómo entendemos la reactividad en estado excitado en la actualidad.

El inicio de la fotoquímica se atribuye a Trommsdorf, quien en 1834 observó el cambio de color de la santonina en presencia de luz.<sup>3</sup> Posteriormente se vio que esto se debía a una fotoisomerización.

A partir de la década de los 70, la fotoquímica se consolida como una disciplina en sí misma, y se expande a otros campos de la ciencia, como la bioquímica y la química inorgánica. Este gran desarrollo repentino viene propiciado por el gran desarrollo instrumental que se produce en la época, construyéndose los primeros láseres y equipamiento electrónico que propiciaron el estudio de intermedios de reacción, pudiendo estudiarlos por medio de la fotólisis de destello laser.

---

<sup>3</sup> H. Trommsdorf, *Ann. Chem. Pharm.* **1834**.

Por otro lado se sabe que la luz representa un estímulo para la mayoría de los organismos dando lugar a diversos procesos biológicos, como la visión de los seres vivos<sup>4</sup> o la fotosíntesis, descrita previamente. Esta respuesta de los seres vivos se basa en la presencia de compuestos con estructuras características que son las que regulan la actividad biológica en los seres vivos. En el caso de la visión la proteína responsable presenta una parte de su estructura que es la que interacciona con la luz y absorbe. A esta parte de la estructura se le denomina cromóforo. Debido a sus propiedades electrónicas los cromóforos absorben luz de una determinada energía en función de su estructura. Por otro lado, la distribución de energía de la radiación (espectro electromagnético) se conoce desde finales del siglo XIX. Esta absorción es la que marca el control fotoquímico de los procesos biológicos.

El proceso de absorción provoca el paso de la molécula del estado fundamental ( $S_0$ ) a un estado electrónico excitado desde el que se produce la reacción fotoquímica, que puede dar lugar a varios tipos de procesos, como la ruptura y formación de enlaces, isomerización de dobles enlaces y disipación no radiante de la energía, entre otras formas de desactivación del estado excitado.

Para evitar los efectos adversos de la luz más energética los organismos han introducido en sus células epiteliales compuestos que presentan una fuerte absorción de la misma y evitan que afecte al organismo. Hay numerosos pigmentos que realizan de manera más o menos eficiente este proceso, como las melaninas.<sup>5</sup> Un caso especial de compuestos son las micosporinas,<sup>6</sup> estos compuestos también llamados

---

<sup>4</sup> V. Bruce, P. R. Green, M. A. Georgeson, *Visual Perception: Physiology, Psychology and Ecology*, 4th ed., Psychology Press, Hove, **2003**.

<sup>5</sup> M. J. Butler, A. W. Day, *Can. J. Microbiol.* **1998**, *44*, 1115-1136.

<sup>6</sup> H. Nakamura, J. Kobayashi, Y. Hirata, *J. Chromatogr.* **1982**, *250*, 113.



aminoácidos de tipo micosporina o MAAs, presentan unas propiedades físicas y químicas que los convierten en buenos fotoprotectores.

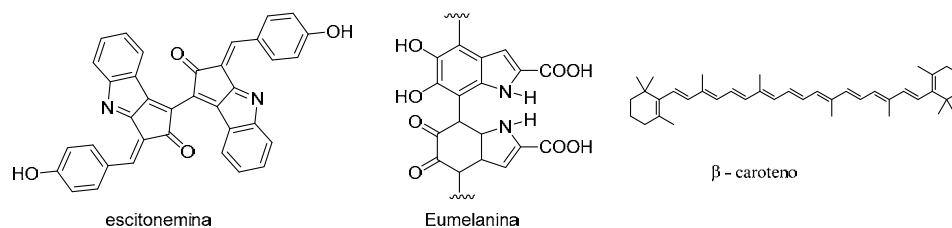
Este trabajo se centra en la síntesis y estudio fotoquímico de compuestos derivados de los MAAs que presenten actividad fotoprotectora, y que podrían convertirse en una alternativa a nivel industrial de los compuestos actualmente usados.

## **2. Antecedentes**



Por todos es sabido que una parte de la radiación que recibimos del sol es dañina para los organismos vivos. Por ello la Tierra posee mecanismos para eliminarla, uno de ellos es la capa de ozono, que elimina una parte de la radiación UV nociva para la vida. Pero aun así una parte de esta llega a los organismos, que a lo largo de miles de años han ido perfeccionando sus sistemas de fotoprotección.

Se conocen varios tipos de metabolitos cuya función es proteger a los organismos vivos de la luz dañina (Figura 2.1). La escitonemina es un pigmento muy estable que se encuentra en las cianobacterias, la cual protege de manera efectiva a las células de los rayos UV y la radiación azul.<sup>7</sup> Las melaninas son un grupo de compuestos que presentan un color rojo-marrón, insolubilidad en agua y una amplia absorción UV.<sup>5</sup> Este tipo de compuestos confiere fotoprotección a diferentes organismos vivos, desde los hongos a los animales superiores. Los carotenoides protegen indirectamente a las células por desactivación de especies excitadas y atrapando los radicales libres en lugar de por la absorción directa de la luz UV.<sup>8</sup>



**Figura 2.1:** Estructuras de otros compuestos con actividad fotoprotectora.

<sup>7</sup> F. Garcia-Pichel, R. W. Castenholz, *J. Phycol.* **1991**, *27*, 395-409.

<sup>8</sup> G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander, *Carotenoids Handbook*, Birkhäuser Verlag, Basel, **2004**.

Un caso singular de compuestos fotoprotectores son las micosporinas, estos compuestos también son llamados aminoácidos de tipo micosporina o MAAs. Estos metabolitos secundarios presentan unas propiedades físico-químicas que unidas a sus propiedades fotoquímicas justifican su alta eficiencia como fotoprotectores.

Los MAAs están presentes en gran número de organismos en diferentes partes de nuestro planeta. Este tipo de metabolito de absorción UV<sup>6</sup> aparece muy extendido entre las clases de hongos *Zygomycetes*,<sup>9</sup> *Deuteromycetes*,<sup>10</sup> *Basidiomycetes*,<sup>9</sup> *Bacilliarophyta*<sup>11</sup> y *Aphylllophorales*,<sup>11</sup> pero está ausente en *Agricales*,<sup>12</sup> y en los protozoos investigados.<sup>11</sup> Además, estos metabolitos se encuentran en la superficie de las manzanas expuestas a la radiación solar<sup>13</sup> y, recientemente, han sido también encontrados y aislados en una amplia variedad de especies marinas,<sup>14</sup> que van desde las algas,<sup>6</sup> bacterias,<sup>15</sup> como las algas simbiotas dinoflagelados asociada a los corales escleractínidos,<sup>16</sup> vertebrados,<sup>11</sup> los embriones de camarón,<sup>17</sup> los tejidos del cristalino de los peces<sup>18</sup> y en la mucosa externa que cubre muestras de *Fungiidae*.<sup>19</sup> Sin embargo, no se han detectado en los miembros del género *Ctenophora* y en ciertas holoturias.<sup>11</sup>

---

<sup>9</sup> N. Arpin, M. L. Bouillant, in *The Fungal Spore: Morphogenetic Controls* (Eds.: G. Turian, H. R. Hohl), Academic Press, London, **1981**, pp. 435-454.

<sup>10</sup> N. Arpin, J. Favre-Bonvin, S. Thivend, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *10*, 819.

<sup>11</sup> D. Karentz, F. S. McEuen, M. C. Land, W. C. Dunlap, *Mar. Biol.* **1991**, *108*, 157.

<sup>12</sup> G. Weste, *Aust. J. Bot.* **1970**, *18*, 11.

<sup>13</sup> P. J. Brook, *N. Z. J. Bot* **1981**, *19*, 299.

<sup>14</sup> M. L. Dionisio-Sese, M. Ishikura, T. Maruyama, S. Miyachi, *Mar. Biol.* **1997**, *128*, 455.

<sup>15</sup> T. Arai, M. Nishijima, K. Adachi, H. Sano, *MBI Report*, Marine Biotech. Institute, Tokio, **1992**.

<sup>16</sup> W. D. Dunlap, B. E. Chalker, *Coral Reefs* **1986**, *5*, 155.

<sup>17</sup> P. T. Grant, C. Middleton, P. A. Plack, R.H.Thompson., *Comp. Biochem. Physiol.* **1985**, *80B*, 755-759.

<sup>18</sup> W. C. Dunlap, D. M. Williams, B. E. Chalker, A. T. Banaszak, *Comp. Biochem. Physiol.* **1989**, *93B*, 601.

<sup>19</sup> J. H. Drollet, P. Glaziou, P. M. V. Martin, *Mar. Biol.* **1993**, *115*, 263.

Esta abundancia en muchos tipos diferentes de organismos sugiere que este tipo de compuestos deben tener alguna propiedad que los hace útiles para la vida de los organismos, además de ser un metabolito residual. Analizando la distribución por todo el planeta de las especies que presentan estos compuestos, se encuentra que están presentes en todas las latitudes, desde el ecuador y los climas tropicales, a los océanos congelados de la Antártida.<sup>11,17,19</sup> Por lo tanto, estos compuestos aparecen en todo tipo de ecosistemas y organismos, pero son más relevantes en las especies acuáticas, los hongos, las bacterias, las algas y las plantas; y especialmente en las partes externas de las células o células epiteliales en organismos más complejos.

La biosíntesis de los aminoácidos de tipo micosporina no está todavía clara, pero una posible hipótesis<sup>20</sup> incluye una  $\beta$ -dicetona con origen en la vía siquimato,<sup>21</sup> que es esencial para el metabolismo intermedio y está funcionalmente relacionada con la fotosíntesis. Por eso es razonable pensar en la relación entre la presencia de luz UV y la activación de la ruta metabólica y un aumento en la acumulación de estos compuestos. Estudios recientes<sup>22</sup> demuestran este hecho al comparar la concentración de estos compuestos en cultivos en presencia y ausencia de luz UV. Sin embargo, estas rutas metabólicas sólo son viables en los hongos, las bacterias y las plantas.<sup>23</sup> Por lo tanto, los animales deben obtener estos compuestos a través de la dieta.

En contraste, resultados más recientes<sup>24</sup> contradicen la extendida creencia de que la síntesis de los MAAs se produce de acuerdo a la vía siquimato. De acuerdo a nuevas evidencias la ruta más posible es la vía

---

<sup>20</sup> Y. Hirata, D. Uemura, K. Ueda, S. Takano, *Pure Appl. Chem.* **1979**, *51*, 1875.

<sup>21</sup> E. Haslam, in *Shikimic Acid: Metabolism and Metabolites*, Wiley, Chichester, **1993**.

<sup>22</sup> T. Misonou, J. Saitoh, S. Oshiba, Y. Tokitomo, M. Maegawa, Y. Inoue, H. Hori, T. Sakurai, *Mar. Biol.* **2003**, *5*, 194-200.

<sup>23</sup> R. Bentley, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1990**, *25*, 307-384.

<sup>24</sup> A. Portwich, F. Garcia-Pichel, *Phycologia* **2003**, *42*, 384-392.

de las pentosas fosfato, pero los primeros pasos de la vía siquimato no pueden ser descartados. Sin embargo, el uso de serina y glicina marcadas con carbono 14,<sup>25</sup> permite detectar la incorporación a los MAAs, demostrando así que estos aminoácidos son precursores directos de los aminoácidos de tipo micosporina, como la sinorina.

