

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 012**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/409** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.06.2005** **E 05755384 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **04.04.2007** **EP 1768666**

54 Título: **Nuevos usos de compuestos de porfirina**

30 Prioridad:

**23.06.2004 GB 0414025**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.02.2013**

73 Titular/es:

**DESTINY PHARMA LIMITED (100.0%)  
SUSSEX INNOVATION CENTRE, SCIENCE PARK  
SQUARE  
FALMER, BRIGHTON BN1 9SB, GB**

72 Inventor/es:

**LOVE, WILLIAM G.;  
RHYS-WILLIAMS, WILLIAM y  
BRUNDISH, DEREK**

74 Agente/Representante:

**URÍZAR ANASAGASTI, José Antonio**

**ES 2 395 012 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Nuevos usos de compuestos de porfirina.

Campo

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a nuevos usos de compuestos de porfirina y, en particular, al uso de dichos compuestos en el tratamiento curativo o profiláctico de la colonización e infección microbiana.

Antecedentes

- 10 **[0002]** La resistencia a los antibióticos desarrollada por un número creciente de microorganismos está reconocida como un problema mundial de salud (Tunger et al., 2000, Int. J. Microb. Agents 15:131-135; Jorgensen et al., 2000, Clin. Infect. Dis. 30:799-808). En consecuencia, se necesita con urgencia el desarrollo de nuevos enfoques para eliminar microorganismos.

- 15 **[0003]** El tratamiento de infecciones microbianas con terapias fotodinámicas (PDT) representa un valioso método reciente para erradicar bacterias ya que implica un mecanismo que es marcadamente diferente al típico de la mayoría de los antibióticos. Así, la PDT está basada en el uso de una molécula fotosensibilizadora que, una vez activada por la luz, genera especies que reaccionan con el oxígeno que son tóxicas para una gran variedad de células procariotas y eucariotas que incluyen bacterias, micoplasmas y levaduras (Malik et al., 1990, J. Photochem. Photobiol. B Biol. 5:281-293; Bertoloni et al., 1992, Microbios 71:33-46). Es importante destacar que la actividad fotosensibilizadora de muchos agentes fotodinámicos contra las bacterias no es disminuida por la resistencia a los antibióticos, sino que en lugar de ello, depende fundamentalmente de su estructura química (Malik et al., 1992, J. Photochem. Photobiol. B Biol 14:262-266).

- 25 **[0004]** Varios tipos de agentes fotosensibilizadores neutros y aniónicos muestran una pronunciada actividad fototóxica contra las bacterias Gram positivas. Sin embargo, tales agentes fotosensibilizadores no ejercen una actividad citotóxica apreciable contra las bacterias Gram negativas a menos que la permeabilidad de la membrana externa sea alterada por tratamiento con ácido etilendiaminotetraacético EDTA o policationes (Bertoloni et al., 1990, FEMS Microbiol. Lett. 71:149-156; Nitzan et al., 1992, Photochem. Photobiol. 55:89-97). Se cree que la envoltura celular de las bacterias Gram negativas, que es más compleja y más gruesa que la de las bacterias Gram positivas, impide un enlace efectivo del agente sensibilizador o intercepta y desactiva las especies que reaccionan a los citotóxicos fotogeneradas por el agente fotosensibilizador (Ehrenberg et al., 1985, Photochem. Photobiol. 41:429-435; Valduga et al., 1993, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. 21:81-86).

- 30 **[0005]** Por el contrario, los agentes fotosensibilizadores cargados positivamente (catiónicos), incluyendo las porfirinas y ftalocianinas, promueven la desactivación eficiente de las bacterias Gram negativas sin necesidad de modificar la estructura natural de la membrana celular (Merchat et al., 1996, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. 32:153-157; Minnock et al., 1996, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. 32:159-164). Parece que la carga positiva favorece el enlace del agente fotosensibilizador en sitios celulares críticos que una vez dañados por la exposición a la luz, causan la pérdida de la viabilidad de la célula (Merchat et al., 1996, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. 35:149-157). Así, se ha informado que la *Escherichia Coli* es desactivada eficientemente por una luz visible después de la incubación con el catiónico 5, 10, 15, 20-tetrakis-(4-N-metilpiridil)-porfina (T<sub>4</sub>MPyP) (Valduga et al., 1999, Biochem. Biophys. Res. Commun. 256:84-88). La actividad fototóxica de esta porfirina está mediada fundamentalmente, más que por el enlace con el ADN, por el deterioro de las funciones enzimáticas y de transporte, tanto de la membrana externa como de la citoplasmática.

- 45 **[0006]** Sin embargo, la utilidad de los agentes antimicrobianos con base de porfirinas conocidos está limitada debido a su toxicidad contra el tejido celular del huésped mamífero, o sea, los compuestos no son capaces de diferenciar entre células microbianas diana y células huéspedes. Además, la utilidad de los agentes antimicrobianos con base de porfirinas conocidos está también limitada por su potencia relativamente baja ante las células microbianas diana. WO 2004/056828 (disponible como estado de la técnica en virtud del artículo 54(3)EPC) revela compuestos basados en porfirina, para su uso en terapia fotodinámica, que exhiben toxicidad selectiva contra las células microbianas.

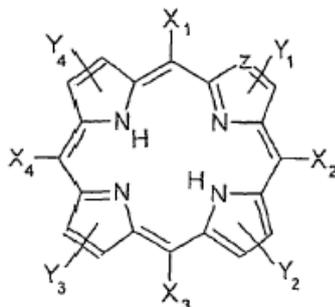
**[0007]** Además, no todas las infecciones microbianas son susceptibles de tratamiento mediante terapia fotodinámica, por ejemplo, el lugar de la infección puede no ser accesible a la luz.

- 50 **[0008]** Por lo tanto, existe una necesidad de nuevos métodos para eliminar y atenuar el crecimiento de agentes microbianos.

Resumen

**[0009]** Según un primer aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I en la preparación de un medicamento para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método en

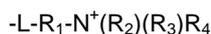
vivo que no comprende exponer el compuesto a una fuente de luz de terapia fotodinámica o a una fuente de ultrasonidos de terapia sonodinámica.



I

5 en donde:

$X_1, X_2, X_3$  y  $X_4$  representan independientemente (es decir, son los mismos o diferentes) un átomo de hidrógeno, una fracción lipofílica, un grupo fenilo, un grupo alquilo, alarilo o aralquilo inferiores, o un grupo catiónico de la siguiente fórmula;



10 en donde:

L es una fracción de enlace o está ausente;

$R_1$  representa un alquileo inferior, un alquenileno inferior o un alquinileno inferior, el cual es opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido por oxígeno), flúor,  $OR_5$ ,  $C(O)R_6$ ,  $C(O)OR_7$ ,  $C(O)NR_8R_9$ ,  $NR_{10}R_{11}$  y  $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ ; y

15  $R_2, R_3$  y  $R_4$  representan independientemente (es decir, son los mismos o diferentes) H, arilo, alquilo inferior, alquenilo inferior o alquinilo inferior, los últimos tres de los cuales son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados a partir de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido por oxígeno), arilo,  $OR_5$ ,  $C(O)R_6$ ,  $C(O)OR_7$ ,  $C(O)NR_8R_9, NR_{10}R_{11}$  y  $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$

Z es  $-CH$  o N:

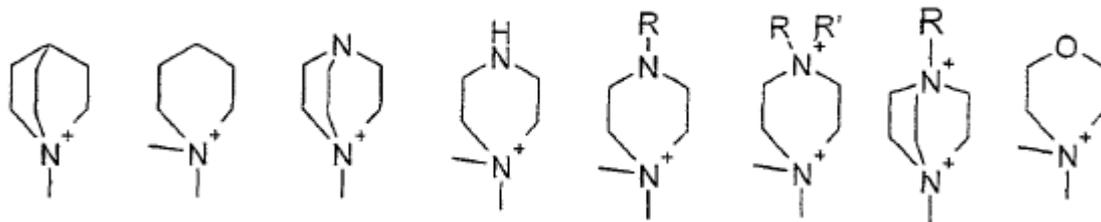
20  $Y_1, Y_2, Y_3$  e  $Y_4$  están ausentes o de manera independiente representan arilo, alquilo inferior, alquenilo inferior o alquinilo inferior, los últimos tres de los cuales son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados a partir de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido por oxígeno), arilo,  $OR_5$ ,  $C(O)R_6$ ,  $C(O)OR_7$ ,  $C(O)NR_8R_9, NR_{10}R_{11}$  y  $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$  o, tomados en conjunto con el anillo de pirrol al que se unen, pueden formar un grupo cíclico; y

25  $R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, R_{13}$  y  $R_{14}$  representan independientemente H o un alquilo inferior

siempre que al menos uno de  $X_1, X_2, X_3$  y  $X_4$ , sea un grupo catiónico, según la definición antes mencionada y al menos uno de  $X_1, X_2, X_3$  y  $X_4$ , sea un átomo de hidrógeno.

30 **[0010]** El término "alquilo inferior" pretende incluir alquilo  $C_1-C_{20}$  lineal o ramificado, cíclico o acíclico, el cual puede ser interrumpido por oxígeno (preferiblemente no más de cinco átomos de oxígeno están presentes en cada cadena de alquilo). Los grupos alquilo inferiores que pueden representarse con  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, R_{13}$  y  $R_{14}$  incluyen alquilo  $C_1-C_{18}$ , alquilo  $C_1-C_{16}$ , alquilo  $C_1-C_{14}$ , alquilo  $C_1-C_{12}$ , alquilo  $C_1-C_{10}$ , alquilo  $C_1-C_9$ , alquilo  $C_1-C_8$ , alquilo  $C_1-C_7$ , alquilo  $C_1-C_6$ , alquilo  $C_1-C_5$ , alquilo  $C_1-C_4$ , alquilo  $C_1-C_3$  y alquilo  $C_1-C_2$ . Los grupos alquilo inferiores preferidos que pueden representarse con  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, R_{13}$  y  $R_{14}$  incluyen alquilo  $C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}$  y  $C_{16}$ .

35 **[0011]** Así, uno o más de  $N^+R_2R_3R_4$  y/o  $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$  pueden representar grupos amino/amonio cíclicos, por ejemplo:



**[0012]** Se apreciará que los grupos amino/amonio cíclico también puedan constar de menos o más de seis elementos, por ejemplo esos grupos podrán comprender anillos de 4, 5, 7, 8, 9 o 10 elementos.

**[0013]** El término “alquileo inferior” debe ser interpretado de acuerdo con ello.

5 **[0014]** Los términos “alquenilo inferior” y “alquinilo inferior” pretenden incluir alquenilos y alquinilos C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>, lineales o ramificados, cíclicos o acíclicos, respectivamente, cada uno de los cuales puede ser interrumpido por oxígeno (preferiblemente no más de cinco átomos de oxígeno están presentes en cada cadena de alquenilo o alquinilo).

10 **[0015]** El término “alquenilo inferior” también incluye ambos isómeros geométricos *cis* y *trans*. Los grupos alquenilos inferiores que pueden estar representados con R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> y R<sub>14</sub> incluyen alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>17</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>16</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>14</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> y alquenilo C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>. Los grupos alquenilos preferentes que pueden estar representados con R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> y R<sub>14</sub> incluyen alquenilos C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>13</sub>, C<sub>14</sub>.

**[0016]** El término “alquenileno inferior” debe ser interpretado de acuerdo con ello.

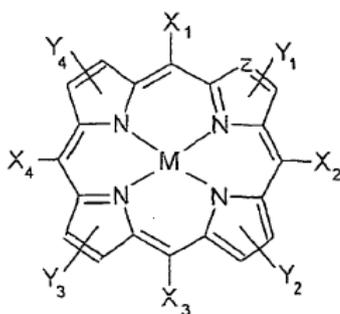
15 **[0017]** Los grupos “alquinilos inferiores” que pueden estar representados con R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> y R<sub>14</sub> incluyen alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>16</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>14</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>9</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> y alquinilo C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>. Los grupos alquinilos preferentes que pueden estar representados con R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> y R<sub>14</sub> incluyen alquinilos C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>13</sub> y C<sub>14</sub>.

20 **[0018]** El término “alquinileno inferior” debe ser interpretado de acuerdo con ello.

**[0019]** El término “arilo” significa grupos aromáticos carbocíclicos de seis a diez elementos, tales como fenilo y naftilo, cuyos grupos son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados del flúor, ciano, nitro, alquilo inferior (es decir, alcarilos), OR<sub>5</sub>, C(O)R<sub>6</sub>, C(O)OR<sub>7</sub>, C(O)NR<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub>.

**[0020]** El término “aralquilo” incluye grupos arilos unidos al anillo de porfirinas mediante un grupo alquilo inferior.

25 **[0021]** Un segundo aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula II en la preparación de un medicamento para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método en vivo que no comprende exponer el compuesto a una fuente de luz de terapia fotodinámica o a una fuente de ultrasonidos de terapia sonodinámica.



II

30 en donde M es un elemento metálico o un elemento metaloide y X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub>, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> y Z son como se definieron anteriormente.

**[0022]** Preferentemente, en el primero y segundo de los aspectos de la invención, el medicamento es para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método que no comprende exponer el compuesto a un estímulo que activa la actividad antimicrobiana.

- 5 **[0023]** Mediante “un estímulo que activa la actividad antimicrobiana” nos referimos a un estímulo que aumenta la capacidad del compuesto para eliminar o atenuar el crecimiento de agentes microbianos, como la irradiación con una fuente de luz de terapia fotodinámica o una fuente de ultrasonidos. En otras palabras, el medicamento muestra una actividad antimicrobiana innata, es decir, el medicamento (y específicamente el compuesto activo en él) es intrínsecamente activo. Dicha actividad puede determinarse por métodos bien conocidos en la materia; por ejemplo, ver Ejemplo B.
- 10 **[0024]** Por lo tanto, el medicamento es para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos por un método distinto de terapia fotodinámica o sonodinámica. Sin embargo, se apreciará que los métodos para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos en los que el medicamento está expuesto a la luz ambiental normal (es decir, luz solar o luz ambiental artificial) no estén excluidos.
- 15 **[0025]** Preferentemente, el medicamento es expuesto a luz/radiación de intensidad inferior a  $10 \text{ mW/cm}^2$ , por ejemplo inferior a  $20 \text{ mW/cm}^2$ , inferior a  $25 \text{ mW/cm}^2$ , inferior a  $30 \text{ mW/cm}^2$  (es decir menor de  $300 \text{ W/m}^2$ ) inferior a  $40 \text{ mW/cm}^2$ , inferior a  $50 \text{ mW/cm}^2$ , inferior a  $60 \text{ mW/cm}^2$ , inferior a  $70 \text{ mW/cm}^2$ , inferior a  $80 \text{ mW/cm}^2$ , inferior a  $90 \text{ mW/cm}^2$  o inferior a  $100 \text{ mW/cm}^2$ .
- 20 **[0026]** Ventajosamente, el medicamento es expuesto a dosis de luz/radiación inferior a  $100 \text{ J/cm}^2$ , por ejemplo inferior a  $90 \text{ J/cm}^2$ , inferior a  $80 \text{ J/cm}^2$ , inferior a  $70 \text{ J/cm}^2$ , inferior a  $60 \text{ J/cm}^2$ , inferior a  $50 \text{ J/cm}^2$ , inferior a  $40 \text{ J/cm}^2$ , inferior a  $30 \text{ J/cm}^2$ , inferior a  $20 \text{ J/cm}^2$  o inferior a  $10 \text{ J/cm}^2$ .
- 25 **[0027]** Será además apreciado por las personas expertas en la materia que el medicamento puede ser para su uso en un régimen de tratamiento que aproveche tanto su actividad innata como su actividad sonodinámica y/o fotodinámica. Por ejemplo, el medicamento puede primero utilizarse en ausencia de un estímulo activador, de modo que se aproveche su actividad antimicrobiana innata, y posteriormente exponerse a un estímulo activador tal que se aproveche su actividad de sonodinámica y o fotodinámica.
- 30 **[0028]** El término “elemento metálico” pretende incluir un elemento metálico divalente o trivalente. Preferiblemente, el elemento metálico es diamagnético. Con mayor preferencia, el elemento metálico es seleccionado de Zn (II), Cu (II), La (III), Lu (III), Y (III), In (III), Cd (II), Mg (II), Al (III), Ru, Ni (II), Mn (III), Fe (III), y Pd (II). Más preferentemente, el elemento metálico es Ni (II), Mn (III), Fe (III) o Pd (II).
- 35 **[0029]** El término “metaloides” pretende incluir un elemento que posea propiedades físicas y químicas tales como la capacidad de conducir electricidad, que son intermedias a las de tanto los metales como los no metales. El término “elemento metaloide” incluye átomos de silicio (Si) y germanio (Ge) que son opcionalmente sustituidos por uno o más ligandos.
- 40 **[0030]** Se apreciará que los términos elemento metálico y elemento metaloide incluyen un elemento metal o un elemento metaloide que posee un estado de oxidación positivo, los cuales pueden sustituirse por uno o más ligandos seleccionados de flúor, OH, OR<sub>15</sub>, donde R<sub>15</sub> es alquilo inferior, alqueno inferior, alquino inferior, aralquilo, arilo o alcarilo según la definición anterior (en la cual arilo y alcarilo son monosustituidos).
- 45 **[0031]** Los compuestos de las fórmulas I y II contienen al menos un grupo catiónico. De esta forma, los compuestos de la invención pueden poseer una carga positiva neta, por ejemplo, una carga de +1, +2, +3, +4, +5, +6 o más. En una realización preferente, los compuestos poseen una carga neta menor que +4, por ejemplo, +1, +2 ó +3. En una realización particularmente preferida, los compuestos poseen una carga neta de +2.
- 50 **[0032]** Se apreciará por los expertos en la técnica que los compuestos de las fórmulas I y II pueden ser contrarrestados por aniones de compensación. Los contra aniones ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, haluros (por ejemplo: fluoruro, cloruro y bromuro), sulfatos (por ejemplo, decilsulfato), nitratos, percloratos, sulfonatos (por ejemplo, sulfonato de metano) y trifluoroacetato. Otros contra aniones serán bien conocidos por los expertos en la técnica. De esta forma, derivados farmacéutica y/o veterinariamente aceptables de los compuestos de las fórmulas I y II, tales como sales y solvatos, también están incluidos dentro del campo de la invención. Las sales que pueden ser mencionadas incluyen: sales a las que se les puede adicionar ácidos, por ejemplo, sales formadas con ácidos inorgánicos como el ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico con ácidos carboxílicos o con ácidos organosulfónicos; sales de adición básica; sales metálicas formadas con bases, por ejemplo, las sales de sodio o de potasio.
- 55 **[0033]** Los expertos en la técnica también podrán apreciar que los compuestos de la fórmula I pueden mostrar tautomerismo. Todas las formas tautoméricas y mezclas de las mismas están incluidas en el campo de la invención.
- [0034]** Los compuestos de las fórmulas I y II también pueden contener uno o más átomos asimétricos de carbono y pueden por lo tanto mostrar isomerismo óptico y/o diastereoisomerismo. Los diastereoisómeros pueden ser separados usando técnicas convencionales, por ejemplo, cromatografía o cristalización fraccional. Los distintos estereoisómeros pueden ser aislados por separación de una mezcla racémica u otra mezcla de los compuestos usando técnicas convencionales, por ejemplo, cristalización fraccional o HPLC (por su expresión inglesa, *High Power Liquid Chromatography*). Alternativamente, los isómeros ópticos deseados pueden ser obtenidos por reacción de los productos iniciales ópticamente activos apropiados en condiciones que no causarán racemización o epimerización, o

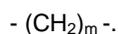
por derivación, por ejemplo con un ácido homoquiral, seguido por separación de los ésteres diastereoisómeros por medios convencionales (por ejemplo, HPLC, cromatografía sobre sílice). Todos los estereoisómeros están incluidos en el campo de la invención.

**[0035]** En una realización preferente de los aspectos primero y segundo de la invención, Z es -CH.

5 **[0036]** Una característica distintiva de los aspectos primero y segundo de la invención es que al menos uno de los grupos sustituyentes  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es un grupo catiónico amonio cuaternario de la fórmula  $-L-R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$ , según lo definido anteriormente. Preferiblemente, ninguno de los  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ , y  $X_4$  es un grupo catiónico anilino o piridino.

**[0037]** En una realización preferente,  $R_1$  es un grupo alquileo inferior, alquencileno inferior o alquinileno inferior no sustituido.

10 **[0038]** Ventajosamente,  $R_1$  es un grupo alquileo inferior de cadena lineal de la fórmula:



15 **[0039]** Preferiblemente, "m" es un entero entre 1 y 20. Más preferiblemente, "m" es un entero entre 1 y 10, por ejemplo entre 1 y 6, entre 1 y 5, entre 1 y 4 ó entre 1 y 3. Los grupos alquilenos inferiores de cadenas lineales preferentes que pueden ser representados por  $R_1$  incluyen grupos de la fórmula anterior en la cual "m" es 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10. Más preferiblemente "m" es 2 ó 3.

**[0040]** Los tres grupos sustituyentes restantes de la fracción cuaternaria de amonio, es decir  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  pueden ser los mismos o diferentes y son seleccionados de H, alquilo inferior, alquencilo inferior o alquinilo inferior, los tres últimos de los cuales son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior,  $OR_5$ ,  $C(O)R_6$ ,  $C(O)OR_7$ ,  $C(O)NR_8R_9$ ,  $NR_{10}R_{11}$  y  $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ .

20 **[0041]** En una realización preferente,  $R_2$ ,  $R_3$  y/o  $R_4$  son un grupo alquilo inferior, alquencilo inferior o alquinilo inferior.

