



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**  
**Departamento de Química Orgánica y Físicoquímica**  
**Laboratorio de Cinética y Fotoquímica.**

**NUEVOS GLICOLÍPIDOS DERIVADOS DE LA FENALENONA:  
CAPACIDAD DE GENERAR OXÍGENO MOLECULAR SINGULETE.**

**Memoria para optar al título de Química**

**Paula Constanza Miranda Leighton**

**Patrocinante de Memoria**  
**Germán Gunther Sapunar**

**Director de Memoria**  
**Germán Gunther Sapunar**

**Santiago – Chile**

**2018**

## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer a todas las personas que me acompañaron durante estos 7 años que duró mi carrera de pregrado.

A mis compañeros de generación, con los cuales compartí muchos momentos, tanto académicos como fuera de ello. Gracias por hacer de estos años una grata experiencia.

Al laboratorio de Cinética y Fotoquímica por ser mi casa durante estos 2 años. Al Profe Germán, por aceptarme en la unidad de investigación y en la posterior tesis, donde estuve durante más de dos años. Gracias por acogerme, por llevarme a congresos y por la paciencia en este proceso.

No puedo dejar de mencionar a mi equipo de voleibol de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, actividad que realicé durante todos los años de mi carrera. Gracias por permitirme crecer en este hermoso deporte. A Loreto y Pía, con las cuales compartí la frustración en los momentos difíciles y la enorme alegría en los triunfos.

A mis amigos: a Patricio, por la constante preocupación y apoyo a pesar de la distancia, y a Martín por la grata compañía y por siempre ayudarme.

A mis amigas del voley, Pome y Flan, por las risas, buenos momentos y por compartir la locura por este deporte.

A mis compañeros de laboratorio y amigos, Beto y Christian, por las largas conversaciones y el fuerte apoyo en los momentos más cruciales. Gracias por escucharme y darme fuerzas para terminar el proceso.

A Bruno, por ser mi fiel compañero. Gracias por acogerme con un abrazo sincero y tranquilizarme en los momentos más difíciles, por quererme y por aguantarme en este largo proceso.

Y por último agradecer a mi familia. A mi hermano por ser quien me aguanta todos los días y por siempre creer en mí. Y a mi madre, por darme todo lo que tengo hasta ahora, por permitirme estudiar, por enseñarme todo lo que sé y por apoyarme en todos los pasos que doy. Gracias por ser la mejor madre.

## Índice

Índice de Figuras .....	3
Índice de Tablas .....	5
Resumen .....	7
Summary .....	8
1. Introducción .....	9
2. Objetivo .....	20
2.1 Objetivos específicos .....	20
3. Materiales y métodos .....	21
3.1 Reactivos y solventes .....	21
3.2 Síntesis de Glicolípidos .....	21
3.2.1 Síntesis de 6-hidroxi-1H-fenalen-1-ona (6OH) .....	21
3.2.2 Síntesis de 3-hidroxi-1H-fenalen-1-ona (3OH) .....	22
3.2.3 Síntesis de 3-((6-hidroxihexil)oxi)-1H-fenalen-1-ona (6C) .....	23
3.2.4 Síntesis de 3-((9-hidroxinonil)oxi)-1H-fenalen-1-ona (9C) .....	23
3.2.5 Síntesis de manosa peracetilada (Man(OAc)) .....	24
3.2.6 Síntesis de lactosa peracetilada (Lac(OAc)) .....	25
3.2.7 Síntesis de galactosa peracetilada (Gal(OAc)) .....	26
3.2.8 Síntesis de alquil acetomanopiranososa (Man(OAc)-6C) (O-glicosilación) .....	26
3.2.9 Síntesis de alquil acetogalactopiranososa (Gal(OAc)-6C) (O-glicosilación) .....	27
3.2.10 Desprotección de alquil aceto manopiranososa (Man-6C) .....	28
3.2.11 Desprotección de alquil aceto galactopiranososa (Gal-6C) .....	29
3.3 Mediciones fotofísicas y espectroscópicas .....	30
3.4 Determinación de concentración micelar crítica .....	31
4. Resultados y Discusión .....	32
4.1 Síntesis .....	32
4.2 Caracterización fotofísica .....	32
4.2.1 Absorción UV-Visible .....	33

4.2.2 Emisión .....	36
4.2.3 Fotoestabilidad .....	36
4.2.4 Generación y tiempos de vida de oxígeno molecular singulete .....	39
4.3 Caracterización fisicoquímica de los agregados .....	42
4.3.1 Determinación de concentración micelar crítica .....	42
4.3.2 Micelas mixtas .....	47
4.3.3 Generación de oxígeno molecular singulete en micelas mixtas ....	52
5. Conclusión .....	56
6.Referencias .....	57

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b>	Curvas de energía potencial para el oxígeno molecular en estado basal y en dos de sus estados electrónicamente excitados, $^1\Delta_g$ y $^1\Sigma_g$ .....	11
<b>Figura 2</b>	Diagrama de Perrin-Jablonski que indica las vías de desactivación de un estado excitado .....	13
<b>Figura 3</b>	Estructura química de la fenalenona .....	17
<b>Figura 4</b>	Espectro de absorción MAN-6C y GAL-6C en MeOH .....	34
<b>Figura 5</b>	Espectro de absorción de GAL-6C en ACN y H <sub>2</sub> O .....	34
<b>Figura 6</b>	Variación de la absorbancia con la concentración de Gal-6C en H <sub>2</sub> O. Regresión lineal $R^2 = 0,9998$ .....	35
<b>Figura 7</b>	Variación de absorbancia a $\lambda_{m\acute{a}x}$ , potencia 50% durante 15 min en MeOH-argón .....	37
<b>Figura 8</b>	Espectro de absorción a tiempo 0 [s] y 900 [s] de MAN-6C, GAL-6C y PNF en CHCl <sub>3</sub> – aire .....	37
<b>Figura 9</b>	Variación de absorbancia en fotólisis potencia 100% durante 10 min en CHCl <sub>3</sub> aire .....	38
<b>Figura 10</b>	Gráfico de decaimiento de oxígeno molecular singulete de MAN-6C y GAL-6C en MeOH (izquierda y derecha, respectivamente). En rojo, se observa el ajuste realizado a la curva y abajo sus residuos .....	39
<b>Figura 11</b>	Gráfico de tensión superficial ( $\gamma$ ) versus logaritmo de la concentración [mM] para TX-100 .....	43
<b>Figura 12</b>	Gráfico de tensión superficial ( $\gamma$ ) versus logaritmo de la concentración de surfactante [mM] para GAL-6C. El punto de intersección entre ambas rectas, corresponde a la CMC .....	44
<b>Figura 13</b>	Gráfico de Intensidad de emisión vs concentración [M] para MAN-6C y GAL -6C .....	45

<b>Figura 14</b> Gráfico de Intensidad de emisión vs concentración [M] para GAL -6C. Se observa el punto correspondiente a la CMC .....	46
<b>Figura 15</b> Gráfico de tensión superficial versus concentración en escala lineal para MAN-6C y GAL-6C al 10% (izquierda) y en escala logarítmica para MAN-6C al 30% (derecha). La intersección entre ambas rectas, indica la CMC .....	48
<b>Figura 16</b> Gráfico de absorbancia versus concentración para 10% GAL-6C. Regresión lineal $R^2 = 0,9993$ .....	51
<b>Figura 17</b> Gráfico de la simulación del decaimiento de oxígeno molecular singulete variando el índice de refracción. De $n = 1,32$ (azul), 1,34 (verde), 1,36 (rojo) a 1,38 (blanco) .....	55

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b>	Coeficientes de absorptividad molar ( $\epsilon$ ) de alcoholes precursores .....	33
<b>Tabla 2</b>	Coeficientes de absorptividad ( $\epsilon$ ) de MAN-6C y GAL-6C en distintos solventes .....	34
<b>Tabla 3</b>	$\epsilon$ [ $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ] ( $\lambda_{\text{max}}$ / nm) de MAN-6C y GAL-6C en $\text{H}_2\text{O}$ .....	35
<b>Tabla 4</b>	$\Delta A$ (%) entre 0 y 900 [s] con potencia led 50% .....	36
<b>Tabla 5</b>	Rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singulete ( $\Phi_{\Delta}$ ) de los alcoholes precursores .....	40
<b>Tabla 6</b>	Tiempos de vida de triplete ( $\tau_T$ ) de los alcoholes precursores .....	40
<b>Tabla 7</b>	Tiempos de vida de triplete ( $\tau_T$ ) de MAN-6C, GAL-6C y PNF en distintos solventes bajo aire .....	40
<b>Tabla 8</b>	Tiempos de vida de oxígeno molecular singulete ( $\tau_{\Delta}$ ) de MAN-6C, GAL-6C y PNF en distintos solventes .....	41
<b>Tabla 9</b>	Rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singulete ( $\Phi_{\Delta}$ ) de MAN-6C y GAL-6C en distintos solventes. (Abs = 0,2) .....	41
<b>Tabla 10</b>	Concentración micelar crítica (CMC) de Tritón X-100 .....	43
<b>Tabla 11</b>	Concentración micelar crítica (CMC) para MAN-6C y GAL 6C obtenido mediante tensión superficial, en presencia de DMSO .....	44
<b>Tabla 12</b>	Concentración micelar crítica (CMC) para MAN-6C y GAL 6C obtenido mediante intensidad de emisión .....	46
<b>Tabla 13</b>	Concentración micelar crítica (CMC) de MAN-6C y GAL-6C en micelas mixtas .....	48
<b>Tabla 14</b>	Exceso superficial ( $\Gamma$ ) y área molecular (A) de MAN-6C, GAL-6C y Tritón X-100 .....	49

<b>Tabla 15</b> Exceso superficial ( $\Gamma$ ) de MAN-6C y GAL-6C a diferentes proporciones de surfactante .....	49
<b>Tabla 16</b> Área molecular (A) de MAN-6C y GAL-6C a diferentes proporciones de surfactante .....	50
<b>Tabla 17</b> Coeficientes de absorción molar ( $\epsilon$ ) de MAN-6C y GAL-6C a longitud de onda máxima de absorción ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) en micelas mixtas con TX-100 de diferentes proporciones .....	51
<b>Tabla 18</b> Tiempos de vida de triplete ( $\tau_T$ ) y de oxígeno molecular singulete ( $\tau_\Delta$ ) de MAN-6C, GAL-6C y PNF a distintas composiciones de micelas mixtas. (Abs = 0,28) .....	52
<b>Tabla 19</b> Rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete ( $\Phi_\Delta$ ) de MAN-6C a distintas concentraciones en diferentes composiciones de micelas mixtas. Concentración en amarillo: bajo CMC. Concentración en azul: sobre la CMC .....	53
<b>Tabla 20</b> Rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete ( $\Phi_\Delta$ ) de GAL-6C a distintas concentraciones en diferentes composiciones de micelas mixtas. Concentración en amarillo: bajo CMC. Concentración en azul: sobre la CMC .....	54

## Resumen

El grupo de biomoléculas constituidas por una cadena lipídica y un monosacárido u oligosacárido como grupo hidrofílico recibe el nombre genérico de glicolípidos. La presencia simultánea de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos les permite agregarse espontáneamente para formar estructuras micelares. Las moléculas de azúcar ubicadas en la superficie celular como glicoconjugados, participan en la modulación de un gran número de procesos biológicos que involucran interacciones célula-célula. Como consecuencia, los glicolípidos pueden ser considerados como bioadhesivos y son buenos candidatos para entregar drogas en puntos específicos. La fenalenona es un muy buen generador de oxígeno molecular singulete independientemente del medio en el que se encuentre.

En este trabajo se sintetizaron dos glicolípidos derivados de la fenalenona: con manosa y galactosa como azúcar. Se caracterizaron fotofísicamente, mediante absorción UV-Visible, fotoestabilidad y generación de oxígeno molecular singulete. Además, se estudiaron los agregados micelares formados por estos glicolípidos mediante la concentración micelar crítica y se evaluaron los rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singulete en micelas.

Los glicolípidos sintetizados (MAN-6C y GAL-6C) presentaron el mismo comportamiento fotofísico que la fenalenona, es decir, los sustituyentes agregados no modifican su capacidad de absorción, su fotoestabilidad ni su capacidad de generar  $^1\text{O}_2$ , siendo buenos sensibilizadores de oxígeno molecular singulete.

Los glicolípidos MAN-6C y GAL-6C son poco solubles en agua, sin embargo, micelizan en medio acuoso a partir de una CMC  $\sim 0,2$  [mM]. Además, pueden formar micelas mixtas con Tritón X-100 aumentando su solubilidad en medio acuoso. MAN-6C y GAL-6C poseen elevados rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singulete en agua, en medio homogéneo y microheterogéneo (micelas).

## Summary

New glycolipids derived from phenalenone: capacity to generate singlet molecular oxygen

The group of biomolecules constituted by a lipid chain and a monosaccharide or oligosaccharide as a hydrophilic group is known generically as glycolipids. The simultaneous presence of hydrophilic and hydrophobic groups allows them to aggregate spontaneously to form micellar structures. Sugar molecules located on the cell surface as glycoconjugates, participate in the modulation of many biological processes that involve cell-cell interactions. Therefore, glycolipids can be considered as bioadhesives and are good candidates for delivering drugs at specific points. Phenalenone is a very good singlet molecular oxygen generator regardless of the medium in which it is found.

In this work, two glycolipids derived from phenalenone were synthesized: with mannose and galactose as sugar. They were characterized photo-physically by UV-Visible absorption, photostability and generation of singlet molecular oxygen. In addition, the micellar aggregates formed by these glycolipids were studied by the critical micellar concentration and the quantum yields of singlet molecular oxygen generation in micelles were evaluated.

The glycolipids synthesized (MAN-6C and GAL-6C) have a photophysical behavior similar to phenalenone, that is, the substituents do not modify their absorption capacity, their photostability or their capacity to generate  $^1\text{O}_2$ , being good sensitizers of singlet molecular oxygen.

The glycolipids MAN-6C and GAL-6C are poorly soluble in water, however, they micellize in aqueous medium with CMC  $\sim 0.2$  [mM]. In addition, they can form mixed micelles with Tritón X-100 increasing their solubility in aqueous medium. MAN-6C and GAL-6C have high quantum yields of singlet molecular oxygen generation in water, in homogeneous and microheterogeneous medium (micelles).

## 1. INTRODUCCIÓN

Glicolípido es el nombre genérico que reciben los grupos de moléculas constituidas por al menos una cadena lipídica y un monosacárido u oligosacárido como grupo hidrofílico. Los más comunes tienen galactosa, manosa, fucosa, glucosa, glucosamina o ácido siálico como azúcar. Poseen diversas aplicaciones debido a su carácter anfifílico, una de ellas es su uso como tensoactivo para la remoción y posterior biodegradación de contaminantes.<sup>[1]</sup> Juegan un importante papel en diversos procesos biológicos, debido a que se encuentran presentes en la membrana celular. Entre otras actividades, podemos mencionar que los glicolípidos participan del proceso de transducción de señales celulares, actúan como receptores moleculares en bacterias y toxinas bacteriales, son moduladores en la proliferación celular y biosurfactantes.<sup>[2]</sup> Las moléculas de azúcar presentes en el glicolípido quedan expuestas en la superficie celular, con cadenas flexibles y varios sitios de unión que les permiten participar en un gran número de procesos biológicos que involucran interacciones célula-célula,<sup>[2]</sup> por ejemplo, sustancias del grupo sanguíneo-inmunoglobulinas, antígenos bacterianos-anticuerpos, carbohidratos-proteínas, entre otros.<sup>[3]</sup> Como consecuencia, son un foco de estudio para propósitos inmunológicos (detección, antígenos artificiales, etc.) y como marcadores de patógenos. Debido a esto, se busca sintetizar nuevos glicolípidos que, con su porción hidrofílica (azúcar), sean capaces de interactuar con receptores celulares específicos como proteínas, mientras que en su porción hidrofóbica se puedan enlazar grupos con propiedades que permitan detectar, cuantificar y/o degradar la molécula objetivo.<sup>[3]</sup>

La presencia simultánea de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en los glicolípidos les permite autoensamblarse espontáneamente en diversas estructuras, dependiendo de múltiples factores, tales como la temperatura, el pH, el solvente, la concentración, etc. En solución acuosa, la formación de estas estructuras ocurre gracias a dos fuerzas opuestas que participan. La primera, es una fuerza atractiva entre las partes hidrofóbicas del anfifilo en la interfase, lo cual induce que estas moléculas se

asocian. La segunda, corresponde a repulsión estérica de las cabezas hidrofílicas. Estas dos fuerzas opuestas generan la existencia de distintos tipos de estructuras agregadas, pues se ordenan de manera de alcanzar la menor energía.<sup>[4]</sup> A concentraciones muy bajas, forman una monocapa en la interfase aire-agua. A medida que se aumenta la concentración, esto se mantiene hasta que sobrepasa un límite, denominado concentración micelar crítica (CMC), punto en el cual forman agregados esféricos, llamados micelas.<sup>[5]</sup> Cabe destacar que este fenómeno de micelización está fuertemente favorecido desde el punto de vista entrópico.