Estos compuestos están presentes en un gran número de organismos y ecosistemas, y por ello presentan un gran número de modificaciones partiendo de una estructura principal basada en un ciclo polisustituido, concretamente una aminociclohexenona o aminociclohexenimina. Los metabolitos presentes en hongos que presentan absorción UV entre 310 y 320 nm son únicamente del tipo aminociclohexenona y se conocen comúnmente como micosporinas. Para este tipo de compuestos se han descrito dos tipos de subestructuras como se puede ver en la figura 2.1. Las micosporinas presentan dos posibles sustituciones en la posición C2, con un grupo metoxi los compuestos presentan una banda centrada en 310 nm y con el grupo hidroxilo esta se centra en 320 nm.<sup>26</sup>

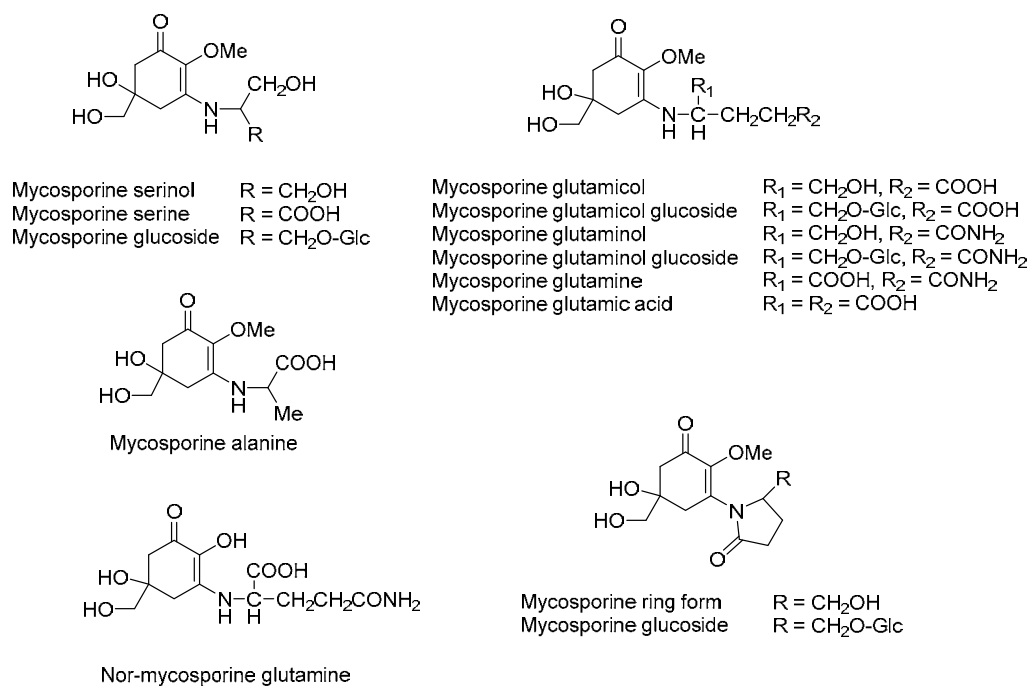
En los hongos, los únicos aminoácidos presentes en las micosporinas son la serina (incluyendo también al serinol) y los pares glutamina-glutaminol y ácido glutámico-glutamicol,<sup>9</sup> con la excepción de la micosporina alanina. La primera vez que se elucidó la estructura de estos compuestos fue en 1976 a partir de *Basidiomycetes Stereum Hirutum*.<sup>27</sup>

---

<sup>25</sup> J. Bernillon, M. L. Bouillant, J. L. Pittet, J. Favre-Bonvin, N. Arpin, *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1083.

<sup>26</sup> J. Favre-Bonvin, N. Arpin, C. Brevard, *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 1105.

<sup>27</sup> T. Teai, P. Raharivelomanana, J. P. Bianchini, R. Faura, P. M. V. Martín, A. Cambon, *Tet. Lett.* **1997**, *38*, 5799-5800.

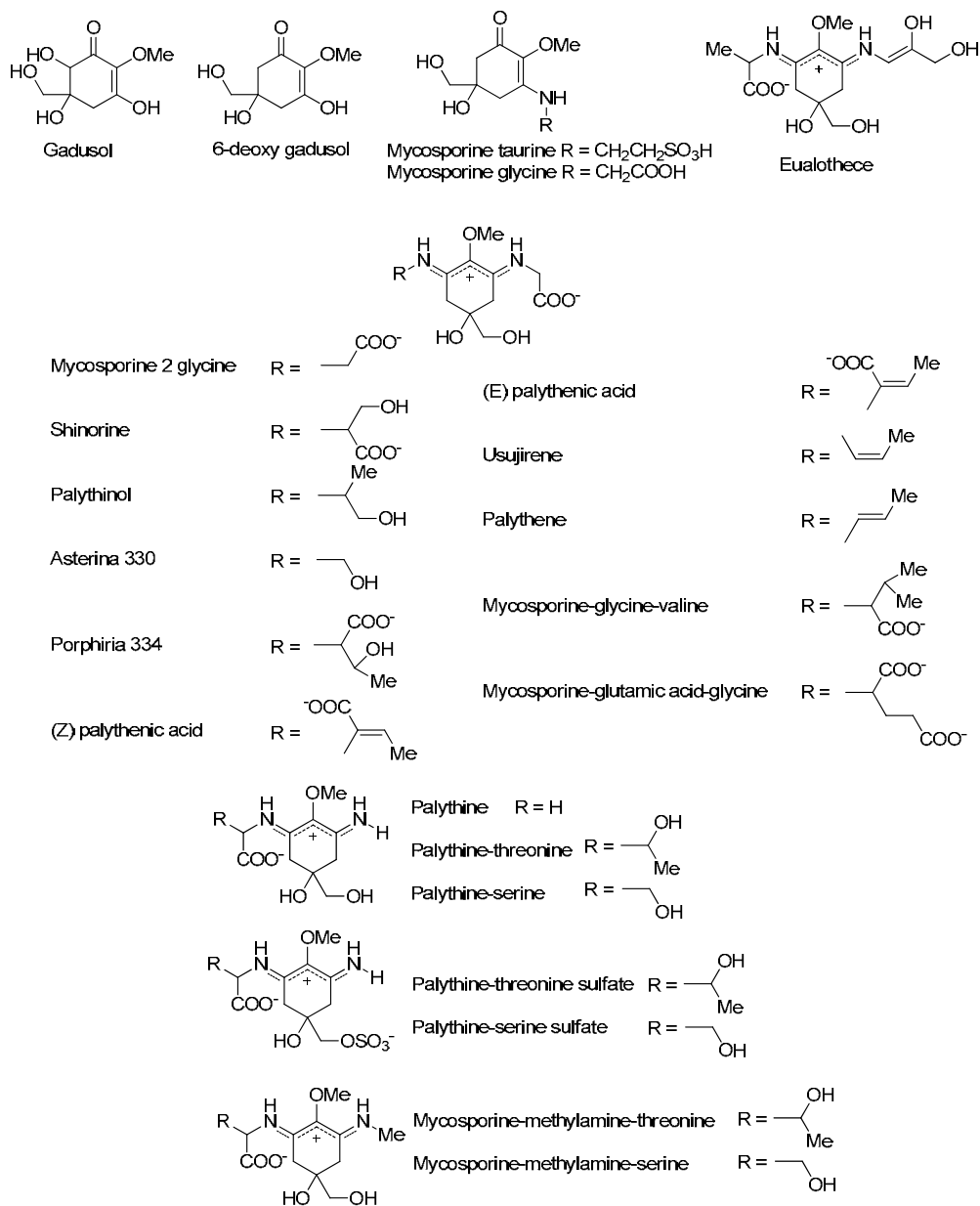


**Figura 2.1:** Estructuras de las micosporinas de los hongos.

En contraste con las micosporinas de los hongos, en los organismos marinos y algas la estructura predominante es un anillo de aminociclohexenimina, con solo dos excepciones de aminociclohexenona. Estos metabolitos son imino derivados de las micosporinas y se les conoce como aminoácidos de tipo micosporina o MAAs. Estos compuestos presentan una fuerte absorción entre 320 y 360 nm. El aminoácido más común es la glicina, pero se han observado un gran número de variaciones llegando a haberse descrito más de 30 MAAs hasta ahora. Estos compuestos se muestran en la figura 2.2.

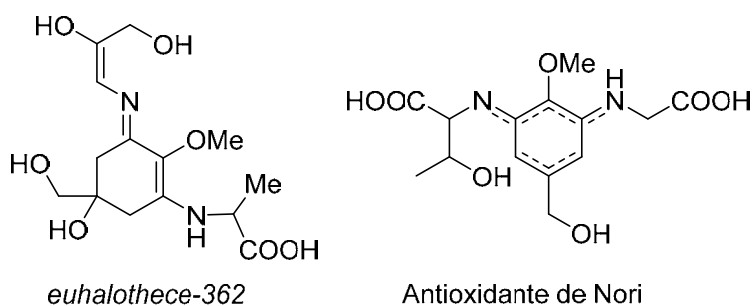


## 2. Antecedentes



**Figura 2.2:** Gadusol, 6-deoxigadusol, oxomycosporinas e iminomycosporinas en organismos marinos.

En muchos casos los MAAs aparecen en la naturaleza como una combinación con diferentes aminoácidos. Por ejemplo, la glicina normalmente se sitúa en el C3 y un segundo aminoácido, un aminoalcohol o una enamionona pueden estar localizados en el C1. Sin embargo, en varias especies de corales, la glicina ha sido reemplazada por metilamina (micosporina metil serina) y por el grupo amino (palitina y sus derivados).<sup>28</sup> Además un tipo especial de derivados como son el gadusol y el 6-deoxigadusol han sido encontrados en varias especies de coral.<sup>29</sup> Finalmente, varios MAAs contienen ésteres sulfato, como la palitina treonina sulfato y la palitina serina sulfato. Recientemente se han obtenido dos nuevos tipos de MAAs, el *euhalothece-362* aislado de la cianobacteria del mismo nombre y el antioxidante Nori sintetizado por tratamiento térmico de la porphyra-334, como se puede ver en la figura 2.3.



**Figura 2.3:** *Euhalothece-362* y Antioxidante de Nori.

La tan extendida presencia de estos compuestos también se debe a otras funciones biológicas que desempeñan en los organismos. Se cree que pueden intervenir en la regulación osmótica de las células y que su

<sup>28</sup> E. M. Arbeloa, M. O. Carignan, F. H. Acuña, M. S. Churio, J. I. Carreto, *Comp. Biochem. Physiol. B* **2010**, *156*, 216-221.

<sup>29</sup> T. Kogel, C. Gostincar, M. Volkmann, A. A. Gorbushina, N. Gunde-Cimerman, *Environ. Chem.* **2006**, *3*, 105-110.

biosíntesis puede estar inducida por choque osmótico.<sup>30</sup> Aunque una de las funciones principales es que están involucrados en los gametos sexuales, ya que han sido hallados en altas concentraciones en huevos de camarón,<sup>17</sup> lo cual puede usarse para ver la maduración de los ovarios dependiendo de la concentración presente.<sup>31</sup> También se contempla una posible actuación como pigmento accesorio dando lugar a una transferencia energética de la radiación UV absorbida a los pigmentos fotosintéticos como la clorofila, pero la casi inexistente fluorescencia no permite una transferencia energética que pueda ser relevante en la excitación de la clorofila y por tanto, el rol como pigmento fotosintético queda rechazado.<sup>32</sup>

El efecto antioxidante se detectó por primera vez en la micosporina-glicina en 1995, este MAA es un eficiente antioxidante que protege por desactivación de oxígeno. Sin embargo, esta propiedad no es general para todos los MAAs.<sup>33</sup> Las propiedades antioxidantes podrían estar en relación con la capacidad desactivante de los MAAs y su actividad fotoprotectora.<sup>32</sup> Recientemente se ha estudiado la actividad de la micosporina glutaminol-glucósido, y se ha visto que es eficiente en ambos roles ya que actúa como desactivador de oxígeno singlete.<sup>34</sup> Este comportamiento como antioxidante también es extensible al gadusol y a sus derivados, que presentan propiedades redox similares a las del ácido ascórbico y la capacidad de desactivar radicales peróxidos libres. Esta relación estructural se cree que es debida a que el gadusol es un precursor evolutivo de los MAAs. Su fuerte capacidad antioxidante es debida a la presencia a pH=7 de la forma enolato, que puede dar

---

<sup>30</sup> J. M. Shick, W. C. Dunlap, *Ann. Rev. Phys.* **2002**, *64*, 223-262.