**[0042]** Preferiblemente,  $R_2$ ,  $R_3$  y/o  $R_4$  son grupos alquilos inferiores no sustituidos.

**[0043]** Opcionalmente, al menos uno de  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  es un grupo alquilo que es sustituido por un grupo amino primario, secundario o terciario o un grupo amonio cuaternario.

25 **[0044]** En una realización preferente de los aspectos primero y segundo de la invención,  $R_1$  es  $-(CH_2)_{3-}$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son  $CH_3$  y  $R_4$  es  $-(CH_2)_3-N(CH_3)_2$ .

**[0045]** En una realización preferente alternativa de los aspectos primero y segundo de la invención  $R_1$  es  $-(CH_2)_{3-}$ , y  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  son  $CH_3$  cada uno.

**[0046]** En una realización preferente alternativa adicional de los aspectos primero y segundo de la invención,  $R_1$  es  $-(CH_2)_{3-}$ , y  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  son  $C_2H_5$  cada uno.

30 **[0047]** Ventajosamente, al menos uno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es un grupo catiónico como se definió anteriormente y al menos uno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es un átomo de hidrógeno.

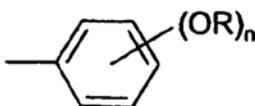
**[0048]** Preferiblemente, cada uno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es un átomo de hidrógeno o un grupo catiónico como se definió anteriormente.

35 **[0049]** Convenientemente, el valor pK de cualquier grupo amino primario, secundario o terciario, si están presentes en los compuestos de la invención, es mayor que 8 para asegurar que el grupo esté protonado cuando está en un ambiente fisiológico. El grupo catiónico amonio cuaternario está opcionalmente enlazado al anillo de porfirina a través de una fracción de enlace, L.

**[0050]** Las fracciones de enlace preferidas, L, incluyen fenoxi, fenileno, sulfonilamido, aminosulfonilo, sulfonilimino, fenilsulfonilamido, fenilo-aminosulfonilo, urea, uretano y fracciones de enlace de carbamato.

40 **[0051]** En una realización preferente, el grupo catiónico amonio cuaternario está enlazado al anillo de porfirina mediante un enlace fenoxi.

**[0052]** Así,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y/o  $X_4$  pueden tener la siguiente fórmula:



en donde R es  $R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$ , según se define anteriormente, y "n" es un entero entre 1 y 3.

**[0053]** En una realización alternativa preferente, el grupo catiónico amonio cuaternario está enlazado al anillo de porfirina por un enlace fenileno.

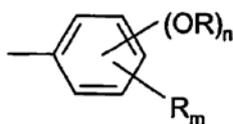
**[0054]** De esta forma,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y/o  $X_4$  puede tener la siguiente fórmula:



5 en donde R es  $R_1 - N^+(R_2)(R_3)R_4$ , según se define anteriormente, y "m" es un entero entre 1 y 3.

**[0055]** Preferiblemente, "m" es 2, y más preferiblemente 1.

**[0056]** En una realización preferente alternativa,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y/o  $X_4$  pueden tener la siguiente fórmula:



en donde R es  $R_1 - N^+(R_2)(R_3)R_4$ , "n" y "m" son como se definen anteriormente y "n+m" está entre 1 y 3.

10 **[0057]** Ventajosamente, L contiene un anillo de benceno (por ejemplo, fenoxi, fenileno, fenilsulfonilamido o fenilaminosulfonilo) mono-sustituido en la posición *para*. Alternativamente, L puede ser *mono* o *di*-sustituido en las posiciones *meta* u *orto*. L también puede ser ambos, *para*- y *orto*-sustituido.

**[0058]** En una realización preferente alternativa, el grupo catiónico amonio cuaternario está directamente enlazado al anillo de porfirina, o sea, L está ausente.

15 **[0059]** En una realización preferente de los aspectos primero y segundo de la invención, el compuesto contiene dos grupos catiónicos, según se definen anteriormente, en lados opuestos del anillo de porfirina, o sea, en las posiciones 5 y 15 del anillo o en las posiciones 10 y 20 del anillo. Por ejemplo,  $X_1$  y  $X_3$  pueden ser un átomo de hidrógeno, una fracción lipofílica, un grupo fenilo, un grupo alquilo inferior, un grupo alcarilo o aralquilo, y  $X_2$  y  $X_4$  pueden ser grupos catiónicos, o viceversa. Preferiblemente, tanto  $X_1$  como  $X_3$  son átomos de hidrógeno y tanto  $X_2$  como  $X_4$  son un grupo catiónico, o viceversa.

20

**[0060]** Alternativamente, el compuesto puede incluir dos grupos catiónicos, según se define anteriormente, en posiciones vecinas del anillo de porfirina, o sea, en las posiciones 5 y 10 del anillo, o en las posiciones 10 y 15 del anillo, o en las posiciones 15 y 20 del anillo, o en las posiciones 20 y 5. Por ejemplo,  $X_1$  y  $X_2$  pueden ser hidrógeno y  $X_3$  y  $X_4$  pueden ser grupos catiónicos, o  $X_2$  y  $X_3$  pueden ser hidrógeno y  $X_4$  y  $X_1$  pueden ser grupos catiónicos, etc.

25 **[0061]** Se apreciará por los expertos en la técnica que surgen posibilidades estructurales isoméricas adicionales cuando Z representa nitrógeno. Tales posibilidades se incluyen en el ámbito de la presente invención.

**[0062]** En una realización mas preferente de los aspectos primero y segundo de la invención, se sustituye el compuesto en uno o más de sus anillos de pirrol constituyentes. De ahí que,  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$ , e  $Y_4$  pueden estar ausentes o representar independientemente arilo, alquilo inferior, alqueno inferior o alquinilo inferior, los tres últimos de ellos están opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior, alqueno inferior (opcionalmente interrumpidos con oxígeno), arilo,  $OR_5$ ,  $C(O)R_6$ ,  $C(O)OR_7$ ,  $C(O)NR_8$ ,  $R_9$ ,  $NR_{10}R_{11}$  y  $N^+R_{12}R_{13}R_{14}$ . Se apreciará por personas calificadas que  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$  y/o  $Y_4$  pueden comprender grupos cíclicos, que pueden ser saturados o aromáticos. Por ejemplo, uno o más de los anillos de pirrol se pueden sustituir para formar un grupo isoindol, es decir,  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$  y/o  $Y_4$  junto con el anillo de pirrol al cual están unidos pueden ser cíclicos.

30

35 **[0063]** En una realización preferente alternativa del primer y segundo de los aspectos de la invención  $Y_1$ ,  $Y_2$ ,  $Y_3$  e  $Y_4$  están ausentes. De esta forma, el anillo de porfirina es preferentemente sustituido sólo en una o más de las posiciones 5, 10, 15 o 20.

**[0064]** En una realización mas preferente de los aspectos primero y segundo de la invención, al menos uno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es o contiene una fracción lipofílica.

40 **[0065]** Por 'fracción lipofílica' incluimos fracciones que tienen un coeficiente de partición entre 1-*n*-octanol y agua expresado como log P mayor que 1,0 a pH fisiológico y 25°C.

**[0066]** Convenientemente, la fracción lipofílica es un grupo alquilo saturado de cadena recta de fórmula  $-(CH_2)_pCH_3$ , o un grupo alqueno equivalente de fórmula  $-(CH_2)_p-$ , en donde "p" es un entero entre 1 y 22, por ejemplo entre 1 y

18. Preferiblemente, "p" está entre 1 y 18, más preferiblemente entre 2 y 16, entre 4 y 16, entre 6 y 18, entre 8 y 16 ó entre 4 y 12. Más preferiblemente, "p" está entre 10 y 12.

**[0067]** Se apreciará que X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y/o X<sub>4</sub> pueden ser un grupo catiónico, según se define anteriormente, el cual también contiene una fracción lipofílica.

5 **[0068]** En una realización preferente alternativa de los aspectos primero y segundo de la invención, ninguno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> ó X<sub>4</sub> son una fracción lipofílica.

10 **[0069]** Ventajosamente, los compuestos utilizados en los aspectos primero y segundo de la invención son solubles en agua. Preferiblemente, los compuestos pueden disolverse en agua hasta obtener una concentración de al menos 5 µg/l, por ejemplo, al menos 10 µg/l, 15 µg/l, ó 20 µg/l. Más preferiblemente, los compuestos pueden disolverse en agua hasta obtener una concentración de al menos 100 µg/l, por ejemplo 200 µg/l, 300 µg/l, 400 µg/l, 500 µg/l, 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 50 mg/ml ó 100 mg/ml.

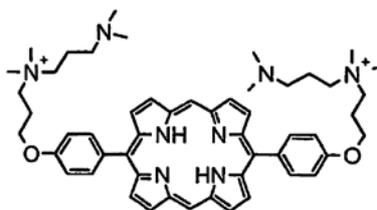
15 **[0070]** Convenientemente, los compuestos utilizados en los aspectos primero y segundo de la invención muestran toxicidad selectiva ante agentes microbianos. Entendiendo por 'selectiva' que el compuesto es preferentemente tóxico para uno o varios microorganismos (tales como bacterias, micoplasmas, levaduras, hongos y/o virus) en comparación con células huésped de mamíferos, por ejemplo humanas. Preferiblemente, la toxicidad del compuesto para un microorganismo diana es al menos dos veces mayor que la toxicidad de este compuesto para células de mamíferos, más preferiblemente al menos tres veces, al menos cuatro veces, al menos cinco veces, al menos seis veces, al menos ocho veces, al menos diez veces, al menos quince veces o al menos veinte veces. Más preferiblemente, el compuesto de la invención es sustancialmente no-tóxico para células de mamíferos.

20 **[0071]** De esta manera, cuando los compuestos se utilizan para tratar infecciones bacterianas, por ejemplo, los regímenes de dosificación pueden ser seleccionados de tal manera que las células bacterianas sean destruidas con un mínimo daño al tejido huésped sano. De esta forma, los compuestos para uso en los aspectos primero y segundo de la invención preferentemente muestran una "ventana terapéutica".

25 **[0072]** En una realización preferente, el compuesto es tóxico para el microorganismo diana (por ejemplo, células bacterianas) en dosis bajas. Preferiblemente, el compuesto es tóxico para el microorganismo diana en una concentración menor de 10 µM, por ejemplo menor de 1 µM, menor de 0,1 µM, menor de 0,01 µM, menor de 0,005 µM o menor de 0,001 µM (véase Ejemplo B).

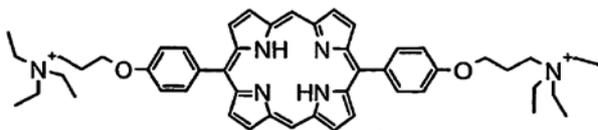
**[0073]** Los compuestos preferentes para uso en los aspectos primero y segundo de la invención incluyen los siguientes:

30 (a) Dicloruro de 5,15-bis-(4-(3-[(3-dimetilamino-propil)-dimetil-amonio]-propiloxi)-fenil)-porfirina ("Compuesto 8").



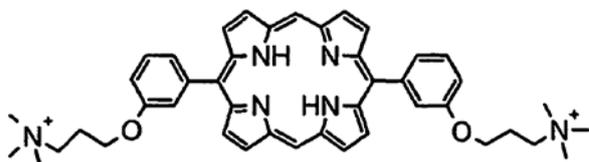
Preferiblemente, este compuesto se suministra como sal dicloruro o tetracloruro.

(b) Dicloruro de 5,15-bis-[4-(3-trietilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina ("Compuesto 9").



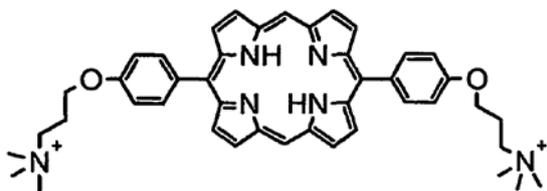
35 Preferiblemente este compuesto se suministra como una sal dicloruro.

(c) Dicloruro de 5,15-bis-[3-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina ("Compuesto 12").



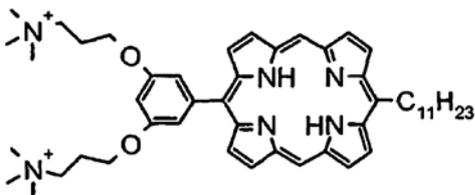
Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de sal dicloruro.

(d) Dicloruro de 5,15-bis-[4-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina ("Compuesto 10");



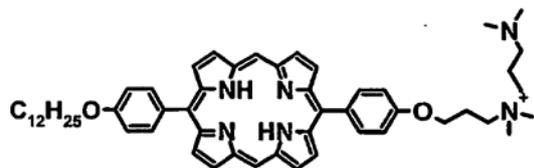
Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de una sal dicloruro.

5 (e) Dicloruro de 5-[3,5-bis-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-15-undecil-porfirina ("Compuesto 6");



Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de sal dicloruro.

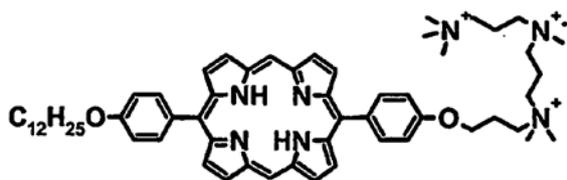
(f) Cloruro de 5-[4-[3-dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amonio-propiloxi]-fenil]-15-(4-dodeciloxi-fenil)-porfirina ("Compuesto 23");



10

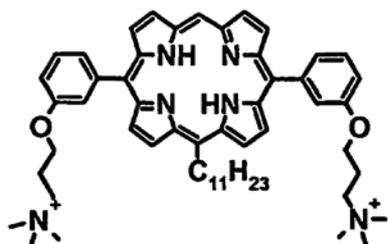
Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de una sal cloruro o dicloruro.

(g) Tricloruro de 3-[(3-[(3-4-[15-(4-Dodeciloxi-fenil)-porfirina-5-il]-fenoxi)-propil]-dimetil-amonio)-propil]-dimetil-amonio)-propil]-trimetil-amonio ("Compuesto 25");



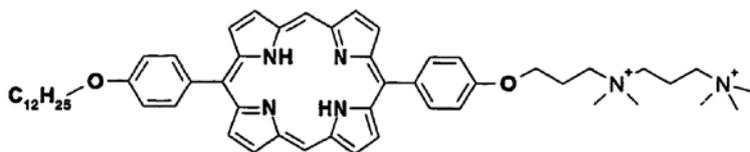
15 Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de una sal tricloruro.

(h) Dicloruro de 5,15-bis-[3-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-10-undecil-porfirina ("Compuesto 28");



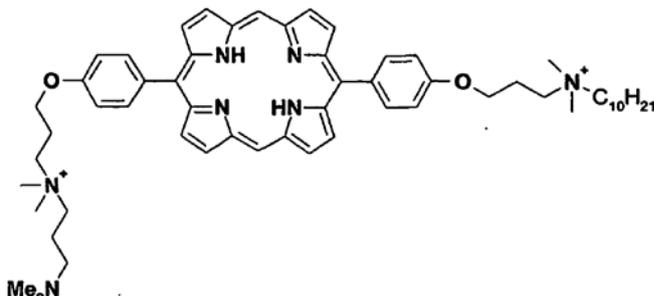
Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de una sal dicloruro.

20 (i) Dicloruro de 5-[4-[3-Dimetil-(3-trimetilamonio-propil)-amonio-propiloxi]-fenil]-15-(4-dodeciloxi-fenil)- porfirina ("Compuesto 31"); y



Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de una sal dicloruro.

(j) Dicloruro de 5-[4-(3-Dimetildecil-amoniopropiloxi)-fenil]-15-[4-[3-dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amoniopropiloxi]-fenil]-porfirina. ("Compuesto 32").



5

Preferiblemente, este compuesto se suministra en forma de una sal dicloruro.

**[0074]** Se apreciará que los compuestos anteriores pueden estar alternativamente en una forma metalada es decir, pueden incluir un elemento metálico quelado o un elemento metaloide dentro del anillo de porfirina.

10 **[0075]** El medicamento, preparado conforme a los aspectos primero o segundo de la invención, puede formularse en diferentes concentraciones, dependiendo de la eficacia /toxicidad del compuesto que se está usando y la indicación para la que está siendo usado. Preferiblemente, el medicamento contiene un compuesto en una concentración de entre 0,1  $\mu\text{M}$  y 1 mM, más preferiblemente entre 1  $\mu\text{M}$  y 100  $\mu\text{M}$ , entre 5  $\mu\text{M}$  y 50  $\mu\text{M}$ , entre 10  $\mu\text{M}$  y 50  $\mu\text{M}$ , entre 20  $\mu\text{M}$  y 40  $\mu\text{M}$  y más preferiblemente alrededor de 30  $\mu\text{M}$ . Para aplicaciones *in vitro*, las formulaciones pueden comprender una concentración inferior de un compuesto, por ejemplo entre 0,0025  $\mu\text{M}$  y 1  $\mu\text{M}$ .

15 **[0076]** Se apreciará por expertos en la técnica que los compuestos utilizados en el primer o segundo aspecto de la invención, se administrarán generalmente en mezclas con un diluyente, excipiente o un portador farmacéutico adecuado seleccionado teniendo en cuenta la vía de administración proyectada y la práctica farmacéutica estándar (por ejemplo, véase Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995, Ed. Alfonso Gennaro, Mach Publishing Company, Pennsylvania, USA). Vías adecuadas de administración se examinan a continuación e incluyen la tópica, intravenosa, oral, pulmonar, nasal, auditiva, ocular, vesical y de CNS.

25 **[0077]** Por ejemplo, para aplicación tópica, por ejemplo en la piel o el área de una herida, los compuestos pueden ser administrados en forma de loción, solución, crema, gel, ungüento o polvo (por ejemplo, véase Remington, supra, páginas 1586 a la 1597). De esta forma, los compuestos pueden ser formulados como un ungüento apropiado que contenga el compuesto activo en suspensión o disuelto en, por ejemplo, una mezcla con uno o más de los siguientes: aceite mineral, petrolato líquido, petrolato blanco, propilenglicol, mezcla de polioxietileno con polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, pueden ser formulados como una loción o crema adecuada, en suspensión o disuelta en, por ejemplo, una mezcla de uno o más de los siguientes: aceite mineral, monoestearato de sorbitano, un polietilenglicol, parafina líquida, polisorbato 60, cera de ésteres de cetilo, sulfato de e-laurilo, un alcohol (por ejemplo, etanol, alcohol cetearilo, 2-octildodecanol, alcohol bencílico) y agua.

30 **[0078]** En una realización preferente, el medicamento (por ejemplo, loción, solución, crema, gel o ungüento) tiene base acuosa.

35 **[0079]** Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca también incluyen pastillas que contienen el ingrediente activo en una base saborizada, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que contienen el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina o glicerina, o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que contienen el ingrediente activo en un portador líquido adecuado.

40 **[0080]** El medicamento preparado conforme a los aspectos primero o segundo de la invención, también puede ser administrado intranasalmente o por inhalación y es convenientemente administrado en forma de inhalador de polvo seco o con una presentación de spray de aerosol desde un contenedor, una bomba, spray o nebulizador presurizado con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, un hidrofluoroalcano tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134A<sup>3</sup> ó 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA227EA<sup>3</sup>), dióxido de carbono u otro gas apropiado. En el caso de un aerosol presurizado, la

dosis unitaria puede determinarse mediante una válvula que suministre la cantidad medida. El contenedor, bomba, spray o nebulizador presurizado puede contener una solución o suspensión del compuesto activo, por ejemplo, usando una mezcla de etanol y el propulsor como disolvente, el cual puede adicionalmente contener un lubricante, por ejemplo, trioleato de sorbitano. Pueden formularse cápsulas y cartuchos (hechos, por ejemplo, de gelatina) para usarse en un inhalador o insuflador para contener una mezcla en polvo de un compuesto de la invención y una base polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

**[0081]** Las formulaciones de aerosol o polvo seco son preferiblemente dispuestas de manera que cada dosis medida o "bocanada" contenga al menos 1 mg de un compuesto para dispensar al paciente. Se apreciará que la dosis total con un aerosol variará de un paciente a otro y en dependencia de la indicación de cada paciente, y puede administrarse en una dosis única o, más comúnmente, en dosis divididas durante el día.

**[0082]** Alternativamente, pueden emplearse otras vías de administración convencionales conocidas en la técnica también; por ejemplo, el medicamento, preparado conforme a los aspectos primero o segundo de la invención, pueden suministrarse de forma oral, bucal o sublingual en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, que pueden contener agentes saborizantes o colorantes, para aplicaciones de liberación inmediata, demorada o controlada. El medicamento, también puede administrarse de forma intra-ocular (véase más adelante), intra-auditiva o mediante inyección intracavernosa.

**[0083]** El medicamento también puede administrarse de forma parenteral, por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intraesternal, intracranial, intramuscular o subcutánea (incluyendo vía un juego de agujas finas o usando tecnología sin aguja Powderject®), o puede administrarse por técnicas de infusión. La mejor manera de usarlos es en forma de solución acuosa estéril, la cual puede contener otras sustancias, por ejemplo, sales o glucosa suficientes para que la solución se convierta en isotónica con la sangre. Las soluciones acuosas deben estar en un buffer adecuado (preferiblemente a un pH de 3 a 9), de ser necesario. La preparación de formulaciones parenterales adecuadas en condiciones estériles se logra rápidamente mediante técnicas farmacéuticas estándares bien conocidas por los expertos en la técnica.

**[0084]** Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones estériles para inyección, acuosas y no-acuosas, que pueden contener antioxidantes, buffers, bacteriostáticos y solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre del receptor tratado; y suspensiones estériles acuosas y no-acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en envases de dosis unitarias o de multidosis, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden ser almacenadas en condición seca por congelación (liofilizada) requiriendo sólo la adición de un portador líquido estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes de usarse. Pueden prepararse soluciones y suspensiones de inyección ocasionales a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente.