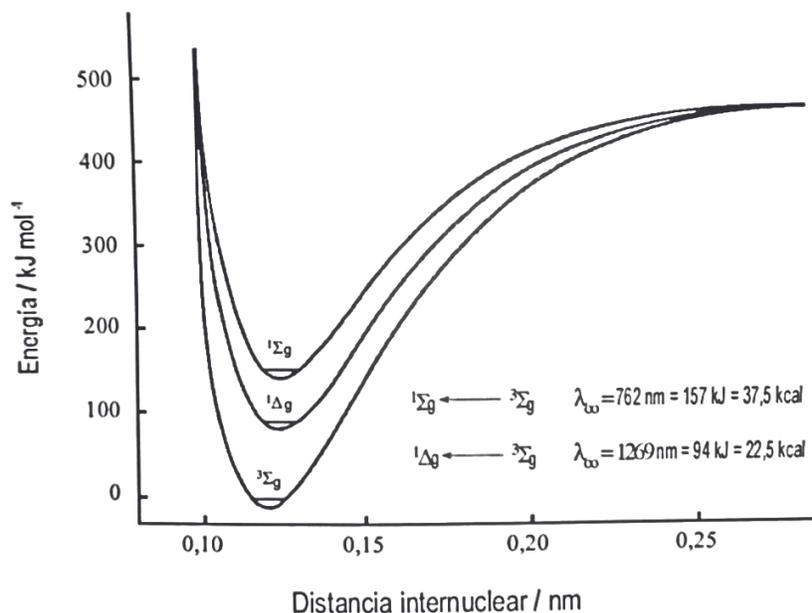
Las micelas poseen diversas aplicaciones en el campo científico y tecnológico. Dentro de los más destacados se encuentra su capacidad de solubilizar sustancias, catalizar reacciones, encapsular y transportar drogas en medios acuosos y sus usos como detergente.<sup>[6]</sup> Debido a la gran utilidad de las micelas y al aumento del interés por sus propiedades, es que se ha buscado optimizar sus características, mediante el uso de mezcla de surfactantes o micelas mixtas. Las micelas mixtas a menudo involucran interacciones sinérgicas en solución, resultando en una mejora de ciertas propiedades para un uso específico<sup>[7]</sup> como, por ejemplo, mayor capacidad de solubilizar, capacidad de modificar el proceso de agregación, entre otros. Las micelas mixtas pueden formarse a partir de surfactantes de diferentes propiedades y naturaleza, según la aplicación que se desee. Así es como ha surgido un gran interés por estudiar el comportamiento de micelas mixtas de distintas familias y estructuras como, por ejemplo, la mezcla de un surfactante basado en un azúcar con otro surfactante etoxilado no iónico (Tritón X-100, polietilenglicol, etc).<sup>[8-16]</sup>

En base a estos antecedentes, nuestra intención es sintetizar diversos tipos de glicolípidos, donde en la parte hidrofóbica incorporaremos una molécula capaz de modificar el proceso de agregación y que posea propiedades fotofísicas de nuestro interés. Una de estas propiedades corresponde a la generación de oxígeno molecular singulete.

El oxígeno molecular singulete fue descubierto en 1924, pero no fue hasta 1963 cuando Khan y Kasha fueron capaces de interpretar que la quimioluminiscencia

generada en la reacción de hipoclorito-peróxido era causada por el estado singlete del oxígeno.<sup>[17]</sup>

El oxígeno molecular posee en su estado basal una distribución electrónica de triplete ( $^3\Sigma_g$ ). Sus estados electrónicos excitados de menor energía corresponden a dos estados con carácter singlete,  $^1\Delta_g$  y  $^1\Sigma_g$ , de 22,5 kcal/mol y de 37,5 kcal/mol respectivamente, por sobre el basal (Fig. 1).<sup>[18]</sup>



**Fig. 1** Curvas de energía potencial para el oxígeno molecular en estado basal y en dos de sus estados electrónicamente excitados,  $^1\Delta_g$  y  $^1\Sigma_g$ .

La diferencia de energía entre el estado basal y el primer estado singlete excitado es baja, por lo que éste se forma con relativa facilidad. La transición desde el estado  $^1\Delta_g$  al  $^3\Sigma_g$  es prohibida por espín, por lo tanto, el oxígeno molecular singlete presenta largos tiempos de vida. El segundo estado singlete excitado es de vida corta debido a que la transición al estado  $^1\Delta_g$  es permitida por espín. Esto se refleja en los valores de tiempo de vida del oxígeno en fase gas: 45 minutos para  $^1\Delta_g$  y 7-12 segundos para  $^1\Sigma_g$ . En solución estos valores disminuyen notablemente, pero manteniendo la tendencia anterior (con tiempo de  $10^{-6} - 10^{-3}$  [s] y  $10^{-11} - 10^{-9}$  [s], respectivamente).<sup>[18]</sup> El oxígeno molecular puede participar de reacciones de tipo

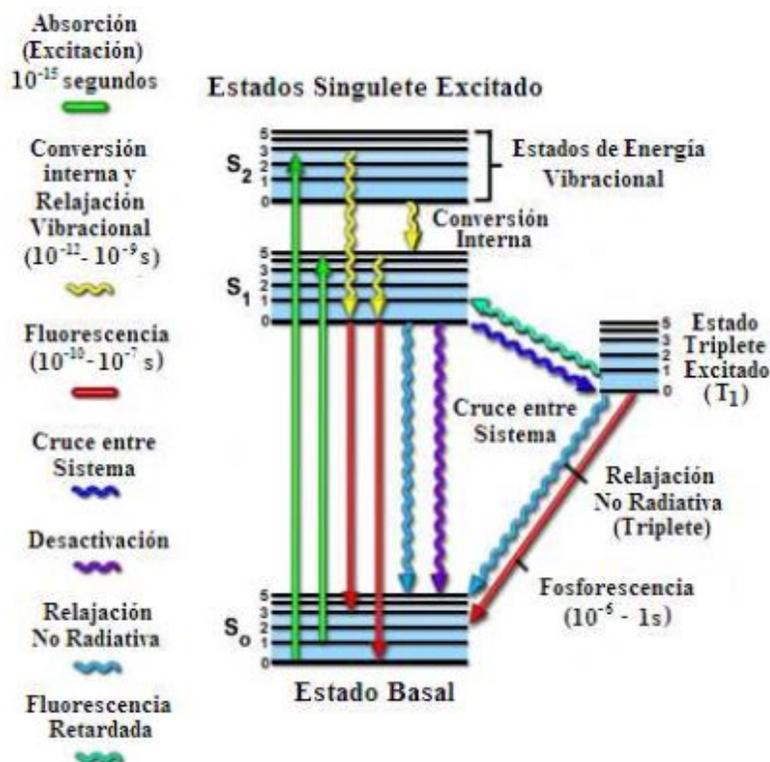
redox, pero su estado basal triplete le dificulta participar en un gran número de reacciones de transferencia de energía favorables energéticamente como consecuencia de las prohibiciones cuánticas relacionadas con la conservación de espín.<sup>[19]</sup> Sin embargo, el oxígeno molecular singulete puede reaccionar con sustratos orgánicos debido a que la mayoría de estas sustancias presentan en su estado basal multiplicidad de espín singulete. Debido a esto, al exceso de energía que presenta y a los tiempos de vida “largos”, el oxígeno molecular singulete puede reaccionar eficientemente con moléculas orgánicas.

A pesar de ser una transición prohibida de espín, se observa en espectros de absorción y de emisión una banda a ~ 1270 nm que corresponde a la transición de  $^1\Delta_g \longleftrightarrow ^3\Sigma_g$ , debido a su metaestabilidad. La existencia de esta emisión en el infrarrojo permite detectar y medir la generación de oxígeno molecular singulete y su decaimiento.

El oxígeno molecular singulete se genera mediante procesos físicos y químicos.<sup>[20-23]</sup> Entre los químicos destaca: la descomposición de peróxido de hidrógeno en presencia de hipoclorito, descomposición térmica de ozónidos, de dioxetanos y de endoperóxidos. Entre los procesos físicos se encuentran: las descargas eléctricas directas sobre una corriente de oxígeno y las descargas de microondas, entre otros. Otro tipo de método de generación de oxígeno molecular singulete es mediante procesos fotoquímicos como, por ejemplo, la fotólisis de ozono, la excitación directa de oxígeno y la fotosensibilización, procedimiento que será explicado más adelante.

Tras excitar una molécula con radiación electromagnética, ésta siempre vuelve al estado basal, mediante diversas vías posibles de desactivación. El proceso, como muestra la Figura 2, se inicia con la absorción de un fotón, el que permite que la molécula se excite hasta un nivel electrónico superior determinado. Si se alcanzan niveles vibracionales distintos al basal, se pueden desactivar mediante relajación vibracional, si es dentro de un mismo estado electrónico, o vía conversión interna, si ocurre entre estados vibracionales isoenergéticos de diferentes estados electrónicos de igual multiplicidad. En ambas vías se libera energía mediante calor sin emisión de luz (transiciones no radiativas). Otra vía de desactivación posible es

la fluorescencia, que corresponde a la relajación del estado singulete excitado  $S_1$  al basal  $S_0$  mediante emisión de un fotón. Por otra parte, la energía del estado excitado puede ser liberada mediante un proceso no radiativo en forma de calor, denominado relajación no radiativa. También puede ocurrir un fenómeno denominado cruce entre sistemas, que corresponde a la transición del estado singulete excitado al estado triplete excitado de más baja energía ( $S_1 - T_1$ ). De este estado triplete, se puede emitir un fotón mediante el proceso fosforescencia llegando al estado basal, o puede devolverse al estado singulete excitado y disipar la energía mediante un fotón generando una fluorescencia retardada. La desactivación o “quenching”, es otra vía de relajación no radiativa en la que el fluoróforo excitado interacciona con otra molécula (desactivador) al que le transfiere su energía.



**Fig. 2** Diagrama de Perrin-Jablonski que indica las vías de desactivación de un estado excitado.

En particular, el oxígeno molecular singulete en solución, puede desactivarse mediante tres vías principalmente: decaimiento radiativo, interacciones con el solvente e interacciones con desactivantes presentes en el medio (quenching). Por este motivo, los tiempos de vida del oxígeno dependen notablemente de esos

factores. De manera aislada y en fase gas, la única vía de desactivación corresponde a decaimiento radiativo, por ende, es la constante radiativa la que determina el tiempo de vida del oxígeno. Al no haber interacciones que faciliten la transición prohibida del estado singulete excitado al estado triplete basal del oxígeno, presentará tiempos de vida largos. Los tiempos de vida del oxígeno molecular singulete en fases condensadas dependen fuertemente de las propiedades del solvente. Las interacciones por colisión entre el oxígeno singulete con otras moléculas favorecen que la transición prohibida sea más permitida reduciendo significativamente los valores de tiempo de vida.

Como la diferencia de energía entre el estado triplete basal y el estado excitado singulete del oxígeno molecular es baja, ésta puede transferirse fácilmente a través de la desactivación de otra molécula fotoexcitada desde su estado excitado triplete de más baja energía hasta el basal, mediante cruce entre sistemas (como se detalló anteriormente) generando oxígeno molecular singulete, mediante el proceso conocido como fotosensibilización. Las moléculas que presentan esta capacidad se denominan sensibilizadores de oxígeno molecular singulete.<sup>[24]</sup>



Para considerar una molécula como un buen sensibilizador, ésta debe poseer ciertas características: presentar un alto coeficiente de extinción molar a la longitud de onda de excitación, tener un estado triplete con energía mayor o igual a 22,5 kcal (energía del estado singulete excitado de menor energía del oxígeno molecular, para realizar una transferencia de energía eficiente al oxígeno en estado basal) y tiempo de vida largo (mayor a 1  $\mu\text{s}$ ), y finalmente tener un alto rendimiento de generación de triplete (mayor a 0,4). Por todo lo anterior, el ser un sensibilizador eficiente depende de sus propiedades fotofísicas, por ende, debe ser altamente fotoestable. Otra característica importante, es que el sensibilizador no desactive al oxígeno singulete mediante quenching químico o físico, pues de lo contrario,

además de consumirse el sensibilizador, se generaría una menor cantidad de oxígeno molecular singlete.

Debido a lo anterior, son pocos los sensibilizadores que cumplen con todas las propiedades señaladas. Wilkinson<sup>[25]</sup> propuso un esquema general (esquema 1) donde se incluyen todos los posibles procesos elementales involucrados en la generación de oxígeno molecular singlete en solución y mediante fotosensibilización. En este esquema, S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub> y T<sub>1</sub> son el estado basal, el estado singlete excitado de más baja energía y el estado triplete excitado de más baja energía del sensibilizador, respectivamente. M es cualquier sustrato capaz de desactivar (quenching) física o químicamente el oxígeno molecular singlete.

### Esquema 1<sup>[25]</sup>

	Constantes de velocidad	Rendimientos cuánticos y Probabilidades Fraccionales
1 S <sub>0</sub> + hν → S <sub>1</sub>	Velocidad = I <sub>a</sub>	
2 S <sub>1</sub> → S <sub>0</sub> + hν <sub>F</sub>	k <sub>F</sub>	$\phi_F = \frac{k_F}{k_{SD}}$ $\phi_T = \frac{k_{isc}}{k_{SD}}$
3 S <sub>1</sub> → S <sub>0</sub>	k <sub>ic</sub>	
4 S <sub>1</sub> → T <sub>1</sub>	k <sub>isc</sub>	
5 S <sub>1</sub> + O <sub>2</sub> → T <sub>1</sub> + <sup>1</sup> O <sub>2</sub> *	k <sub>S<sub>1</sub>A</sub> <sup>O<sub>2</sub></sup>	$f_{\Delta}^S = k_{S_{1A}}^{O_2} / k_{S_{1Q}}^{O_2}$ $f_{T_1}^{O_2} = (k_{S_{1A}}^{O_2} + k_{isc}^{O_2}) / k_{S_{1Q}}^{O_2}$ $P_{S_1}^{O_2} = k_{S_{1Q}}^{O_2} [O_2] / (k_{SD} + k_{S_{1Q}}^{O_2} [O_2])$ $1 - P_{S_1}^{O_2} = I / (I + k_{S_{1Q}}^{O_2} \tau_S^0 [O_2])$ $\phi_{O_2}^{O_2} = \phi_T (1 - P_{S_1}^{O_2}) + f_{T_1}^{O_2} P_{S_1}^{O_2}$
6 S <sub>1</sub> + O <sub>2</sub> → T <sub>1</sub> + <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	k <sub>isc</sub> <sup>O<sub>2</sub></sup>	
7 S <sub>1</sub> + O <sub>2</sub> → S <sub>0</sub> + <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	k <sub>S<sub>1</sub>D</sub> <sup>O<sub>2</sub></sup>	
8 S <sub>1</sub> + O <sub>2</sub> → productos	k <sub>S<sub>1</sub>r</sub> <sup>O<sub>2</sub></sup>	
9 T <sub>1</sub> → S <sub>0</sub> + hν <sub>P</sub>	k <sub>T<sub>1</sub>P</sub>	$k_{TD} = (\tau_{T_1}^0)^{-1}$ $f_{\Delta}^T = k_{T_{1A}}^{O_2} / k_{T_{1Q}}^{O_2}$ $P_{T_1}^{O_2} = k_{T_{1Q}}^{O_2} [O_2] / (k_{TD} + k_{T_{1Q}}^{O_2} [O_2])$
10 T <sub>1</sub> → S <sub>0</sub>	k <sub>T<sub>1</sub>D</sub>	
11 T <sub>1</sub> + O <sub>2</sub> → S <sub>0</sub> + <sup>1</sup> O <sub>2</sub> *	k <sub>T<sub>1</sub>A</sub> <sup>O<sub>2</sub></sup>	
12 T <sub>1</sub> + O <sub>2</sub> → S <sub>0</sub> + <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	k <sub>T<sub>1</sub>D</sub> <sup>O<sub>2</sub></sup>	$k_{\Delta} = \tau_{\Delta}^{-1}$ $f_{\Delta}^{\Delta} = k_{\Delta P} / (k_{\Delta P} + k_{\Delta d})$
13 T <sub>1</sub> + O <sub>2</sub> → productos	k <sub>T<sub>1</sub>r</sub> <sup>O<sub>2</sub></sup>	
14 <sup>1</sup> O <sub>2</sub> * → <sup>3</sup> O <sub>2</sub> + hν <sub>P</sub>	k <sub>ΔP</sub>	$k_M = \tau_M^{-1}$ $f_r^M = k_r^M / (k_r^M + k_q^M)$
15 <sup>1</sup> O <sub>2</sub> * → <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	k <sub>Δd</sub>	
16 <sup>1</sup> O <sub>2</sub> * + M → productos	k <sub>r</sub> <sup>M</sup>	
17 <sup>1</sup> O <sub>2</sub> * + M → <sup>1</sup> M + <sup>3</sup> O <sub>2</sub>	k <sub>q</sub> <sup>M</sup>	

- $f_{\Delta}^S$  = fracción de S<sub>1</sub> desactivado por O<sub>2</sub> que produce <sup>1</sup>O<sub>2</sub>\*
- $f_{T_1}^{O_2}$  = fracción de S<sub>1</sub> desactivado por O<sub>2</sub> que produce T<sub>1</sub>
- $f_{\Delta}^T$  = fracción de T<sub>1</sub> desactivado por O<sub>2</sub> que produce <sup>1</sup>O<sub>2</sub>\*
- $P_{S_1}^{O_2}$  = proporción de S<sub>1</sub> desactivado por O<sub>2</sub>
- $P_{T_1}^{O_2}$  = proporción de T<sub>1</sub> desactivado por O<sub>2</sub>

Como se aprecia en el esquema anterior, la generación de oxígeno singlete puede involucrar el estado excitado singlete y/o triplete del sensibilizador (Ecs.5 y 11). Si los tiempos de vida del estado excitado singlete del sensibilizador son muy cortos, este estado no alcanza a colisionar con una molécula de oxígeno basal durante su

tiempo de vida (antes decaerá al estado basal o cruzará al estado triplete excitado), por lo que la generación de oxígeno singulete, para estos casos, sólo involucraría la participación del estado triplete excitado del sensibilizador. A su vez, si el oxígeno molecular reacciona químicamente con los estados excitados del sensibilizador generando producto se perdería sensibilizador. En el esquema Wilkinson se incluyen todas las posibles vías de desactivación del oxígeno molecular singulete con sus respectivas constantes cinéticas.