<sup>31</sup> T. A. Moisant, B. G. Mitchell, *Mar. Biol.* **2001**, *138*, 217-227.

<sup>32</sup> W. C. Dunlap, Y. Yamamoto, *Comp. Biochem. Physiol. B* **1995**, *112*, 105.

<sup>33</sup> M. Moliné, E. M. Arbeloa, M. R. Flores, D. Libkind, M. E. Farías, S. G. Bertolotti, M. S. Churio, M. R. Broock, *Rad. Res.* **2011**, *175*, 44-50.

<sup>34</sup> E. M. Arbeloa, S. G. Bertolotti, M. S. Churio, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2011**, *10*, 133-142.

transferencia electrónica con diferentes sensibilizadores de tripletes. Esta se produce por un mecanismo de colisiones regido por una constante típica de un proceso controlado por difusión.<sup>35</sup>

Pero la función biológica más importante de las que llevan a cabo es la de protección de los organismos de la radiación UV. Esta protección es debida a las especiales propiedades fotoquímicas que tienen estos compuestos y sus derivados.<sup>36</sup> En estudios previos se habían estudiado a nivel experimental los diferentes MAAs aislados, como la porfira-334, sinorina, y palitina, que son las más estudiadas.<sup>37,38</sup> Todos ellos presentan un comportamiento similar, observándose una fuerte absorción en la zona de 310-350 nm, la prácticamente ausencia de desactivación radiante, tienen rendimientos cuánticos de fluorescencia y fosforescencia prácticamente nulos ( $10^{-3}$ - $10^{-4}$ ) y tiempos de vida del estado excitado muy cortos ( $< 1\text{ns}$ ), y un rendimiento cuántico de fotodescomposición del orden de  $10^{-4}$  con lo que se puede considerar que son especies fotoestables.

En el año 2011 se encuentra la primera referencia a un estudio desde el punto de vista químico más allá de las propiedades fotofísicas descritas anteriormente.<sup>36</sup> Estos estudios a nivel teórico se desarrollaron en nuestro grupo de investigación. En ellos se realiza un estudio a nivel CASPT2//CASSCF usando la palitina como modelo ya que es el MAA más sencillo, y Gaussian 03 y Molcas 6.4 como software de cálculo. Se llevó a cabo un estudio de las dos posibles formas del aminoácido *in*

---

<sup>35</sup> E. M. Arbeloa, S. G. Bertolotti, M. S. Churio, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2011**, *10*, 133-142.

<sup>36</sup> D. Sampedro, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2011**, *13*, 5584-5586.

<sup>37</sup> F. R. Conde, M. S. Churio, C. M. Previtali, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, *3*, 960-967.

<sup>38</sup> F. R. Conde, M. S. Churio, C. M. Previtali, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2007**, *6*, 669-674.

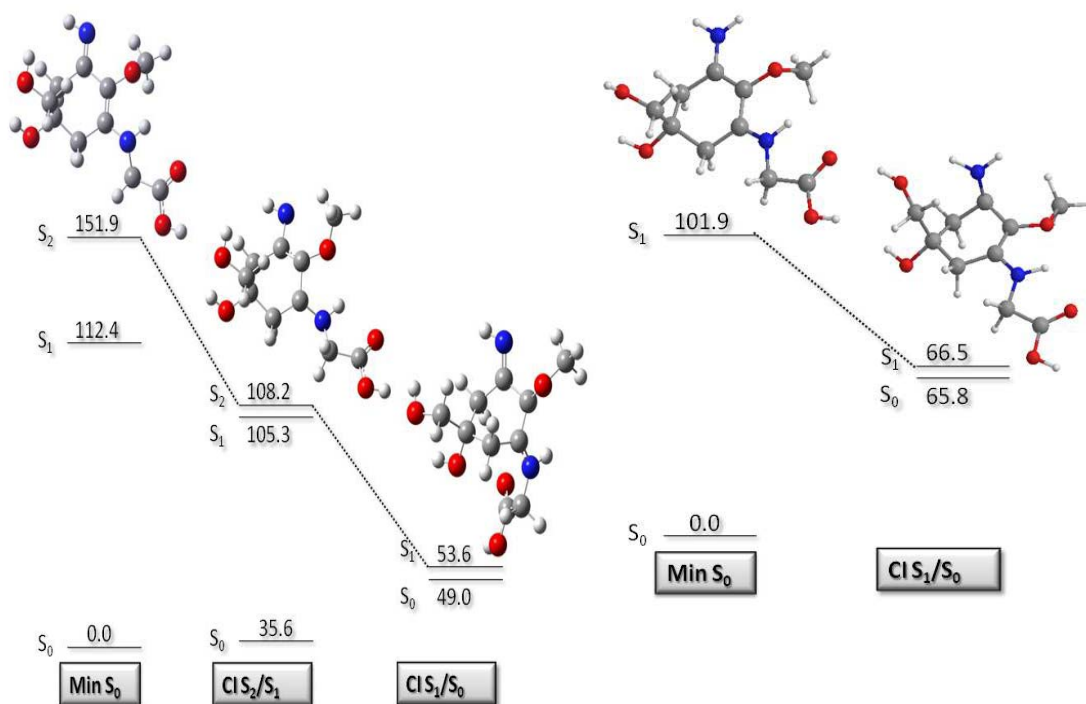
*in vivo*, la protonada y la neutra, para intentar clarificar cuál de las dos es la responsable de la fotoprotección.

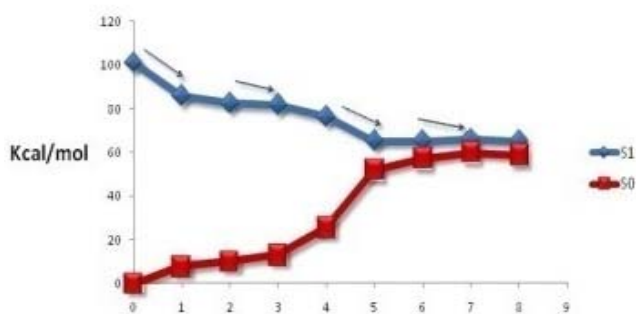
Lo primero es definir el espacio activo para cada una de las formas, en la neutra se define un (10,7) que incluye a 10 electrones en 7 orbitales, que son los  $\pi$  y  $\pi^*$  de los dobles enlaces C=N, y C=C y los orbitales n de los nitrógenos de la imina y de la amina, además de uno de los orbitales n del oxígeno del metoxi en posición 2. En el caso de la forma protonada el espacio activo escogido es un (6,5) que incluye a 6 electrones en 5 orbitales, los  $\pi$  y  $\pi^*$  de los dobles enlaces C=N y C=C, y el orbital n del nitrógeno.

Los espectros de absorción calculados muestran una única banda que está de acuerdo con lo obtenido experimentalmente, una banda centrada en 320 nm y  $\epsilon = 36200$ . En la forma neutra se obtuvo un máximo a 256 nm ( $f = 0.009$ ) y otra transición a 198nm ( $f = 0.13$ ) correspondiente a la excitación  $S_0 \rightarrow S_2$ , que solo es relevante a altas energías. En el caso del protonado, presenta el máximo a 280 nm ( $f = 0.98$ ), lo que está de acuerdo a lo experimental. Se realiza un cálculo con el modelo de polarizabilidad continua (PCM) para comprobar el efecto del disolvente pero el cambio en la posición e intensidad de las bandas observadas no es muy significativo y los cálculos posteriores se realizan sin disolvente.

El mecanismo de fotoprotección que presentan ambas formas es similar, en la forma protonada se produce una rápida relajación en  $S_1$  que decae a  $S_0$  a través de una intersección cónica,  $S_1/S_0$  CI, que es el punto de cruce entre las superficies de energía potencial que representan dos estados electrónicos. Esta supone una fuerte distorsión geométrica en el cromóforo con la salida del plano de los grupos amino - imino, recuperándose el compuesto inicial como único fotoproducto. Mientras, en el compuesto neutro vemos que la excitación se produce tanto a  $S_1$  como a  $S_2$ , siendo desde este último desde el que se produce un rápido

decaimiento a través de una CI geoméricamente muy similar hasta  $S_1$  y desde este a través de  $S_1/S_0$  CI, que es geoméricamente similar a la intersección cónica de la forma protonada, se produce la relajación al estado fundamental y a un conformero de +1,5 kcal/mol que el conformero más estable. Un diagrama con las energías de los estados involucrados y las geometrías tanto de las CI como de la transición vertical o Franck-Condon se muestra en la figura 2.4.





**Figura 2.4:** Diagrama de energía de ambas formas y camino de mínima energía para la forma protonada.

Los datos obtenidos ratifican que ambas formas son relevantes en la fotoprotección de los organismos *in vivo*, y que estos compuestos presentan unas propiedades de fotoestabilidad que pueden ser muy útiles en un posible uso en la industria, tanto a nivel de cremas solares como parte de barnices y pinturas de exterior.

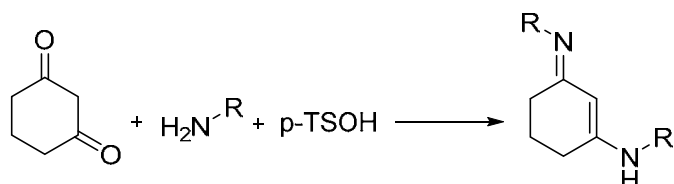
En un posible uso formando parte de la composición de las cremas solares podrían competir con el pequeño número de compuestos que están aprobados para dicho uso, que son solo 30 según la lista que se recoge en el anexo VI del artículo sobre los productos cosméticos recogido en el Diario Oficial de la Unión Europea.<sup>39</sup> Al poderse utilizar un número tan reducido de compuestos, el desarrollo de derivados de los MAA podría suponer un gran cambio en el uso de filtros UV tal y como los conocemos hoy en día.

Para abordar la síntesis de estos derivados se llevó a cabo una intensa búsqueda bibliográfica, encontrando publicaciones en las que se sintetizaban estructuras similares y algunas reacciones llevadas a cabo previamente en nuestro grupo de investigación se tomaron como punto de partida.

<sup>39</sup> *Diario Oficial de la Unión Europea* **2009**, Anexo VI, 201-202.

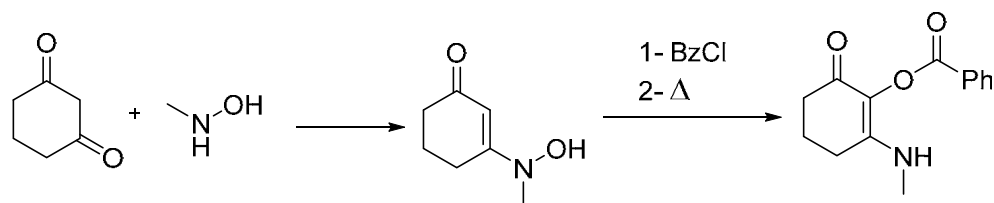
En la actualidad solo se encuentran dos publicaciones donde se aborda la síntesis total de las micosporinas, dando como resultado una síntesis de cerca de 20 pasos<sup>40,41</sup> con rendimientos bajos, con sus consiguientes problemas a la hora de una posible producción a gran escala.