**[0085]** El medicamento puede también administrarse por vía ocular, particularmente para tratar enfermedades oculares. Para uso oftálmico, los compuestos también pueden formularse como suspensiones micronizadas en soluciones salinas isotónicas estériles de pH ajustado, o preferiblemente, como soluciones en solución salina isotónica estéril de pH ajustado, opcionalmente en combinación con un conservante tal como cloruro de bencilalconio. Alternativamente, pueden formularse en un ungüento tal como petrolato.

**[0086]** Para uso veterinario, un compuesto es administrado en una formulación aceptable según la práctica veterinaria normal y el cirujano veterinario determinará el régimen de dosificación y la vía de administración más apropiada para el animal en particular.

**[0087]** En una realización preferente de los aspectos primero y segundo de la invención, el medicamento es para administrar por vía oral o parenteral. De esta manera, los medicamentos son preferentemente para tratar infecciones microbianas sistémicas.

**[0088]** Los medicamentos pueden almacenarse en un contenedor o vasija apropiada conocida en la técnica. Se apreciará por los expertos en la técnica, que el contenedor o vasija debe preferiblemente estar hermético y/o esterilizado. Ventajosamente, el contenedor o vasija está hecho de material plástico, tal como polietileno.

**[0089]** Se apreciará que los medicamentos preparados conforme a los aspectos primero o segundo de la invención puedan ser utilizados para destruir una serie de tipos de microorganismos, incluyendo bacterias, micoplasmas, levaduras, hongos y/o virus. Será aún más apreciado que los medicamentos pueden utilizarse para prevenir y/o tratar la infección con tales microorganismos, es decir, que los medicamentos son adecuados para tratamiento profiláctico y/o terapéutico. Por ejemplo, el medicamento puede ser utilizado para prevenir o reducir la propagación o la transferencia de un patógeno a otros sujetos, por ejemplo, pacientes, personal sanitario, etc.

**[0090]** Preferiblemente, los medicamentos preparados conforme a los aspectos primero o segundo de la invención son para usarse en el tratamiento curativo y/o profiláctico de infecciones bacterianas tales como los cocos Gram positivos (por ejemplo, *Streptococo*), los cocos Gram negativos (por ejemplo, *Neiseria*), los bacilos Gram positivos (por ejemplo, la especie *Corynebacteria*), los bacilos Gram negativos (por ejemplo la *Escherichia coli*), los bacilos a ensayo de ácido (por ejemplo, una *Micobacteria* típica) e incluyen infecciones causantes de abscesos, quistes, infección de la sangre (bacteriemia), infecciones dermatológicas, infecciones de heridas, artritis, infecciones del

tracto urinario, pancreatitis, enfermedades inflamatorias pélvicas, peritonitis, prostatitis, infecciones vaginales, de la cavidad oral (incluyendo las infecciones dentales), ojos y/o oídos, úlceras y otras infecciones localizadas; infecciones causadas por actinomicas, infecciones causadas por hongos tales como la *Candida albicans*, *Aspergillus* and *Blastomices*; infecciones víricas tales como el VIH, encefalitis, gastroenteritis, fiebre hemorrágica, hantavirus, hepatitis viral, herpes virus (por ejemplo, citomegalovirus, Epstein-Barr, herpes virus simiae, herpes simples y varicela-zoster); infecciones protozoarias tales como la amebiasis, babesiosis, coccidiosis, criptosporidiosis, giardiasis, *Leishmaniasis*, *Trichomoniasis*, toxoplasmosis y malaria, helmintiasis tales como las causadas por nemátodos, céstodos y tremátodos, por ejemplo, ascariasis, necator, filariasis linfáticas, oncocerciasis, esquistosomiasis y toxocariasis; enfermedades priónicas y enfermedades inflamatorias tales como el reumatismo del tejido blando, osteoartritis, artritis reumatoide y espondiloartropatías.

**[0091]** Más preferiblemente, los medicamentos son para usarse en el tratamiento curativo y/o profiláctico de infecciones causadas por bacterias Gram positivas y/o bacterias Gram negativas. Más preferiblemente, los compuestos de la invención son para usarse en el tratamiento curativo y/o profiláctico de infecciones causadas por bacterias Gram positivas.

**[0092]** Los medicamentos son preferiblemente usados para destruir microorganismos, por ejemplo: bacterias, micoplasmas, levaduras, hongos y virus. Los medicamentos son particularmente adecuados para destruir bacterias que han desarrollado resistencia a los tratamientos antibióticos convencionales, tales como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA, por su expresión inglesa Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*).

**[0093]** Se apreciará por los expertos en la técnica que los medicamentos son adecuados para tratar todas las infecciones microbianas, independientemente de si el lugar de la infección es fotoaccesible o no. De ahí que estos medicamentos pueden tener utilidad para tratar infecciones que no son capaces de ser tratadas por agentes de terapia fotodinámica convencional. Preferentemente, la infección microbiana está sobre una superficie foto-inaccesible o en un área foto-inaccesible.

**[0094]** Las dosis del compuesto en los medicamentos preparados conforme a los aspectos primero o segundo de la invención dependerán de varios factores; que incluyen el compuesto particular utilizado, la formulación, la vía de administración y el uso para el que se prescribe el compuesto. Por lo general, sin embargo, las dosis fluctuarán entre 0,01 y 20 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal, preferiblemente desde 0,1 hasta 15 mg/kg, por ejemplo de 1 a 10 mg/kg de peso corporal.

**[0095]** En una realización preferente, los medicamentos preparados conforme a los aspectos primero o segundo de la invención son usados en combinación con agentes antimicrobianos convencionales. Por ejemplo, los compuestos pueden ser usados en combinación con uno o más de los antibióticos convencionales siguientes: agentes antibacterianos, por ejemplo las penicilinas naturales y sintéticas y las cefalosporinas, sulfonamidas, eritromicina, kanamicina, tetraciclina, cloramfenicol, rifampicina e incluso la gentamicina, ampicilina, benzipenicilina, benetaminpenicilina, penicilina benzatínica, feneticilina, fenoximetil penicilina, procainpenicilina, cloxacilina, flucoxacilina, meticilina sódica, amoxicilina, hidrocloreuro de bacampicilina, ciclacilina, mexlocilina, pivampicilina, hidrocloreuro de talampicilina, cafecilina sódica, piperacilina, ticarcilina, mecilina, pirmecilina, cefaclor, cefadroxil, cefotaxima, cefotaxime, cefoxitina, cefsulodina sódica, ceftazidime, ceftizoxime, cefuroxime, cefalexina, cefalotina, cefamandol, cefazolina, cefradina, latamoxef disódico, aztreonam, hidrocloreuro de clorotetraciclina, clomociclina sódica, hidrocloreuro de demeclocidina, doxiciclina, limeciclina, minociclina, oxitetraciclina, amikacina, sulfato de framycetina, sulfato de neomicina, netilmicina, tobramicina, colistina, fusidato sódico, sulfato de polimixina B, espectinomocina, vancomicina, sulfaloxato de calcio, sulfametopirazina, sulfadiazina, sulfadimidina, sulfaguanidina, sulfúrea, capreomicina, metronidazol, tinidazol, ácido nalidíxico, trimetoprimisulfametoxaxol, clindamicina, lincomicina, cicloserina, isoniazida, etambutol, etionamida, pirazinamida y otros similares; los agentes antifúngicos, por ejemplo: miconazol, quetoconazol, itraconazol, fluconazol, anfotericina, flucitosina, griseofulvina, namaticina, nistatina y sus similares; y agentes antivíricas tales como: aciclovirus, AZT, ddI, hidrocloreuro de amantadina, inosinpranobex, vidarabina y otros similares.

**[0096]** En otra realización preferente, los medicamentos comprenden y/o son coadministrados con agentes que aceleran la penetración tales como poli-(etilenimina) o agentes antibióticos que muestran tal capacidad de acelerar la penetración (por ejemplo, polimixina o colistina).

**[0097]** Los medicamentos preparados conforme a los aspectos primero o segundo de la invención son particularmente adecuados para usarse en el tratamiento curativo o profiláctico de una o más de las siguientes indicaciones:

Impétigo

**[0098]** El impétigo es una infección altamente transmisible. Es la infección más común en los niños.

**[0099]** El impétigo tiene dos formas clásicas: no vesicular y vesicular. El impétigo no vesicular, también llamado impétigo contagioso, es responsable de aproximadamente el 70% de los casos. Las lesiones normalmente se curan en 2 ó 3 semanas sin tratamiento. El impétigo también puede complicarse con otras enfermedades de la piel tales como escabiosis, varicela, dermatitis atópica y enfermedad de Darier.

(a) Impétigo no vesicular

Tipos de bacterias

5 **[0100]** La no vesicular es una infección causada principalmente por los Estreptococos del Grupo A beta-hemolíticos (Estreptococo Piógenes), Estafilococo áureo, o una combinación de estos dos organismos (véase Andrews' diseases of the skin: clinical dermatology 9th ed. (2000) edited by Odom RB editor Saunders p. 312-4). Los estreptococos que no son del Grupo A (Grupo B, C y G) pueden ser responsables de casos raros de impétigo, y los estreptococos del Grupo B están asociados al impétigo en el recién nacido.

Tipos de heridas

**[0101]** La no vesicular es una infección superficial, intradérmica, vesiculopustular unilocular.

10 **[0102]** Las lesiones del impétigo no vesicular comúnmente comienzan en la piel de la cara o las extremidades después de un trauma. Por regla general, la piel intacta es resistente a la impetiginización.

15 **[0103]** La presentación clínica del impétigo evoluciona de forma ordenada desde una pequeña vesícula o pústula, que progresa hasta convertirse en una placa en forma de postilla de color meloso. Las lesiones usualmente son inferiores a 2 cm de diámetro. Las lesiones tienden a secar, dejando pequeñas postillas sin cicatrización. Las lesiones son usualmente mínimamente sintomáticas. Raramente, puede estar presente el eritema asociado con dolor ligero o prurito ligero. La infección se extiende hasta las áreas contiguas y distales mediante la inoculación de otra herida provocada por rascado.

Sitios de las bacterias

20 **[0104]** El impétigo no vesicular es una infección superficial estreptocócica o estafilocócica que se localiza en la capa subcorneal de la piel (justo debajo del estrato córneo) (véase Figura 1). Más particularmente, la infección en el impétigo está limitada histopatológicamente a queratinocitos epidérmicos superiores altamente diferenciados. Una vez que las bacterias invaden alguna ruptura en la piel, comienzan a multiplicarse.

25 **[0105]** La histopatología consiste en una inflamación extremadamente superficial alrededor de la fracción superior cónica de los folículos pilosebáceos. Se forma una vesicopústula subcorneal que contiene unos cuantos cocos aislados conjuntamente con piezas de leucocitos polimorfonucleares y células epidérmicas. En la dermis, se produce una reacción inflamatoria - dilatación vascular ligera, edema e infiltración de leucocitos polimorfonucleares (Andrews' diseases of the skin, supra., p.312-4).

(b) Impétigo vesicular

Tipos de bacterias

30 **[0106]** El impétigo vesicular está causado por cepas de Estafilococos áureos que producen toxinas exfoliativas (Sadick et al., 1997, Dermatologic Clinics 15\_ (2): 341-9).

Tipos de heridas

35 **[0107]** El impétigo vesicular está histológicamente caracterizado por hendiduras subcorneales e infiltraciones con leucocitos polimorfonucleares que migran a través de la epidermis y se acumulan entre la capa de la piel granular y la del estrato córneo. Frágiles vesículas superficiales, pequeñas o grandes, están presentes en el tronco y las extremidades.

**[0108]** Vesículas flácidas y lesiones húmedas con eritema circundante son características de estas infecciones subcorneales. A menudo, solo los restos de las vesículas rotas se ven en el momento de la presentación. La separación de la epidermis se debe a una exotoxina producida por el Estafilococo áureo.

40 Sitios de las bacterias

**[0109]** El impétigo vesicular es una infección estafilocócica superficial que ocurre en y justo debajo del estrato córneo (véase figura 1). Se considera que el impétigo vesicular s debe a la toxina exfoliativa producida por algún Estafilococo áureo adherido a las células del estrato córneo.

Dermatitis atópica (DA)

45 **[0110]** La dermatitis atópica, también llamada eczema atópico, es una inflamación crónica de la piel que trae como consecuencia el salpullido y prurito, especialmente en las zonas de flexión, por ejemplo, detrás de las rodillas, en la parte delantera de los codos, muñecas, cuello y párpados. La infección del salpullido es común y causa aún más inflamación y picor.

50 **[0111]** El eczema se manifiesta típicamente en edades de 1-6 meses. Aproximadamente el 60% de los pacientes debuta alrededor de 1 año y el 90% alrededor de los 5 años. La presentación de la dermatitis atópica en la

adolescencia o posteriormente no es común y debe requerir otro diagnóstico. Las manifestaciones de la enfermedad varían con la edad.

Tipos de bacterias

[0112] Las bacterias y sus superantígenos contribuyen a la patogénesis de la DA.

5 [0113] El Estafilococo áureo forma colonias en la piel del 90% de los pacientes de DA (lesiones eczematosas crónicas) y sólo en la del 5% de los pacientes no atópicos. La densidad de colonización del Estafilococo áureo puede alcanzar hasta  $10^7$  unidades formadoras de colonias por  $\text{cm}^{-2}$  sin signos clínicos de infección en pacientes con DA. Además, la piel no lesionada aparentemente normal de pacientes atópicos contiene números elevados de Estafilococos áureos.

10 [0114] La razón para el crecimiento excesivo del Estafilococo áureo en la dermatitis atópica, aunque mucho menos gravemente o incluso no grave en absoluto en enfermedades como la soriasis, no es conocida. La proteína A provoca una respuesta mucho menos vigorosa en las atópicas que en las normales o psoriacéas, pero esto puede ser más el resultado que la causa de la colonización. Recientemente la atención se ha vuelto a los lípidos de la piel y existe cierta evidencia de que los ácidos grasos, que pueden controlar la colonización estafilocócica, son deficientes en las atópicas.

15 [0115] Los superantígenos son un grupo único de proteínas producidas por bacterias y virus que puentean ciertos elementos de la secuencia convencional inmune mediada por antígenos. Mientras que los antígenos convencionales activan aproximadamente 0,01% a 0,1% de las células corporales T, un superantígeno tiene la habilidad de estimular del 5% al 30% de la población de células T. El Estafilococo áureo puede exacerbar o mantener la inflamación de la piel en las DA al secretar un grupo de exotoxinas que actúan como superantígenos. Los pacientes con DA poseen una barrera cutánea alterada secundaria a una insuficiencia de cerámidas dentro del estrato córneo. Se ha sugerido que la penetración de la piel por estas exotoxinas puede causar activación de las células T, macrófagas, las células L y mastocitos, originando de esta forma una liberación de citoquinas y mediadores de mastocitos. Se concibe que estos sucesos pueden proporcionar la base para la inflamación en la DA crónica. 20 Persiste la especulación acerca de que si la colonización del Estafilococo áureo y la secreción local de superantígenos es un fenómeno primario o secundario en la DA (Andrews' diseases of skin, Chap. 5, Atopic Dermatitis, Eczema, and non-infectious immunodeficiency disorders p.69-76).

25 [0116] Las infecciones cutáneas víricas, micóticas y bacterianas ocurren más comúnmente en pacientes con DA. Las infecciones víricas son coherentes con un defecto de las células T e incluyen herpes simplex (local o generalizado, por ejemplo, eczema herpético), molusco contagioso y el virus del papiloma humano. Las infecciones micóticas superficiales causadas por *Tricofito rubrum* y la *Pitirosporina oval* también ocurren con frecuencia. Las infecciones bacterianas, específicamente las causadas por *Estafilococo áureo*, son extremadamente comunes. La superinfección trae como consecuencia costras de color melado, supuración serosa expansiva o foliculitis.

Tipos de heridas

35 [0117] Las lesiones agudas se presentan en forma de pápulas eritematosas, vesículas y erosiones; la enfermedad crónica consiste en pápulas fibróticas y piel engrosada y liquenificada.

40 [0118] Un hallazgo de números crecientes de estafilococos patogénicos está frecuentemente asociado con secreciones, formación de costras, foliculitis y adenopatías. La infección estafilocócica secundaria es frecuente y el edema local y la adenopatía regional ocurren comúnmente durante la dermatitis atópica. El impétigo puede ser un tipo de infección secundaria de la dermatitis atópica.

[0119] La histología de la dermatitis atópica fluctúa desde la dermatitis esponjosa aguda hasta el liquen simple crónico, en dependencia de la morfología de la lesión cutánea biopsiada.

Sitios de las bacterias

45 [0120] Las paredes celulares del Estafilococo áureo exhiben receptores, las llamadas adhesinas, para la fibronectina y el fibrinógeno epidérmico y dérmico. Se ha demostrado que el enlace del Estafilococo áureo estaba mediado por fibrinógeno y fibronectina en pacientes con AD. Como la piel de los pacientes con AD carece de un estrato córneo intacto, la fibronectina dérmica podría estar descubierta e incrementar la adherencia del Estafilococo áureo. Estructuras fibrilares y amorfas han sido detectadas entre las células del Estafilococo áureo y los corneocitos y pueden provocar una biopelícula bacteriana. Se ha observado que el Estafilococo áureo penetra en los espacios 50 intracelulares lo que sugiere que los lípidos de la superficie de la piel están deteriorados en los pacientes de AD (véase Breuer K et al., 2002, British Journal of Dermatology 147: 55-61).

Úlceras

[0121] Las úlceras de la piel, tales como las úlceras de pies diabéticos, las úlceras por presión y las ulcerosas venosas crónicas, son llagas o lesiones abiertas de la piel caracterizadas porque el tejido mengua y a veces están

acompañadas de pus. Las úlceras de la piel pueden tener diferentes causas y afectan diferentes poblaciones, pero todas ellas tienden a sanar muy despacio, si es que sanan, y pueden ser bastante difíciles y costosas de tratar.

Tipos de bacterias

5 [0122] Las úlceras por presión no están asociadas a problemas de infecciones más serias. Los microorganismos aerobios a bajos niveles contaminarán las úlceras causadas por presión, pero no impedirán la curación con el tiempo. Sin embargo, las úlceras causadas por presión que atraviesan todas las capas de la piel pueden infectarse de manera secundaria, y se puede producir una osteomielitis. Esas úlceras provocadas por presión que presentan tejido necrótico contienen altos niveles de microorganismos aerobios y anaerobios comparadas con las úlceras no necróticas; generalmente presentan un olor desagradable cuando los anaerobios invaden los tejidos. De ahí que una  
10 conducta a seguir para tratar las mismas es limpiar el tejido necrótico de la herida, produciendo una disminución de presencia anaerobia.

[0123] Las infecciones de las úlceras por presión son típicamente polimicrobianas y pueden contener *Estreptococos piógenos*, *enterococos*, *estreptococos anaerobios*, *Enterobactereace*, *Pseudomonas auriginosas*, *Bacteroides fragilis* y *Estafilococos áureos*.

15 Tipos de heridas

[0124] Etapa I de la úlcera por presión: Eritema permanente de piel intacta, se considera como una lesión que anuncia la ulceración de la piel.

20 [0125] Etapa II de la úlcera por presión: Pérdida parcial del espesor de la piel que implican la epidermis y/o la dermis. La úlcera es superficial y se presenta clínicamente en forma de una quemadura, ampolla o cráter poco profundo. Como la epidermis puede estar interrumpida por una quemadura, ampolla o cráter poco profundo, la úlcera debe ser evaluada basada en signos de infecciones secundarias.

[0126] Etapa III: Pérdida completa del espesor de la piel que comprende daño o necrosis del tejido subcutáneo que puede extenderse hasta la capa que está por debajo pero no atraviesa el estrato. La úlcera se presenta clínicamente como un cráter profundo con o sin compromiso del tejido adyacente.

25 [0127] Etapa IV: Pérdida del espesor total de la piel con destrucción extensa, necrosis del tejido o daño al músculo, hueso o estructuras de soporte, tales como los tendones o cápsulas articulares.

Sitios de las bacterias

30 [0128] Existen tres estados microbiológicos posibles en una herida: contaminación, colonización e infección. La contaminación está caracterizada por la simple presencia de microorganismos en la herida pero sin proliferación. Se ha aceptado de forma general que todas las heridas, independientemente de su etiología, están contaminadas. La colonización está caracterizada como la presencia y proliferación de microorganismos en la herida sin reacción del huésped. La colonización es un trastorno común en las heridas crónicas tales como úlceras venosas y úlceras por presión y no retrasan necesariamente el proceso de curación. Cuando las bacterias invaden los tejidos sanos y continúan proliferándose hasta el punto en que su presencia facilita o invade masivamente la respuesta inmune del huésped, a este estado microbiano se le conoce como infección. Los signos y síntomas clásicos de infección incluyen enrojecimiento, dolor e inflamación local, fiebre y cambios en la cantidad y carácter de los exudados de la herida.

Infecciones pulmonares

40 [0129] Los medicamentos de la invención también son apropiados para tratar a pacientes que tienen enfermedades pulmonares infecciosas. La infección pulmonar puede ocurrir con una variedad de géneros y especies de bacterias, la cuales incluyen la *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis), *Pseudomonas* (causa primaria de muerte de los pacientes de fibrosis quística), el *Estreptococo*, el *Staphilococcus pneumoniae*, la *Klebsiella*, el *Toxoplasma*, etc. La infección pulmonar puede ocurrir con una variedad de cepas de virus y agentes patógenos oportunistas (hongos, parásitos). Como los agentes patógenos pulmonares son cada vez más resistentes a las terapias clásicas con  
45 antibióticos, la terapia fotodinámica ofrece un método alternativo para eliminar a estos dañinos organismos

[0130] Los medicamentos de la invención puede ser suministrado al pulmón en una variedad de formas. Por ejemplo, el compuesto puede ser suministrado a través del tracto respiratorio (o sea, de forma intratraqueal, intrabronquial o intraalveolar) o a través de la pared torácica.