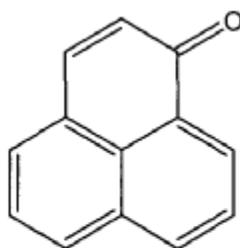
En principio, para determinar el rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete,  $\Phi_{\Delta}$ , se debería considerar el aporte del singulete y del triplete excitado. El rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete incluye la constante cinética de cada uno de los procesos que involucran generación de  $^1\text{O}_2$ , el tiempo de vida de el/los estado/s excitado/s que generan  $^1\text{O}_2$  (inverso de la sumatoria de todas las constantes cinéticas que desactivan a el/los estado/s excitado/s) y el rendimiento cuántico de generación de ese estado excitado. A partir de estas consideraciones y del sistema en particular a considerar, se pueden eliminar algunas variables y simplificar el esquema 1.

Se han realizado diversos estudios para encontrar moléculas con un alto  $\Phi_{\Delta}$  vía fotosensibilización. Naftalenos, bifenilos, antracenos y cetonas aromáticas fueron un foco de estudio.<sup>[18]</sup> En ellos se demostró la existencia de competencia entre transferencia de carga y transferencia de energía. Como se dijo anteriormente, el oxígeno molecular singulete se origina mediante transferencia de energía, mientras que las interacciones de transferencia de carga pueden ser mediante transferencia de un hidrógeno o un electrón, generando otras especies reactivas de oxígeno, como peróxidos o superóxidos, etc.<sup>[18]</sup> Debido a eso, se busca reducir o eliminar la posibilidad de que ocurra una transferencia de carga pues disminuye la generación de oxígeno molecular singulete. Se ha demostrado que, al modificar sustituyentes, se altera la distribución electrónica del sensibilizador, por ende, el mecanismo predominante para su desactivación. Esto se observa en la disminución o aumento del rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete.<sup>[18]</sup>

La rosa de bengala y el azul de metileno son sensibilizadores comúnmente utilizados en investigación, con  $\Phi_{\Delta}$  de 0,76 y 0,53 absorbiendo en las regiones de 480-550 nm y 550-700 nm respectivamente.<sup>[18,26]</sup> Las cetonas aromáticas fueron un objeto de estudio, pero su eficiencia en la generación de oxígeno molecular singlete dependía fuertemente del solvente utilizado. Sin embargo, se encontró un sensibilizador con un alto rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singlete: la fenalenona.<sup>[27]</sup>

La fenalenona o perinaftenona es una molécula de estructura aromática con una cetona cíclica conjugada (Fig 3), con rendimiento de cruce entre sistemas cercanos a 1 y que no reacciona con el oxígeno molecular singlete lo que genera rendimientos cuánticos de oxígeno molecular singlete  $\sim 1$ , tanto en solventes polares como no polares, haciéndolo interesante para estudios fotoquímicos y fotobiológicos.<sup>[27]</sup>

La fenalenona es un compuesto soluble en la mayoría de los solventes (incluso agua) y es fotoestable, es decir, no presenta fotodescomposición. Se ha demostrado que la fenalenona se puede utilizar como compuesto de referencia universal para determinar rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singlete en solución, debido a que sus  $\Phi_{\Delta}$  son cercanos a la unidad, independientemente de su concentración, del solvente y de la longitud de onda de excitación (en un rango de  $337 \leq \lambda \leq 436$  nm).<sup>[27]</sup>



**Fenalenona**

**Fig. 3** Estructura química de la fenalenona

El oxígeno molecular singulete es una especie excitada que pertenece al grupo de sustancias denominadas especies reactivas del oxígeno (ROS). A este grupo pertenecen el radical hidroxilo, el anión superóxido, el radical hidroperóxido, peróxido de hidrógeno, entre otros. Las ROS se encuentran presentes en sistemas biológicos, generados tanto interna (endógenos) como externamente (exógenos) y pueden reaccionar con una gran variedad de biomoléculas presentes en el medio. El  $O_2(^1\Delta_g)$  reacciona con el ADN, con ácidos nucleicos, con proteínas, con aminoácidos y con lípidos, entre otros, todos ellos presentes en el ambiente celular, se presume que causa la formación de células tumorales, participa en los procesos de mutagénesis y carcinogénesis, en los procesos de envejecimiento y en la aparición de estados inflamatorios.<sup>[28]</sup>

A pesar de los antecedentes señalados, el oxígeno molecular singulete no sólo es un agente perjudicial, sino que su presencia puede ser beneficiosa. El  $O_2(^1\Delta_g)$  es muy útil como reactivo sintético, debido a que posee una alta estereoselectividad.<sup>[18]</sup> Por otra parte, el  $O_2(^1\Delta_g)$  permite la desintoxicación fotosensibilizada en el tratamiento de aguas residuales industriales y urbanas, usando luz concentrada proveniente del sol.<sup>[18]</sup>

Una gran utilidad de la fotosensibilización del oxígeno molecular singulete es la de terapia fotodinámica para combatir el cáncer (PDT). En la terapia fotodinámica se combinan varios factores: la luz, una droga sensible a la luz (fotosensibilizador) y oxígeno. La selectividad de esta terapia se ve facilitada por dos aspectos: la ubicación del sensibilizador en el sistema biológico y la habilidad de activar al fotosensibilizador por iluminación sólo en la zona tumoral. Esto permite la posibilidad de destruir el tumor cancerígeno intentando afectar mínimamente el tejido sano. Los potenciales candidatos de fotosensibilizadores para PDT deben cumplir ciertos criterios adicionales a los de un sensibilizador de  $O_2(^1\Delta_g)$  definidos solamente desde el punto de vista químico. Éstos deben poseer una baja toxicidad en oscuro y ser acumulados selectivamente en el tejido tumoral. La distribución del fotosensibilizador es importante en PDT y se ve influenciada por su estructura química. Particularmente es muy útil si el fotosensibilizador es anfifílico ya que le

otorga solubilidad en agua y facilidad de cruzar membranas celulares con su matriz hidrofóbica.<sup>[18]</sup>

Como se mencionó anteriormente, los procesos de reconocimiento celular ocurren mediante interacciones químicas (puente de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, etc). Entre las biomoléculas que participan de estos procesos y son relevantes para nuestro interés, están las lectinas, proteínas que se unen específicamente a carbohidratos en el ambiente celular, lo cual facilita la selectividad de diversos procesos. Las lectinas son importantes mediadores en la respuesta inmune frente a patógenos, sobreexpresándose en algunas enfermedades como, por ejemplo, cáncer de colon, de tiroides y de mama,<sup>[29]</sup> además, se encuentran presentes en diversos tejidos celulares y en microorganismos endógenos y exógenos (bacterias, virus, etc), haciéndolas un potencial objetivo terapéutico. En este aspecto, los glicolípidos juegan un importante papel, debido a que pueden interactuar específicamente con lectinas y transportar drogas terapéuticas.<sup>[30]</sup>

De acuerdo con todos los antecedentes entregados, nuestro interés es sintetizar nuevos glicolípidos derivados de azúcares capaces de interactuar específicamente con lectinas (como manosa, galactosa, etc) y que en su grupo hidrofóbico incluyan la fenalenona como sustituyente, manteniendo sus características fotofísicas y fotoquímicas.

## **2. OBJETIVO**

El objetivo primario del presente trabajo es la síntesis y el estudio fotofísico de glicolípidos sustituidos con fenalenona, una prueba capaz de generar oxígeno molecular singulete, y su formación de agregados.

### **2.1 Objetivos Específicos**

1. Síntesis y purificación de glicolípidos derivados de manosa y galactosa con fenalenona como sustituyente.
2. Caracterización fotofísica de los glicolípidos.
3. Caracterización físicoquímica de los agregados formados por estos surfactantes.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

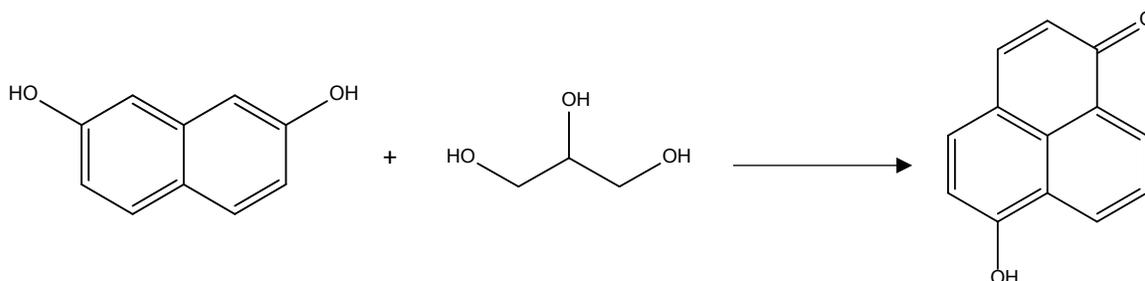
#### 3.1 Reactivos y solventes

Los solventes empleados fueron de calidad p.a marca Merck., los reactivos utilizados fueron de grado analítico y fueron utilizados sin purificación previa. El agua utilizada en todas las experiencias fue purificada con un equipo Milli-Q de Waters.

#### 3.2 Síntesis Glicolípidos

Se detallan a continuación las etapas sintéticas de todos los precursores y compuestos sintetizados en este trabajo de tesis.

##### 3.2.1 Síntesis de 6-hidroxi-1H-fenalen-1-ona (6OH)

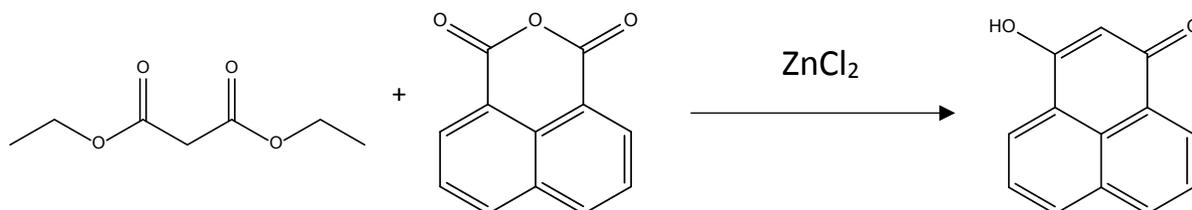


En un balón de 250 mL, se añaden 2 g de 2,7 dihidroxinaftaleno (0,012 mol), 2,5 g de sulfonato nitrobenzeno de sodio (0,011 mol), 5 g de glicerol (0,054 mol), 15 g de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (98%) (0,153 mol), 0,6 g de  $\text{FeSO}_4$  (0,003 mol) y 1 g de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (0,016 mol). Se agita y se calienta a  $160^\circ\text{C}$  por 35 minutos. La mezcla se enfría y se vierte en 150 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  y se filtra (proceso lento). El residuo se extrae con una solución acuosa caliente de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  tornándose de color fucsia y se filtra. La solución resultante se acidifica con  $\text{HCl}$  haciendo precipitar el producto. El sólido obtenido se filtra y lava con agua.

Rendimiento: 17%

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6,75 (d, 1H, H aromático), 6,93 (d, 1H, H aromático), 7,28 (d, 1H, H aromático), 7,55 (t, 1H, H aromático), 7,76- 7,80 (m, 2H, H aromático), 8,19 (dd, 1H, H aromático).

### 3.2.2 Síntesis de 3-hidroxi-1H-fenalen-1-ona (3OH)

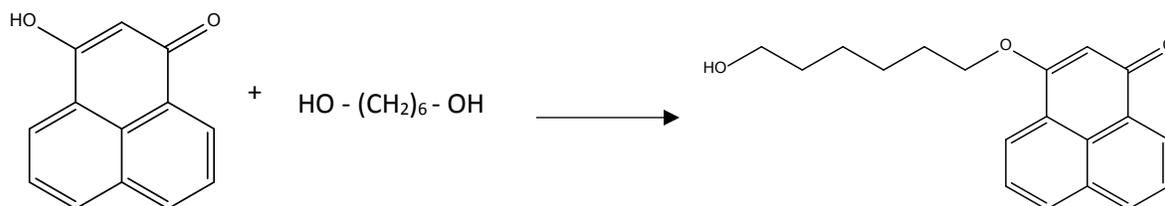


En un balón de 250 mL, se añaden 7,5 g de anhídrido 1,8-naftálico (0,038 mol) en 30 mL de malonato de dietilo. Cuando se forma una suspensión homogénea, se agregan 7,5 g de  $\text{ZnCl}_2$  anhidro (0,055 mol). La reacción se calienta durante 3 h a  $145^\circ\text{C} - 155^\circ\text{C}$  y se mantiene durante 6 h o hasta formación de un crudo negro que impide la agitación. Transcurrido el tiempo necesario, el sólido negro se trata con  $\text{H}_2\text{O}$ , se solubiliza con una solución de  $\text{NH}_3$  al 10% y se precipita con  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Se obtiene un sólido amarillo, el cual se filtra y se lava con agua.

Rendimiento: 61%

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,32 (q, 4H), 4,89 (s, 4H), 7,76 (t, 2H, H aromático), 8,26 (dd, 2H, H aromático), 8,45 (dd, 2H, H aromático).

### 3.2.3 Síntesis de 3-((6-hidroxihexil)oxi)-1H-fenalen-1-ona (6C)

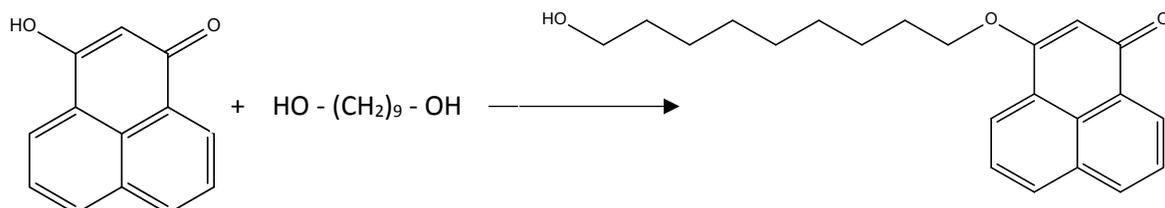


2 g de 3-hidroxi-1H-fenalen-1-ona (10,1 mmol) se suspenden en tolueno en un balón de 250 mL. Se adicionan 7,5 equivalentes de 1,6-hexanodiol (76 mmol, 9 g) (para mejorar la solubilidad, se adicionan gotas de etanol). Se agrega ácido p-toluensulfónico en cantidades catalíticas. La reacción se calienta a reflujo durante 24 h. El crudo de reacción se lava con H<sub>2</sub>O, se filtra y se concentra. La purificación se realiza mediante columna cromatográfica de sílica gel, utilizando como fase móvil CHCl<sub>3</sub>-EtOH 30:1.