La idea sintética es simplificar lo máximo posible la estructura, el caso de la síntesis de derivados de cetimonio<sup>42</sup> como el que se muestra en el esquema 2.2 es uno de ellos.



**Esquema 2.2:** Esquema de la síntesis de derivados de cetimonio.

Otra de las que encontramos se refleja en el esquema 2.3 y supone una posible vía de funcionalización de la posición 2,<sup>43</sup> que podría ser un punto de acceso a derivados similares a los MAAs descritos.



**Esquema 2.3:** Síntesis de derivados que podrían usarse como vía de entrada a los MAAs.

<sup>40</sup> J. D. White, J. H. Cammack, K. Sakuma, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8970-8972.

<sup>41</sup> J. D. White, J. H. Cammack, K. Sakuma, G. W. Rewcastle, R. K. Widener, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3600-3611.

<sup>42</sup> J. E. N. Jeong Mi Kim, Chang Gon Lee, Jae Nyoung Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2004**, *25*.

<sup>43</sup> L. V. Reis, A. M. Lobo, S. Prabhakar, M.P. Duarte, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 190-208.



Como se ha dicho anteriormente, a día de hoy solo hay dos publicaciones en las que se aborda la síntesis de estos derivados de los MAAs, pero son rutas muy largas y con bajos rendimientos, además no se ha conseguido la síntesis de iminomicosporinas. En un review del año pasado<sup>44</sup> se recoge este hecho y se propone la síntesis de compuestos estructuralmente similares, con propiedades fotofísicas similares, baja toxicidad y gran fotoestabilidad. Por los motivos descritos anteriormente, la síntesis de estos derivados está pendiente de patente y no se darán en este trabajo detalles experimentales y de caracterización estructural que puedan comprometer el secreto de la misma.

---

<sup>44</sup> K. H. Nguyen, M. Chellet-Krugler, N. Gouault, S. Tomasi, *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30*, 1490-1508.

### **3. Objetivos**



Los objetivos del proyecto son ambiciosos ya que como se ha dicho previamente no hay ninguna referencia de análogos estructurales de los imino-MAAs en la bibliografía.

La síntesis de iminoderivados supondría un importante hito en la síntesis y el desarrollo de las posibles aplicaciones de estos derivados.

Por tanto el objetivo de este proyecto es claro:

- La síntesis de iminoderivados de los MAAs y su caracterización tanto estructural como fotoquímica.

- Estudiar la variación de las propiedades fotofísicas en función de las posibles modificaciones estructurales en los derivados sintetizados.



## **4. Síntesis de análogos de los MAAs**

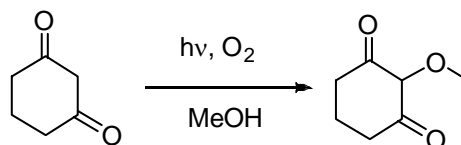


Tal y como se dijo en los antecedentes, en este apartado se va a presentar una pequeña parte de los resultados que han sido obtenidos durante la investigación para evitar así la publicación de resultados que están pendientes de patente.

La vía de entrada a este tipo de iminoderivados que resulta más evidente es sintetizar derivados de cetimonio,<sup>42</sup> pero en vez de partir de 1,3-ciclohexanodiona partir de derivados de esta sustituidos en la posición 2. Por ello el esfuerzo sintético se centró en funcionalizar en dicha posición añadiendo grupos de diversa naturaleza.

#### 4.1 Síntesis de derivados oxigenados en posición 2.

La primera opción a considerar fue añadir un grupo OMe con lo que obtendríamos la misma estructura que en los MAAs naturales, la síntesis de derivados de 1,3-ciclohexanodiona con un OMe en posición 2 se llevó a cabo de acuerdo a la metodología recogida en la bibliografía<sup>45</sup> (Esquema 4.1).



Esquema 4.1: Síntesis de 2-metoxi-1,3-ciclohexanodiona.

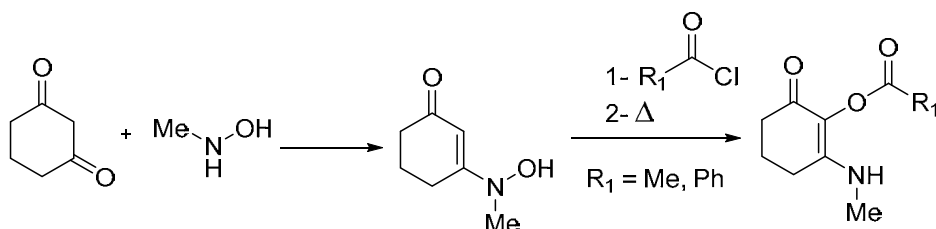
Según lo descrito, la síntesis se realiza de manera fotoquímica irradiando durante 16 horas una disolución de 1,3-ciclohexanodiona en atmósfera de oxígeno utilizando una lámpara de Hg de alta presión de 400W, obteniéndose el compuesto con un rendimiento del 36%.

<sup>45</sup> S.-J. Ji, J. Lu, J.-P. Lang, C. A. Horiuchi, *Synth. Comm.* **2002**, *32*, 1659-1663.



Se llevaron a cabo numerosos intentos variando las condiciones de irradiación, usando una lámpara de media presión con cuarzo, filtro de Pyrex e irradiando en el reactor fotoquímico. En todos los casos sobre la disolución se burbujeó oxígeno durante 15-20 minutos y se puso un globo para mantener la atmósfera de oxígeno en el reactor. En ninguno de los casos se obtuvo el producto, tampoco se consiguió identificar los productos de fotodescomposición de la 1,3-ciclohexanodiona.

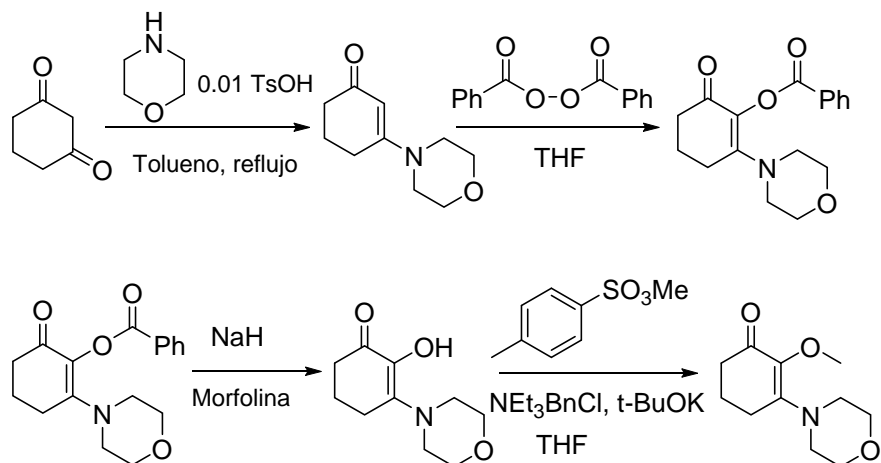
En base a lo descrito en la bibliografía,<sup>43</sup> (esquema 4.2) se sintetizaron varios derivados llevando a cabo variaciones en la hidroxilamina utilizada, usando metilhidroxilamina y fenilhidroxilamina como amina, para después de acilar llevar a cabo una transposición que conlleva la formación del compuesto que presenta un grupo hidroxilo protegido en forma de éster benzoico o acético. El compuesto con  $R_1 = \text{Me}$  no se describe en la bibliografía y por eso se recoge su síntesis como Compuesto 1.



Esquema 4.2: Síntesis de 2-acilenaminonas

Las reacciones para intentar introducir un segundo grupo imina en la molécula no condujeron a resultados satisfactorios, por ello se intentó llevar a cabo la eliminación del grupo protector del hidroxilo, intentando la hidrólisis del éster, lo cual no condujo a ningún producto con interés.

El siguiente intento de introducir un grupo oxoderivado en posición 2 se realiza de acuerdo a lo descrito en un artículo de 1979,<sup>46</sup> en el cual se describe la síntesis de compuestos muy similares a los mencionados anteriormente.



**Esquema 4.3:** Esquema sintético precusores oxigenados.

La ruta sintética descrita en el esquema 4.3 muestra una serie de reacciones que se llevan a cabo en el citado artículo<sup>46</sup> añadiendo alguna modificación, ya que el último paso mostrado no se realiza en dicha publicación. Este último paso se recoge en la parte experimental y se muestra la caracterización como Compuesto **2**. Esta ruta sintética nos permitió obtener el precursor que con el tratamiento adecuado hemos conseguido funcionalizar de tal manera que se obtuvo uno de los primeros iminoderivados sintéticos de los MAAs, que para preservar el secreto de patente no se muestra.

<sup>46</sup> M. Adler, K. Schank, V. Schmidt, *Chem. Ber.* **1979**, *112*, 2314-2331.

#### 4.2 Síntesis de derivados con fragmentos carbonados en posición 2.

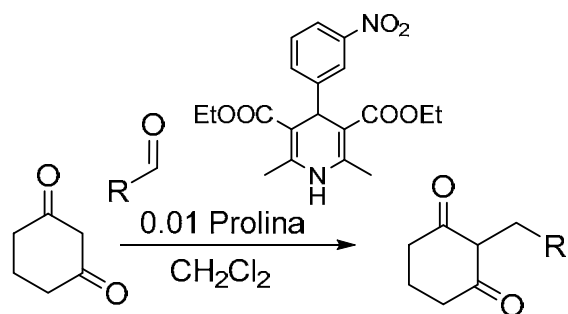
Aparte del oxígeno en posición 2, se han intentado sintetizar numerosos derivados funcionalizando dicha posición con cadenas carbonadas, iodo, azufre y selenio.

Se ha llevado a cabo la síntesis de derivados de 1,3-ciclohexanodiona funcionalizados con fragmentos carbonados<sup>47</sup> de acuerdo a una modificación de lo descrito, cambiando el derivado de 1,4-dihidropiridina pasando de tener hidrógeno en la posición 4 a tener un *m*-nitrobenceno como el que se muestra en el esquema 4.4, esta modificación se lleva a cabo dado el alto precio del derivado de 1,4-DHP y la dificultad para llevar a cabo su síntesis por medio de la síntesis de Hantzsch, ya que se produce muy fácilmente la oxidación a la piridina correspondiente. Por todo esto se usa el otro derivado sintetizable en poco tiempo, buen rendimiento y de manera muy económica.

De acuerdo a esto se lleva a cabo la síntesis partiendo de 1,3-ciclohexanodiona en presencia de la 1,4-dihidropiridina descrita, prolina como catalizador y un aldehído como fuente de la cadena carbonada, dando lugar a una reacción de acoplamiento entre el carbono carbonílico y la posición 2 de la ciclohexanodiona.

---

<sup>47</sup> D. B. Ramachary, M. Kishor, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 5056-5068.



**Esquema 4.4:** Síntesis de 1,3- ciclohexanodionas alquil sustituidas

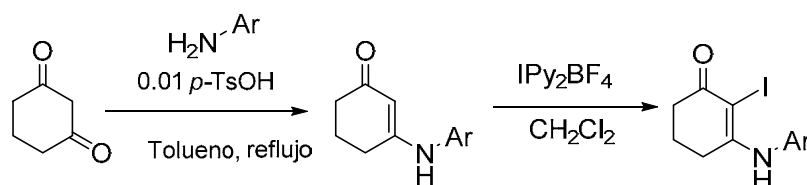
En el artículo<sup>47</sup> se describen numerosos R que van desde lo más simple, un metilo o pentilo, a anillos aromáticos con múltiples sustituyentes. Generando una gran cantidad de moléculas que son posibles candidatos como precursores para la síntesis de MAAs.