Indicaciones adicionales

50 [0131] Los medicamentos de la invención son también adecuados para el tratamiento curativo y/o profiláctico de lo siguiente:

[0132] Infecciones sistémicas, bacteriemia (infección de la sangre), periodontitis y otras infecciones dentarias, tratamiento de la caries y la placa, infecciones del tracto urinario, infecciones vaginales, tratamiento de todas las

enfermedades por microorganismos incluyendo priones, infecciones víricas, infecciones por hongos, infecciones de garganta, úlceras de estómago (causadas por *Helicobacter pylori*), infecciones de los sitios de quemaduras e injertos de piel, otitis (infección del oído), conjuntivitis bacteriana y otras infecciones oculares, huesos infectados expuestos durante procedimientos quirúrgicos y ataques de bioterrorismo.

5 **[0133]** Adecuadas aplicaciones veterinarias incluyen un tratamiento curativo y/o profiláctico de la fiebre aftosa, la encefalopatía espongiiforme bovina (EEB) y las infestaciones por parásitos de animales.

**[0134]** De esta forma, otros aspectos adicionales de la invención proporcionan lo siguiente:

(i) El uso de un compuesto como se ha descrito anteriormente en la preparación de un medicamento para el tratamiento curativo y profiláctico de una infección dermatológica;

10 (ii) El uso de un compuesto como se ha descrito anteriormente en la preparación de un medicamento para el tratamiento curativo y profiláctico de una infección pulmonar; y

(iii) El uso de un compuesto como se ha descrito anteriormente en la preparación de un medicamento para el tratamiento curativo y/o profiláctico de una herida infectada y/o una úlcera.

15 **[0135]** En usos en vivo, el medicamento preparado conforme a los aspectos primero y segundo de la invención es preferentemente expuesto a los microorganismos diana (o área de superficie a tratar) durante al menos cinco minutos. Por ejemplo, la exposición de tiempo puede ser de al menos 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 40 minutos, 50 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 5 horas, 12 horas y 24 horas.

**[0136]** Realizaciones preferidas de la invención, no limitantes, serán descritas a continuación a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos que acompañan, en los cuales:

20 La Figura 1 muestra un diagrama esquemático de la estructura de la piel.

La figura 2 muestra la toxicidad celular de los fibroblastos dérmicos humanos normales después de 5 minutos, 1 hora y 4 horas de incubación con el compuesto 10.

25 NHDF fueron incubadas con diferentes concentraciones del compuesto 10 durante 5 minutos, 1 hora y 4 horas (0  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,1  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ ). Las células fueron entonces incubadas durante 24 horas en la oscuridad. La toxicidad fue comprobada por un ensayo MTT estándar. La viabilidad celular fue normalizada a uno, lo que significa, que los valores de las células de control fueron normalizados a uno. Línea de puntos grises: 5 minutos de incubación; la de puntos negros: 1 hora de incubación; línea negra: 4 horas de incubación; (n=3, media  $\pm$  SD).

30 La figura 3 muestra la toxicidad celular de los queratinocitos epidérmicos humanos normales después de 5 minutos, 1 hora y 4 horas de incubación con el compuesto 10.

35 NHEK fueron incubadas con diferentes concentraciones del compuesto 10 durante 5 minutos, 1 hora y 4 horas (0  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,1  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ ). Las células fueron entonces incubadas durante 24 horas en la oscuridad. La toxicidad fue comprobada por un ensayo MTT estándar. La viabilidad celular fue normalizada a uno, lo que significa, que los valores de las células de control fueron normalizados a uno. Línea de puntos rojos: 5 minutos de incubación; la de puntos negros: 1 hora de incubación; la de puntos azules: sólo 4 horas de incubación; (n=3, media  $\pm$  SD).

La Figura 4 muestra la estabilidad química del Compuesto 10 formulado (A) como un sólido, (B) en agua y (C) en PBS.

40 La Figura 5 muestra una representación gráfica en 3D de la estabilidad (medida por HPLC) del Compuesto 10 después de 21 días en buffer PBS.

La Figura 6 muestra la estabilidad durante 8 semanas de varias formulaciones (A) del Compuesto 1, (B) del Compuesto 8, (C) del Compuesto 12 y (D) del Compuesto 10.

La Figura 7 muestra la estabilidad extendida durante 17 semanas de varias formulaciones (A) del Compuesto 10 y (B) del Compuesto 8.

45 EJEMPLOS

EJEMPLO A: SINTESIS DE COMPUESTOS A MODO DE EJEMPLO

Materiales y métodos

Mediciones – NMR

[0137] Los espectros de NMR de protón fueron registrados en un instrumento Broker B-ACS60 (300 MHz) usando TMS como estándar interno. Los cambios químicos se dan en ppm y las constantes de acoplamiento en Hz en el disolvente indicado. Algunas abreviaturas para NMR: singlete (s), singlete amplio (bs), doblete (d), triplete (t), cuarteto (q), quinteto, multiplete (m).

## 5 Productos químicos

[0138] Todos los disolventes y reactivos fueron comprados a Aldrich, Fluka, Merck y Lancaster y usados sin ninguna purificación adicional.

[0139] El dipirrolmetano fue preparado según lo descrito por C. Broker et al., J. Porphyrins Phthalocyanines, 2 455 (1998).

## 10 Cromatografía

[0140] La cromatografía en columna fue llevada a cabo usando gel de sílice (Merck Silicagel 60, Fluka 60; 0,040-0,063 mm) y Sephadex LH-20 (Pharmacia). Todos los disolventes (Synopharm) para la cromatografía se encontraban en grado técnico puro.

### Abreviaturas

## 15 [0141]

DDQ: 2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona

DMF: N,N-dimetilformamida

TFA: Acido trifluoroacético

### **Vías de síntesis para la ensayo de los compuestos**

## 20 [0142] Fueron sintetizados los siguientes compuestos de ensayo:

### Compuestos de ejemplo para uso en la invención

[0143] Compuestos 6, 8 hasta el 10, 12, 23, 25, 28, 31 y 32.

### Compuestos de referencia (para usarse como controles comparativos)

[0144] Compuestos 1, 3, 16, 19, 26, 29, 33, 36, 37, 39, 41 y 46 hasta 51.

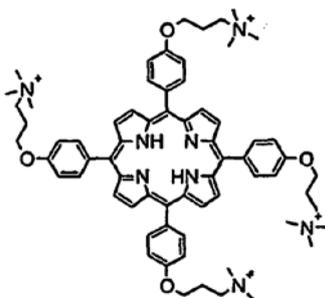
## 25 Compuestos químicos intermedios

[0145] Compuestos 2, 4, 5, 7, 11, 13 hasta el 15, 17, 18, 20 hasta 22, 24, 27, 30, 34, 35, 38, 40 y 42 hasta 45.

### COMPUESTO 1

Tetracloruro de 5,10,15,20-tetrakis-[4-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina

## [0146]



## 30

[0147] A una suspensión agitada vigorosamente de 5,10,15,20-tetrakis-(4-hidroxifenil)-porfirina (50 mg, 0,07 mmol) y  $K_2CO_3$  (230 mg, 1,7 mmol) en DMF (20 ml), se le adiciona una solución de (1-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (0,27 g; 1,05 mmol) en DMF (5 ml) gota a gota a 50°C durante 30 minutos. La mezcla es agitada a 50°C durante 15 horas. Después de extraer el DMF a presión reducida, se disuelve el residuo obtenido en metanol (5ml) y se filtra a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero

## 35

(diámetro 3,5 cm). Después de lavar con metanol (1 l), la capa es eluída con ácido acético. Después de la evaporación del disolvente del eluato, el residuo obtenido es purificado mediante cromatografía en una columna (2,5 X 40 cm) de Sephadex LH20 eluyéndolo con n-butano:agua:ácido acético (4:5:1, por vol, de fase superior). El material recuperado es disuelto en un volumen mínimo de metanol y la solución es pasada por una columna corta (3,5 X 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). La sal de tetracloruro recuperada es secada a alto vacío y obtenida en forma de un sólido violeta.

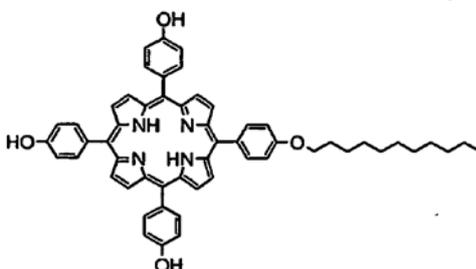
$^1\text{H-NMR}$ :

$\delta_{\text{H}}$  (300MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 2,35-2,50 (bs, 8 H), 3,25-3,35 (bs, 36 H), 3,65-3,75 (bs, 8 H), 4,35 (m, 8 H), 7,30, 8,10 (2 x d,  $^3J$  8,5 Hz, 16 H), 8,80-9,00 (bs, 8 H).

## 10 COMPUESTO 2

5, 10, 15-tris-(4-hidroxi-fenil)-20-(4-undeciloxi-fenil)-porfirina

**[0148]**



15 **[0149]** A una suspensión agitada vigorosamente de 5,10,15,20-tetrakis-(4-hidroxifenil)-porfirina (400 mg, 0,59 mmol) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1,0 g, 7,1 mmol) en DMF (75 ml), se le adiciona una solución de 1-bromoundecano (0,1 ml, 0,45 mmol) en DMF (10 ml) gota a gota a  $50^\circ\text{C}$  durante 30 minutos y la mezcla es agitada a la misma temperatura durante 1,5 horas. Después de extraer por filtrado el  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y extraer a presión reducida el DMF, el residuo obtenido es disuelto en diclorometano (200 ml), lavado con agua (3x150 ml) y la solución es secada ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). El disolvente es evaporado a presión reducida y el residuo obtenido es disuelto en tolueno: etanol (5:1 en vol., ca. 10 ml) y purificado por cromatografía usando una columna (5x50 cm) de gel de sílice (Merck 60). La columna es eluída con tolueno seguido por tolueno:acetato de etilo (2:1 en vol.) y el material deseado recuperado por evaporación del disolvente de las fracciones apropiadas es secado a alto vacío. El producto es obtenido en forma de un sólido violeta.

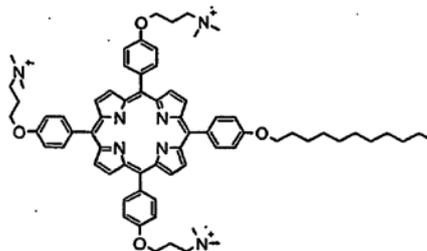
20  $^1\text{H-NMR}$ :

25  $\delta_{\text{H}}$  (300Mz,  $d_6$ -acetona): 0,95 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,25-1,55 (m, 14 H), 1,58 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 1,85 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,16 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 7,20 (d,  $^3J$  8,1 Hz, 2 H), 7,25 (d,  $^3J$  8,2 Hz, 6 H), 8,00-8,15 (m, 8 H), 8,80-9,10 (m, 8 H).

## COMPUESTO 3

Tricloruro de 5,10,15-tris-[4-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-20-(4-undeciloxi-fenil)- porfirina

30 **[0150]**



35 **[0151]** A una suspensión agitada vigorosamente del Compuesto 2 (100 mg, 0,12 mmol) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (230 mg, 1,7 mmol) en DMF (30 ml), se le adiciona una solución de (1-bromopropil)- bromuro de trimetilamonio (0,3 g, 16,6 mmol) en DMF (10 ml) a  $50^\circ\text{C}$  y la mezcla es agitada a esta temperatura durante 12 horas. Después de extraer el DMF a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y filtrado a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (de 3,5 cm de diámetro). Después de lavado con metanol (ca.

1l), la capa es eluida con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación del disolvente del eluato a presión reducida, se purifica el residuo obtenido por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20 eluyéndolo con n-butanol: agua: ácido acético (5:4:1, en vol., fase superior). Después de extraer el disolvente de las fracciones adecuadas del eluato a presión reducida, se disuelve el residuo obtenido en metanol (5 ml) y se pasa la solución por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). El producto final es obtenido en forma de sal de tricloruro, después de la extracción del disolvente y el secado a alto vacío, en forma de un sólido violeta.

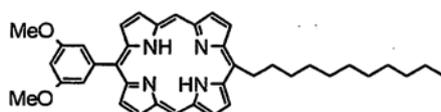
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 0,80 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 3 H), 1,15-1,45 (m, 16 H), 1,50-1,60 (bs, 2 H), 2,25-2,45 (bs, 6 H), 3,25-3,35 (bs, 27 H), 3,75-3,85 (bs, 6 H), 4,18 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 4,40-4,45 (bs, 6 H), 7,20-7,40, 7,95-8,15 (2 x m, 16 H), 8,60-9,00 (bs, 8 H).

#### COMPUESTO 4

5-(3, 5-Dimetoxi-fenil)-15-undecil-porfirina

[0152]



[0153] A una solución de dipirrolmetano (0,62 g, 4,2 mmol) agitada en diclorometano (5 ml) se le añade 3,5-dimetil-oxibenzaldehído (0,35 g, 2,1 mmol) y se añade dodecanal (0,464 g, 2,52 mmol) en diclorometano desgasificado (1 l). Se adiciona TFA (0,07 mL, 3,0 mmol) gota a gota. La solución es agitada a temperatura ambiente en la oscuridad durante 17 horas en argón. Después de adicionar el DDQ (2,7 g, 12 mmol), la mezcla es agitada a temperatura ambiente durante otra hora. Al efectuar la purificación del material recuperado después de la extracción del disolvente a presión reducida por cromatografía en una columna (400 g) de gel de sílice (Merck 60) con tolueno para la elución se obtiene el producto en forma de un sólido violeta.

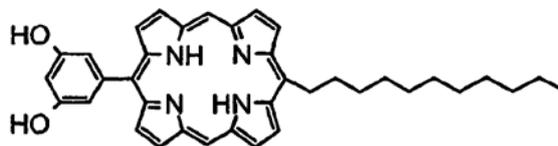
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300Mz, CDCl<sub>3</sub>): 0,80 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 3 H), 1,10-1,25 (m, 12 H), 1,40 (m, 2H), 1,75 (quint., <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 2,45 (quint., <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 3,90 (s, 6H), 4,90 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 6,80 (m, 1H), 7,35 (m, 2 H), 9,00, 9,25, 9,30, 9,50 (4 x d., <sup>3</sup>J 4,7 Hz, 4 x 2 H), 10,15 (s, 2H).

#### COMPUESTO 5

5-(15-Undecil-porfirin-5-il)-benceno-1,3-diol

[0154]



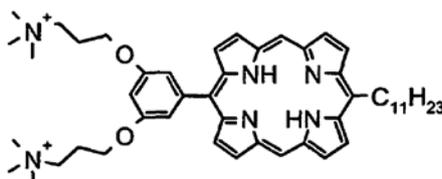
[0155] A una solución del Compuesto 4 (80 mg, 0,133 mmol) en diclorometano anhidro (80 ml) en una atmósfera de argón, se le añade BBr<sub>3</sub> (5 ml, 1M en diclorometano) gota a gota a -70°C y la mezcla es agitada durante 1 hora a esta temperatura y después entibiada hasta alcanzar la temperatura ambiente y agitada durante la noche. La mezcla es enfriada hasta -10°C e hidrolizada mediante la adición de agua (2 ml) y agitada durante 1 h. Se añade NaHCO<sub>3</sub> (3 g) directamente para neutralizar. La mezcla es agitada durante otras 12 h y después de la filtración del NaHCO<sub>3</sub> y de extraer el diclorometano al vacío, el residuo obtenido es purificado por una cromatografía de columna usando gel de sílice con diclorometano. Después de evaporar el disolvente de las fracciones apropiadas combinadas y de secar el residuo obtenido a alto vacío, el producto es obtenido en forma de un sólido violeta.

<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300Mz, d6-acetona): 0,75 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,05-1,25 (m, 12 H), 1,30-1,40 (m, 2H), 1,45-1,50 (m, 2 H), 2,40 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,90 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 6,65 (m, 1 H), 7,18 (m, 2 H), 8,60-8,65, 9,00-9,05, 9,35-9,40, 9,55-9,60 (4 x m, 8 H), 10,25 (s, 2H).

**COMPUESTO 6**

5 Dicloruro de 5-[3,5-bis-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-15-undecil- porfirina

**[0156]**

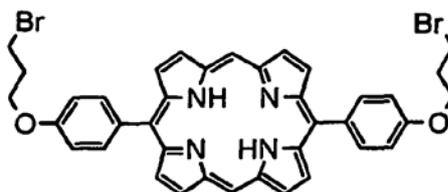
[0157] A una suspensión agitada vigorosamente del Compuesto 5 (80 mg, 0,14 mmol) y  $K_2CO_3$  (230 mg, 1,7 mmol) en DMF (30 ml) se adiciona (1-bromopropil)- bromuro de trimetilamonio (0,3 g, 16,6 mmol) a 50°C. La mezcla se agita a esta temperatura durante 18 h. Después de extraer el DMF a presión reducida, el residuo obtenido se disuelve en metanol (5 ml) y se filtra a través de una capa de gel de sílice (2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (de 3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (ca. 1l), el producto crudo es eluído con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Se recogen las fracciones apropiadas y, después de la evaporación del disolvente a baja presión, se purifica el residuo obtenido por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20 eluyéndolo con n-butanol: agua: ácido acético (5:4:1, en vol., fase superior). Después de extraer el disolvente de las fracciones apropiadas a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y la solución es pasada por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Después de recoger el eluato, se extrae el disolvente a presión reducida y el residuo obtenido se seca a alto vacío hasta obtener la sal de dicloruro en forma de un sólido violeta.

20  $^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300Mz,  $CD_3OD$ ): 0,75 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,05-1,20 (m, 14 H), 1,45-1,50 (m, 2 H), 2,05-2,15 (m, 4 H), 2,15-2,20 (m, 2H), 2,95 (s, 18 H), 3,35-3,45 (m, 4 H), 3,95 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 4,55 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 6,85 (m, 1 H), 7,35 (m, 2 H), 8,85-8,90, 9,15-9,20, (3 x m, 8 H), 10,10 (s, 2 H).

**COMPUESTO 7**

25 5,15-bis-[4-(3-Bromo-propiloxi)-fenil]-porfirina

**[0158]**

[0159] A una solución agitada de dipirrolmetano (0,61 g, 4,1 mmol) y 4-(3-bromopropiloxi)-benzaldehído (1,03 g, 4,2 mmol) en diclorometano desgasificado (1l), se le añade TFA (0,07 ml, 1,5 mmol) gota a gota. Se agita la solución a temperatura ambiente en la oscuridad en argón durante 17 h. Después de agregarle el DDQ (2,76 g, 0,012 mol), la mezcla es agitada a temperatura ambiente durante otra hora. Al realizar el filtrado a través de gel de sílice (Fluka 60, 100g) usando diclorometano para la elución, se obtiene un producto crudo, que, después del tratamiento con diclorometano:n-hexano, da el producto puro en forma de un sólido violeta.

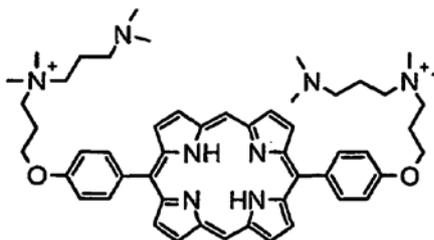
$^1H$ -NMR:

35  $\delta_H$  (300Mz,  $C_6D_6$ ): -3,15 (2 H, s), 2,00 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 3,30 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 3,90 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 7,15-7,18, 7,95-8,15 (2 x m, 2 x 4 H), 9,15-9,20,(m, 8 H), 10,05 (s, 2H).

**COMPUESTO 8**

Dicloruro de 5,15-bis-(4-{3-[(3-Dimetilamino-propil)-dimetil-amonio]-propiloxi}-fenil)- porfirina

[0160]



5 [0161] El Compuesto 7 (200 mg, 0,27 mmol) es disuelto en DMF absoluto (40 ml) con N, N, N', N'-tetrametil-1,3-propanodiamina (5 ml, 13,9 mmol) y la solución es agitada a 50°C en argón durante la noche. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y la solución es filtrada a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (3,5 cm de diámetro). La capa es eluída con metanol (ca. 1l) seguido por ácido acético:metanol:agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación del disolvente de las fracciones apropiadas, el producto crudo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y posteriormente purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20 usando n-butanol: agua: ácido acético (4:5:1, en vol., fase superior) como fase en desarrollo. La primera fracción eluída es el producto deseado. Después de extraer el disolvente a baja presión, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y pasado por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Después de extraer el disolvente del eluato a presión reducida, el residuo es tratado con dietil-éter y secado a alto vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

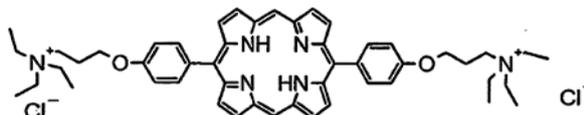
15 <sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 2,20-2,35 (m, 4 H), 2,40-2,50 (m, 4 H), 2,80 (s, 12 H), 3,05 (4 H, t, <sup>3</sup>J 7,8, 2 H), 3,25 (s, 12 H), 3,45-3,55 (bs, 4 H), 3,65-3,75 (m, 4 H), 4,30 (t, <sup>3</sup>J 4,2 Hz, 4 H), 7,40, 8,10 (2 x d, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 x 4 H), 8,95, 9,45 (2x d, <sup>3</sup>J 4,2 Hz, 8 H), 10,40 (s, 2 H).