Rendimiento: 45,2%

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,0-1,9 (m, 8H, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 2,43 (s, 1H, OH), 3,6 (t, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 3,99 (t, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 5,94 (s, 1H, H<sub>α</sub> cetona), 7,46 (t, 1H, H aromático), 7,58 (t, 1H, H aromático), 7,89 (d, 1H, H aromático), 7,99 (d, 1H, H aromático), 8,07 (d, 1H, H aromático), 8,43 (d, 1H, H aromático).

### 3.2.4 Síntesis de 3-((9-hidroxinonil)oxi)-1H-fenalen-1-ona (9C)



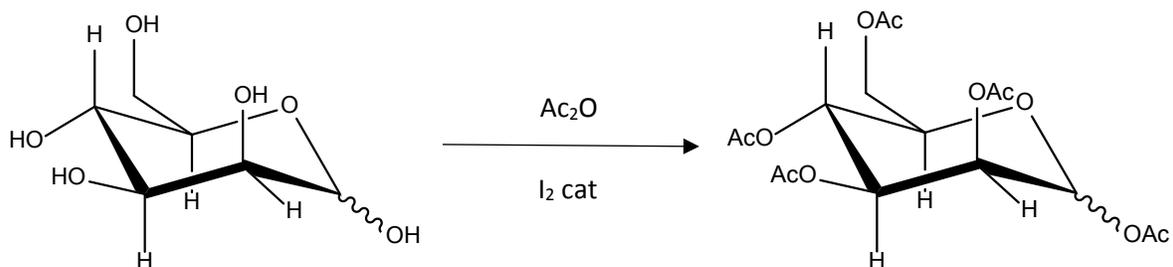
2 g de 3-hidroxi-1H-fenalen-1-ona (10,1 mmol) se suspenden en tolueno en un balón de 250 mL. Se adicionan 7,5 equivalentes de 1,9-nonanodiol (76 mmol,

12,25 g) (para mejorar la solubilidad, se adicionan gotas de etanol). Se agrega ácido p-toluensulfónico en cantidades catalíticas. La reacción se calienta a reflujo durante 24 h. El crudo de reacción se lava con H<sub>2</sub>O, se filtra y se concentra. La purificación se realiza mediante columna cromatográfica de sílica gel, utilizando fase móvil AcOEt-CHCl<sub>3</sub> 1:1.

Rendimiento: 70,6%

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1,43-1,72 (m, 14H, (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>), 1,90-2,01 (m, 1H, OH), 3,7 (t, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 4,17 (t, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 6,1 (s, 1H, H<sub>α</sub> cetona), 7,63 (t, 1H, H aromático), 7,73 (t, 1H, H aromático), 8,07 (d, 1H, H aromático), 8,15 (d, 1H, H aromático), 8,25 (d, 1H, H aromático), 8,57 (d, 1H, H aromático).

### 3.2.5 Síntesis de manosa peracetilada (Man(OAc))

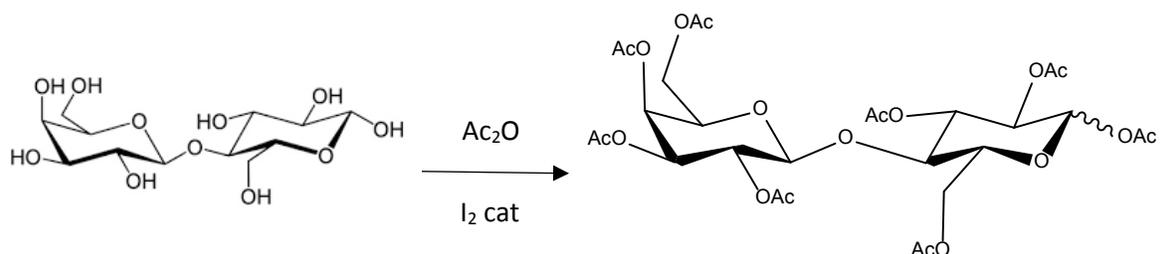


3 g de manosa (16 mmol) se suspenden en 15 mL de anhídrido acético a temperatura ambiente. Se agregan 150 mg de I<sub>2</sub> (50 mg I<sub>2</sub> / g azúcar). Cuando no se observa sólido blanco suspendido, se considera que la reacción ha terminado. Se agregan 30 mL de solución saturada de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y se añade con precaución una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> hasta que no haya desprendimiento de CO<sub>2</sub>. La fase acuosa es lavada con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> hasta eliminar el olor a ácido acético. La fase orgánica es secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada y concentrada.

Rendimiento: 98,2%

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,01 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,1 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,17 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,22 (s, 6H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 4-4,2 (m, 2H, H azúcar), 4,25-4,3 (m, 1H, H azúcar), 5,75-5,85 (m, 3H, O- $\text{CH}_2$ , H azúcar), 5,8 (s, 1H, H $\beta$  anomérico), 6,1 (s, 1H, H $\alpha$  anomérico).

### 3.2.6 Síntesis de lactosa peracetilada (Lac(OAc))

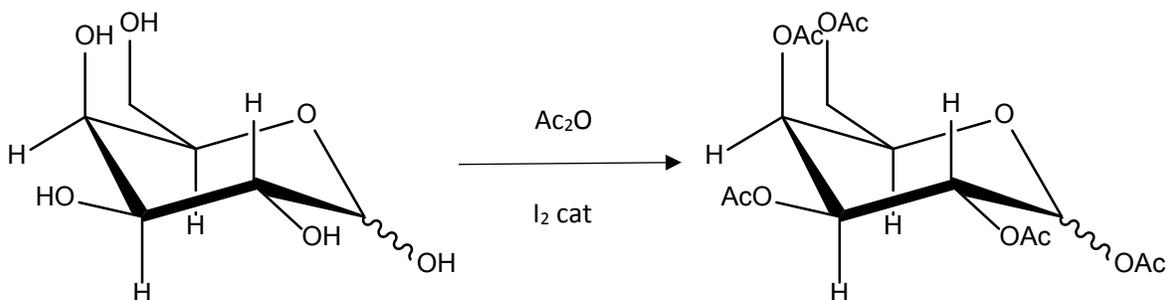


3 g de lactosa (8,8 mmol) se suspenden en 15 mL de anhídrido acético a temperatura ambiente. Se agregan 150 mg de  $\text{I}_2$  (50 mg  $\text{I}_2$  / g azúcar). Cuando no se observa sólido blanco suspendido, se considera que la reacción ha terminado. Se agregan 30 mL de solución saturada de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  y se añade con precaución una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  hasta que no haya desprendimiento de  $\text{CO}_2$ . La fase acuosa es lavada con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  hasta eliminar el olor a ácido acético. La fase orgánica es secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrada y concentrada.

Rendimiento: 87,4%

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,97 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,01 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,06 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,07 (s, 6H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,13 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,16 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,18 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 3,77-3,93 (m, 2H, H azúcar), 3,96-4,2 (m, 4H, O- $\text{CH}_2$ ), 4,4-4,54 (m, 2H, H azúcar), 4,92-5,04 (m, 2H, H azúcar), 5,07-5,17 (m, 1H, H azúcar), 5,36 (d, 1H, H azúcar), 5,46 (t, 1H, H azúcar), 6,25 (d, 1H, H anom).

### 3.2.7 Síntesis de galactosa peracetilada (Gal(OAc))

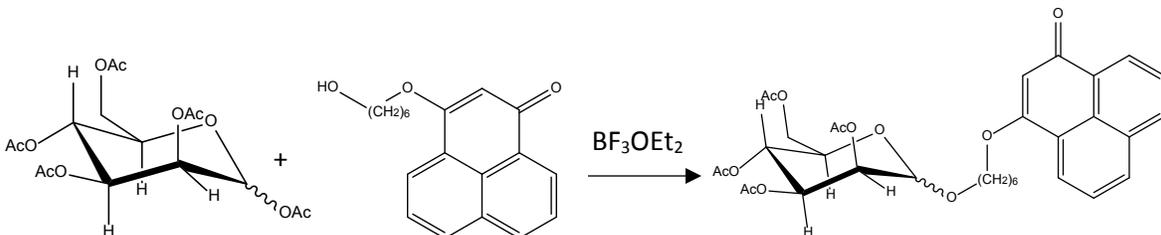


3 g de galactosa (16 mmol) se suspenden en 15 mL de anhídrido acético a temperatura ambiente. Se agregan 150 mg de I<sub>2</sub> (50 mg I<sub>2</sub>/ g azúcar). Cuando no se observa sólido blanco suspendido, se considera que la reacción ha terminado. Se agrega 30 mL de solución saturada de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y se añade con precaución una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> hasta que no haya desprendimiento de CO<sub>2</sub>. La fase acuosa es lavada con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> hasta eliminar el olor a ácido acético. La fase orgánica es secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada y concentrada.

Rendimiento: 86,9%

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2,01 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2,03 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2,05 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 2,17 (s, 6H, OCOCH<sub>3</sub>), 4,03-4,18 (m, 3H, H azúcar), 4,35 (t, 1H, H azúcar), 5,34 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 5,50 (s, 1H, H<sub>β</sub> anomérico), 6,38 (s, 1H, H<sub>α</sub> anomérico).

### 3.2.8 Síntesis de alquil acetomanopiranososa (Man(OAc)-6C) (O-glicosilación)



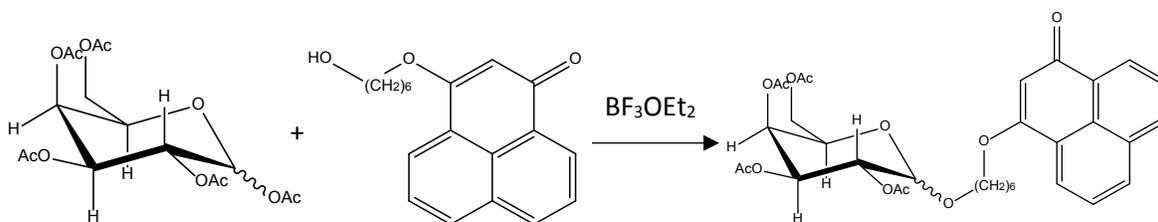
Se disuelven 0,26 g (0,67 mmol) de manosa peracetilada (Man(OAc)) en 40 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco y se adicionan 5 equivalentes (1 g, 3,3 mmol) de 3-((6-hidroxihexil)oxi)-1H-fenalen-1-ona (6C). Se agita durante 20 min y se enfría en un baño de agua-

hielo. Se adiciona gota a gota 10 equivalentes de  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$  (0,848 mL, 6,7 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24 horas. Se adiciona  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y el crudo de la reacción se vierte en agua fría. La fase orgánica se separa y se lava con una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , agua y finalmente se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtra y se concentra. Se purifica por columna cromatográfica de sílica gel, utilizando fase móvil acetato de etilo-cloroformo 1:1.

Rendimiento: 50,3%

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,26 (t, 1H, H alifático), 1,42-1,76 (m, 7H, H alifático), 2,00 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,04 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,10 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,16 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 3,42-3,55 (m, 1H, H azúcar), 3,67-3,79 (m, 1H, H azúcar), 3,94-4,05 (m, 1H, H azúcar), 4,07-4,21 (m, 3H, O- $\text{CH}_2$ ), 4,23-4,34 (m, 1H, O- $\text{CH}_2$ ), 4,83 (s, 1H, H anomérico), 5,21-5,4 (m, 3H, O- $\text{CH}_2$ , H azúcar), 6,1 (s, 1H, H $\alpha$  cetona), 7,63 (t, 1H, H aromático), 7,72 (t, 1H, H aromático), 8,06 (d, 1H, H aromático), 8,14 (d, 1H, H aromático), 8,25 (d, 1H, H aromático), 8,57 (d, 1H, H aromático).

### 3.2.9 Síntesis de alquil acetogalactopiranososa (Gal(OAc)-6C) (O-glicosilación)



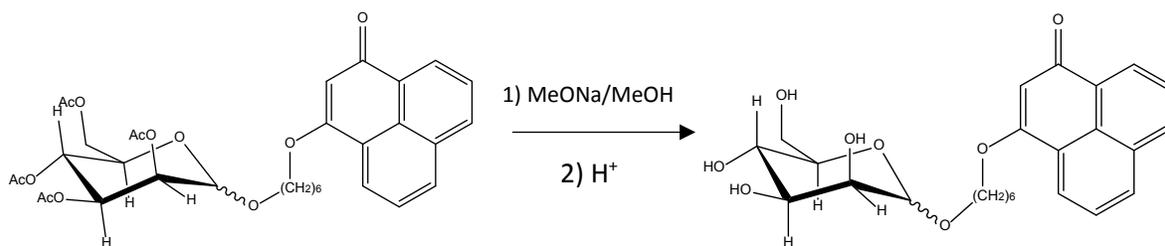
Se disuelven 0,26 g (0,67 mmol) de galactosa peracetilada (Gal(OAc)) en 40 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco y se adicionan 5 equivalentes (1 g, 3,3 mmol) de 3-((6-hidroxihexil)oxi)-1H-fenalen-1-ona (6C). Se agita durante 20 min y se enfría en un baño de agua-hielo. Se adicionan gota a gota 10 equivalentes de  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$  (0,848 mL, 6,7 mmol). Si durante el transcurso de la reacción, no se observa producto, se agregan nuevamente  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$ . La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24 horas. Se adiciona  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y el crudo de la reacción se vierte en agua fría. La fase orgánica

se separa y lava con una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , agua y finalmente se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtra y se concentra. Se purifica por columna cromatográfica de sílica gel, utilizando fase móvil acetato de etilo-cloroformo 1:1.

Rendimiento: 17,8%

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,38-1,74 (m, 8H, H alifático), 1,99 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,05 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,06 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2,16 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 3,43-3,56 (m, 1H, H azúcar), 3,86-3,99 (m, 1H, H azúcar), 4,07-4,27 (m, 4H, O- $\text{CH}_2$ ), 4,47 (d, 1H, H anomérico), 4,97-5,06 (m, 2H, O- $\text{CH}_2$ ), 5,17-5,26 (m, 1H, H azúcar), 5,39 (d, 1H, H azúcar), 6,1 (s, 1H,  $\text{H}\alpha$  cetona), 7,64 (t, 1H, H aromático), 7,73 (t, 1H, H aromático), 8,07 (d, 1H, H aromático), 8,15 (d, 1H, H aromático), 8,25 (d, 1H, H aromático), 8,57 (d, 1H, H aromático).

### 3.2.10 Desprotección de alquil aceto manopiranososa (Man-6C)



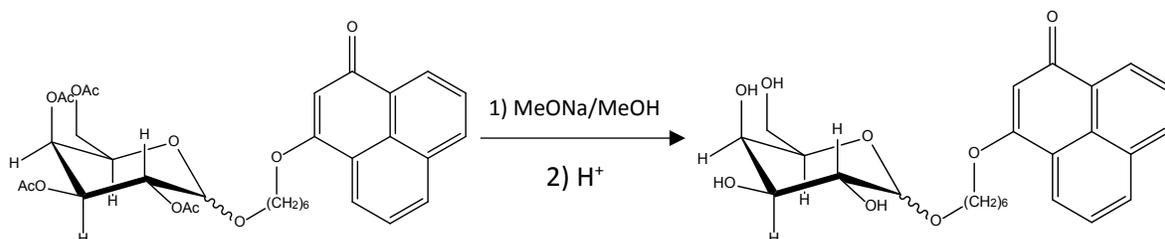
Se disuelven 0,234 g (0,37 mmol) de manosa peracetilada alquilada (Man(OAc)-6C) en 100 mL MeOH. Si no se disuelve completamente, se agregan gotas de diclorometano. Se adiciona solución de MeONa y se agita durante 5-10 minutos a temperatura ambiente (control por placa fina para evitar descomposición). Se le agregan 20 mL de MeOH y el crudo de reacción se neutraliza con una columna de intercambio catiónico (Amberlyst 15) y se concentra. La purificación se realiza con columna cromatográfica de sílica gel de fase móvil  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH 10:1  $\rightarrow$  5:1.

Rendimiento: 44,3%

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,24 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,37-1,71 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 1,89 (2, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3,29-4,21 (m, 10H, O- $\text{CH}_2$ , H azúcar), 4,84 (s, 1H, H anomérico), 6,07 (s, 1H,

H $\alpha$  cetona), 7,58 (t, 1H, H aromático), 7,66 (t, 1H, H aromático), 8,00 (d, 1H, H aromático), 8,09 (d, 1H, H aromático), 8,17 (d, 1H, H aromático), 8,51 (d, 1H, H aromático).