#### 4.3 Síntesis de otros derivados con heteroátomos en posición 2.

La funcionalización con iodo, azufre y selenio se lleva a cabo a partir de estudios previos que se han realizado en nuestro grupo de investigación, más en concreto en la tesis doctoral de Héctor Felipe González,<sup>48</sup> en la que un capítulo se centra en la síntesis y estudio tanto fotoquímico como electroquímico de compuestos similares.

Se llevó a cabo la síntesis de estos derivados de acuerdo a lo descrito en este trabajo pero se realizaron algunas modificaciones experimentales para mejorar los resultados obtenidos.

<sup>48</sup> H. F. González, *Tesis Doctoral*, Universidad de La Rioja, **2013**.

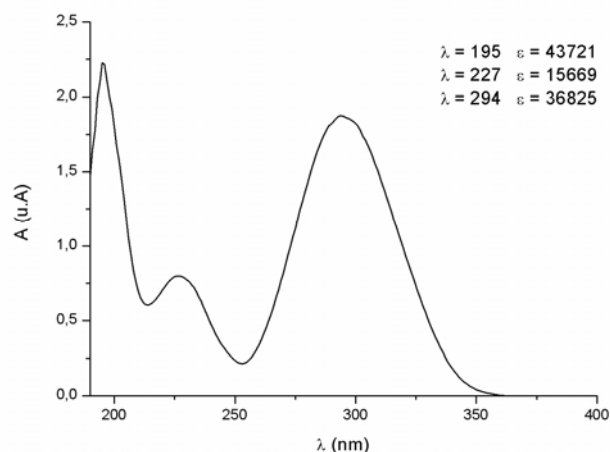


**Esquema 4.5:** Síntesis de enaminonas y yodoenaminonas.

La síntesis de enaminonas se realiza a partir del compuesto comercial 1,3-ciclohexanodiona que se hace reaccionar con una amina primaria en presencia de una mínima cantidad de ácido *p*-toluensulfónico (0,01 eq.) manteniendo la reacción a reflujo de tolueno durante una noche, obteniéndose la enaminona prácticamente pura y con casi un 100% de rendimiento. Los derivados iodados se sintetizan en diclorometano haciendo reaccionar a la enaminona con tetrafluoroborato de bis(piridina)yodo (I), obteniéndose en dos horas la yodoenaminona pura y en un rendimiento mayor del 95%. El grupo arilo que se muestra en el esquema 4.5 puede ser un anillo de benceno y múltiples derivados de este.

#### 4.3.1 Fotosustitución intermolecular de yodoenaminonas

Una vez obtenidos estos compuestos debemos seleccionar las condiciones de irradiación para llevar a cabo la fotosustitución intermolecular. Para ello se registran los espectros UV-Vis de los compuestos a irradiar, estos compuestos presentan una única banda centrada en torno a 300 nm con un coeficiente de extinción de  $3.6 \cdot 10^4$ , tal y como puede verse en la figura 4.1. Con la posición e intensidad de la absorción y por la experiencia adquirida en el grupo en este tipo de sistemas se asigna esta banda con una transición  $\pi - \pi^*$ , que provoca la foto ruptura típica de enlaces C-I.



**Figura 4.1:** Espectro de absorción del derivado yodado en  $\text{CH}_3\text{CN}$ .

Antes de llevar a cabo la irradiación debemos elegir el filtro a usar, tenemos tres opciones dependiendo de la naturaleza de la muestra que necesitemos irradiar:

- No usar filtro: irradiar usando una camisa refrigerante de cuarzo, que es transparente a la luz UV, con lo que todo el espectro de la lámpara irradia la muestra.
- Un filtro de Vycor, que impide el paso de luz de mayor energía que 250 nm.
- Un filtro Pyrex, que impide el paso de  $\lambda$  menores que 290 nm.

Basándonos en el espectro UV-Vis de los compuestos a irradiar y viendo el espectro de emisión de una lámpara de Hg de media presión que se muestra en la figura 4.2, se eligió el filtro de Pyrex, ya que deja pasar la zona de emisión entorno a 300 nm que es suficiente para

producir la foto ruptura del enlace C-I y evitar así la luz emitida por debajo de 290 nm que podría dar lugar a reacciones secundarias del compuesto y producir la fotodescomposición del atrapador de radicales que se añade.

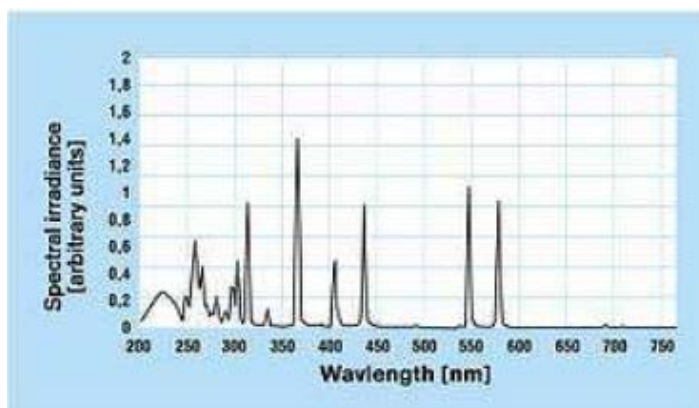
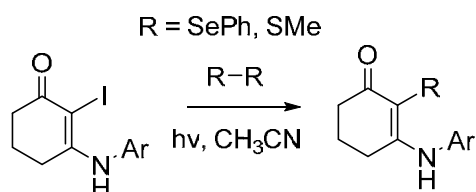


Figura 4.2: Espectro de emisión de una lámpara de Hg de media presión.

Una vez elegido el filtro se procedió a la irradiación de una disolución en acetonitrilo seco del compuesto yodado en presencia de 20 equivalentes del atrapador de radicales correspondiente. La irradiación se siguió por CCF y EM, hasta desaparición total del reactivo de partida que se produce tras 1 o 2h. Posteriormente se evaporó el disolvente y se purificó el compuesto mediante cromatografía de columna en sílica.



Esquema 4.6: Fotosustitución de yodoenaminonas.

Los resultados que se obtuvieron mejoran notablemente los rendimientos obtenidos previamente, pasando de un 27% a más de un 50% en el caso del dimetildisulfuro como atrapador de radicales. La síntesis y caracterización de estos tres derivados se recoge en la parte experimental, siendo el compuesto **3** el derivado yodado, el compuesto **4** el derivado con selenio y el compuesto **5** el derivado con azufre. Además este compuesto con el tratamiento adecuado se ha conseguido convertir en un análogo de los MAAs. Debido a esto, se han propuesto formas de mejorar aún más el rendimiento de la irradiación, una de ellas es aumentar la concentración del atrapador de radicales y la otra es la utilización de un disolvente que no presente hidrógenos lábiles, como el *tert*-butanol.





## 5. Estudio fotoquímico de análogos de los MAAs



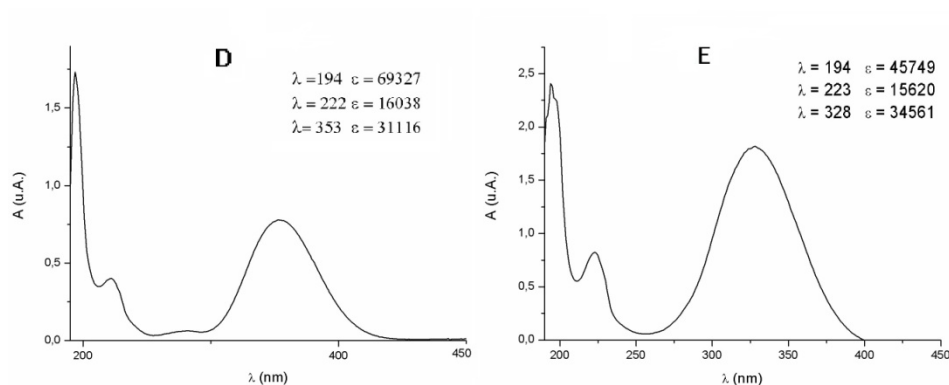
Una vez obtenidos algunos análogos sintéticos de los MAAs, se realizaron diversos estudios fotoquímicos para comprobar que cumplen las tres premisas para ser eficientes como fotoprotectores:

- Fuerte absorción en la zona UV, entre 300 y 400 nm.
- Alta fotoestabilidad.
- Capacidad de desactivación no radiante, no luminiscentes.

### 5.1 Espectros UV-Vis

Los espectros UV-Vis se realizaron todos usando acetonitrilo como disolvente, los datos obtenidos se recogen en la tabla 5.1 para algunos de los compuestos sintetizados, que no se muestran, por los motivos mencionados, y a los que se hace referencia con letras de la **A** a la **E**, incluyendo un compuesto **A'** que es un derivado íntimamente relacionado con **A**.

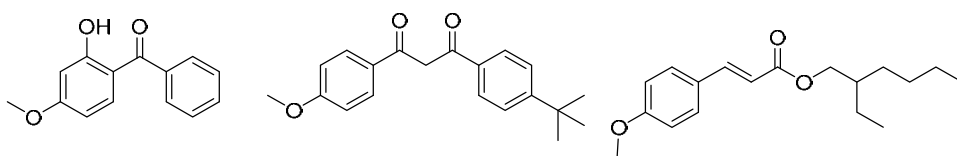
A continuación se muestra el espectro de los compuestos **D** y **E**. Ambos presentan una banda en la zona UV con un coeficiente de extinción molar muy elevado. (Figura 5.1.)



**Figura 5.1:** Espectros UV-Vis de los compuestos **D** y **E**.

### 5.2 Estudio comparativo frente a compuestos comerciales.

Para ver la fotoestabilidad de los compuestos sintetizados se llevó a cabo un estudio comparativo frente a tres compuestos que se usan comercialmente la benzofenona-3, la avobenzona y el octil-4-metoxicinamato o octinoxato, que se muestran en la figura 5.2.



**Figura 5.2:** Estructuras de benzofenona-3, avobenzona y octil-4-metoxicinamato.

La irradiación se lleva a cabo con las muestras disueltas en  $d_4$ -MeOD y  $CDCl_3$  para los compuestos comerciales y directamente en tubo de Pyrex de RMN con una lámpara de Hg de media presión de 400W, siguiendo la fotodescomposición de los compuestos mediante RMN de protón. La descomposición de los compuestos comerciales se cuantificó mediante la adición de 1,3,5-trimetoxibenceno como patrón interno.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.1 en la que además se recogen la longitud de onda de absorción y el coeficiente de extinción molar de dicha banda.

Compuesto	Absorción			
	Zona UV $\lambda$ ( $\epsilon$ )	Estabilidad tras 1h	Estabilidad tras 3h	Estabilidad tras 6h
A	341 (32400)	>99%	>99%	>99%
A'	341 (33700)	>99%	>99%	>99%
B	340 (33000)	>99%	>99%	>99%
C	336 (29500)	>99%	>99%	>99%
D	353 (31100)	>99%	>99%	>99%
E	328 (34561)	>99%	>99%	>99%
Avobenzona	355(29000)	88%	84%	66%
Octinoxato	308(23000)	96%	89%	79%
Benzofenona-3	286(14000)	82%	80%	78%

**Tabla 5.1:** Datos UV e irradiación comparativa frente a compuestos comerciales.

Además de los resultados obtenidos cabe reseñar que los derivados sintetizados (compuestos A-E) se irradiaron hasta las 16h sin observarse cambio en RMN de protón. Estos resultados certifican la eficiencia de estos derivados como fotoprotectores, ya que 16h irradiados con 400W de potencia es una cantidad muy grande de fotones recibidos, por lo que se ve que son tremendamente eficientes.