COMPUESTO 9

20 Dicloruro de 5,15-bis-[4-(3-Trietilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina

[0162]



25 [0163] A una solución del Compuesto 7 (50 mg, 0,068 mmol) en DMF absoluto (20 ml) se adiciona trietilamina (4,7 ml, 0,034 mol, 500 eq.). La mezcla es agitada a 60°C durante 24 h. El disolvente es extraído a presión reducida y el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y filtrado a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (de 3,5 cm de diámetro). Después de lavar con metanol (ca. 1L), la capa es eluída con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación del disolvente de la fracción eluída, el producto crudo es disuelto en metanol (5 ml) y purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20, eluyéndolo con n-butano: agua: ácido acético (4:5:1, en vol., fase superior). Los disolventes son extraídos a baja presión de las fracciones apropiadas, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y la solución es pasada por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro), para obtener el producto en forma de un sólido violeta después de la evaporación del disolvente.

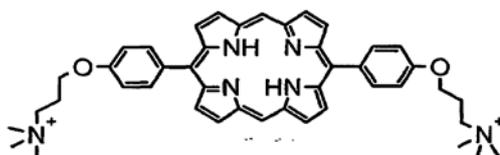
30 <sup>1</sup>H-NMR:

35  $\delta_H$  (300Mz, CD<sub>3</sub>OD): 1,25 (m, 18H), 2,13 (m, 4H), las señales para -CH<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub> (16H) se encuentran en el área de 3,00-3,40 como parte de un multiplete cubierto por las señales de los disolventes, 4,15 (t, 4H, 3J = 7,5 Hz), 7,36 (d, 4H, 3J = 7,5 Hz), 8,15 (d, 4H, 3J = 7,5 Hz), 9,05 (d, 4H, 3J = 7,5 Hz), 9,54 (d, 4H, 3J = 7,5 Hz), 10,45 (s, 2H)

COMPUESTO 10

Dicloruro de 5,15-bis-[4-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina

40 [0164]



5 **[0165]** Se transfiere una solución del Compuesto 7 (300 mg, 0,41 mmol) en DMF absoluto (50 ml) a una autoclave de 100 ml. Después de adicionar trimetilamina (4,5 g), la mezcla es agitada a 50°C durante 16 h. Después de la evaporación del disolvente, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y la solución es filtrada a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (de 3,5 cm de diámetro). Después del lavado con metanol (ca. 1L) se eluye la capa con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación del disolvente de las fracciones apropiadas, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20, eluyéndolo con n-butanol: agua: ácido acético (4:5:1, en vol., fase superior). Se obtienen dos fracciones, la primera elución de estas fracciones es el producto deseado. El disolvente es extraído a presión reducida y el residuo obtenido se vuelve a disolver en metanol (5 ml) y la solución es pasada por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo es tratado con metanol: dietil-éter y secado a alto vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

15 <sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300Mz, CD<sub>3</sub>OD): 2,40-2,60 (m, 4 H), 3,30-3,25 (bs, 18 H), 3,75-3,80 (m, 4 H), 4,40 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 4 H), 7,40, 8,20 (2 x d, <sup>3</sup>J 8,5 Hz, 8 H), 9,05, 9,50 (2 x d, <sup>3</sup>J 4,5 Hz, 8 H), 10,45 (s, 2 H).

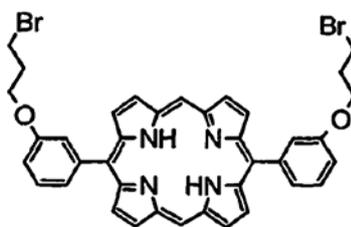
Ruta de síntesis alternativa para el compuesto 10

20 **[0166]** El compuesto 42 (100 mg, 0,2mMol; ver más abajo) se disuelve y se suspende carbonato de potasio (230mg 1,7mMol) en DMF (30 mL) y se añade a gotas a 50°C una solución de (1-bromopropil)-trimetilamonio bromuro (350 mg, 1,3mMol) en DMF (5mL) a la mezcla agitada vigorosamente durante 30 minutos. La mezcla es calentada durante 15 h. DMF es eliminado por evaporación rotatoria y el residuo obtenido es disuelto en metanol y la solución filtrada a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada sobre una frita de acero (de 3,5 cm de diámetro). Después de lavar con metanol (ca. 1L), la capa es eluida con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación de fracciones adecuadas del disolvente, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 mL) y purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20, eluyéndolo con n-butano: agua: ácido acético (4:5:1, en vol., fase superior). Se obtienen dos fracciones, la primera elución es el producto deseado. El disolvente es extraído a baja presión y el residuo obtenido es redisoluto en metanol (5 mL) y la solución es pasada por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Después de la evaporación del disolvente bajo presión reducida, el residuo es tratado con metanol: dietieter y secado a alto vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

COMPUESTO 11

5,15-bis-[3-(3-tromo-propiloxi)-fenil]-porfirina

**[0167]**



35 **[0168]** A una solución agitada de dipirrolmetano (1,22 g, 8,2 mmol) y 3-(3-bromo-propiloxi)-benzaldehído (2,06 g, 8,2 mmol) en diclorometano desgasificado (2 l), se le adiciona TFA (0,14 ml, 3 mmol) gota a gota. La solución es agitada a temperatura ambiente en la oscuridad en argón durante 17 h. Después de añadir DDQ (5,4 g, 0,024 mol), la mezcla es agitada a temperatura ambiente durante otra hora. Después de extraer los disolventes a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en diclorometano (5 ml) y pasado por una columna (300 g) de silicio (Fluka 60) usando diclorometano como eluente para producir el producto crudo que es tratado con diclorometano: metanol para producir el material puro en forma de un sólido violeta.

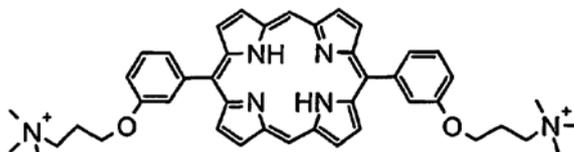
40 <sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300Mz,  $CDCl_3$ ): -3,20 (2 H, s), 2,40 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 3,65 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 4H), 4,25 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 7,20-7,25, 7,60-7,65, 7,75-7,80 (3 x m, 8 H), 9,05, 9,25, (2 x d,  $^3J$  4,2 Hz, 8 H), 10,25 (s, 2 H).

#### COMPUESTO 12

Dicloruro de 5,15-bis-[3-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina

5 [0169]



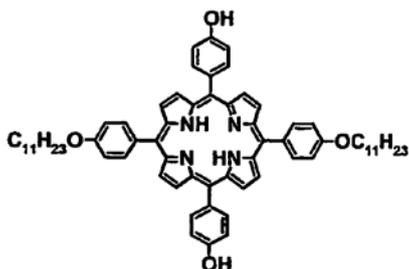
10 [0170] Una solución del Compuesto 11 (400 mg, 0,543 mmol) en DMF (50 ml) es transferida a una autoclave de 100 ml. Después de la adición de trimetilamina (6,3g), la mezcla es agitada a 50°C durante 8 h. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y la solución es filtrada a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (de 3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (ca. 1L), el eluato con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, por vol) proporciona fracciones que, después de la evaporación del disolvente a presión reducida, producen un residuo sólido. Este es disuelto en metanol (5 ml) y purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex  
15 LH-20, eluyéndolo con n-butanol: agua: ácido acético (4:5:1, en vol., fase superior). Se eluyen dos fracciones de la columna, la primera de las cuales es el producto deseado. Después de extraer el disolvente a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml). La solución es pasada por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro), el disolvente es extraído a presión reducida y el producto crudo es tratado con metanol: dietil-éter para obtener un sólido violeta el cual es secado a alto vacío.

20  $^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300Mz,  $CD_3OD$ ): 2,30-2,35 (m, 4 H), 3,15 (s, 18 H), 3,95-4,05 (m, 4 H), 4,20-4,25 (m, 4 H), 7,40-7,45, 7,65-7,70, 7,80-7,85 (3 x m, 8 H), 9,00-9,05, 9,40-9,45, (2 x m, 8 H), 10,40 (m, 2 H).

#### COMPUESTO 13

5,15-bis-(4-Hidroxi-fenil)-10,20-bis-(4-undeciloxi-fenil)-porfirina



25 [0171]

[0172] La tercera fracción eluida de la columna durante la separación cromatográfica descrita para la síntesis del Compuesto 2 está caracterizada como 5,15-bis-(4-hidroxi-fenil)-10,20-bis-(4-undeciloxi-fenil)-porfirina

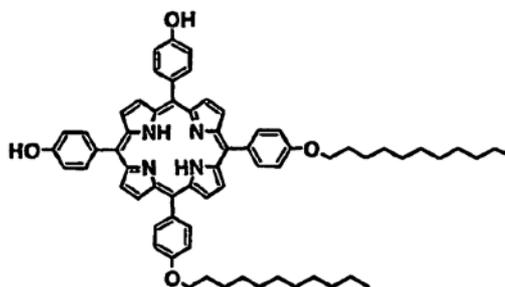
$^1H$ -NMR:

30  $\delta_H$  (300MHz,  $CDCl_3$ ): -2,88 (2 H, s), 0,85 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 6 H), 1,20-1,40 (m, 28 H), 1,55 (br m, 4 H), 1,80 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 4,15 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 4 H), 6,65, 7,15 (d,  $^3J$  8,1 Hz, 8 H), 7,80, 8,00 (d,  $^3J$  8,1 Hz, 8 H), 8,75-8,80 (m, 8 H). La geometría del *trans*-Regioisómero es asignada por  $^1H$ - $^{13}C$ -2D-NMR en d-ácido acético.

#### COMPUESTO 14

5, 10-bis-(4-Hidroxi-fenil)-15,20-bis-(4-undeciloxi-fenil)-porfirina

[0173]



La cuarta fracción eluída de la columna durante la separación cromatográfica descrita para la síntesis del Compuesto 2 está caracterizada por 5,10-bis-(4-hidroxifenil)-15,20-bis-(4- undeciloxi-fenil)-porfirina

<sup>1</sup>H-NMR:

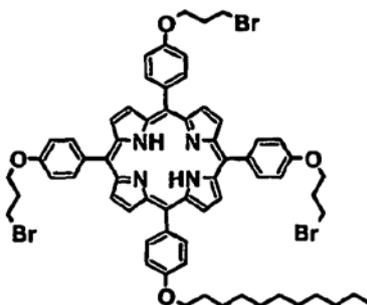
- 5  $\delta_H$  (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): -2,80 (2 H, s), 0,90 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 6 H), 1,20-1,60 (m, 28 H), 1,65 (quint, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 4 H), 2,00 (quint, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 4 H), 4,22 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 4 H), 7,15 (d, <sup>3</sup>J 8,1 Hz, 4 H), 7,25 (d, <sup>3</sup>J 8,2 Hz, 4 H), 8,10 (d, <sup>3</sup>J 8,2 Hz, 4 H), 8,15 (d, <sup>3</sup>J 8,2 Hz, 4 H), 8,80-8,90 (m, 8 H).

La geometría del cis-Regioisómero es asignada por 1H-<sup>13</sup>C-2D-NMR en ácido d-acético.

#### COMPUESTO 15

- 10 5,10,15-tris-[4-(3-Bromo-propiloxi)-fenil]-20-(4-undeciloxi-fenil)-porfirina

[0174]



- 15 [0175] En una atmósfera de argón, el Compuesto 2 (200 mg, 0,24 mmol) es disuelto en DMF absoluto (40 ml) en presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (500 mg) y 1,3-dibromopropano (1,02 ml, 10 mmol). La mezcla es calentada durante toda la noche a 80°C. El procedimiento es igual al procedimiento dado para el Compuesto 2 descrito anteriormente. El producto es purificado por cromatografía de columna en gel de sílice (Merck 60) eluyendo con hexano: acetato de etilo (5:1, en vol.).

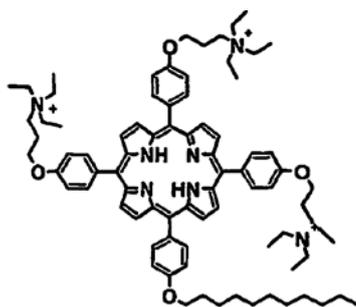
<sup>1</sup>H-NMR:

- 20  $\delta_H$  (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): -2,75 (2 H, s), 0,85 (t, 3J 7,5 Hz, 3 H), 1,20-1,45 (m, 14 H), 1,50 (quint, 3J 7,5 Hz, 2 H), 1,90 (quint, 3J 7,5 Hz, 2 H), 2,40 (quint, 3J 7,4 Hz, 6 H), 3,65 (t, 3J 7,4 Hz, 6 H), 4,16 (t, 3J 7,5 Hz, 2 H), 4,25 (t, 3J 7,5 Hz, 6 H), 7,18-7,20 (m, 8 H), 8,00-8,05 (m, 8 H), 8,75-8,85 (m, 8 H).

#### COMPUESTO 16

Tricloruro de 5,10,15-bis-[4-(3-Trietilamonio-propiloxi)-fenil]-20-(4-undeciloxi-fenil)- porfirina.

[0176]



**[0177]** El Compuesto 15 (200 mg, 0,17 mmol) es disuelto en DMF absoluto (40 ml) con trietilamina (5 ml, 34,5 mmol, 208 eq.). La mezcla es calentada hasta los 50°C durante 48 h. Después de extraer el DMF al vacío, el residuo obtenido es disuelto en metanol y purificado por cromatografía de columna usando gel de sílice (Merck, 60) eluyendo con metanol: agua: ácido acético (2:1:3, en vol.) y entonces ácido acético: piridina (1:1, en vol.). Al efectuarse la extracción del disolvente de las fracciones apropiadas al vacío se obtiene un producto crudo el cual es disuelto en metanol: NaCl acuoso (1M) (5ml. 1:1, en vol.). La mezcla es agitada durante 30 minutos y filtrada a través de una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (de 3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (200 ml), éste es eluido con metanol: agua: ácido acético (2:1:3, por vol.). Después de la evaporación del disolvente de las fracciones combinadas apropiadas, el residuo obtenido es disuelto en metanol (2ml) y se añade diclorometano (5 ml) gota a gota. El gel blanco precipitado se recoge mediante el filtrado y el disolvente se extrae a alto vacío.

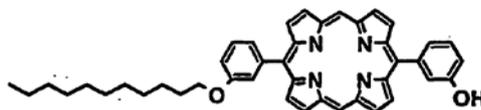
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 0,90 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 3 H), 1,20-1,45 (m, 43H), 1,45-1,65 (bs, 2 H), 2,25-2,40 (bs, 6 H), 3,35-3,45 (bs, 24 H), 3,50-3,60 (bs, , 6 H), 4,25 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 4,40-4,45 (bs, 6 H), 7,25-7,40, 8,10- 8,20 (m, 16 H), 8,80-9,10 (bs, 8 H).

#### COMPUESTO 17

5-[4-(3-Hidroxi-fenil)]-15-(3-undeciloxi-fenil)-porfirina

**[0178]**



**[0179]** Se disuelve 5-15-bis-(3-Hidroxi-fenil)-porfirina (Wiehe, A., Simonenko, E. J., Senge, M. O. and Roeder, B. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines 5, 758-761 (2001)) (86 mg, 0,17 mmol) y se suspende K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (250 mg, 7,1 mmol) en DMF (40 ml). A la mezcla agitada vigorosamente se le añade una solución de 1-bromoundecano (0,04 ml, 0,17 mmol) en DMF (5 ml) gota a gota a 50°C durante 30 minutos y la mezcla es calentada a esa temperatura durante 1 h. Después de extraer el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> por filtración, se extrae el DMF a alto vacío. El residuo obtenido es purificado por cromatografía de columna usando gel de sílice (Merck 60) eluyéndolo con n-hexano: acetato de etilo (10:1, por vol). La 2da fracción es recogida y secada a alto vacío para obtener el producto.

<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300Mz, CDCl<sub>3</sub>): -3,15 (2 H, s), 0,75 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 3 H), 1,10-1,30 (m, 14 H), 1,35 (m, 2 H), 1,80 (quint, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 4,05 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 6,85-6,90, 7,20-7,25, 7,35-7,45, 7,50-7,65, 7,75-7,80 (5 x m, 8 H), 8,85, 8,95, 9,10, 9,20 (4 x d, <sup>3</sup>J 4,9 Hz, 4 x 2 H), 10,15 (s, 2 H).

#### COMPUESTO 18

5, 10,15-tris-(3-Hidroxi-fenil)-20-(3-dodeciloxi-fenil)-porfirina

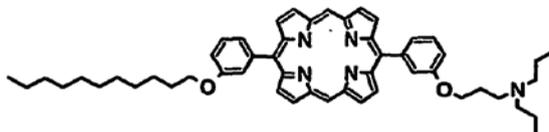
**[0180]** Se disuelve 3-Hidroxibenzaldehído (1,8 g, -14,8 mmol, 3 eq.) y 3-dodeciloxibenzaldehído (1,35 g, 4,9 mmol, 1 eq.) en una mezcla de ácido acético (145 ml) y nitrobenzeno (98 ml, 960 mmol) y se calienta hasta 120°C. Se añade pirrol (1,35 ml, 19,6 mmol, 4 eq.) en una fracción y se agita la mezcla a 120°C durante 1 h. Después de enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, los disolventes se extraen al vacío a 50 °C. El producto es aislado por cromatografía en una columna de sílica (500g) usando tolueno como eluyente. El producto deseado es obtenido como la quinta fracción de la columna y es recromatografiado usando una columna de sílice más pequeña (200g) eluida con tolueno. El producto es obtenido como un sólido violeta después de la evaporación del disolvente.

<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ): 0,64 (t, 3 H,  $^3J$  6,8 Hz), 0,94-1,15 (m, 16 H), 1,25 (bs, 2 H), 1,62 (bs, 2 H), 3,90 (bs, 2 H), 6,33-6,95 (m, 8 H), 7,08-7,60 (m, 8 H), 8,20-8,47 (m, 4 H), 8,51-8,70 (m, 4 H)

**COMPUESTO 19**

5-[3-[bis-(2-Dietilamino-etil)-aminopropiloxi]-Fenil]-15-(3-undeciloxi-fenil)-porfirina.

5 **[0181]**

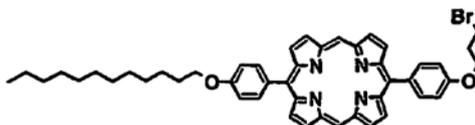
**[0182]** El Compuesto 17 (50 mg, 0,065 mmol) es disuelto con N,N,N',N'-tetraetildietilentriamina (1ml, 39 mmol) en THF(10 ml) y la mezcla es agitada a temperatura ambiente durante 4 días. Después de la evaporación del disolvente, el residuo es disuelto en éter dietílico (20 ml) y la solución es lavada con agua (5 x 30 ml). La fase orgánica es secada ( $Na_2SO_4$ ) y concentrada a alto vacío. La mezcla es purificada por cromatografía de columna (gel de sílice, Merck 60) eluyéndola con n-hexano con acetato de etilo (5:1, en vol.) seguido por n-hexano: acetato de etilo: trietil amino (10:10:1, en vol.). Después de recoger las fracciones apropiadas y de extraer el disolvente a presión reducida, se obtiene el producto puro por tratamiento del residuo a partir de éter dietílico: metanol.

$^1H$ -NMR:

15  $\delta_H$  (300Mz,  $CDCl_3$ ): 0,80 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 0,9 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 12 H), 1,20-1,40 (m, 14 H), 1,45 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 1,80 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 1,95 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 2,40-2,60 (m, 16 H), 2,65 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,10 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,20 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 7,30-7,40, 7,55-7,65, 7,75-7,80 (3 x m, 8 H), 9,10-9,15, 9,20-9,25 (2 x m, 2 x 4 H), 10,15 (s, 2 H).

**COMPUESTO 20**

20 5-[4-(3-Bromo-propiloxi)-fenil]-15-(4-dodeciloxi-fenil)-porfirina

**[0183]**

**[0184]** A una solución agitada de dipirrolmetano (0,31 g, 2,1 mmol), 4-(3-bromo-propiloxi)-benzaldehído (0,27 g, 1,1 mmol) y 4-dodeciloxibenzaldehído (0,32 g, 1,1 mmol) en diclorometano desgasificado (500 ml) se añade TFA (0,035 ml, 1,5 mmol) gota a gota. La solución es agitada a temperatura ambiente en la oscuridad durante 17 h en argón. Después de adicionar DDQ (1,38 g, 6 mmol), la mezcla es agitada a temperatura ambiente durante otra hora. La purificación por cromatografía de columna usando gel de sílice (Merck 60, 400 g) con tolueno como eluente proporciona el producto (2ª fracción) conjuntamente con el Compuesto 7 (3ª fracción).

$^1H$ -NMR:

30  $\delta_H$  (300Mz,  $CDCl_3$ ): -3,15 (2 H, s), 0,90 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,20-1,40 (m, 16 H), 1,55 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 1,90 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 2,40 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 3,75 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,20 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,35 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 7,20-7,30, 8,10-8,15 (2 x m, 8 H), 9,10-9,15, 9,25-9,30 (2 x m, 2 x 4 H), 10,20 (s, 2 H).