### 3.2.11 Desprotección de alquil aceto galactopiranososa (Gal-6C)



Se disuelven 0,263 g (0,42 mmol) de galactosa peracetilada alquilada (Gal(OAc)-6C) en 100 mL de MeOH. Si no se disuelve completamente, se agregan gotas de diclorometano. Se adiciona solución de MeONa y se agita durante 5-10 minutos a temperatura ambiente. Se le agregan 20 mL de MeOH y el crudo de reacción se neutraliza con una columna de intercambio catiónico (Amberlyst 15) y se concentra. La purificación se realiza con columna cromatográfica de sílica gel de fase móvil CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 10:1 → 5:1.

Rendimiento: 40%

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1,36-1,81 (m, 8H, CH<sub>2</sub>), 3,4-3,8 (m, 5H, (O-CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, H azúcar), 3,86-4,00 (m, 3H, H azúcar), 4,15 (t, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 4,28 (d, 1H, H anomérico), 6,1 (s, 1H, H $\alpha$  cetona), 7,61 (t, 1H, H aromático), 7,71 (t, 1H, H aromático), 8,04 (d, 1H, H aromático), 8,13 (d, 1H, H aromático), 8,22 (d, 1H, H aromático), 8,55 (d, 1H, H aromático).

### 3.3 Mediciones fotofísicas y espectroscópicas

A todos los productos finales se les realizaron las siguientes mediciones. Los espectros de absorción UV-Visible fueron obtenidos mediante un espectrofotómetro de arreglo de diodo Agilent 8453 y registrados entre 250 – 700 nm. Los espectros de emisión fueron medidos en un espectrofluorómetro ISS PC1 y Fluorolog Tau2 a temperatura ambiente. Todos los experimentos fueron realizados a los compuestos finales.

Los decaimientos de la emisión infrarroja del oxígeno molecular singulete fueron obtenidos en un equipo Fluotime 200 con un contador multicanal de fotones Nanoharp 200. La fuente excitación utilizada fue un láser de diodo Crylas con un ancho medio de pulso de 0,95ns, una frecuencia nominal de 1KHz y una energía de 26μJ. La longitud de onda de excitación empleada fue 355 nm. Para la detección de la radiación emitida, se utilizó un NIR PMT H10330A (Hamamatsu) a 1270nm. Las intensidades de las señales a 1270 nm ( $S_T$ ) fueron ajustadas a un modelo biexponencial, con curvas de decaimiento y crecimiento, mediante la ecuación (1), usando el software Fluo Fit de PicoQuant. Del ajuste se obtienen los tiempos de vida del estado excitado triplete del sensibilizador, el tiempo de vida del  $^1O_2$  y el factor preexponencial A. Los rendimientos cuánticos se determinaron comparando los factores preexponenciales de la muestra versus el de la fenalenona ( $\Phi_\Delta \sim 1$ ) de igual absorbancia en el mismo solvente.<sup>[27,31]</sup>

$$S_T = A \times \frac{\tau_\Delta}{\tau_\Delta - \tau_T} \times \left( e^{-\frac{t}{\tau_\Delta}} - e^{-\frac{t}{\tau_T}} \right) \quad (1)$$

$$\Phi(\text{muestra}) = \Phi(\text{referencia}) \times \frac{A(\text{muestra})}{A(\text{referencia})} \quad (2)$$

Los estudios de fotoestabilidad fueron realizados en un espectrofotómetro UV-Visible de arreglo de diodo Agilent 8453, irradiando soluciones de glicolípido, de absorbancia  $\sim 1,0$  a la longitud de onda de máxima absorción, con un LED de 365

nm M365LP1 con una fuente de poder DC4100 y un controlador LED de cuatro canales DC4014 todos de Thorlabs. Se utilizó potencia LED 50% y 100% durante 15 minutos. Los resultados se compararon con el consumo de fenalenona como referencia.<sup>[27]</sup>

### **3.4 Determinación concentración micelar crítica**

Los valores de concentración micelar crítica se determinaron empleando tres distintos métodos: medidas de absorbancia UV-Vis, medidas de fluorescencia (usando como sonda los mismos glicolípidos sintetizados) y determinación de tensión superficial. Las mediciones de tensión superficial se realizaron con un tensiómetro DuNoüy (K8 Krüss, rango de medición 5-90 mN/m con un anillo de Pt-Ir de 20 mm). La concentración micelar crítica se determinó a partir de los gráficos de absorbancia, intensidad de emisión o tensión superficial versus la concentración de surfactante. El punto donde se produce un cambio de pendiente corresponde a la CMC. Todos los experimentos fueron realizados a temperatura ambiente.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 Síntesis**

Para obtener los glicolípidos MAN-6C y GAL-6C (síntesis 3.2.10 y 3.2.11, respectivamente) se necesita sintetizar los precursores 3OH y 6OH. La síntesis del derivado 6OH (síntesis 3.2.1) tiene bajo rendimiento, por lo tanto, no se logró sintetizar las cantidades adecuadas para avanzar en la vía sintética propuesta. Considerando que los rendimientos de la reacción para generar el derivado 3OH (síntesis 3.2.2) resultaron mejores, se decidió reemplazar el grupo sensibilizador por el derivado 3OH, cuya fotofísica había sido previamente evaluada. El precursor 9C (síntesis 3.2.4) se utilizaría para glicolizarlo con Lac(OAc) (síntesis 3.2.6), sin embargo, el producto de esta reacción no fue deseado, por lo cual, se descartó y se reemplazó por Gal(OAc) unida a 6C. Los rendimientos de la O-glicosilación para Gal(OAc)-6C (síntesis 3.2.9) fueron menores que para Man(OAc)-6C (síntesis 3.2.8), comportamiento atribuible a una mayor necesidad de ambiente anhidro. La desprotección de los glicolípidos peracetilados (síntesis 3.2.10 y 3.2.11) requiere ser controlada por tiempo debido a que el Na presente en la solución de MeONa puede descomponer la fenalenona.

### **4.2 Caracterización fotofísica**

Se midieron espectros de absorción, emisión, fotoestabilidad, tiempos de vida y generación de oxígeno molecular singulete de los alcoholes precursores y de los glicolípidos sintetizados.

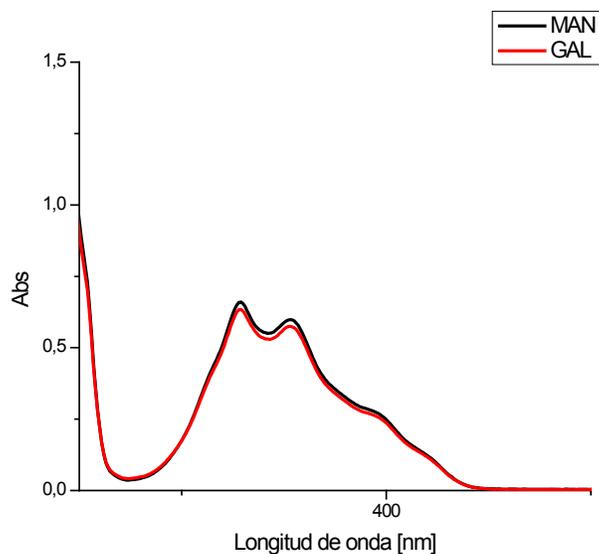
### 4.2.1 Absorción UV-Vis

Se caracterizaron los alcoholes precursores de los glicolípidos mediante los coeficientes de absorción molar en diferentes solventes. Los resultados se muestran a continuación.

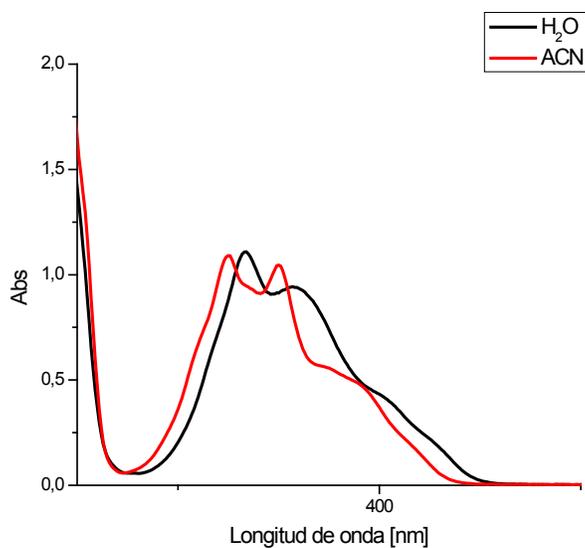
**Tabla 1.** Coeficientes de absorción molar ( $\epsilon$ ) de alcoholes precursores.

Solvente	$\epsilon / 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} (\lambda_{\text{max}} / \text{nm})$		
	3OH	6C	9C
Acetonitrilo	9,0 (349)	10,8 (325)	10,2 (325)
Benceno	9,1 (334)	10,2 (326)	9,5 (351)
Cloroformo	9,7 (333)	11,4 (328)	10,1 (329)
Metanol	11,3 (338)	12,0 (329)	11,5 (328)

Se midieron los espectros de absorción de ambos glicolípidos en diferentes solventes y se determinaron los coeficientes de absorción molar a la longitud de onda de máxima absorción. Los espectros de absorción de ambos glicolípidos, MAN-6C y GAL-6C, son prácticamente iguales entre sí, debido a que el grupo cromofórico es el mismo (fenalenona, para la que se ha descrito la participación de transiciones  $\pi\pi^*$  y  $n\pi^*$ )<sup>[24]</sup> (Fig. 4). La absorción presenta poco efecto del solvente, variando la longitud de onda del máximo de absorción mínimamente. Sin embargo, en el caso de las soluciones acuosas, se observó un desplazamiento hacia el rojo como se muestra en la Figura 5. Los máximos de absorción y los coeficientes de absorción molar para cada solvente se muestran en la Tabla 2.



**Fig. 4** Espectro de absorción MAN-6C y GAL-6C en MeOH



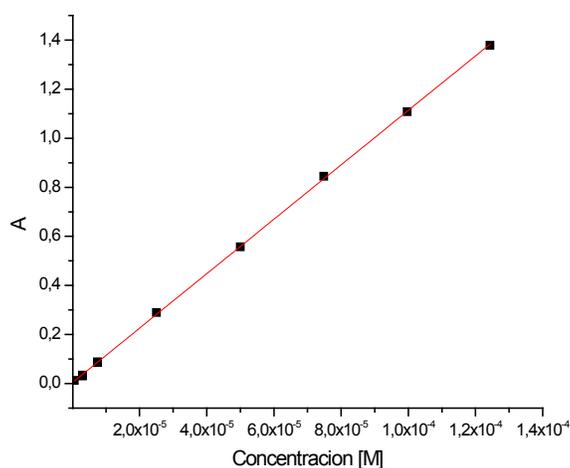
**Fig. 5** Espectro de absorción de GAL-6C en ACN y H<sub>2</sub>O.

**Tabla 2.** Coeficientes de absorción ( $\epsilon$ ) de MAN-6C y GAL-6C en distintos solventes

Solvente	$\epsilon$ [ $10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ] ( $\lambda_{\text{max}}$ / nm)	
	MAN-6C	GAL-6C
Cloroformo	11,0(329)	11,7 (329)
Metanol	13,7 (329)	12,3 (329)
Acetonitrilo	11,4 (325)	11,0 (325)
Tolueno	9,0 (332)	10,4 (332)

Se observó que los valores de los coeficientes de absorptividad molar no varían significativamente entre los alcoholes precursores y los glicolípidos. Esto refleja que la presencia de estos sustituyentes no influye en el proceso de absorción.

En el caso de la determinación del coeficiente de extinción molar en agua (Tabla 3), se esperaba observar un cambio de pendiente atribuible a la formación de micelas por asociación de los mismos glicolípidos, sin embargo, aparentemente los cambios del entorno no tienen efecto apreciable sobre lo permitido de la absorción, y no se observó cambio alguno para ambos glicolípidos, por lo que se decidió realizar otras experiencias para determinar la capacidad de formar micelas y la concentración micelar crítica, como se detalla más adelante. A modo de ejemplo se muestran los resultados obtenidos en medio acuoso para GAL-6C (Figura 6).



**Fig. 6** Variación de la absorbancia con la concentración de Gal-6C en H<sub>2</sub>O.  
Regresión lineal  $R^2 = 0,9998$ .

**Tabla 3.**  $\epsilon$  [ $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ] ( $\lambda_{\text{max}}$  / nm) de MAN-6C y GAL-6C en H<sub>2</sub>O

MAN-6C	GAL-6C
10,3 (333)	11,1 (333)

#### 4.2.2 Emisión

La fenalenona y sus derivados son eficientes generadores de oxígeno excitado, por lo tanto, presentan una baja emisión (en dimetilacetamida Oliveros et al. reportan un rendimiento cuántico de fluorescencia igual a 0,008 y en dioxano aún menos).<sup>[24]</sup> Como consecuencia, se decidió emplear esta propiedad sólo para la determinación de concentraciones micelares críticas y analizar la fotoestabilidad, y no para caracterizar sus estados excitados singulete, ni determinar sus rendimientos cuánticos de emisión.

#### 4.2.3 Fotoestabilidad

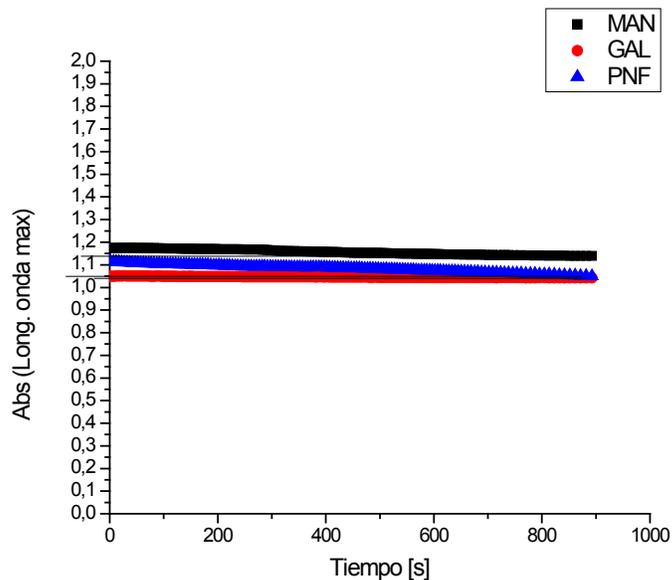
Para determinar la fotoestabilidad de ambos glicolípidos, se monitorearon sus espectros de absorción mientras se irradiaban sus soluciones ( $\text{CHCl}_3$  y MeOH), bajo aire y bajo atmósfera libre de oxígeno (Ar). Además, se tomaron espectros de emisión antes y después de la fotólisis. Se observó que la diferencia de absorbancia ( $\Delta A$ ) entre tiempo cero y 15 min (900 seg) es baja tanto para MAN-6C como GAL-6C y muy similar a la observada para PNF. Los valores se informan a continuación.

**Tabla 4.**  $\Delta A$  (%) entre 0 y 900 [s] con potencia led 50%.

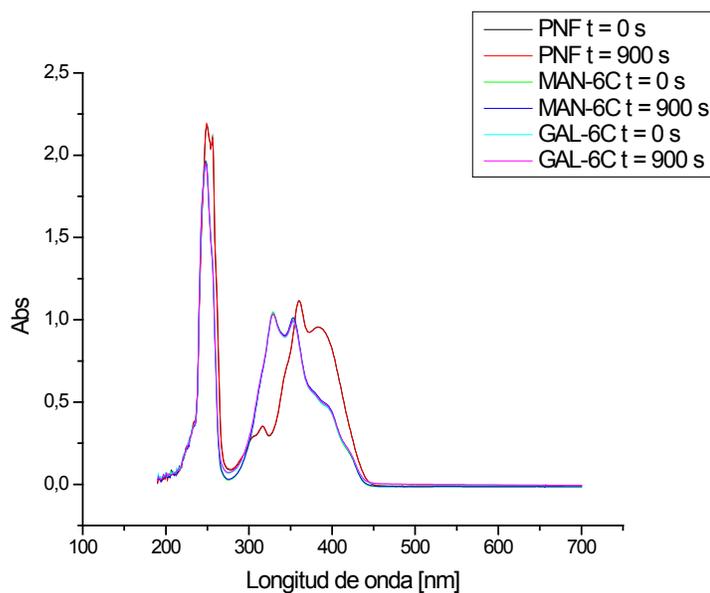
Solvente	Aire			Argón		
	PNF	MAN-6C	GAL-6C	PNF	MAN-6C	GAL-6C
Cloroformo	0,38	0,94	0,45	12,14	5,30	5,05
Metanol	5,76	0,40	0,31	5,86	2,95	0,68

En ningún caso para ambos glicolípidos, la disminución de la absorbancia en el máximo sobrepasa el 6%, siendo en algunos inferiores al 1%. Tampoco hay cambios perceptibles en los espectros de absorción (Fig. 8), ni se forman especies fluorescentes. Todos los compuestos presentaron comportamiento similar al que se muestra en la Fig. 7. Cabe destacar que los valores de fotoconsumo obtenidos son similares e incluso menores a los de la fenalenona, sensibilizador descrito como

fotoestable en varios solventes,<sup>[27]</sup> lo que indicaría que la presencia de los sustituyentes incorporados no afecta en forma significativa la fotoestabilidad a estos compuestos.