### 5.3 Estudio de las propiedades luminiscentes.

La absorción de un fotón por parte de una molécula en el estado fundamental puede provocar la excitación a un estado energéticamente superior. Una vez la molécula se encuentra en este estado, tiende a relajarse y volver así al estado fundamental. Esta relajación se puede dar de múltiples maneras, que se reúnen en dos grandes grupos:

- Radiantes o fotoluminiscentes, implican pérdida de energía en forma de luz, si la relajación es entre estados de igual multiplicidad se denomina fluorescencia y si sucede entre diferente multiplicidad, fosforescencia.

- No radiantes, implican pérdida de energía en forma de calor, se producen por vibraciones moleculares y cruce intersistemas, como los descritos para los MAAs.

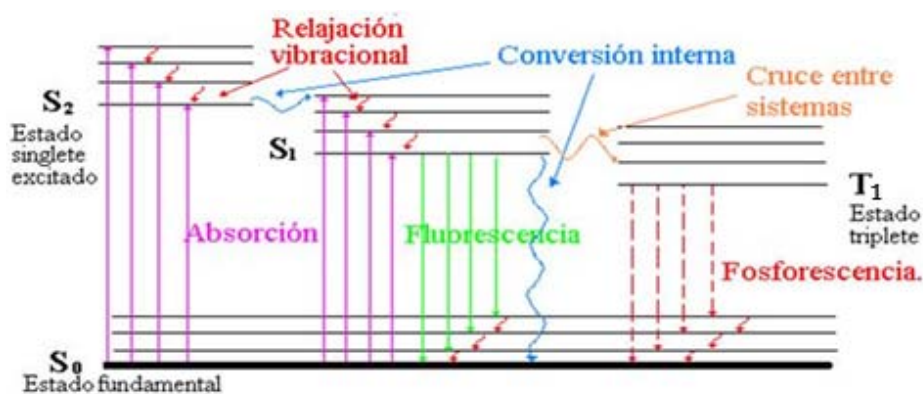


Figura 5.3: Diagrama de Jablonski

Para determinar si nuestros compuestos cumplen la premisa de no sufrir desactivación radiante se registraron sus espectros de emisión. Las medidas del rendimiento cuántico obtenidas para cada uno de los compuestos no sobrepasa el 1%, por lo que podemos decir que no presentan fluorescencia y que la vuelta al estado fundamental se produce por desactivación no radiante mediante un proceso de

relajación vibracional con emisión de calor. Este hecho ratifica lo observado computacionalmente y está de acuerdo con la fotoestabilidad observada.

#### 5.4 Estudio de la solubilidad en diferentes disolventes.

De manera complementaria se realiza un estudio de la solubilidad, ya que a la hora de una posible aplicación industrial es necesario conocer en qué medios es posible disolver el compuesto para poder manipularlo en disolución. Para hacernos una idea cualitativa se llevaron a cabo pruebas con multitud de disolventes, pero para las pruebas cuantitativas se eligieron diclorometano, metanol y agua, ya que cubren el rango de disolvente halogenado, alcohol y disolvente biológico.

Compuesto	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (g/L)	MeOH (g/L)	H <sub>2</sub> O (g/L)
A	1.25	22	1
A'	5	200	0.8
D	2.5	20	0.2
E	5	54	1.6
Avobenzona	-	-	0.0022
Octinoxato	-	-	0.00016
Benzofenona-3	-	-	0.069

*Tabla 5.2:* Solubilidad de los compuestos en varios disolventes.

Tal y como vemos en la tabla 5.2 los compuestos presentan una elevada solubilidad en metanol, la solubilidad en disolventes halogenados varía sensiblemente en función del compuesto mientras que la solubilidad en agua permanece más o menos constante, mejorando un poco para el compuesto E. En la pareja de compuestos A y A' vemos que la solubilidad en diclorometano aumenta notablemente



mientras que el aumento al usar metanol es mucho más drástico, siendo la solubilidad prácticamente un orden de magnitud mayor que para **A**.

Para los compuestos comerciales solo se han encontrado los datos de solubilidad en agua, siendo valores muy pequeños ya que los tres son prácticamente insolubles en agua.

## **6. Conclusiones**



Las conclusiones que derivan de este proyecto son:

- Se ha llevado a cabo la primera síntesis de análogos de los MAAs.
- Estos compuestos presentan unas propiedades, gran absorción en la zona UV, baja desactivación radiante del estado excitado (baja luminiscencia) y alta fotoestabilidad, que los hacen posibles candidatos a ser usados como compuestos fotoprotectores.
- Se ha comprobado su eficiencia frente a compuestos fotoprotectores comerciales como la avobenzona o la benzofenona-3, siendo mucho más resistentes a la radiación UV que estos.
- De manera complementaria a los estudios fotoquímicos se ha llevado a cabo un estudio de la solubilidad de algunos de los derivados en diferentes tipos de disolventes.



## 7. Parte experimental



### 7.1 Consideraciones generales.

- **Resonancia magnética nuclear:**

Los experimentos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se realizaron en un equipo Bruker-ARX-300 y/ó Bruker Avance 400. Se utilizó como disolvente  $\text{CDCl}_3$  con TMS como referencia interna,  $d^4$ -MeOD. Los valores de desplazamiento químico ( $\delta$ ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento en hertzios (Hz). Las multiplicidades de las señales se indican de la siguiente forma: (s) = singlete, (d)= doblete, (t)= triplete, (c)= cuatriplete, (m)= multiplete.

- **Espectroscopía ultravioleta-visible:**

Los espectros de absorción molecular se obtuvieron mediante un espectrofotómetro de fila de diodos modelo HP 8451A. Se emplearon disoluciones de concentración  $5 \times 10^{-5}$  M en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

- **Espectrometría de masas:**

Los análisis de espectrometría de masas se realizaron con un equipo HP 5989B provisto de una interfase de electrospray HP 599987A y se registraron en modo ión positivo.

- **Cromatografía:**

La cromatografía de columna se llevó a cabo empleando gel de sílice como relleno y utilizando los eluyentes indicados en cada caso. Para la cromatografía de capa fina se usaron cromatofolios de gel de sílice de 0.2 mm de espesor, con indicador de ultravioleta ( $F_{254}$ ).

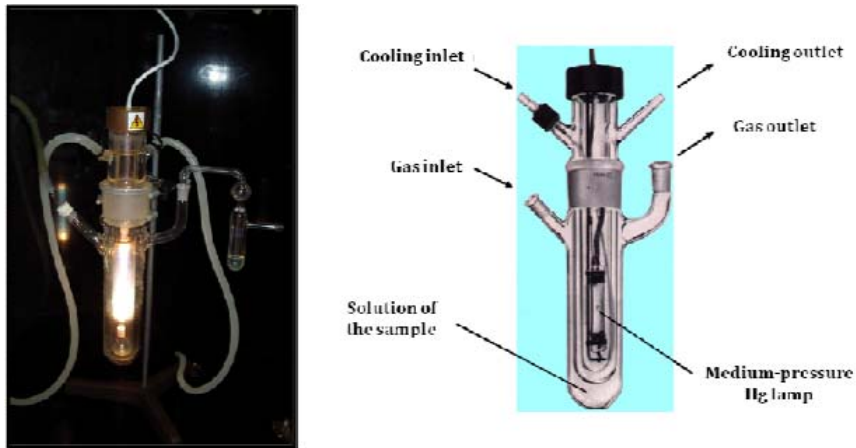
- **Espectrofluorímetro**

Para las medidas de fluorescencia se empleó un equipo Jobin-Yvon Horiba Fluorolog 3-11 Tau-3. Los datos obtenidos se analizaron con el programa Origin Pro 8.



- Lámparas e instrumentación fotoquímica:

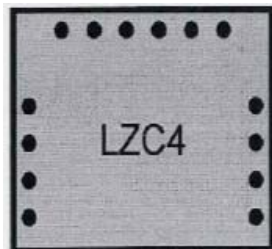
Las irradiaciones se realizaron en reactores de inmersión de Pyrex ó de cuarzo empleando un cilindro de vidrio Pyrex como filtro y utilizando lámparas de mercurio de media presión de 400W de la marca PhotochemicalReactors LTD (UK) (Figura 6.1).



*Figura 6.1:* Lámpara y reactor fotoquímico.

- Fotorreactor

Se utiliza para irradiar con luz menos energética, el utilizado en el experimento indicado es un fotorreactor Luzchem UV/Vis (LZC-4, Figura 6.2) provisto con lámparas LZC-UVA con longitud de onda de emisión centrada a 350 nm (14 lámparas x 8W/lámpara).



*Figura 6.2:* Esquema del fotorreactor.

### 7.2 Caracterización y síntesis de intermedios de MAAs.

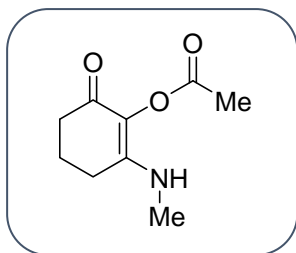
Todas las reacciones indicadas se llevan a cabo de acuerdo a lo descrito en la bibliografía indicada para cada caso, al igual que la caracterización de dichos compuestos se encuentra en ella.

A continuación se recoge la síntesis y caracterización de los compuestos que no están recogidos en la bibliografía, ya que son modificaciones que se han ido realizando.

- Síntesis de 2-acilenaminonas

Bajo atmósfera de argón se añade un equivalente de *N,N*-diisopropiletilamina y lentamente un equivalente de cloruro de acetilo sobre una dispersión de la enehidroxilamina en THF anhidro a 0°C, una vez acabada la adición se retira el baño de hielo y se deja evolucionar a temperatura ambiente durante 2 horas. Una vez consumida la enehidroxilamina de partida, la sal orgánica obtenida se elimina por filtración lavando con THF anhidro. El filtrado se lleva a sequedad y se disuelve en una mezcla 1:2 Et<sub>2</sub>O:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lava con agua. La fase acuosa, tras separarla por decantación, se extrae 3 veces con Et<sub>2</sub>O y la mezcla de fases orgánicas se seca con sulfato de sodio anhidro. La eliminación del disolvente a presión reducida conduce al compuesto intermedio, que se mantiene a reflujo de tolueno para dar el compuesto 1. El compuesto intermedio se disuelve en tolueno y se mantiene a reflujo durante 4 horas. Transcurrido este tiempo se enfría y se elimina el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por cromatografía de columna en sílica usando acetato de etilo como eluyente.

➤ **Compuesto 1:** Acetato de 2-(metilamino)-6-oxociclohex-1-en-1-ilo



Fórmula molecular:  $C_9H_{13}NO_3$

Peso molecular: 183.21 g/mol

Rendimiento: 62%

$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm 3.22 (s, 3H), 2.42 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 2.35 - 2.30 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.07 - 1.99 (m, 2H).

$^{13}C$  NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm 197.81 (s), 167.99 (s), 164.15 (s), 100.80 (s), 39.86 (s), 35.78 (s), 25.40 (s), 21.65 (s), 18.28 (s).

UV-Vis ( $CH_3CN$ ):  $\lambda$  (nm) = 202 ( $\epsilon = 4018 M^{-1}cm^{-1}$ ), 277 ( $\epsilon = 12026 M^{-1}cm^{-1}$ ).