**COMPUESTO 21**

5, 10, 15,20-tetrakis-(3-Hidroxi-fenil)-porfirina

35 **[0185]** Se disuelve 3-Hidroxibenzaldehído (0.910 g, 7,45 mmol) en ácido propiónico (50 ml) y se calienta hasta 140°C. Se añade Pírrrol (0,52 ml, 7,45 mmol) a una fracción y la mezcla se calienta a reflujo durante 2h. Se continúa agitando durante otras 12 h a temperatura ambiente. Se extrae el ácido propiónico al vacío y el residuo se disuelve en acetona y se purifica por cromatografía en una columna de sílica (250 g) la cual es eluída con tolueno conteniendo una proporción en continuo incremento de acetato de etilo. El producto es eluído con tolueno: acetato de etilo (6:1 en vol.). Se extrae el disolvente al vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

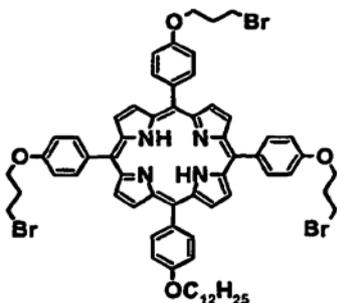
$^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300 MHz, d<sub>6</sub>-acetona): 7,18 (d, 4H,  $^3J = 8,25$  Hz), 7,49 (t, 4H,  $^3J = 8,25$  Hz), 7,56-7,62 (m, 8H), 8,81 (m, 8 H).

**COMPUESTO 22**

5, 10,15-tris-[4-(3-Bromo-propiloxi)-fenil]-20-(4-dodeciloxi-fenil)-porfirina.

**[0186]**



5

**[0187]** A una solución agitada de pirrol (0,7 ml, 10 mmol), 4-(3-bromopropiloxi)-benzaldehído (1,8 g, 7,5 mmol) y 4-(n-dodeciloxi)-benzaldehído (0,725 g, 2,5 mmol) en diclorometano desgasificado (1 L) se añade TFA (0,085 ml, 10 mmol) gota a gota. La solución de reacción es agitada en argón a temperatura ambiente en la oscuridad durante 17 h. Después de adicionar DDQ (6,9 g, 30 mmol), la mezcla de reacción es agitada a temperatura ambiente durante una hora más. Los disolventes son extraídos a presión reducida y el residuo es vuelto a disolver en tolueno. La purificación cromatográfica en una columna (3,5 x 30 cm) de gel de sílice (Merck 60) usando tolueno:n-hexano (1:4 en vol.) como eluyente proporciona el producto crudo que es purificado por tratamiento con metanol: diclorometano, obteniendo un sólido violeta.

10

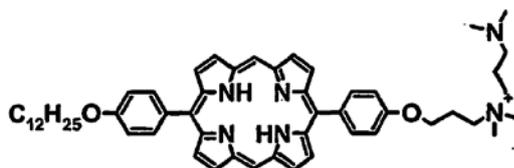
15  $^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0,90 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,20-1,45 (m, 16 H), 1,60 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 1,90 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 2,50 (quint,  $^3J$  7,4 Hz, 6 H), 3,75 (t,  $^3J$  7,4 Hz, 6 H), 4,20 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,35 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 6 H), 7,25-7,30 (m, 8 H), 8,15-8,30 (m, 8 H), 8,80-8,85 (m, 8 H).

**COMPUESTO 23**

20 Cloruro de 5-[4-[3-Dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amonio-propiloxi]fenil]-15-(4-dodeciloxi-fenil)- porfirina.

**[0188]**



**[0189]** El Compuesto 20 (30 mg, 0,038 mmol) es disuelto con N,N,N',N'-tetrametil-1,3-propanodiamina (156 mg, 1,2 mmol) en THF: DMF(1:1 by vol., 20 ml) y agitado a 50°C durante 18 h. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo es disuelto en diclorometano y purificado por cromatografía de columna (gel de sílice Merck 60) y se eluye con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Después de combinar las fracciones apropiadas y extraer el disolvente a presión reducida, el residuo es cristalizado a partir del diclorometano: hexano para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

25

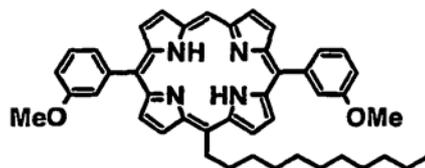
30  $^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300Mz, CDCl<sub>3</sub>+1 % ácido acético): 0,85 (m, 3 H), 1,20-1,40 (m, 18 H), 1,55-1,60 (m, 2 H), 1,60-1,65 (m, 4H), 2,10-2,20 (bs, 8 H), 3,15-3,25 (m, 8 H), 3,75 (bs, 2 H), 4,20 (bs, 2 H), 4,35 (bs, 2 H), 7,15-7,20, 8,10-8,15 (2 x m, 8 H), 8,95-9,00, 9,10-9,15, 9,25-9,30 (3 x bs, 8 H), 10,20 (s, 2H).

**COMPUESTO 24**

35 5, 15-bis-(3- Metoxi-fenil)-10-undecil-porfirina.

[0190]



5 [0191] A un matraz de 50 ml que contenga litio (500 mg, 71 mmol) se le añade éter dietílico recién destilado (15 ml) en una atmósfera de argón. Se realiza el reflujo de la suspensión durante 1 hora, se enfría a 15°C y se trata con una solución de n-undecil-bromuro (6,58 g, 71 mmol) en éter (6 ml) añadido gota a gota con una jeringuilla. La mezcla es enfriada hasta 7-10°C y, 5 minutos después, cuando la suspensión se torne ligeramente turbia y aparezcan puntos brillantes en el metal de litio, el residuo de la solución de bromuro de n-undecilo es añadido a un ritmo estable durante un periodo de 30 minutos, manteniéndose la temperatura interna a menos de 10°C. Al completar la adición, la mezcla es agitada durante 1h más a 10°C. La suspensión es filtrada en argón para extraer el exceso de litio y de bromuro de litio.

15 [0192] Se disuelve 5,15-bis-(3-Metoxi-fenil)-porfirina (100 mg, 0,19 mmol) en THF (30 ml) anhidro a -50°C en una atmósfera de argón. El reactivo organo-litio descrito anteriormente (5 ml) es añadido gota a gota a la mezcla. Después de 5 minutos, el baño de enfriamiento es extraído y la mezcla es calentada hasta alcanzar la temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, la reacción es templada por la adición lenta de agua (2 ml). Después de 15 min la mezcla es oxidada por la adición de DDQ (4 mL, 0,4 mmol, 0,1 M en THF) y agitada durante 15 minutos más. La mezcla es filtrada por alúmina (neutral, grado + Brockman) y purificada por cromatografía de columna sobre gel de sílice y se eluye con hexano:diclorometano (4:1 en vol.). La primera fracción es recogida y tratada con metanol: diclorometano para obtener un producto sólido.

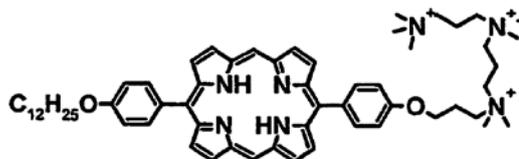
<sup>1</sup>H-NMR:

20  $\delta_H$  (300Mz, CDCl<sub>3</sub>): -3,05 (bs, 2 H, s), 0,80 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 3 H), 1,10-1,20 (m, 12 H), 1,25 (m, 2 H), 1,70 (quint, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 2,40 (quint, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 3,85 (s, 6H), 4,95 (t, <sup>3</sup>J 7,5 Hz, 2 H), 7,20-7,23, 7,50-7,60, 7,65-7,75 (3x m, 8 H), 8,85-8,90, 9,10-9,15, 9,35-9,40 (3 x m, 8 H), 9,95 (s, 1H).

COMPUESTO 25

25 Tricloruro de 3-[(3-[(3-(4-[15-(4-Dodeciloxi-fenil)-porfirina-5-il]-fenoxi)-propil)-dimetil-amonio]-propil)-dimetil-amonio]-propil]-trimetil-amonio.

[0193]

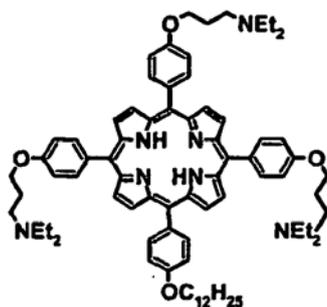


30 [0194] El Compuesto 23 (20 mg, 0,022 mmol) y bromuro de (1-bromopropil)-trimetil-amonio (26 mg, 0,1 mmol) son disueltos en DMF (15 ml) y agitados durante la noche a 50°C. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo es disuelto en metanol (5 ml) y aplicado a una capa (3 cm de profundidad) de gel de sílice que se lava con metanol (500 ml) seguido por ácido acético:metanol:agua (3:2:1 por vol). Después de la evaporación del disolvente el residuo es purificado por cromatografía de columna (gel de sílice, Merck 60) usando primero ácido acético: metanol: agua (3:2:1 en vol.) y después piridina: ácido acético (1:1 en vol.). Se recoge la segunda fracción eluída y se seca al vacío. Se disuelve el residuo en metanol (2 ml) y se purifica por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20 la cual es eluída con n-butanol: ácido acético: agua (5:1:4 en vol., fase superior). Después de extraer el disolvente a presión reducida, el residuo es secado al vacío a 80°C. La espectroscopía de NMR indica que el producto está contaminado con una pequeña proporción de productos de eliminación.

COMPUESTO 26

5, 10,15-tris-[4-(3-Dietilamino-propiloxi)-fenil]- 20-(4-dodeciloxi-fenil)-porfirina

40 [0195]



- 5 **[0196]** Se disuelve el Compuesto 22 (50 mg, 0,06 mmol) y dietilamina (5 ml) recién destilada en DMF absoluto (30 ml), en argón. La mezcla de reacción es agitada a temperatura ambiente durante 20 h y vertida en acetato de etilo (50 ml). La mezcla es lavada con agua (4 x 50 ml) y, después de secar las fases orgánicas combinadas ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), la evaporación del disolvente produce un residuo el cual es purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 30 cm) de sílice (Merck 60) y se eluye con acetato de etilo: n-hexano: trietil amino (10:10:1, en vol.). Las fracciones son combinadas según convenga, el disolvente es evaporado a presión reducida y el residuo es secado a alto vacío. El tratamiento con diclorometano: n-hexano produce el producto puro.

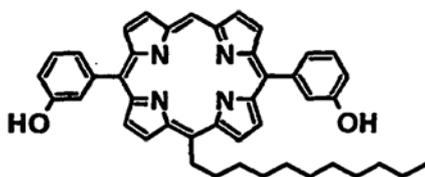
$^1\text{H-NMR}$ :

- 10  $\delta_{\text{H}}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,85 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,05 (m, 18 H), 1,20-1,45 (m, 18 H), 1,55 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 2,15 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 6 H), 2,75 (quint,  $^3J$  7,4 Hz, 6 H), 3,15-3,25 (m, 12 H), 4,15 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,25 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 6 H), 7,15-7,20 (m, 8 H), 8,00-8,05 (m, 8 H), 7,95-8,05 (m, 8 H).

#### COMPUESTO 27

5,15-bis-(3-Hidroxi-fenil)-10-undecil-porfirina

- 15 **[0197]**



- 20 **[0198]** A una solución del Compuesto 24 (95 mg, 0,14 mmol) en diclorometano anhidro (80 ml) en una atmósfera de argón, se añade gota a gota  $\text{BBr}_3$ , (6 ml, 1M en diclorometano) a  $-70^\circ\text{C}$  y la mezcla es agitada durante 1 hora. La mezcla es calentada hasta alcanzar la temperatura ambiente y agitada durante la noche y posteriormente enfriada hasta  $-10^\circ\text{C}$  e hidrolizada mediante la adición de 2 ml de agua durante 1 hora. Se añade  $\text{NaHCO}_3$  (3 g) directamente a la neutralización. La mezcla es agitada durante 12 horas más. Después de extraer el  $\text{NaHCO}_3$  por filtración y el diclorometano por vacío, el residuo obtenido es purificado por cromatografía de columna usando gel de sílice y se eluye con diclorometano. Después de la extracción del disolvente de fracciones combinadas adecuadas y del secado a alto vacío se obtiene el producto en forma de un sólido violeta.

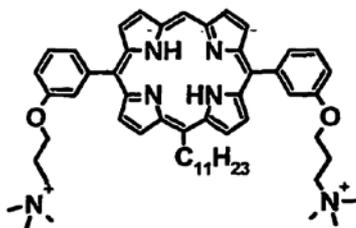
- 25  $^1\text{H-NMR}$ :

$\delta_{\text{H}}$  (300Mz,  $\text{CDCl}_3$ ): -3,05 (bs, 2 H, s), 0,85 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3H), 1,20-1,40 (m, 12 H), 1,50 (m, 2 H), 1,80 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 2,55 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 5,00 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 7,15-7,25, 7,50-7,60, 7,80-7,90 (3x m, 8 H), 8,95-9,00, 9,20-9,25, 9,50-9,60 (3 x m, 8 H), 10,15 (s, 1H).

#### COMPUESTO 28

- 30 5,15-bis-[3-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-10-undecil- dicloruro de porfirina

**[0199]**



5 **[0200]** A una solución del Compuesto 27 (50 mg, 0,08 mmol) en DMF (20 ml), en una atmósfera de argón, se añade  $K_2CO_3$  (100 mg, 0,72 mmol) y (3-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (300 mg, 1,2 mmol) y la mezcla se agita a  $50^\circ C$  durante 18 h. Después de extraer el disolvente a alto vacío, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y filtrado por una capa de gel de sílice (de 2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (500 ml), se eluye con ácido acético:metanol:agua (3:2:1, v:v). Después de secar las fracciones combinadas adecuadas a alto vacío, el residuo es disuelto en metanol y purificado por cromatografía de columna en Sephadex LH-20, se eluye con n-butanol:ácido acético:agua (5:1:4, en vol., fase superior). Después de la evaporación del disolvente, el residuo obtenido de la primera fracción eluída es disuelto en metanol y pasado por una columna corta de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro, para obtener, después de la evaporación del disolvente, el producto puro.

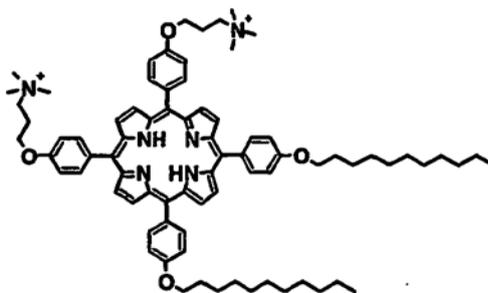
$^1H$ -NMR:

15  $\delta_H$  (300Mz,  $CD_3OD$ ): 0,85 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,20-1,40 (m, 12 H), 1,50 (m, 2 H), 1,80 (m, 2 H), 2,40 (bs, 4 H), 2,55 (m, 2 H), 3,20 (bs, 18 H), 3,65 (bs, 4 H), 4,35 (bs, 4 H), 5,10 (m, 2 H), 7,50-7,55, 7,70-7,85 (2 x m, 8 H), 8,95-9,00, 9,25-9,24, 9,50-9,70 (3 x bs, 8 H), 10,15 (bs, 1H)

#### COMPUESTO 29

Dicloruro de 5,10-bis-[4-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-15,20-bis-(4-undeciloxi-fenil)-porfirina

#### [0201]



20 **[0202]** Se disuelve el Compuesto 14 (50 mg, 0,05 mmol) y se realiza la suspensión de  $K_2CO_3$  (150 mg, 1,1 mmol) en DMF (30 ml). A una mezcla agitada vigorosamente se le añade gota a gota una solución de (1-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (0,3 g, 16,6 mmol) en DMF (10 ml) a  $50^\circ C$  y se calienta la mezcla durante 18 h. Después de extraer el DMF a alto vacío, el residuo obtenido es disuelto en metanol (5 ml) y filtrado por una capa de gel de sílice (2 cm. de profundidad) soportada en una frita de acero (3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (ca. 500 ml) se eluye con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación del disolvente de las fracciones combinadas adecuadas, el residuo obtenido es purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20 y se eluye con n-butanol:agua:ácido acético (5:4:1, en vol., fase superior) para la posterior separación de la sal de amonio en exceso y de otros subproductos. Después de extraer el disolvente a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol y pasado por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el producto es secado a alto vacío.

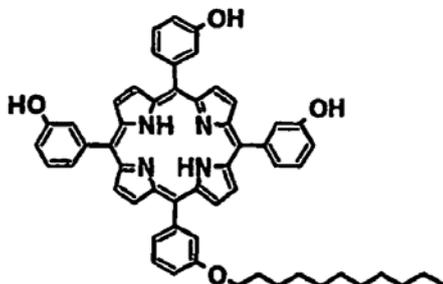
$^1H$ -NMR:

35  $\delta_H$  (300MHz,  $CD_3OD$ ): 0,80 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 6 H), 1,15-1,35 (m, 28 H), 1,35-1,45 (bs, 4 H), 1,70-1,80 (bs, 4 H), 2,30-2,40 (bs, 4 H), 3,15-3,30 (bs, 18 H), 3,65-3,75 (bs, 4 H), 4,00-4,05 (m, 4 H), 4,30-4,40 (bs, 4 H), 7,00-7,15, 7,20-7,30, 7,80-95, 7,95-8,15 (4 x m, 4 x 4 H), 8,60-9,00 (bs, 8 H).

#### COMPUESTO 30

5,10,15-tris-(3-Hidroxi-fenil)-20-(3-undeciloxi-fenil)-porfirina

[0203]



5 [0204] Se añade pirrol (1,31 g, 19,6 mmol) a una fracción de una mezcla de 3-hidroxibenzaldehído (1,8 g, 14,8 mmol) y 3-undeciloxibenzaldehído (1,36 g, 4,9 mmol) en ácido acético (145 ml) y nitrobeneno (118 g, 960 mmol) precalentado hasta 130°C y la mezcla es agitada durante 1 hora a 120°C. La mezcla es enfriada y el disolvente extraído a alto vacío. El residuo es disuelto en diclorometano (5 ml) y purificado por cromatografía de columna usando gel de sílice (Merck 60) eluyendo con hexano: tolueno (4:1, en vol.). El producto es obtenido después de extraer el disolvente del eluato a presión reducida y de secar el residuo obtenido al vacío.

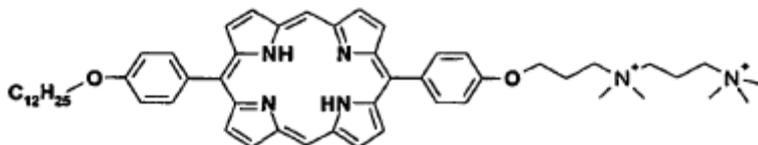
10 <sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300Mz, CDCl<sub>3</sub>): 0,75-0,80 (m, 3 H), 1,05-1,35 (m, 14 H), 1,40-1,50 (m, 2 H), 1,75-1,85 (m, 2 H), 3,90-4,10 (m, 2 H), 6,90- 7,70 (m, 16 H), 8,45-8,80 (m, 8 H).

COMPUESTO 31

Dicloruro de 5-{4-[3-dimetil-(3-trimetilamonio-propil)-amonio-propiloxi]-fenil}-15-(4-dodeciloxi-fenil)-porfirina.

15 [0205]

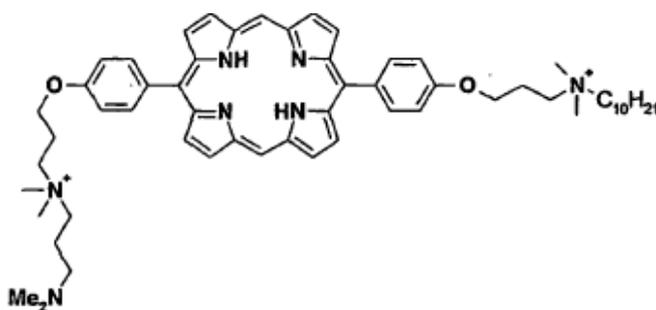


20 [0206] El Compuesto 23 (50 mg, 0,055 mmol) es disuelto con yoduro de metilo (5 ml, 80 mmol) en DMF absoluto (30 ml) y la mezcla es agitada a 40°C durante 3 h. Después de la evaporación del disolvente, se disuelve el residuo obtenido en metanol (5 ml) y se filtra por una capa de gel de sílice (2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (ca. 1 L), se eluye con diclorometano: metanol (2:3 en vol., 500 ml) y posteriormente con ácido acético: agua: metanol (3:1:2, en vol.). Después de extraer el disolvente de las fracciones reunidas, el residuo obtenido es disuelto en ácido acético y purificado por cromatografía de columna en Sephadex LH-20, y se eluye con ácido acético. Después de la evaporación del disolvente de las fracciones reunidas apropiadas y de secar el residuo obtenido a alto vacío, el residuo es disuelto en metanol y pasado por una columna pequeña (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Después de la evaporación del disolvente del eluato, el producto es secado a alto vacío.

COMPUESTO 32

30 Dicloruro de 5-[4-(3-Dimetildecil-amonio-propiloxi)-fenil]-15-[4-[3-dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amonio-propiloxi]-fenil]-porfirina.

[0207]



[0208] Se disuelve el Compuesto 23 (50 mg, 0,068 mmol) con N,N,N',N'-tetrametil-1,3-propanodiamina (354 mg, 1,36 mmol) y N,N- dimetildecilamina (1 g, 2,72 mmol) en DMF:THF(30 ml, 1:1, en vol.) y la mezcla es agitada a 50°C durante la noche. Después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol (10 ml) y filtrado a través de una capa de gel de sílice (2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (ca. 500 ml), este es eluido con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Las dos primeras fracciones eluidas son combinadas y después de la evaporación del disolvente a presión reducida, el residuo obtenido es disuelto en metanol y purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20, se eluye con n-butanol: agua: ácido acético (4:5:1, en vol.). Después de extraer el disolvente a presión reducida de la segunda fracción eluida, el residuo es disuelto en metanol (5 ml) y pasado por una columna corta (3,5 x 20 cm.) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). El eluato es evaporado hasta secarse y el residuo obtenido es secado a alto vacío para obtener el producto.