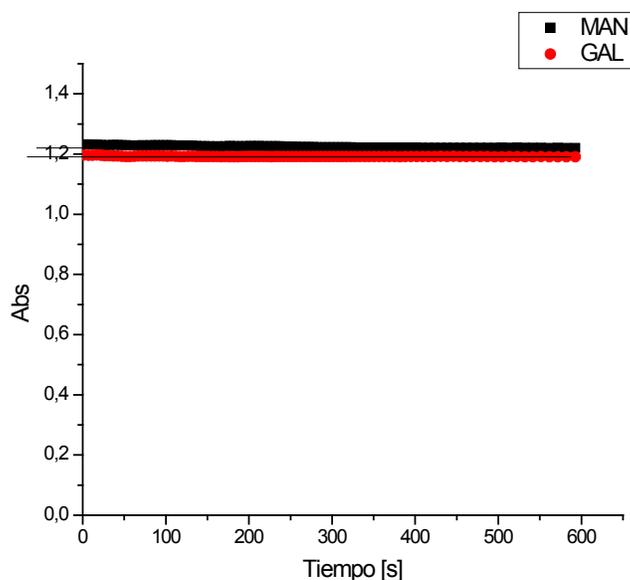


**Fig. 7** Variación de absorbancia a  $\lambda_{\text{máx}}$ , potencia 50% durante 15 min en MeOH-argón



**Fig. 8** Espectro de absorción a tiempo 0 [s] y 900 [s] de MAN-6C, GAL-6C y PNF en  $\text{CHCl}_3$  – aire.

Para extremar las condiciones de irradiación, se realizó una nueva fotólisis, pero con mayor intensidad (potencia de LED empleado al 100%) y en 10 minutos. Se observó, como ya se mencionó, una muy pequeña disminución de la absorbancia, independiente de la potencia del LED, variando entre 0,6% - 1% como se observa en la Fig 9.



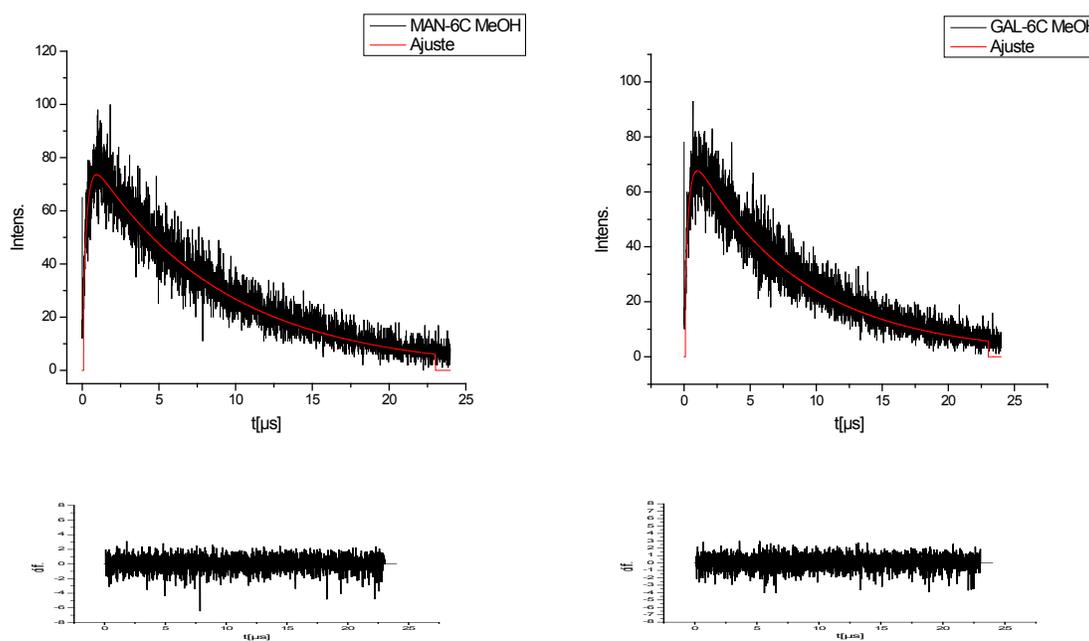
**Fig. 9** Variación de absorbancia en fotólisis potencia 100% durante 10 min en  $\text{CHCl}_3$  aire.

Dado que los espectros de emisión no presentaron diferencias significativas en ninguno de los casos, se reconfirmó la fotoestabilidad de los compuestos y la ausencia de fotoproductos que emitan.

Por lo anterior, se confirma que los sustituyentes agregados a la fenalenona (azúcar y cadena hidrocarbonada) no modifican su fotoestabilidad, lo cual hace que los glicolípidos sintetizados sean un apto candidato para ser un sensibilizador.

#### 4.2.4 Generación y tiempos de vida de oxígeno molecular singlete

Como se señaló en la sección metodología, a partir de las medidas de emisión infrarroja resuelta en el tiempo del oxígeno excitado, se obtienen las curvas para la intensidad de la emisión en función del tiempo y el ajuste biexponencial (un crecimiento y un decaimiento) que se muestra en la Figura 10. Como se señaló en la sección metodología, a partir de los parámetros obtenidos del ajuste biexponencial y su tratamiento, es posible determinar los tiempos de vida del estado triplete precursor del  $^1\text{O}_2$ , el tiempo de vida del mismo oxígeno excitado y el rendimiento cuántico de generación de  $^1\text{O}_2$  relativo a un actinómetro.



**Fig. 10** Gráfico de decaimiento de oxígeno molecular singlete de MAN-6C y GAL-6C en MeOH (izquierda y derecha, respectivamente). En rojo, se observa el ajuste realizado a la curva y abajo sus residuos.

Los resultados obtenidos a partir de las curvas de emisión del  $^1\text{O}_2$  para los alcoholes precursores se muestran a continuación.

**Tabla 5.** Rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singulete ( $\Phi_{\Delta}$ ) de los alcoholes precursores.

Solvente	$\Phi_{\Delta}$ 3OH	$\Phi_{\Delta}$ 6C	$\Phi_{\Delta}$ 9C
Acetonitrilo	0,83 ± 0,06	0,96 ± 0,07	0,97 ± 0,07
Benceno	0,33 ± 0,01	0,93 ± 0,05	0,98 ± 0,05
Cloroformo	0,65 ± 0,03	0,83 ± 0,04	0,60 ± 0,03

**Tabla 6.** Tiempos de vida de triplete ( $\tau_T$ ) de los alcoholes precursores

Solvente	$\tau_T$ [ $\mu$ s] 6C	$\tau_T$ [ $\mu$ s] 9C
Acetonitrilo	0,29	0,29
Benceno	0,33	0,30
Cloroformo	0,46	0,43

En la Tabla 7 y 8 se muestran los tiempos de vida de los estados triplete de los sensibilizadores en presencia de oxígeno molecular (soluciones equilibradas con la atmósfera) y del oxígeno molecular singulete de los glicolípidos y fenalenona.

**Tabla 7.** Tiempos de vida de triplete ( $\tau_T$ ) de MAN-6C, GAL-6C y PNF en distintos solventes bajo aire.

Solvente	$\tau_T$ [ $\mu$ s] MAN-6C	$\tau_T$ [ $\mu$ s] GAL-6C	$\tau_T$ [ $\mu$ s] PNF
CHCl <sub>3</sub>	0,46		0,35
MeOH	0,28	0,28	0,22
ACN	0,24	0,27	0,18
Tolueno	0,33	0,30	0,23

Los tiempos de vida del estado triplete no muestran diferencias significativas entre los compuestos sintetizados y la fenalenona, lo que implica que la presencia de sustituyentes no provoca modificaciones en su fotoquímica, como ya se ha destacado con los resultados previos.

**Tabla 8.** Tiempos de vida de oxígeno molecular singlete ( $\tau_{\Delta}$ ) de MAN-6C, GAL-6C y PNF en distintos solventes.

Solvente	$\tau_{\Delta}$ [ $\mu$ s] MAN-6C	$\tau_{\Delta}$ [ $\mu$ s] GAL-6C	$\tau_{\Delta}$ [ $\mu$ s] PNF
CHCl <sub>3</sub>	184,24	179,71	185,69
MeOH	9,17	9,09	9,00
ACN	81,54	73,08	74,08
Tolueno	27,06	27,09	27,64

Se observó que los tiempos de vida del oxígeno molecular singlete generado por los glicolípidos corresponden con los reportados en la literatura para esta especie excitada en los diferentes solventes, por lo que, a las concentraciones empleadas para fotosensibilizar, los glicolípidos no desactivan al oxígeno excitado, es decir, estos compuestos cumplen con varias de las características señaladas para considerarlos buenos sensibilizadores.

En general no se apreció cambios mayores en las curvas de decaimiento obtenidas en los distintos solventes. Las diferencias más significativas se reflejan en los rendimientos cuánticos que se muestran en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ) de MAN-6C y GAL-6C en distintos solventes. (Abs = 0,2)

Solvente	$\Phi_{\Delta}$ MAN-6C	$\Phi_{\Delta}$ GAL-6C
CHCl <sub>3</sub>	1,0	
MeOH*	1,2	1,0
ACN	1,0	1,2
Tolueno	0,6	0,6

\*Abs = 0,02

Se observó una alta capacidad para la generación de oxígeno molecular singlete en ambos glicolípidos y en todos los solventes medidos, similares a los valores para fenalenona. En el caso de metanol, se realizaron experiencias a baja concentración de sensibilizador (absorbancia 0,02), debido a que a absorbancias más altas los valores obtenidos para los rendimientos cuánticos de generación de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> fueron mayores que 1,0. Para absorbancias mayores a 0,2 de ambos glicolípidos, se

determinaron valores para  $\Phi_{\Delta}$  de aproximadamente 2,5. Estos resultados incorrectos, permiten establecer que en la medición del rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete en MeOH hay involucrado algún 'artefacto', en el que tiene efecto la concentración de sensibilizador.

A pesar de lo anterior, los valores obtenidos a distintos solventes indican que los sustituyentes agregados a la fenalenona no modifican su capacidad de generar  $^1\text{O}_2$  pues los alcoholes precursores y los glicolípidos poseen buenos rendimientos cuánticos de generación de  $^1\text{O}_2$ , incluso más altos que algunos sensibilizadores usados comúnmente,<sup>[18,26]</sup> adicionalmente, las funcionalidades de reconocimiento no desactivan al oxígeno excitado.

### **4.3 Caracterización fisicoquímica de los agregados.**

#### **4.3.1 Determinación de concentración micelar crítica.**

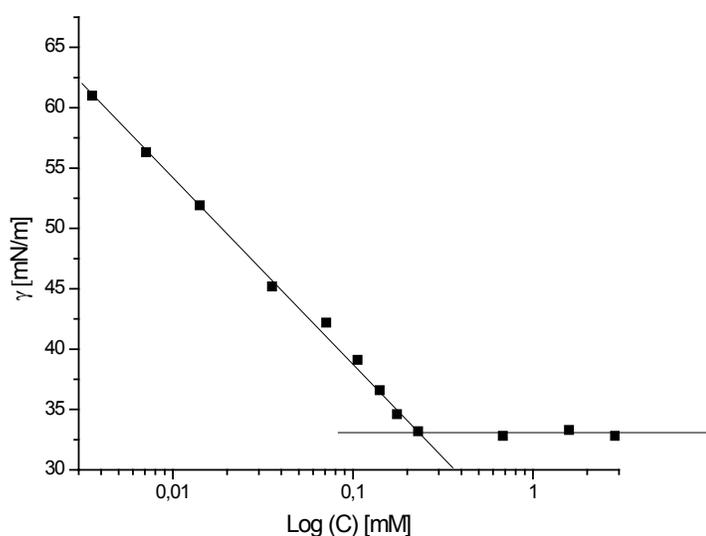
Como se señaló en la sección metodología, se decidió determinar la concentración micelar crítica (CMC) en agua mediante tres métodos: absorción, emisión y tensión superficial. Como se expuso anteriormente, a través de medidas de absorción UV-Vis no fue posible detectar la micelización, ni determinar valores de CMC, por lo que se utilizó la emisión y tensión superficial para realizar estas determinaciones.

Al medir la tensión superficial de soluciones acuosas con concentración creciente de glicolípido, no se observó una disminución de ésta, correspondiente al proceso de micelización. Una posible explicación para el origen de este comportamiento es la baja solubilidad de los glicolípidos en agua, que complica alcanzar concentraciones que sobrepasen la concentración micelar crítica. Una posibilidad de incrementar la cantidad de sensibilizador presente en medio acuoso, es utilizar un surfactante no-iónico adicional, en cuyas micelas se incorporará (solubilizará) el surfactante sensibilizador. Se utilizó Tritón X-100 para generar micelas mixtas con los glicolípidos (los resultados se detallan más adelante) y facilitar su solubilización

en agua. Para determinar el efecto de la presencia de un segundo surfactante en el comportamiento del Tritón X-100, fue necesario caracterizar su concentración micelar crítica previamente.

**Tabla 10.** Concentración micelar crítica (CMC) de Tritón X-100

CMC teórica <sup>[32,33]</sup> [mM]	CMC experimental [mM]
0,15-0,23	0,23



**Fig. 11** Gráfico de tensión superficial ( $\gamma$ ) versus logaritmo de la concentración [mM] para TX-100.

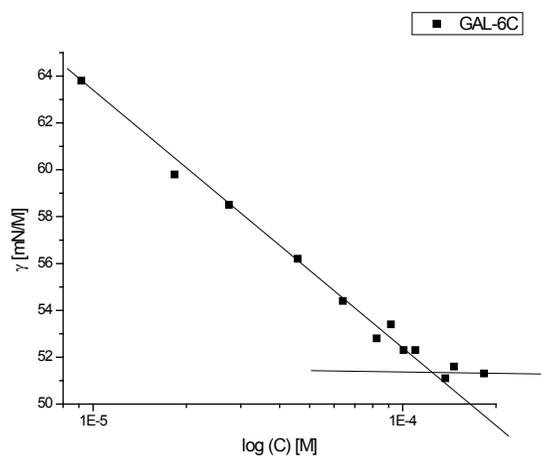
Se observó una clara disminución de la tensión superficial al aumentar la concentración de surfactante (Figura 11), lo cual es esperado en un proceso de micelización alcanzando un valor de tensión superficial mínimo o límite de 32,8 [mN/m], valor que corresponde a la presencia de agregados micelares. El valor experimental obtenido coincide con el valor de CMC reportado en la literatura para el Tritón X-100.<sup>[32,33]</sup> Debido a esto, se confirmó que el hecho de que la tensión superficial de MAN-6C y GAL-6C no disminuyera al agregar surfactante (mismo glicolípido) era debido a su baja solubilidad en agua. Es por este motivo que se

utilizó una solución concentrada de glicolípido en DMSO para realizar los experimentos que se detallan a continuación.

Al repetir las medidas de tensión superficial utilizando una solución madre de glicolípido en DMSO, se observó efectivamente una disminución mayor, pero no la esperable, pues los valores mínimos de tensión alcanzaron sólo 51,1 y 58,7 [mN/m] para MAN-6C y GAL-6C, respectivamente, tensiones superficiales límite demasiado altas (Fig. 12) Igualmente, a partir de estos experimentos se determinó un valor de CMC, cuyos resultados se muestran a continuación.

**Tabla 11.** Concentración micelar crítica (CMC) para MAN-6C y GAL 6C obtenido mediante tensión superficial, en presencia de DMSO.