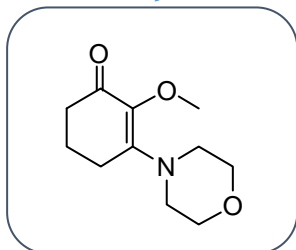
ES-MS (+) ( $C_9H_{13}NO_3 + H$ ): 184.0968

**Observaciones:** Aceite marrón

- Síntesis de precursores oxigenados

El último paso del esquema 4.3 se realiza de acuerdo a lo descrito para el mismo compuesto que presenta dos metilos en la posición 5 del ciclohexano.<sup>46</sup>

➤ **Compuesto 2:** 2-metoxi-3-morfolinociclohex-2-en-1-ona



Fórmula molecular:  $C_{11}H_{17}NO_3$

Peso molecular: 211.12 g/mol

Rendimiento: 70%

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 3.73 – 3.62 (m, 4H), 3.58 – 3.50 (m, 4H), 3.49 (s, 3H), 2.48 – 2.36 (m, 2H), 2.36 – 2.23 (m, 2H), 1.92 – 1.76 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 192.28 (s), 152.83 (s), 135.16 (s), 67.18 (s), 59.56 (s), 48.87 (s), 36.59 (s), 28.24 (s), 20.86 (s).

**ES-MS (+)** (C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub> + H): 212.1281

**Observaciones:** Aceite amarillo-naranja

- Síntesis de derivados con I, S, y Se

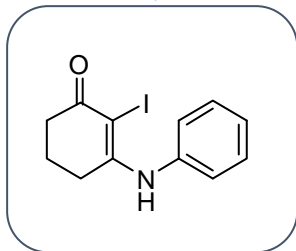
- Síntesis de enaminonas.

Se prepara una mezcla de amina (20 mmol), 1,3-ciclohexadiona (20 mmol) y ácido *p*-toluensulfónico (0.02 mmol) en 50 ml de tolueno anhidro. Adicionado todo, se calienta a reflujo de tolueno durante una noche. Transcurrido ese tiempo, se lleva a temperatura ambiente y se evapora a presión reducida. El crudo de reacción resulta la enaminona prácticamente pura.

- Síntesis de yodoenaminonas.

Se disuelve 1 mmol de tetrafluoroborato de bis(piridina)yodo(I), en 15 ml de diclorometano, a temperatura ambiente. A continuación se añade 1 mmol de enaminona y se deja evolucionar la reacción durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo, se filtra, se lava con 10 ml de disolución saturada de bicarbonato de sodio y se extrae con diclorometano (3x10 ml). Las fases orgánicas se juntan, se secan con sulfato de sodio y se evaporan a presión reducida. El crudo de reacción obtenido es la yodoenaminona prácticamente pura (> 95%).

➤ **Compuesto 3: 2-yodo-3-(fenilamino)ciclohex-2-enona**



Fórmula molecular: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>INO

Peso molecular: 313.13 g/mol

Rendimiento: 95%

**<sup>1</sup>H NMR** (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 8.620 (s, 1H), 7.39-7.44 (m, 2H), 7.29-7.33 (m, 2H), 7.15-7.18 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 2.55-2.64 (m, 4H), 1.90-1.94 (q, J = 6.3 Hz, 2H)

**<sup>13</sup>C NMR** (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 190.16 (s), 163.13 (s), 149.79 (s), 129.51 (s), 127.02 (s), 125.91 (s), 78.95 (s), 36.40 (s), 28.43 (s), 21.89 (s).

**UV-Vis** (CH<sub>3</sub>CN): λ (nm) = 297 (ε = 9541 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

**ES-MS (+)** (C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>INO + H) 314.0032.

**Observaciones:** Aceite marrón

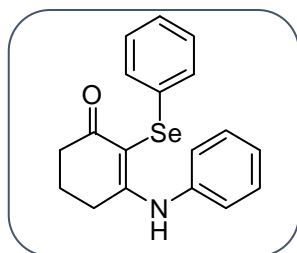
- Irradiación de yodoenaminonas.

Para irradiar se utiliza una lámpara de mercurio de media presión de 400 W con un filtro de Pyrex (corta λ < 290 nm). Elegida la lámpara y el filtro, se prepara una disolución 3-5 mM de compuesto yodado en unos 100 ml de acetonitrilo anhidro en el reactor de inmersión, se adicionan 20 equivalentes de atrapador de radicales y se desoxigena la mezcla burbujeando argón durante quince minutos.

Se enciende la lámpara y se irradia durante 2 h para el azufre y 1h para el selenio, siguiendo la reacción por CCF usando Hex:AcOEt (1:2) como eluyente.

Una vez acabada la reacción se evapora el disolvente a presión reducida y se purifica el crudo por cromatografía de columna usando el eluyente descrito anteriormente.

➤ **Compuesto 4:** 3-(fenilamino)-2-(fenilseleno)ciclohex-2-enona



Fórmula molecular:  $C_{18}H_{17}NOSe$

Peso molecular: 342.29 g/mol

Rendimiento: 27%

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm 8.26 (s, 1H), 7.32- 7.39 (m, 4H), 7.16- 7.28 (m, 4H), 7.01- 7.04 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.59-2.69 (m, 4H), 1.97-2.05 (q,  $J = 6.3$  Hz, 2H).

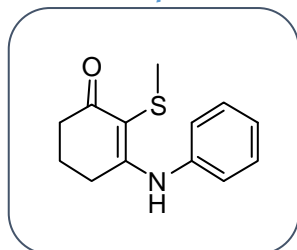
$^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm 192.87 (s), 166.49 (s), 137.53 (s), 131.22 (s), 129.39 (s), 129.18 (s), 129.04 (s), 126.78 (s), 126.08 (s), 125.67 (s), 101.32 (s), 37.29 (s), 27.95 (s), 21.62 (s).

UV-Vis ( $CH_3CN$ ):  $\lambda$  (nm) = 242 ( $\epsilon = 5983 M^{-1}cm^{-1}$ ), 303 ( $\epsilon = 11437 M^{-1}cm^{-1}$ ).

ES-MS (+) ( $C_{18}H_{17}NOSe + H$ ): 344.0553

Observaciones: Aceite marrón

➤ **Compuesto 5:** 2-(metiltio)-3-(fenilamino)ciclohex-2-enona



Fórmula molecular:  $C_{13}H_{15}NOS$

Peso molecular: 233.33 g/mol

Rendimiento: 50%

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm 7.39-7.42 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.25-7.29 (m, 1H), 7.13-7.15 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 2.57-2.60 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.49- 2.52 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.91-1.97 (q,  $J = 6.4$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 192.90 (s), 165.51 (s), 137.93 (s), 129.47 (s), 126.42 (s), 125.29 (s), 104.72 (s), 37.47 (s), 27.68 (s), 21.48 (s), 17.45 (s).

UV-Vis ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda$  (nm) = 310 ( $\epsilon = 12839 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

ES-MS (+) ( $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NOS} + \text{H}$ ): 234.1037

**Observaciones:** Aceite amarillo

### 7.3 Aspectos fotoquímicos

- Irradiación comparativa frente a compuestos comerciales

La irradiación se lleva a cabo con las muestras disueltas en  $\text{d}_4$ -MeOD y  $\text{CDCl}_3$  para los compuestos comerciales y directamente en tubo de Pyrex de RMN con una lámpara de Hg de media presión de 400W, siguiendo la fotodescomposición de los compuestos mediante RMN de protón. La descomposición de los compuestos comerciales se cuantificó mediante la adición de 1,3,5-trimetoxibenceno como patrón interno.

- Medidas de UV y luminiscencia.

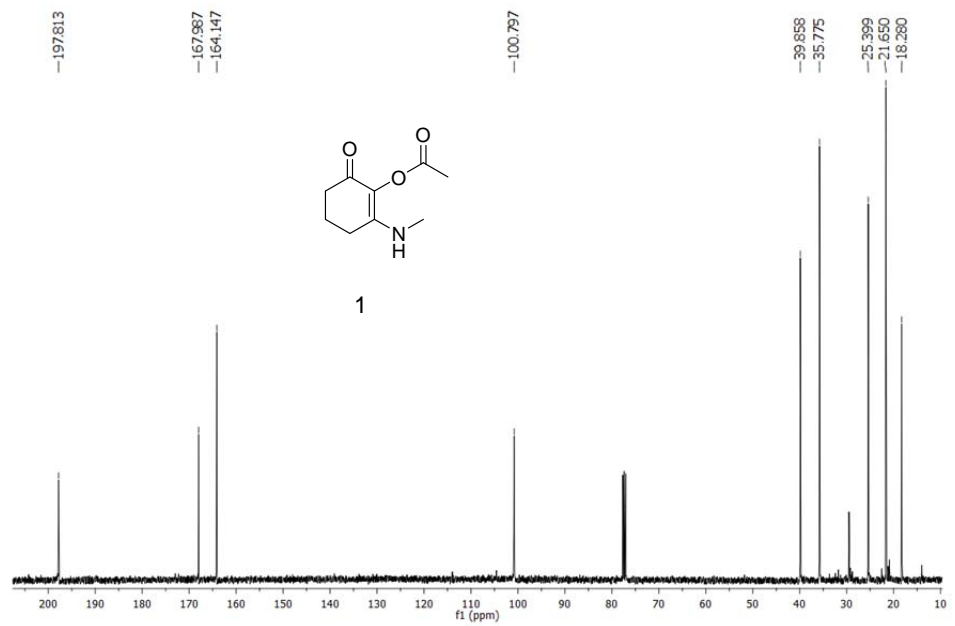
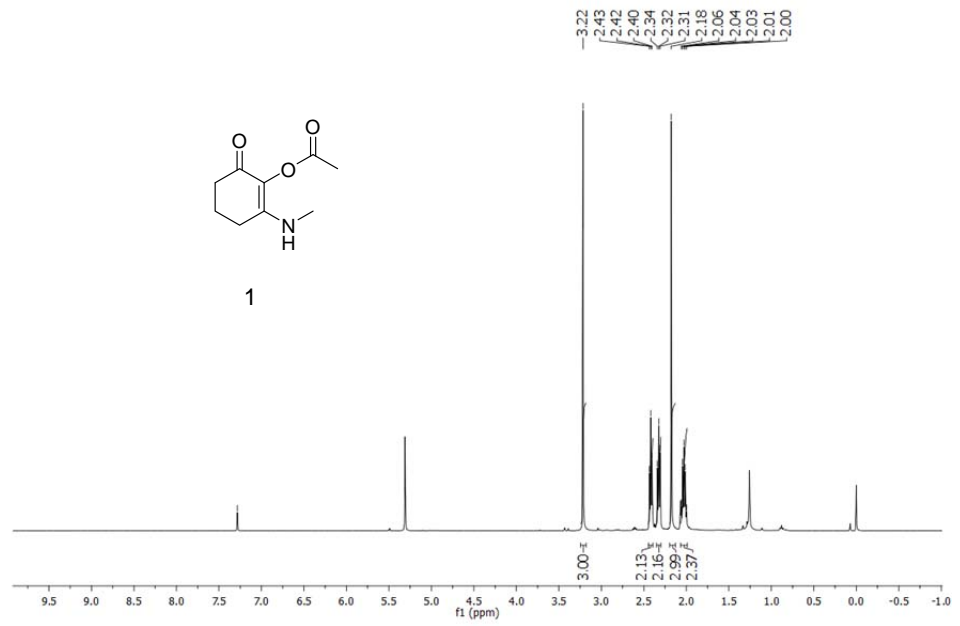
Las medidas se llevan a cabo usando una cubeta de cuarzo y una disolución del compuesto en acetonitrilo de una concentración aproximadamente de  $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ . Los datos obtenidos se trataron con Origin Pro 8.