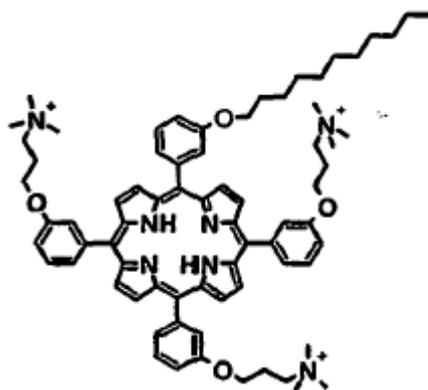
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 0,80 (m, 3 H), 1,05-1,25 (m, 10 H), 1,25-1,40 (bs, 2 H), 1,80-1,90 (bs, 4 H), 2,15-2,30 (bs, 2 H), 2,80-3,60 (m, 20 H), 3,80-3,95 (bs, 4 H), 7,05-7,15, 7,85-8,00 (2 x m, 2 x 4 H), 8,75-8,90, 9,20-9,35 (2bs, 24H), 10,15 (bs, 2 H).

#### COMPUESTO 33

Tricloruro de 5,10,15-tris[3-(3-Trimetil-amoniopropiloxi)-fenil]-20-(3-undeciloxi-fenil)- porfirina.

#### [0209]



[0210] Se disuelve el Compuesto 30 (100 mg, 0,12 mmol), y se realiza la suspensión del K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (230 mg, 1,7 mmol) en DMF (30 ml). A la mezcla agitada vigorosamente, se le añade una solución de (1-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (0,3 g, 16,6 mmol) en DMF (10 ml) a 50°C gota a gota durante 30 minutos y se calienta la mezcla durante 18 horas. Después de extraer el DMF a presión reducida, el residuo obtenido se disuelve en metanol (5 ml) y se filtra por una capa de gel de sílice (2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (ca. 500 ml) se eluye con ácido acético: metanol: agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación del disolvente de las fracciones combinadas apropiadas a presión reducida, se purifica el residuo por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20, y se eluye con n-butanol: agua: ácido acético (5:4:1, en vol., fase superior). Después de extraer el disolvente del eluato a presión reducida, se disuelve el residuo obtenido en metanol y la solución se pasa por una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Mediante la evaporación del disolvente del eluato se obtiene el producto, el cual es secado a alto vacío.

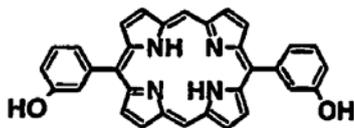
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 0,75-0,80 (m, 3 H), 1,00-1,40 (m, 18 H), 1,60-1,80 (bs, 2 H), 2,25-2,40 (bs, 6 H), 3,29 (bs, 27 H), 3,40-3,60 (m, 6 H), 3,90-4,00 (m, 2 H), 4,05-4,25 (m, 6 H), 7,10-7,20, 7,25-7,40, 7,60-7,80, 7,80-7,90 (4 x m, 16H), 8,70-9,00 (bs, 8 H).

COMPUESTO 34

5 5, 15-bis-(3-Hidroxi-fenil)-porfirina

[0211]



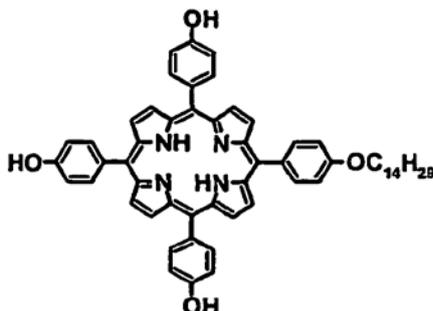
10 [0212] Esta se prepara según lo descrito por Wiehe, A., Simonenko, E. J., Senge, M. O. and Roeder, B. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines 5, 758-761 (2001).

COMPUESTO 35

5,10,15-tris-(4-Hidroxi-fenil)-20-(4-tetradeciloxi-fenil)-porfirina

[0213]

15



20 [0214] Se disuelve 5,10,15,20-tetrakis-(4-Hidroxi-fenil)-porfirina (170 mg, 0,25 mmol) y se dispersa K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,65 g, mmol) en DMF (30 ml). A una mezcla de reacción agitada vigorosamente se le adiciona gota a gota una solución de 1-bromotetradecano (0,1 ml, 0,45 mmol) en DMF (10 ml) a 50°C durante 30 minutos y la mezcla es calentada durante 1,5 horas. Después de la evaporación del disolvente, el residuo se disuelve en tolueno:etanol (1:1 en vol., ca. 5 ml) y se purifica por cromatografía usando una columna (5 x 25 cm.) de gel de sílice (Merck 60) la cual se lava con tolueno. Después del eluato de las 3 primeras fracciones, se continúa la elución usando tolueno:acetato etílico (2:1 en vol.). El quinto compuesto eluído es recogido, el disolvente es evaporado y el residuo es secado a alto vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

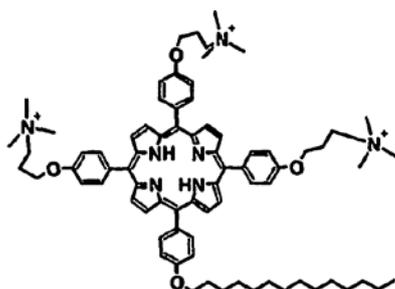
25 <sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, d6-acetona): 0,85 (t, <sup>3</sup>J7,5 Hz, 3 H), 1,15-1,55 (m, 20 H), 1,45 (quint, <sup>3</sup>J7,5 Hz, 2 H), 1,75 (quint, <sup>3</sup>J7,5 Hz, 2 H), 4,10 (t, <sup>3</sup>J7,5 Hz, 2 H), 7,20 (d, <sup>3</sup>J8,5 Hz, 2 H), 7,25 (d, <sup>3</sup>J8,5 Hz, 6 H), 8,00-8,15 (m, 8 H), 8,80-9,10 (m, 8 H).

COMPUESTO 36

30 Tricloruro de 5,10,15-tris-[4-(3-Trimetil-amoniopropiloxi)-fenil]-20-(4-tetradeciloxi-fenil)- porfirina.

[0215]



5 **[0216]** Se disuelve el n-tetradeciloxi análogo al Compuesto 2, preparado similarmente a lo descrito anteriormente para el Compuesto 2 pero usando 1-bromotetradecano en lugar de 1-bromoundecano, (50 mg, 0,057 mmol) y (1-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (210 mg, 0,8 mmol) y se realiza la suspensión de  $K_2CO_3$  (230 mg, 1,7 mmol) en DMF (20 ml). La mezcla agitada vigorosamente es agitada a esta temperatura durante 18 horas. Después de extraer el DMF a presión reducida, se disuelve el residuo obtenido en metanol (5 ml) y se filtra por una capa de gel de sílice (2 cm de profundidad) soportada en una frita de acero (3,5 cm de diámetro). Después de lavar la capa con metanol (ca. 500 ml), se eluye con ácido acético:metanol:agua (3:2:1, en vol.). Después de la evaporación del disolvente de las fracciones combinadas apropiadas, el residuo obtenido es purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex LH-20 eluyéndolo con n-butanol:agua:ácido acético (4:5:1, en vol., fase superior) para separarlo del exceso de sal de amonio y de otros materiales contaminantes. Después de eluir y extraer el disolvente de las fracciones apropiadas, el residuo obtenido se disuelve en metanol (5 ml) y se pasa por una columna corta (3,5 x 20 cm.) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro). Se extrae el disolvente a presión reducida y se seca el residuo obtenido a alto vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

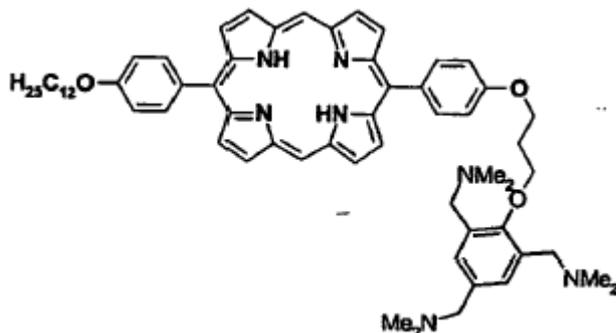
15  $^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300MHz,  $CD_3OD$ ): 0,75 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 0,95-1,25 (m, 22 H), 1,50-1,65 (bs, 2 H), 2,20-2,40 (bs, 6 H), 3,05-3,15 (bs, 27 H), 3,45-3,60 (bs, 6 H), 3,60-3,80 (bs, 2 H), 4,05-4,25 (bs, 6 H), 6,80-7,25, 7,65-8,05, (2 x m, 16 H), 8,45-8,95 (bs, 8 H).

20 **COMPUESTO 37**

5-(4-{3-[2,4,6-tris-(Dimetilaminometil)-feniloxi]-propiloxi}-fenil)-15-(4-dodeciloxi-fenil)-porfirina.

**[0217]**



25 **[0218]** El Compuesto 20 (50 mg, 0,063 mmol) se disuelve en DMF (20 ml) en presencia de 2,4,6-tris-(dimetilaminometil)-fenol (1 ml, 3,7 mmol) y se agita a 50°C durante la noche. Después de la evaporación del disolvente, el residuo es solidificado por tratamiento del residuo con diclorometano:metanol para extraer el exceso de amina. Después de la filtración, las porfirinas se vuelven a disolver en diclorometano y se purifican por cromatografía en una columna de gel de sílice (Merck 60) que es lavada con diclorometano. La evaporación del disolvente a presión reducida y el tratamiento del residuo con diclorometano:metanol, da el producto en forma de un sólido violeta.

30  $^1H$ -NMR:

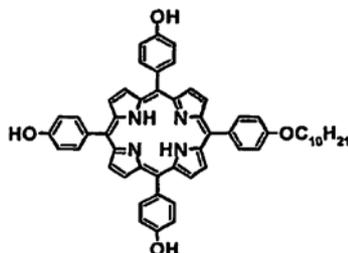
35  $\delta_H$  (300Mz,  $CDCl_3$ ): -3,15 (2 H, s), 0,85 (t, 3J 4,5 Hz, 3 H), 1,20-1,40 (m, 18 H), 1,55 (quint, 3J 4,5 Hz, 2 H), 1,90 (quint, 3J 4,5 Hz, 2 H), 2,20 (s, 18 H), 2,55 (t, 3J 5,2 Hz, 2 H), 3,45 (s, 6 H), 4,15 (t, 3J 5,5 Hz, 2 H), 4,20 (t, 3J 5,5 Hz, 2 H), 4,35 (t, 3J 7,5 Hz, 2 H), 6,85 (2 x s, 2 H), 7,20-7,30, 8,10-8,15 (2 x m, 8 H), 9,00-9,05, 9,25-9,30 (2 x m,

2 x 4 H), 10,20 (s, 2 H).

**COMPUESTO 38**

5, 10,15-tris-(4-Hidroxi-fenil)-20-(4-deciloxi-fenil)-porfirina

**[0219]**



5

**[0220]** Se disuelve 5,10,15,20-tetrakis-(4-Hidroxi-fenil)-porfirina (100 mg, 0,15 mmol) y se dispersa  $K_2CO_3$  (230 mg) en DMF (30 ml). A una mezcla de reacción agitada vigorosamente se le añade una solución de 1-bromodecano (0,016 ml, 0,11 mmol) en DMF (10 ml), gota a gota, a 70°C durante 30 minutos y la mezcla es agitada durante 1,5 horas. Después de la evaporación del disolvente, el residuo se disuelve en tolueno:etanol (1:1 en vol., ca. 3 ml) y se purifica por cromatografía en una columna (150 g) de gel de sílice (Merck 60) usando tolueno como eluyente. Después del eluato de las 3 primeras fracciones, la columna es eluída con tolueno: acetato de etilo (2:1 en vol.) y se recoge la 5ª fracción eluída, se extrae el disolvente y se seca el residuo a alto vacío para obtener el producto en forma de sólido violeta.

10

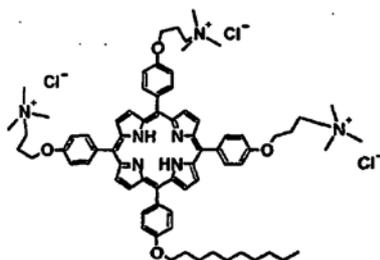
$^1H$ -NMR:

15  $\delta_H$  (300Mz,  $d_6$ -acetona): 0,95 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,25-1,55 (m, 12 H), 1,55 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 1,85 (quint,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 4,15 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 2 H), 7,20 (d,  $^3J$  8,5 Hz, 2 H), 7,25 (d,  $^3J$  8,5 Hz, 6 H), 8,00-8,15 (m, 8 H), 8,80-9,10 (m, 8 H).

**COMPUESTO 39**

Tricloruro de 5,10,15-tris-[4-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-20-(4-deciloxi-fenil)- porfirina.

20 **[0221]**



25

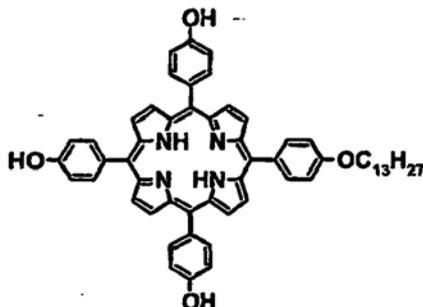
**[0222]** Se disuelven el Compuesto 38 (50 mg, 0,061 mmol) y (1-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (210 mg, 0,8 mmol) y se realiza la suspensión de  $K_2CO_3$  (230 mg, 1,7mmol) en DMF (20ml). La mezcla de reacción agitada vigorosamente se calienta a 50°C durante 18 h. Después de la evaporación del disolvente, el producto crudo es disuelto en metanol y purificado por cromatografía en una columna (2,5 x 40 cm) de Sephadex, y se eluye con n-butanol: agua: ácido acético (4:5:1, en vol., fase superior). Después de extraer el disolvente, el residuo es disuelto en metanol y pasado a través de una columna (3,5 x 20 cm) de Amberlite IRA-400 (en forma de cloruro). Después de la evaporación del disolvente, el producto se seca a alto vacío y produce un sólido violeta.

30  $^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300MHz,  $CD_3OD$ ): 0,90 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 03 H), 1,20-1,40 (m, 12 H), 1,45-1,60 (bs, 2 H), 1,80-1,90 (bs, 2 H), 2,45-2,55 (bs, 6 H), 3,25-3,35 (bs, 27 H), 3,75-3,85 (bs, 6 H), 4,05-4,25 (m, 2 H), 4,35-4,40 (bs, 6 H), 7,10-7,40, 7,95-8,15 (2 x m, 16 H), 8,60-9,00 (bs, 8 H).

COMPUESTO 40

5,10,15-tris-(4-Hidroxi-fenil)-20-(4-trideciloxi-fenil)-porfirina

**[0223]**

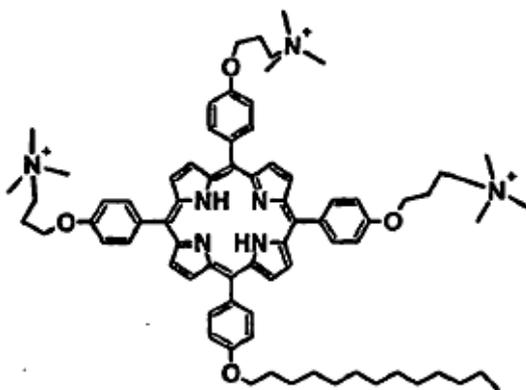
- 5 **[0224]** Se disuelve 5,10,15,20-tetrakis-(4-Hidroxi-fenil)-porfirina (400 mg, 0,59 mmol) y se realiza la suspensión de  $K_2CO_3$  (1,0 g, 7,1 mmol) en DMF (75 ml). A la mezcla de reacción agitada vigorosamente se añade una solución de 1-bromotridecano, (0,1 ml, 0,45 mmol) en DMF (10 ml), gota a gota, a 50°C, durante 30 min y se calienta la mezcla durante 1,5 h. La mezcla de reacción se enfría hasta alcanzar la temperatura ambiente y se vierte en agua (150 ml). Se extraen las porfirinas con acetato de etilo (100 ml) y se lava el extracto en una solución salina (3 x 50 ml) y se seca ( $Na_2SO_4$ ). Después de la evaporación del disolvente, el residuo es disuelto en tolueno:etanol (1:1, en vol., ca. 10 ml) y purificado por cromatografía usando una columna (200 g) de gel de sílice (Merck 60) con tolueno como eluyente. Después del eluato de los tres primeros compuestos, el eluyente se cambia por tolueno: acetato de etilo (2:1, en vol.). El quinto compuesto eluido se recoge y se seca a alto vacío para producir el producto en forma de un sólido violeta.

15  $^1H$ -NMR:

$\delta_H$  (300Mz,  $d_6$ -acetona): 0,85 (t,  $^3J_{7,5}$  Hz, 3 H), 1,20-1,60 (m, 18 H), 1,50 (quint,  $^3J_{7,5}$  Hz, 2 H), 1,80 (quint,  $^3J_{7,5}$  Hz, 2 H), 4,14 (t,  $^3J_{7,5}$  Hz, 2 H), 7,20 (d,  $^3J_{8,5}$  Hz, 2 H), 7,25 (d,  $^3J_{8,5}$  Hz, 6 H), 8,00-8,15 (m, 8 H), 8,80-9,10 (m, 8 H).

COMPUESTO 41

Tricloruro de 5-(4-Trideciloxi-fenil)-10,15,20-tris-[4-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]- porfirina

20 **[0225]**

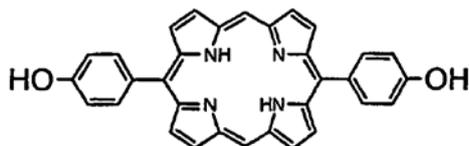
- 25 **[0226]** Se disuelve el compuesto 40 (50 mg, 0,057 mmol) y (1-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (210 mg, 0,8 mmol) se disuelven y  $K_2CO_3$  (230 mg, 1,7 mmol) se realiza la suspensión en DMF (20 ml). La mezcla de reacción agitada vigorosamente se calienta a 50°C durante 18 h. Después de extraer el DMF, el residuo se disuelve en metanol (5 ml) y se aplica a una capa (2cm de espesor) de gel de sílice que se lava en metanol (ca.1000 ml) y después es eluido con ácido acético: metanol: agua (3:2:1 en vol.). Después de la evaporación del disolvente, el residuo es eluido con n-butanol: agua: ácido acético (4:5:1 en vol., fase superior). Después de retirar el disolvente, el residuo es disuelto en metanol y pasado a través de una columna corta (3,5 x 20 cm) de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRC 400, forma de cloruro). Después de la evaporación del disolvente, el
- 30 producto se seca a alto vacío para obtener un sólido violeta.

 $^1H$ -NMR:

$\delta$ H (300MHz, CD3OD): 0,90 (t,  $^3J$  7,5 Hz, 3 H), 1,20-1,40 (m, 18 H), 1,45-1,60 (m, 2 H), 1,80-1,90 (bs, 2 H), 2,40-2,55 (bs, 6 H), 3,25-3,35 (bs, 27 H), 3,75-3,85 (bs, 6 H), 4,05-4,25 (m, 2 H), 4,35-4,40 (bs, 6 H), 7,10-7,40, 7,90-8,15 (2 x m, 16 H), 8,60-9,00 (bs, 8 H).

**COMPUESTO 42**

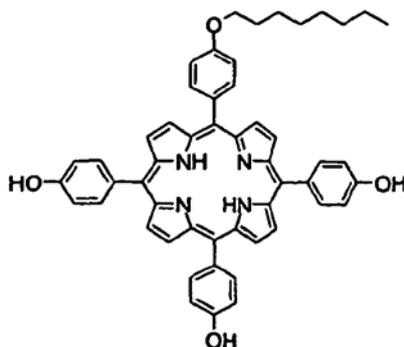
5 5,15-bis-(4-Hidroxi-fenil)-porfirina

**[0227]**

10 **[0228]** Ésta es preparada según lo descrito por Mehta, Goverdhan; Muthusamy, Sengodagounder; Maiya, Bhaskar G.; Arounagiri, S., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1; 2177 - 2182 (1999).

**COMPUESTO 43**

5,10,15-tris-(4-Hidroxi-Fenil)-20-(4-octiloxi-fenil)-porfirina

**[0229]**

15 **[0230]** Se disuelve 5,10,15,20-tetrakis-(4-Hidroxi-fenil)-porfirina (200 mg, 0,294 mmol) y se realiza la suspensión carbonato de potasio (487 mg, 3,53 mmol, 12 eq.) en argón en DMF absoluto (50 ml) y la mezcla se calienta a 55°C. Se agrega gota a gota una solución de bromuro de octilo (35,8µl, 0,206 mmol, 0,7 eq.) en DMF absoluto (10 ml) durante 30 min. y la mezcla se agita a 55°C durante 2 h. Se retira el disolvente al vacío a 50°C, se agrega agua (80 ml) y se extrae la mezcla con acetato de etilo (3 x 40 ml). Se seca la fracción orgánica combinada (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evapora el disolvente. El residuo es purificado por cromatografía en una columna (300 g) de gel de sílice. Los compuestos tetralquilados y trialquilados son eluidos con tolueno:acetato de etilo (30:1 en vol.). La tercera fracción (compuesto di-sustituido, el trans-isómero) es eluída con tolueno:etilacetato (15:1 en vol.). La cuarta fracción (compuesto di-sustituido, el cis-isómero) es eluída con tolueno:etilacetato (10:1 en vol.) y el producto deseado (compuesto mono-alquilado) es eluído con tolueno:etilacetato (5:1 en vol.). El disolvente se extrae a presión reducida y el residuo es secado a alto vacío para obtener el producto en forma de sólido violeta.