CMC MAN-6C [ $10^{-4}$ M]	CMC GAL-6C [ $10^{-4}$ M]
1,2	2,0

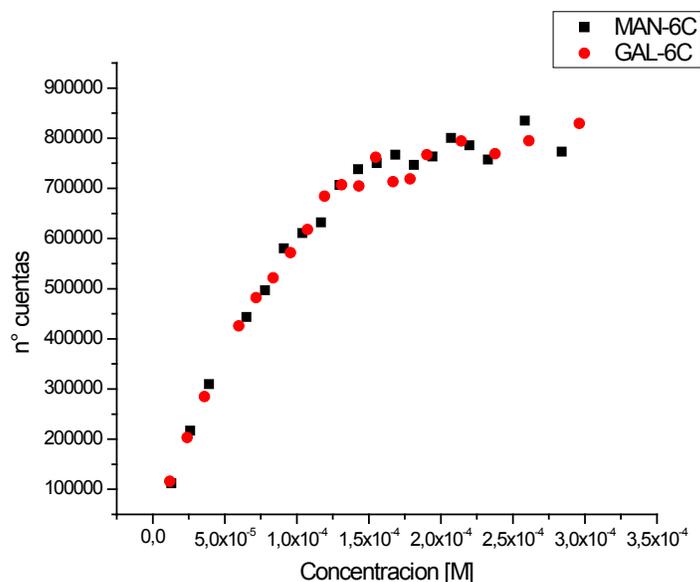


**Fig. 12** Gráfico de tensión superficial ( $\gamma$ ) versus logaritmo de la concentración de surfactante [mM] para GAL-6C. El punto de intersección entre ambas rectas corresponde a la CMC.

Los valores mínimos o límite de tensión superficial no alcanzan los valores experimentales habitualmente reportados (del orden de 30 mN/m para la mayoría

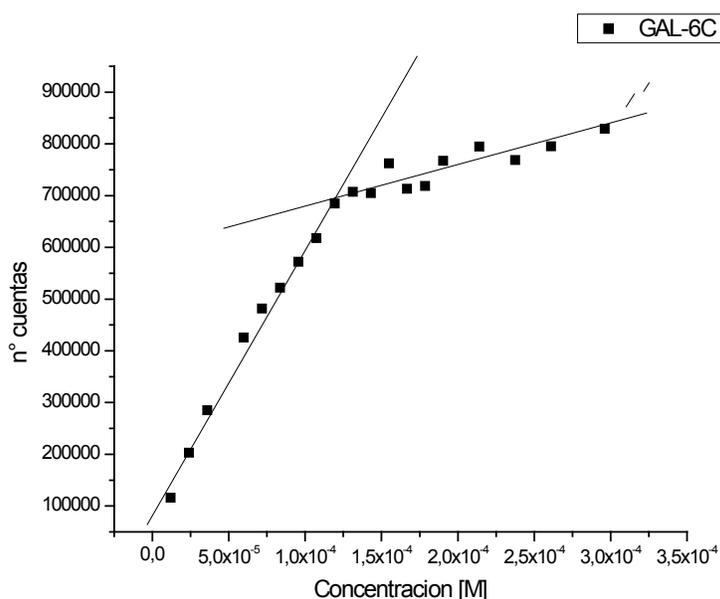
de surfactantes),<sup>[34]</sup> sin embargo, se ha reportado que para surfactantes basados en azúcares presentan diferentes valores de tensión superficial límite según largo de cadena hidrofóbica y tamaño de la cabeza hidrofílica fluctuando entre 30-45 [mN/m].<sup>[9,35]</sup> A pesar de lo anterior, la tensión superficial mínima alcanzada es alta, atribuible a la dificultad de solubilizar mayores cantidades de glicolípidos en agua. Debido a lo expuesto anteriormente y al interés de solubilizar mayores cantidades de nuestros glicolípidos en agua, se procedió a trabajar con micelas mixtas utilizando Tritón X-100 como co-surfactante (sección 4.3.2).

Empleando medidas de absorción UV-Vis, no se observó ningún cambio en la pendiente del gráfico de absorbancia versus concentración (agregando el surfactante desde una solución concentrada en DMSO), por lo que nuevamente, no se pudo determinar CMC mediante ese método. Empleando medidas de emisión, ( $\lambda_{\text{máx}}$  de emisión = 478 nm) al variar la concentración de surfactante, como se observa en la Figura 13, se alcanza un *plateau*, que asignamos, a un probable proceso de micelización.



**Fig. 13** Gráfico de Intensidad de emisión vs concentración [M] para MAN-6C y GAL -6C

La intersección entre ambas tendencias correspondería a la CMC de cada glicolípido. A modo de ejemplo se muestra para el caso de GAL-6C en la Figura 14. Los valores obtenidos para las CMC, empleando este procedimiento, se muestran en la Tabla 12.



**Fig. 14** Gráfico de Intensidad de emisión vs concentración [M] para GAL -6C. Se observa el punto correspondiente a la CMC.

**Tabla 12.** Concentración micelar crítica (CMC) para MAN-6C y GAL 6C obtenido mediante intensidad de emisión.

CMC MAN-6C [10 <sup>-4</sup> M]	CMC GAL-6C [10 <sup>-4</sup> M]
1,2	1,2

Comparando los valores obtenidos de CMC, por tensión superficial y por emisión agregando el sustrato desde soluciones de DMSO, se observa que no varían sustancialmente, lo que indicaría que estos glicolípidos micelizan a partir de una concentración entre 0,1 – 0,2 [mM], en presencia de este solvente.

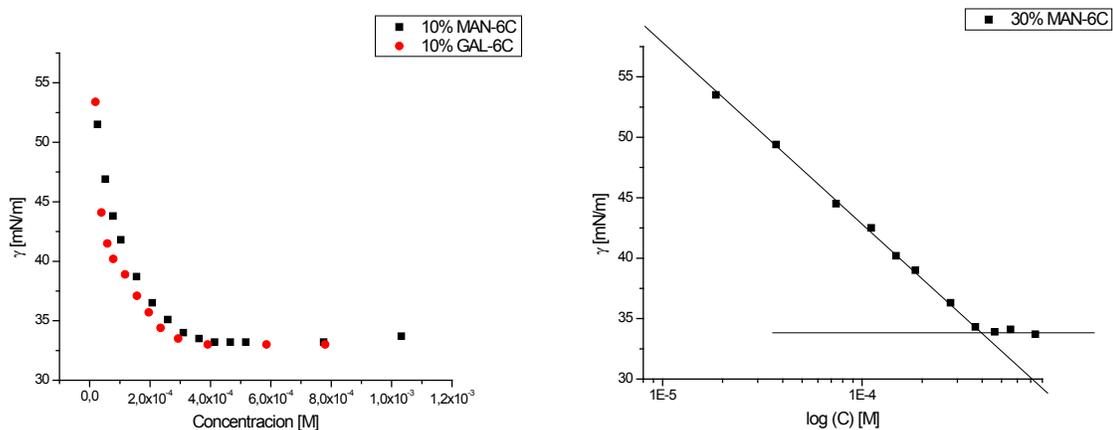
### 4.3.2 Micelas mixtas

Para estudiar el efecto de la presencia de los glicolípidos sobre las propiedades de las micelas de Tritón X-100 y el efecto de la presencia del medio microheterogéneo (micelas) sobre las propias sondas se prepararon soluciones con diferentes proporciones de glicolípido y Tritón TX-100 (los glicolípidos fueron agregados desde soluciones concentradas en DMSO):

- a) 10% glicolípido y 90% TX-100
- b) 30% glicolípido y 70% TX-100
- c) 50% glicolípido y 50% TX-100
- d) 75% glicolípido y 25% TX-100

Para determinar la concentración micelar crítica para cada una de ellas se utilizaron medidas de tensión superficial.

Mediante tensión superficial, se observó una mayor disminución de ésta en comparación a micelas sin TX-100, al aumentar la concentración de surfactante total, alcanzando valores mínimos cercanos 33 [mN/m]. Al ir aumentando la proporción de glicolípido, la tensión superficial mínima se mantuvo en el rango 33 – 35 [mN/m]. Se graficaron los valores obtenidos versus su concentración, y se convirtió en escala logarítmica para facilitar la determinación de la concentración micelar crítica. (Fig.15).



**Fig. 15** Gráfico de tensión superficial versus concentración en escala lineal para MAN-6C y GAL-6C al 10% (izquierda) y en escala logarítmica para MAN-6C al 30% (derecha). La intersección entre ambas rectas, indica la CMC.

Los valores de CMC obtenidos para cada proporción de surfactantes se muestran en la Tabla 13.

**Tabla 13.** Concentración micelar crítica (CMC) de MAN-6C y GAL-6C en micelas mixtas.

Proporción	CMC MAN-6C [ $10^{-4}$ M]	CMC GAL-6C [ $10^{-4}$ M]
10%	3,6	3,1
30%	4,1	4,4
50%	3,2	3,0
75%	7,3	9,1

Se observó una variación de la concentración micelar crítica para ambos glicolípidos en micelas mixtas, fluctuando entre 0,3 – 0,4 [mM] a distintas proporciones de glicolípidos. Sin embargo, a la proporción del 75%, se observa un aumento del valor de la CMC. Esto se puede atribuir a que la mayor presencia de glicolípidos que de Tritón X-100, altera algunos de los parámetros termodinámicos asociados a la formación de las micelas.

De la pendiente del gráfico de tensión superficial vs el logaritmo de la concentración, antes de que ocurra la micelización (Figura 15, derecha) se obtuvieron datos que caracterizan los agregados formados, tales como exceso superficial ( $\Gamma$ ) y área molecular (A), para glicolípidos puros (MAN-6C, GAL-6C y TX-100) y para mezclas, mediante el modelo de adsorción de Gibbs,

$$\Gamma = \frac{-1}{RT} \frac{\partial \gamma}{\partial \ln(C)} \qquad A = \frac{1}{Na\Gamma}$$

Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 14, 15 y 16.

**Tabla 14.** Exceso superficial ( $\Gamma$ ) y área molecular (A) de MAN-6C, GAL-6C y Tritón X-100

Compuesto	$\Gamma$ [ $10^{-10}$ mol/cm <sup>2</sup> ]	A [A <sup>2</sup> /molécula]
MAN-6C	1,8	89,5
GAL-6C	1,4	116,2
TX-100	2,7	62,2

Se observó que el área molecular del surfactante para el TX-100 es menor que la de los glicolípidos, lo que indica que las cabezas hidrofílicas de Tritón X-100 se atraen más fuertemente que con los monosacáridos utilizados. Por otra parte, el área molecular de la GAL-6C es mayor a la de MAN-6C lo que indicaría que las cabezas hidrofílicas de galactosa interaccionan en menor magnitud que las de manosa, o adoptan una conformación más voluminosa.

**Tabla 15.** Exceso superficial ( $\Gamma$ ) de MAN-6C y GAL-6C a diferentes proporciones de surfactante.

Proporción	$\Gamma$ MAN-6C [ $10^{-10}$ mol/cm <sup>2</sup> ]	$\Gamma$ GAL-6C [ $10^{-10}$ mol/cm <sup>2</sup> ]
10%	2,9	3,1
30%	2,6	2,2
75%	2,4	2,5

**Tabla 16.** Área molecular (A) de MAN-6C y GAL-6C a diferentes proporciones de surfactante.

Proporción	A MAN-6C [A <sup>2</sup> /molécula]	A GAL-6C [A <sup>2</sup> /molécula]
10%	57,4	53,4
30%	64,2	74,1
75%	70,0	65,2

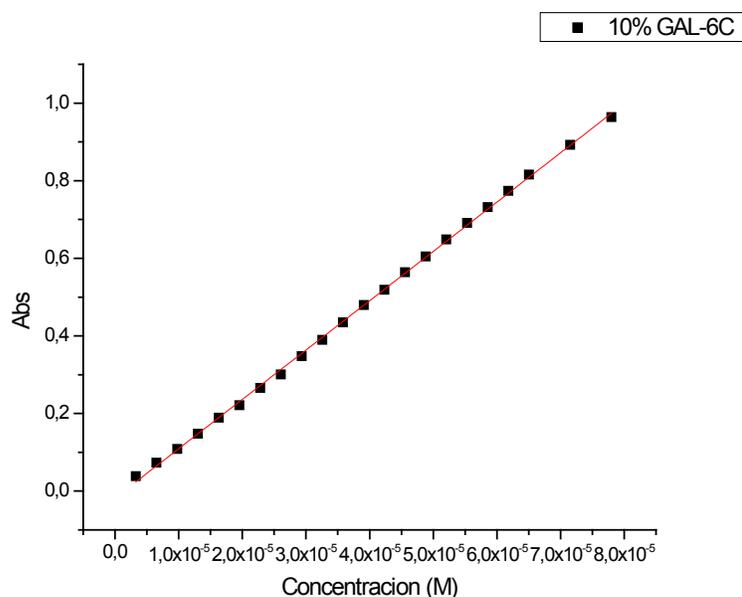
Los valores de área molecular a una proporción del 10% de ambos glicolípidos son menores que los del TX-100, debido a que la mezcla de las cabezas hidrofílicas de ambos surfactantes genera un aumento de interacciones atractivas entre sí, generando una menor área ocupada por molécula. A su vez, los valores de área molecular de MAN-6C-TX 100 y GAL-6C-TX 100 son menores que en surfactantes puros, a cualquier proporción, indicando que la presencia de Tritón X-100 favorece las interacciones entre las cabezas hidrofílicas.

Al aumentar la proporción de MAN-6C, el área molecular aumenta, lo que indica que la presencia de las cabezas hidrofílicas de manosa provoca una disminución en la magnitud de las interacciones atractivas entre las moléculas de surfactante. En el caso de GAL-6C, se observaron dos tendencias, un aumento y una disminución del área ocupada por molécula, atribuibles a un balance entre interacciones repulsivas y atractivas lo que genera una mayor área ocupada por cada molécula (hasta una proporción del 30% de glicolípidos), y en la proporción de 75% de glicolípidos, una disminución del área ocupada por cada molécula. Esto demuestra que, al añadir un surfactante adicional, se altera la magnitud de las interacciones atractivas y repulsivas entre las cabezas hidrofílicas tanto de los glicolípidos como de TX-100.

A pesar de lo anterior, los cambios apreciados en la capacidad de micelización de Tritón X-100, no son significativos al añadir glicolípidos, logrando formar micelas y aumentar la concentración de sensibilizador en agua a través de este método, haciendo que las micelas mixtas sean ventajosas de utilizar.

Aún en micelas mixtas, los espectros de absorción no muestran la micelización, debido a que la pendiente del gráfico de absorbancia versus concentración se mantuvo constante (Fig. 16) en valores bajo y sobre la concentración micelar crítica,

lo que confirma que el método de absorción no es adecuado para determinar CMC usando los glicolípidos como especie para monitorear este proceso, al igual que para micelas simples. Sin embargo, se determinó los coeficientes de absorción molar para cada composición de micelas mixtas. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 17.



**Fig. 16** Gráfico de absorción versus concentración para 10% GAL-6C. Regresión lineal  $R^2 = 0,9993$

**Tabla 17.** Coeficientes de absorción molar ( $\epsilon$ ) de MAN-6C y GAL-6C a longitud de onda máxima de absorción ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ) en micelas mixtas con TX-100 de diferentes proporciones.

Proporción	$\epsilon$ MAN-6C ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ) ( $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )	$\epsilon$ GAL-6C ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ) ( $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )
10%	12,7 (333)	12,7 (333)
30%	11,4 (333)	11,9 (333)
75%	9,9 (333)	10,6 (333)

Como los valores obtenidos fueron similares a los de glicolípidos sin micelizar, se concluyó que la presencia de Tritón X-100 no modifica la capacidad de absorción del glicolípidos.

### 4.3.3 Generación de oxígeno molecular singulete en micelas mixtas

Para evaluar la capacidad de los glicolípidos sintetizados para generar oxígeno molecular singulete desde un medio microheterogéneo, se midieron los decaimientos de oxígeno excitado en micelas mixtas en presencia de proporciones diferentes de glicolípidos y TX-100 (10%, 30% y 75%) y a concentraciones bajo y sobre la CMC. Como actinómetro, se utilizaron soluciones de fenalenona en Tritón X-100 a la misma concentración total de surfactante y con igual absorbancia a la longitud de onda de excitación.

Para micelas mixtas con un 75% de glicolípidos, las medidas sólo pudieron realizarse a concentraciones menores que la CMC, pues a concentraciones mayores, las absorbancias eran excesivamente altas. Es por este motivo que los valores de rendimiento reportados corresponden solo al caso de pre-micelización.

Los tiempos de vida de triplete (bajo aire) y del oxígeno molecular singulete no mostraron dependencia con la concentración y sus valores son comparables con los evaluados con fenalenona como sensibilizador, lo que implica que, en este medio, estos compuestos tampoco desactivan el oxígeno excitado, al igual que se observó en medio homogéneo. Los valores obtenidos para los tiempos de vida se muestran en la Tabla 18.