## **Anexo I: Espectros RMN**

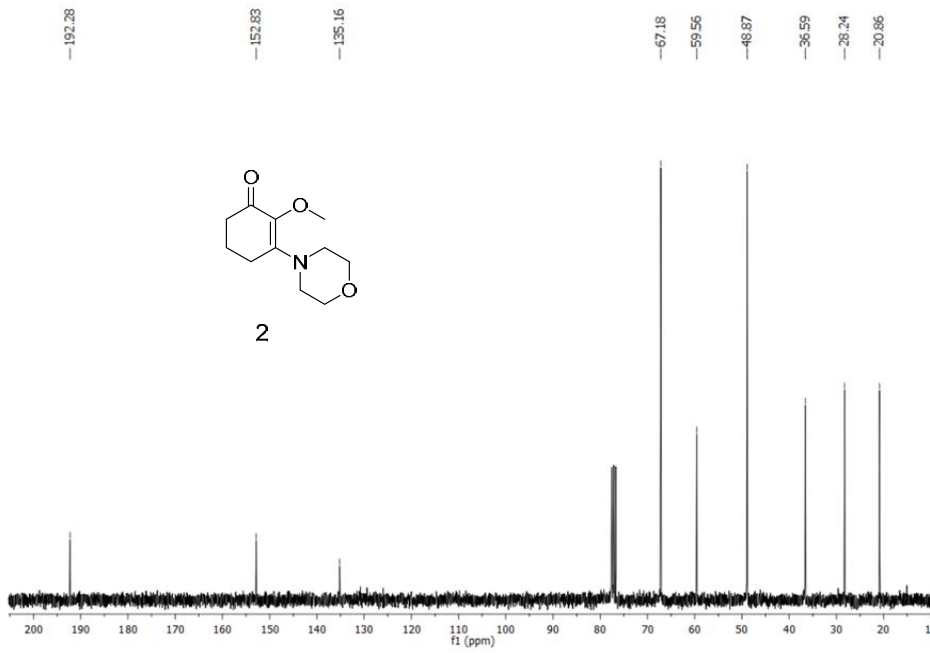
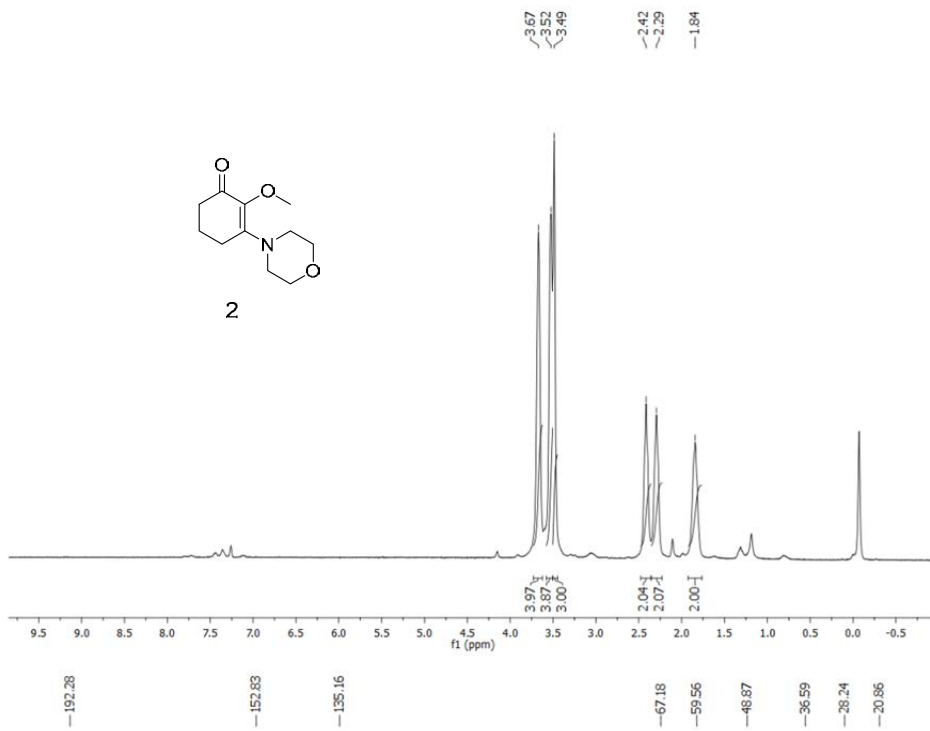




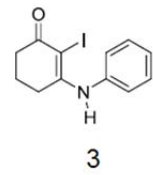
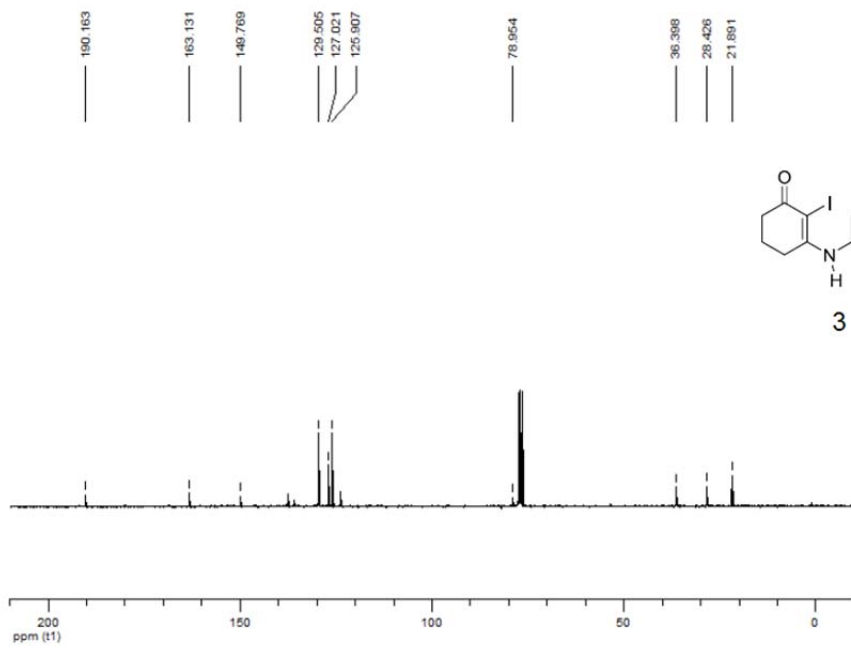
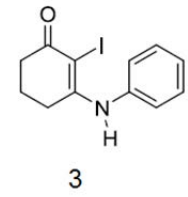
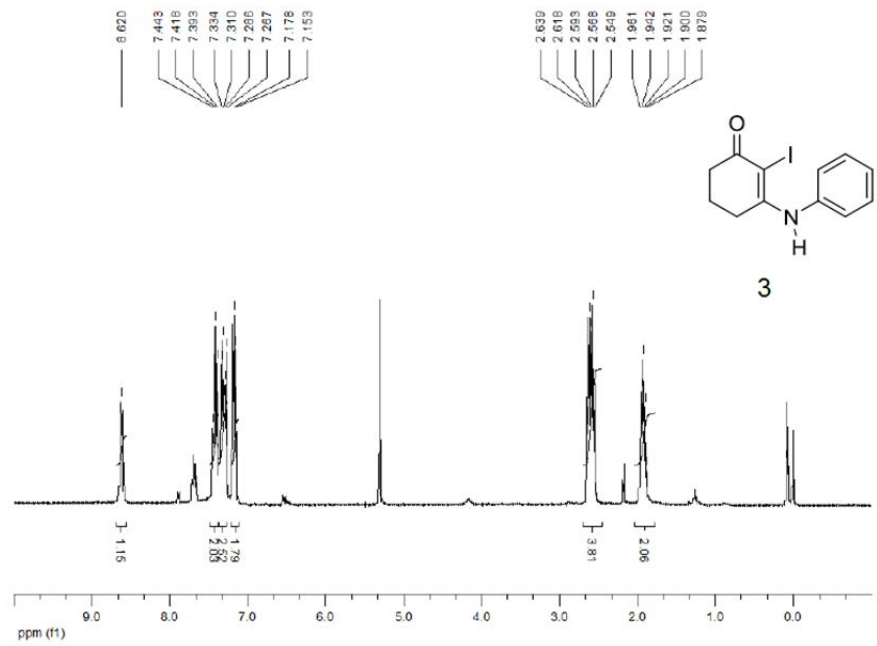
Compuesto 1



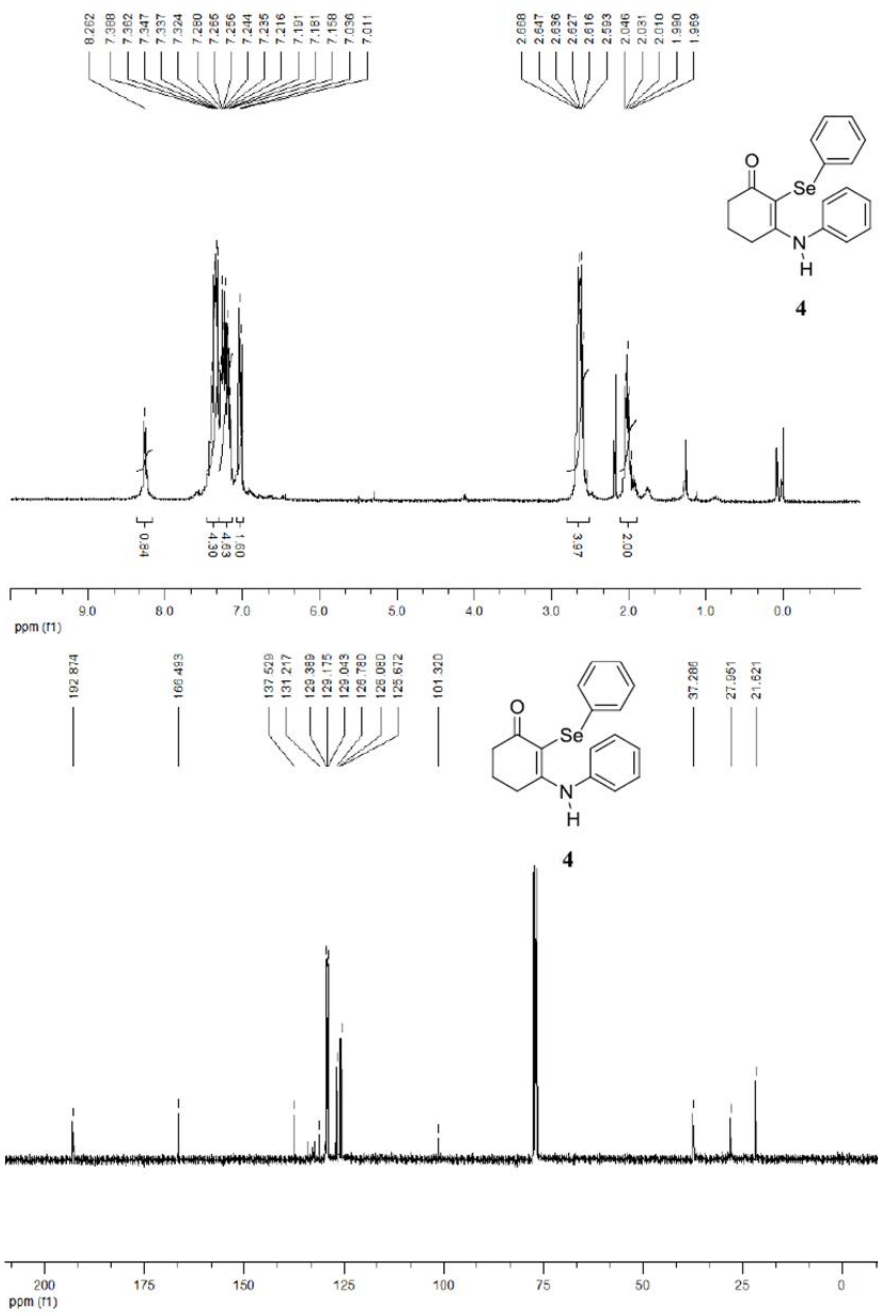
Compuesto 2



Compuesto 3



Compuesto 4



Compuesto 5