**Tabla 18.** Tiempos de vida de triplete ( $\tau_T$ ) y de oxígeno molecular singulete ( $\tau_\Delta$ ) de MAN-6C, GAL-6C y PNF a distintas composiciones de micelas mixtas. (Abs = 0,28)

Composición	$\tau_T$ [ $\mu$ s]			$\tau_\Delta$ [ $\mu$ s]		
	MAN-6C	GAL-6C	PNF	MAN-6C	GAL-6C	PNF
10%	2,57	2,46	1,84	3,60	3,82	4,14
30%	2,05	2,16	1,99	4,07	3,79	3,89
75%	2,09	2,57	2,04	4,14	3,81	3,66

Para la composición 10%, la solución de PNF ya se encontraba micelizada debido a que, a esa absorbancia, sobrepasaba la CMC del Tritón, lo que justifica la

diferencia en los tiempos de vida de triplete y de oxígeno. En el resto de los casos, las concentraciones eran bajo la CMC, lo que permitió determinar que los tiempos de vida de triplete y de oxígeno molecular singulete en agua son del orden de 2 y 4 [μs], respectivamente, e independientes de la composición de micela mixta. Al sobrepasar la CMC en cada caso no se modificaron los valores de los tiempos de vida, indicando que el entorno, para los estados triplete y para el oxígeno excitado de la sonda, es similar en todos los tipos de micela.

Los rendimientos cuánticos se determinaron empleando los factores pre-exponenciales (A) obtenidos en los ajustes de las curvas de emisión, corregidos con los tiempos de vida, como se detalló en metodología, según la siguiente ecuación.<sup>[31]</sup> En este caso, esta corrección es necesaria ya que los tiempos de vida del oxígeno en agua son bajos y los tiempos del triplete largos, por lo que la diferencia entre  $\tau_T$  y  $\tau_\Delta$  no es despreciable y el factor de corrección mostrado en la siguiente ecuación es distinto de 1.

$$A_{\text{correg}} = A_{\text{exp}} \times \frac{\tau_\Delta}{\tau_\Delta - \tau_T}$$

Los rendimientos cuánticos obtenidos a diferentes concentraciones y composición de micelas mixtas para MAN-6C y GAL-6C se muestran en la Tabla 19 y 20, respectivamente.

**Tabla 19.** Rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singulete ( $\Phi_\Delta$ ) de MAN-6C a distintas concentraciones en diferentes composiciones de micelas mixtas. Concentración en amarillo: bajo CMC. Concentración en azul: sobre la CMC.

10% MAN-6C		30% MAN-6C		75% MAN-6C	
Concentración (10 <sup>-4</sup> M)	$\Phi_\Delta$	Concentración (10 <sup>-4</sup> M)	$\Phi_\Delta$	Concentración (10 <sup>-4</sup> M)	$\Phi_\Delta$
1,7	0,79	0,9	0,56	0,3	0,46
2,6	2,93*	2,3	0,52	1,0	0,55
7,1	0,68*	5,1	0,57*	1,4	0,76
8,9	0,83*	6,1	0,44*	1,6	0,47

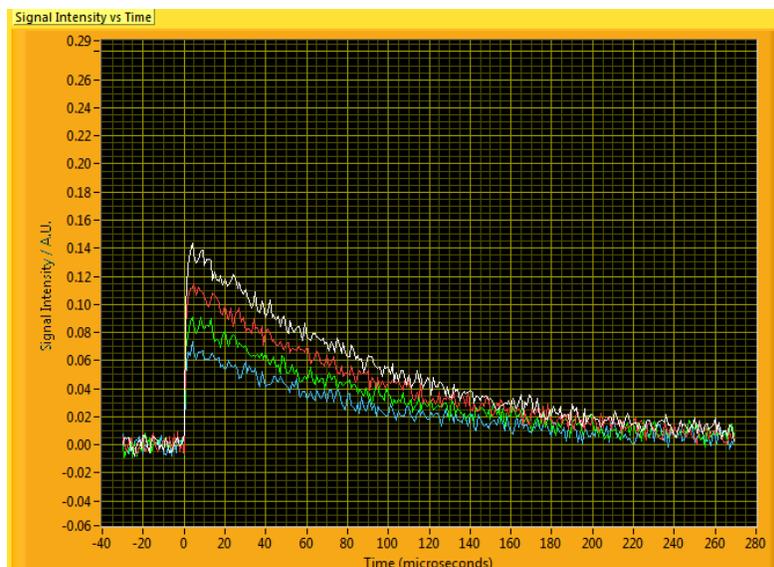
\*Solución de actinómetro de fenalenona y TX-100 en micelas.

**Tabla 20.** Rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ) de GAL-6C a distintas concentraciones en diferentes composiciones de micelas mixtas. Concentración en amarillo: bajo CMC. Concentración en azul: sobre la CMC.

10% GAL-6C		30% GAL-6C		75% GAL-6C	
Concentración ( $10^{-4}$ M)	$\Phi_{\Delta}$	Concentración ( $10^{-4}$ M)	$\Phi_{\Delta}$	Concentración ( $10^{-4}$ M)	$\Phi_{\Delta}$
1,8	0,73	0,9	0,86	0,3	1,16
2,7	1,66*	2,2	1,40	1,0	0,92
7,4	0,24*	5,0	0,48*	1,2	0,62
9,2	0,50*	6,0	0,56*	1,5	0,46

\*Solución de actinómetro de fenalenona y TX-100 en micelas.

En las Tablas, los rendimientos cuánticos señalados con asterisco indican que la solución de actinómetro de fenalenona y TX-100 (composición respectiva) se encuentra micelizada, pues supera la CMC del Tritón X-100. Esto genera un desbalance al comparar las intensidades obtenidas, pues en el caso de 10% de glicolípido de concentración  $\sim 2,6 \times 10^{-4}$  [M], no hay formación de agregados, pero la fenalenona de referencia a esa concentración está incorporada en micelas. Debido a esto, se justifica el alto valor de rendimiento cuántico  $\sim 3$  para 10% MAN-6C y  $\sim 1,7$  para 10% GAL-6C. Por otro lado, en concentraciones cercanas a la CMC (por ej. 30% GAL-6C concentración  $\sim 0,2$  [mM]), se pueden presentar diferencias entre las soluciones de glicolípido y de fenalenona debido a que se encuentra en proceso de formación de agregados micelares, es decir, se modifica el medio en el que se encuentran. Esto puede alterar el índice de refracción de la solución, parámetro del que depende la cantidad de radiación detectada, y que por tanto afectará en el resultado obtenido para el rendimiento cuántico de generación de oxígeno molecular singlete. Al aumentar el índice de refracción, las intensidades de emisión de  $^1\text{O}_2$  detectadas son mayores (manteniendo constantes otros factores que influyen en  $\Phi_{\Delta}$ ). Así, variando en 0,06 el índice de refracción, se mediría el doble de intensidad, como se muestra en la Figura 17.



**Fig. 17** Gráfico de la simulación del decaimiento de oxígeno molecular singlete variando el índice de refracción. De  $n = 1,32$  (azul),  $1,34$  (verde),  $1,36$  (rojo) a  $1,38$  (blanco).<sup>[36]</sup>

Por lo anterior, algunos valores de  $\Phi_{\Delta}$  pueden contener un error significativo debido al cambio de naturaleza del medio de homogéneo a microheterogéneo con la formación de micelas, razón posible para algunos rendimientos cuánticos incorrectamente mayores a 1.

A pesar de todo lo expuesto anteriormente, los glicolípidos sintetizados son eficientes generadores de oxígeno molecular singlete en concentraciones bajo y sobre la CMC, siendo la proporción 10% MAN-6C y 30% GAL-6C las con  $\Phi_{\Delta}$  más altos en micelas mixtas.

## 5. CONCLUSIONES

1. Se sintetizaron con éxito, pero bajo rendimiento global, nuevos glicolípidos derivados de la fenalenona con manosa y galactosa como azúcar. Se caracterizaron mediante  $^1\text{H-RMN}$ .
2. Los glicolípidos MAN-6C y GAL-6C se caracterizaron fotofísicamente y se determinó que los sustituyentes agregados a la fenalenona no modifican su capacidad de absorción, su fotoestabilidad ni su capacidad de generar  $^1\text{O}_2$ , siendo buenos sensibilizadores de oxígeno molecular singulete.
3. Se determinaron las concentraciones micelares críticas de los agregados formados por los glicolípidos MAN-6C y GAL-6C en medio acuoso. Sus valores fluctúan entre 0,1 – 0,2 [mM].
4. Los glicolípidos MAN-6C y GAL-6C son poco solubles en agua por lo que se utilizaron micelas mixtas con Tritón X-100 para solubilizarlos y aumentar la cantidad de sensibilizador en agua. Las micelas mixtas no alteraron las propiedades fotofísicas de los glicolípidos por lo cual, resultaron ser una opción apropiada para alcanzar concentraciones elevadas de estos sensibilizadores en agua.
5. Los rendimientos cuánticos de generación de oxígeno molecular singulete en agua, pre y post micelización, a distintas composiciones de micelas mixtas fluctúan entre 0,5 – 1,0 demostrando que son buenos generadores de  $^1\text{O}_2$ .

## Referencias

- [1] D. P. Sachdev, S. S. Cameotra, Biosurfactants in agriculture, *Appl Microbiol. Biotech.*, 97 (2013) 1005-1016.
- [2] R. Malhotra, Membrane Glycolipids: Functional Heterogeneity: A Review, *Biochem. Anal. Biochem.*, 1 (2012) 108.
- [3] P. Boullanger, D. Lafont, M. N. Bouchu, L. Jiang, T. Liu, W. Lu, C. X. Guo, J. Li, The use of glycolipids inserted in color-changeable polydiacetylene vesicles, as targets for biological recognition, *Comptes Rend. Chim.*, 11 (2008) 43-60.
- [4] C. Tanford, *The hydrophobic effect : formation of micelles and biological membranes*. (John Wiley & Sons, New York, 1973).
- [5] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, 3rd ed. (Elsevier, Amsterdam, 2011).
- [6] D. Myers, *Surfactant Science and Technology*, 3rd ed. (Wiley and Sons, New York).
- [7] C. Carnero Ruiz, Rotational dynamics of coumarin 153 in non-ionic mixed micelles of n-octyl-beta-D-thioglucoiside and Triton X-100, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 11 (2012) 1331-1338.
- [8] P. Baverback, C. L. P. Oliveira, V. M. Garamus, I. Varga, P. M. Claesson, J. S. Pedersen, Structural Properties of beta-Dodecylmaltoside and C12E6 Mixed Micelles, *Langmuir*, 25 (2009) 7296-7303.
- [9] H. Matsubara, H. Takumi, T. Takamatsu, T. Takiue, M. Aratono, Surface adsorption and micelle formation of aqueous solutions of polyethyleneglycol and sugar surfactants, *Colloid. Polym. Sci.*, 287 (2009) 1077-1082.
- [10] S. R. Patil, N. Buchavzov, E. Carey, C. Stubenrauch, Binary mixtures of beta-dodecylmaltoside (beta-C(12)G(2)) with cationic and non-ionic surfactants: micelle and surface compositions, *Soft Matter*, 4 (2008) 840-848.
- [11] M. J. Rosen, S. B. Sulthana, The interaction of alkylglycosides with other surfactants, *J Colloid Interf. Sci.*, 239 (2001) 528-534.
- [12] G. M. Santonicola, E. W. Kaler, Mixtures of n-octyl-beta-D-glucoside and triethylene glycol mono-n-octyl ether: Phase behavior and micellar structure near the liquid-liquid phase boundary, *Langmuir*, 21 (2005) 9955-9963.
- [13] M. A. Sanz, N. Granizo, M. Gradzielski, M. M. Rodrigo, M. Valiente, Mixed micellar systems of octyl beta,D-glucopyranoside with a nonionic surfactant and a water-soluble polymer, *Colloid. Polym. Sci.*, 283 (2005) 646-652.
- [14] M. L. Sierra, M. Svensson, Mixed micelles containing alkylglycosides: Effect of the chain length and the polar head group, *Langmuir*, 15 (1999) 2301-2306.
- [15] C. Stubenrauch, P. M. Claesson, M. Rutland, E. Manev, I. Johansson, J. S. Pedersen, D. Langevin, D. Blunk, C. D. Bain, Mixtures of n-dodecyl-beta-D-maltoside and hexaoxyethylene dodecyl ether - Surface properties, bulk properties, foam films, and foams, *Adv. Colloid Interfac. Sci.*, 155 (2010) 5-18.
- [16] R. Zhang, L. Zhang, P. Somasundaran, Study of mixtures of n-dodecyl-beta-D-maltoside with anionic, cationic, and nonionic surfactant in aqueous solutions using surface tension and fluorescence techniques, *J Colloid Interf. Sci.*, 278 (2004) 453-460.
- [17] A. U. Khan, M. Kasha, Red chemiluminescence of molecular oxygen in aqueous solution, *J. Chem. Phys.*, 39 (1963) 2105-2106.

- [18] M. C. DeRosa, R. J. Crutchley, Photosensitized singlet oxygen and its applications, *Coord. Chem. Rev.*, 233 (2002) 351-371.
- [19] B. Epe, Genotoxicity of Singlet Oxygen, *Chem-Biol Interact.*, 80 (1991) 239-260.
- [20] A. U. Khan, Direct spectroscopic observation of 1.27mm and 1.58mm emission of singlet molecular oxygen in chemically generated and dye-photosensitized liquid solutions at room temperature., *Chem. Phys. Lett.*, 72 (1980) 112-114.
- [21] I. B. C. Matheson, J. Lee, B. S. Yamanashi, M. L. Wolbarsht, Measurement of the absolute rate constants for singlet molecular oxygen reaction with 1,3-diphenylisobenzofuran and physical quenching by ground state molecular oxygen, *J. Am. Chem. Soc.*, 96 (1974) 3343-3348.
- [22] J. F. Noxon, OBSERVATION OF THE ( $b^1 S^+ g-a^1 D_g$ ) TRANSITION IN  $O_2^1$ , *Can. J. Phys.*, 39 (1961) 1110-1112.
- [23] R. Schmidt, M. Bodesheim, Radiationless deactivation of the second excited singlet state of  $O_2$  in solution., *J. Phys. Chem. A*, 102 (1998) 4769-4774.
- [24] E. Oliveros, P. Suardimurasecco, T. Aminiansaghafi, A. M. Braun, H. J. Hansen, 1h-Phenalen-1-One - Photophysical Properties and Singlet-Oxygen Production, *Helv. Chim. Acta*, 74 (1991) 79-90.
- [25] F. Wilkinson, W. P. Helman, A. B. Ross, Quantum Yields for the Photosensitized Formation of the Lowest Electronically Excited Singlet-State of Molecular-Oxygen in Solution, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 22 (1993) 113-262.
- [26] R. W. Redmond, J. N. Gamlin, A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules, *Photochem. Photobiol.*, 70 (1999) 391-475.
- [27] R. Schmidt, C. Tanielian, R. Dunsbach, C. Wolff, Phenalenone, a universal reference compound for the determination of quantum yields of singlet oxygen sensitization, *J. Photochem. Photobiol. A.*, 79 (1994) 11-17.
- [28] H. Sies, Biochemistry of Oxidative Stress, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 25 (1986) 1058-1071.
- [29] P. Nangia-Makker, J. Conklin, V. Hogan, A. Raz, Carbohydrate-binding proteins in cancer, and their ligands as therapeutic agents, *Trends in Molecular Medicine*, 8 (2002) 187-192.
- [30] V. Faivre, V. Rosilio, Interest of glycolipids in drug delivery: from physicochemical properties to drug targeting, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 7 (2010) 1031-1048.
- [31] F. Setaro, R. Ruiz-Gonzalez, S. Nonell, U. Hahn, T. Torres, Synthesis, photophysical studies and O-1(2) generation of carboxylate-terminated zinc phthalocyanine dendrimers, *J. Inorg. Biochem.*, 136 (2014) 170-176.
- [32] C. S. Chern, H. C. Chiu, Y. S. Yang, Interactions between nonionic Triton X surfactants and cholesterol-containing phosphatidylcholine liposomes, *J Colloid Interf. Sci.*, 302 (2006) 335-340.
- [33] M. Cocera, O. Lopez, L. Coderch, J. L. Parra, A. de la Maza, Solubilization of stratum corneum lipid liposomes by Triton X-100. Influence of the level of cholesteryl sulfate in the process, *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 182 (2001) 15-23.
- [34] T. Gaudin, P. Rotureau, I. Pezron, G. Fayet, Investigating the impact of sugar-based surfactants structure on surface tension at critical micelle concentration with structure-property relationships, *J Colloid Interf. Sci.*, 516 (2018) 162-171.

- [35] A. J. Kumpulainen, C. M. Persson, J. C. Eriksson, Headgroup and hydrocarbon tail effects on the surface tension of sugar-based surfactant solutions., *Langmuir*, 20 (2004) 10935-10942.
- [36] M. Tarr, D. P. Valzeno, S. Nonell, in *The digital photobiology compendium* (Institut Químic de Sarr, 2003).