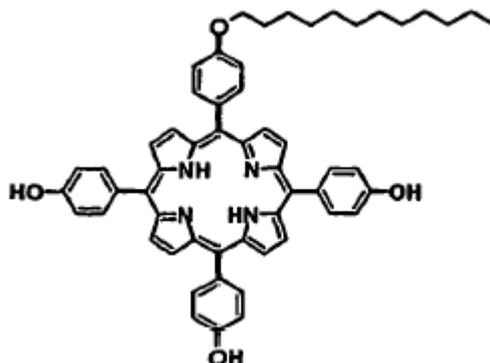
<sup>1</sup>H-NMR:

30  $\delta$ H (300 MHz, d<sub>6</sub>-acetona): 0,75 (t, 3H,  $^3J$ = 6,8 Hz), 1,13-1,25 (m, 8H), 1,43 (quint, 2H,  $^3J$ = 7,5 Hz), 1,73 (quint, 2 H,  $^3J$ = 7,5 Hz), 3,50 (t, 2H,  $^3J$ = 8 Hz), 7,11 (d, 2H,  $^3J$ = 7,5 Hz), 7,16 (d, 6 H,  $^3J$ = 7,5 Hz), 7,90-7,94 (m, 8H), 8,80-8,90 (m, 8 H)

**COMPUESTO 44**

5-(4-Dodeciloxi-fenil)-10,15,20-tris-(4-hidroxi-fenil)-porfirina

[0231]



[0232] Se disuelve 5,10,15,20-tetrakis-(4-Hidroxi-fenil)-porfirina (200 mg, 0,294 mmol) y se realiza la suspensión de carbonato de potasio (487 mg, 3,53 mmol, 12 eq.) en argón en DMF absoluto (50 ml) y se calienta la mezcla a 55°C. Se agrega gota a gota una solución de bromuro de dodecilo (49,4µl, 0,206 mmol, 0,7 eq.) en DMF absoluto (10 ml) durante 30 min. La mezcla es agitada a 55°C durante 2 h. Se extrae el disolvente al vacío a 50°C, se agrega agua (80 ml) y se extrae la mezcla con acetato de etilo (3 x 40 ml) Las fracciones orgánicas combinadas se secan (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evapora el disolvente. Se aísla el producto por cromatografía en una columna (300 g) de silicio. Los compuestos tetra-alquilados y tri-alquilados son eluidos con tolueno: acetato de etilo (30:1 en vol.), los compuestos di-sustituídos (trans-isómero) con tolueno: etilacetato (15:1 en vol.), los compuestos di-sustituídos (cis-isómero) con tolueno: acetato de etilo (10:1 en vol.) y el producto deseado (compuesto mono-alquilado) con tolueno: acetato de etilo (5:1 en vol.). El disolvente se extrae al vacío y el residuo es secado a alto vacío para obtener un producto en forma de sólido violeta.

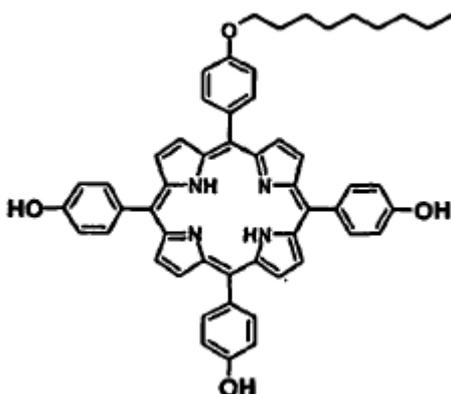
<sup>1</sup>H-NMR:

δ<sub>H</sub> (300 MHz, d<sub>6</sub>-acetona): 0,75 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 6,8 Hz), 1,13-1,25 (m, 16H), 1,41 (quint, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 1,63 (quint, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 3,89 (t, 2H, <sup>3</sup>J= 6 Hz), 7,11 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,16 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,9-7,94 (m, 8H), 8,78-8,83 (m, 8H)

COMPUESTO 45

5, 10,15-tris-(4-Hidroxi-fenil)-20-(4-noniloxi-fenil)-porfirina

[0233]



[0234] Se disuelve 5,10,15,20-tetrakis-(4-Hidroxi-fenil)-porfirina (200 mg, 0,294 mmol) y se realiza la suspensión de carbonato de potasio (487 mg, 3,53 mmol, 12 eq.) en argón en DMF absoluto (50 ml) y se calienta la mezcla hasta los 55°C. Se adiciona gota a gota una solución de bromuro de nonilo (49,4µl, 0,206 mmol, 0,7 eq.) en DMF absoluto (10 ml) durante 30 minutos. La mezcla es agitada a 55°C durante 2 h. Se extrae el disolvente al vacío a 50°C, agua (80 ml) y se extrae la mezcla con acetato de etilo (3 x 40 ml). Se secan los extractos orgánicos combinados (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se extrae el disolvente a presión reducida. Se aísla el producto por cromatografía en una columna de sílica (300 g). Los compuestos tetra-alquilados y tri-alquilados son eluidos con tolueno: acetato de etilo (30:1 en vol.), compuesto di-sustituído (el trans-isómero) con tolueno: acetato de etilo (15:1 en vol.), compuesto di-sustituído (el cis-isómero) con tolueno: acetato de etilo (10:1 en vol.) y el producto deseado (compuesto mono-alquilado) es eluido con tolueno: acetato de etilo (5,1 por vol). El disolvente es extraído a presión reducida y el residuo es secado a alto vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

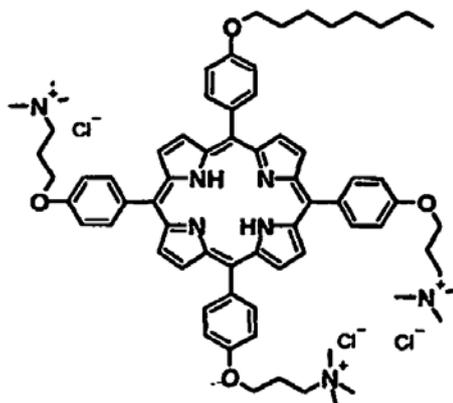
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300 MHz, d6-acetona): 0,87 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 1,14-1,26 (m, 10H), 1,41 (quint, 2H), 1,70 (quint, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 3,92 (t, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,02 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 8,25 Hz), 7,15 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,85 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 8,25 Hz), 7,91 (d, <sup>3</sup>J= 7,5Hz), 8,76-8,84 (m, 8 H).

5 **COMPUESTO 46**

Tricloruro de 5-(4-Octiloxi-fenil)-10,15,20-tris-[4-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina.

**[0235]**



10 **[0236]** Se disuelve el Compuesto 43 (50 mg, 0,063 mmol) y 3-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (164 mg, 0,63 mmol, 10 eq.) y se realiza la suspensión de carbonato de potasio (130 mg, 0,95 mmol, 15 eq.) en argón en DMF absoluto (30 ml) y la mezcla es agitada a 55°C durante 12 horas. Se extrae el disolvente al vacío a 50°C y se aplica el residuo a una capa de sílica (2 cm profundidad). Las sales de amonio que no reaccionaron son eliminadas mediante el lavado con metanol (1000 ml) y el producto es eluido con ácido acético:metanol:agua (3:2:1 en vol.). Se extrae el disolvente a presión reducida y el residuo es posteriormente purificado por cromatografía en una columna de Sephadex LH-20 (100 g) usando como eluente n-butanol:agua:ácido acético (4:5:1 en vol., fase superior). Los disolventes son extraídos a presión reducida y el residuo es disuelto en metanol y pasado por una columna pequeña de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRA 400, en forma de cloruro) usando metanol como eluente. Después de la evaporación del disolvente, el producto crudo es disuelto en la cantidad mínima de metanol y se adiciona dietil-éter (50 ml). Se centrifuga la solución durante 15 minutos. El líquido sobrenadante es evaporado hasta secarse y el residuo secado a alto vacío para producir el producto como un sólido violeta.

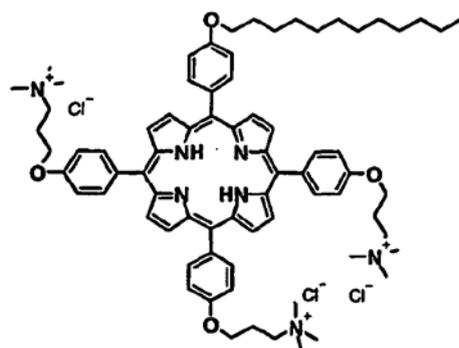
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 0,90 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 1,25-1,41 (m, 8H), 1,45 (bs, 2H), 1,87 (bs, 2H), 2,38 (bs, 6H); 3,29 (bs, 27H), 3,67 (t, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 4,01 (t, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 4,30 (t, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,11 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,38 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,95 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 8,11 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 8,93 (bs, 8H)

25 **COMPUESTO 47**

Tricloruro de 5-(4-Dodeciloxi-fenil)-10, 15,20-tris-[4-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-porfirina

**[0237]**



5 **[0238]** Se disuelve el Compuesto 44 (50 mg, 0,059 mmol) y (3-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (154 mg, 0,59 mmol, 10eq.) y se realiza la suspensión de carbonato de potasio (122 mg, 0,885 mmol, 15 eq.) en argón en DMF absoluto (30 ml) y la mezcla es agitada a 55°C durante 12 horas. El disolvente es extraído al vacío a 50°C y el residuo vuelto a disolver en un poco de metanol y aplicado a una capa de sílica (2 cm de profundidad). Las sales de amonio que no reaccionaron son eliminadas mediante el lavado con metanol (1000 ml). El producto es eluído con ácido acético:metanol:agua (3:2:1 en vol.). Los disolventes son extraídos a presión reducida, y el producto crudo posteriormente purificado por cromatografía en una columna de Sephadex LH-20 (100g) usando como eluente n-butanol:agua:ácido acético (4:5:1 en vol., fase superior). Los disolventes son extraídos a presión reducida, el residuo se vuelve a disolver en un poco de metanol y se pasa la solución por una columna corta de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRC 400, en forma de cloruro) usando metanol como eluente. Después de extraer el disolvente, se vuelve a disolver el producto crudo en una cantidad mínima de metanol y se adiciona éter dietílico (50 ml). Se centrifuga la solución durante 15 minutos. El líquido sobrenadante es evaporado hasta secarse y el producto secado a alto vacío para obtener un sólido violeta.

<sup>1</sup>H-NMR:

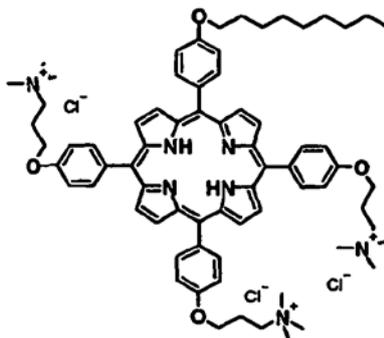
15  $\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 0,88 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 1,25-1,37 (m, 16H), 1,48 (bs, 2H), 1,93 (bs, 2H), 2,42 (bs, 6H), 3,28 (bs, 27H), 3,68-3,75 (m, 6H), 4,05 (t, 2H), 4,33 (t, 6H), 7,17 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,33 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,99 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 8,08 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 8,85 (bs, 8H).

#### COMPUESTO 48

Tricloruro de 5-(4-Noniloxi-fenil)-10,15,20-tris-[4-(3-trimetilamonio-propiloxi)-fenil]- porfirina.

20

#### [0239]



25 **[0240]** Se disuelve el Compuesto 45 (50 mg, 0,062 mmol) y (3-bromopropil)-bromuro de trimetilamonio (162 mg, 0,62 mmol, 10eq.) y se realiza la suspensión de carbonato de potasio (128 mg, 0,93 mmol, 15 eq.) en argón en DMF absoluto (30 ml) y la mezcla es agitada a 55°C durante 12 horas. Se extrae el disolvente al vacío a 50°C y el residuo se vuelve a disolver en un poco de metanol y se aplica a una capa de sílica (2 cm de profundidad). Las sales de amonio que no reaccionaron son eliminadas por el lavado con metanol (1000 ml). El producto es eluído con ácido acético:metanol:agua (3:2:1 en vol.). Se extraen los disolventes a presión reducida y el producto es posteriormente purificado por cromatografía en una columna de Sephadex LH-20 (100 g) y se eluye con n-butanol:agua:ácido acético (4:5:1 en vol., fase superior). Los disolventes son extraídos a presión reducida, el residuo vuelto a disolver en un poco de metanol y la solución es pasada por una columna corta de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRC 400, en forma de cloruro) usando como eluente metanol. Después de extraer el disolvente, el producto es secado a alto vacío para obtener un sólido violeta.

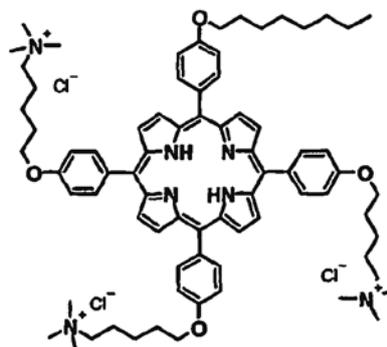
35 <sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) 0,89 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz), 1,18-1,34 (m, 10H), 1,41 (bs, 2H), 1,73 (quint, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 2,30-2,44 (m, 6H), 3,31 (bs, 27H), 3,65-3,73 (m, 6H), 3,93 (t, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 4,25-4,42 (m, 6H), 7,08 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,30 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,93 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 8,05 (d, 6H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 8,94 (bs, 8H).

#### COMPUESTO 49

40 Tricloruro de 5-(4-Octiloxi-fenil)-10,15,20-tris-[4-(5-trimetilamonio-pentiloxi)-fenil]- porfirina.

#### [0241]



5 **[0242]** Se disuelve el Compuesto 43 (23 mg, 0,03 mmol) y (5-bromopentil)-bromuro de trimetilamonio (84 mg, 0,3 mmol, 10 eq.) y se realiza la suspensión de carbonato de potasio (62 mg, 0,45 mmol, 15 eq.) en argón en DMF absoluto (15 ml) y se agita la mezcla a 55°C durante 12 horas. Se extrae el disolvente al vacío a 50°C y el residuo se vuelve a disolver en un poco de metanol y se aplica a una capa de sílica (2 cm de profundidad). Las sales de amonio que no reaccionaron son eliminadas mediante lavado con metanol (1000 ml). El producto es eluído con ácido acético:metanol:agua (3:2:1 en vol.). Los disolventes son extraídos a presión reducida y el producto es posteriormente purificado por cromatografía en una columna de Sephadex LH-20 (100g) usando como eluente n-butanol:agua:ácido acético (4:5:1 en vol., fase superior). Los disolventes son extraídos a presión reducida, el residuo es vuelto a disolver en un poco de metanol y la solución es pasada por una columna corta de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRC 400, en forma de cloruro) usando metanol como eluente. El proceso completo de purificación es repetido si quedan impurezas en el producto. Después de extraer el disolvente, el residuo es secado a alto vacío para obtener el producto en forma de un sólido violeta.

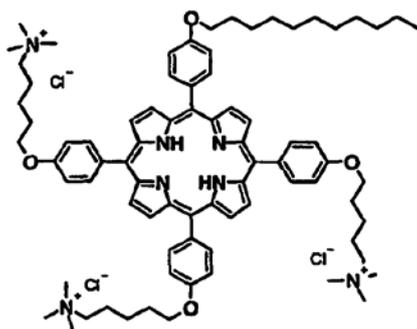
<sup>1</sup>H-NMR:

15  $\delta_H$  (300MHz, CD<sub>3</sub>OD): 0,78 (bs, 3H), 1,08-1,35 (m, 10H), 1,45-1,59 (m, 6H), 1,63-1,93 (m, 14H), 3,17-3,32 (m, 6H), 3,31 (bs, 33H), 3,84 (bs, 2H), 4,07 (bs, 6H), 6,93 (bs, 2H), 7,09 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 7,74 (bs, 2H), 7,88 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 8,71 (bs, 8H).

#### COMPUESTO 50

Tricloruro de 5,10,15-tris-[4-(5-Trimetilamonio-pentiloxi)-fenil]-20-(4-undeciloxi-fenil)- porfirina.

20 **[0243]**



25 **[0244]** Se disuelve el Compuesto 2 (50 mg, 0,06 mmol) y (5-bromopentil)-bromuro de trimetilamonio (174 mg, 0,6 mmol, 10 eq.) y se realiza la suspensión de carbonato de potasio (124 mg, 0,9 mmol, 15 eq.) en argón en DMF absoluto (30 ml) y la mezcla es agitada a 55°C durante 12 h. El disolvente es extraído al vacío a 50°C y se vuelve a disolver el residuo en un poco de metanol y aplicado a una capa de sílica (2 cm de profundidad). Las sales de amonio que no reaccionaron son eliminadas mediante el lavado con metanol (1000 ml). El producto es eluído con ácido acético:metanol:agua (3:2:1 por vol). Los disolventes son extraídos a presión reducida y el producto posteriormente purificado por cromatografía en una columna de Sephadex LH-20 (100g) y se eluye con n-butanol:agua:ácido acético (4:5:1 por vol, fase superior). Se extraen los disolventes a presión reducida, el residuo se vuelve a disolver en una cantidad mínima de metanol y la solución es pasada por una columna corta de resina de intercambio aniónico (Amberlite IRC 400) con metanol como eluente. El proceso completo de purificación es repetido si aún quedan impurezas en el producto. Después de extraer el disolvente, el residuo es secado a alto vacío para producir el producto como un sólido violeta.

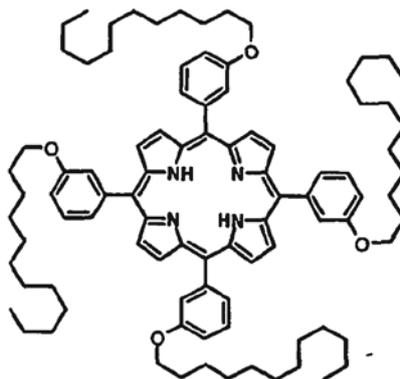
<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300MHz, MeOD): 0,71-0,88 (m, 13H), 0,91-1,38 (m, 14H), 1,48-1,81 (m, 12H), las señales para -CH<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub> y una cadena larga de alquilo OCH<sub>2</sub>- son parte del multiplete con las señales para los disolventes en el área 2,8 – 3,3, 3,91 (bs, 6H), 6,33 (bs, 2H), 6,86 (bs, 6H), 7,35 (bs, 2H), 7,70 (bs, 6H), 8,65 (bs, 8H).

5 COMPUESTO 51

5,10,15,20-tetrakis-(3-Dodeciloxi-fenil)-porfirina

[0245]



10 [0246] Se disuelven pirrol (0,7 ml, 10 mmol) y 3-dodeciloxibenzaldehído (2,91 g, 10 mmol) en diclorometano (1000 ml) desgasificado y se adiciona TFA (0,77 ml, 10 mmol) gota a gota. La mezcla es agitada durante 17 horas a temperatura ambiente en la oscuridad. Se adiciona DDQ (6,81 g, 30 mmol) en una fracción y se agita la mezcla durante 1 hora más a temperatura ambiente. Se filtra la mezcla por una columna (400 g) de silicio usando diclorometano como eluente seguido por diclorometano al cual se le adiciona trietilamina para ajustar el valor del pH a 8. Este proceso de purificación es repetido si quedan impurezas en el producto hasta que se obtiene el producto  
15 bruto.

<sup>1</sup>H-NMR:

$\delta_H$  (300 MHz, d<sub>6</sub>-acetona): 0,80 (bs, 12H), 1,03-1,45 (m, 80H), 1,78 (quint., 8H, <sup>3</sup>J= 7,5 Hz), 4,05 (t, 8H, <sup>3</sup>J= 7,5Hz), 7,24 (d, 4H, <sup>3</sup>J= 7,5Hz), 7,49-7,55 (m, 4H), 7,68-7,71 (m, 8H), 8,80 (m, 8 H)

20 EJEMPLO B: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA INNATA DEL COMPUESTO 10 - DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (MIC) Y CONCENTRACIÓN BACTERICIDA MÍNIMA (MBC)

[0247] La Concentración Inhibitoria Mínima (MIC) para un agente antimicrobiano contra un microorganismo específico es definida como la concentración mínima de un agente antibacteriano donde no se observa crecimiento aparente visible del organismo (definición de FDA de Concentración Inhibitoria Mínima). La MIC se determina normalmente utilizando las concentraciones tradicionalmente derivadas de series de diluciones dobles (National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Manual M7-A5: Métodos de Ensayo de Susceptibilidad de Dilución Antimicrobiana para Bacterias que Crecen Aeróbicamente; Normativa aprobada -5ª edición volumen 20 número 2. de Enero de 2000). La MIC se investigó para 10 compuestos en ausencia de luz, utilizando un protocolo basado en el protocolo MIC producido por la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Manual M7-A5, supra).  
25

30 [0248] La concentración mínima de bactericidas (MBC) se define como la concentración mínima necesaria de medicamento para eliminar la mayoría (99,9%) de los organismos viables tras su incubación durante un período de tiempo fijo (generalmente 24 horas) bajo un conjunto dado de condiciones (National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Manual M26-A; "Methods for determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Directrices Aprobadas" Volumen 19 número 18, Septiembre 1999).

35 Metodología

[0249] En este estudio se utilizó el Staphilococcus áureo BAA-44, una cepa Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) obtenida del catálogo ATCC resistente a multimedicamentos. Se investigaron las siguientes concentraciones del compuesto 10: 0.764; 0.382; 0.191; 0.0955; 0.0478; 0.0239, 0.0119; 0.00597; 0.00298; 0.00149; 0.00075 y 0.00037  $\mu\text{g/mL}$ . Se formaron soluciones madre en agua destilada y se hizo una serie de diluciones de ésta para producir las concentraciones requeridas inmediatamente antes de su uso  
40

**[0250]** Al menos de 3 a 5 colonias bien aisladas del mismo tipo morfológico fueron seleccionadas de un cultivo de placa de agar y el crecimiento transferido a un tubo que contiene 100 mL de caldo de Isosensitest y el caldo de cultivo se incubó a 37 °C durante la noche. El cultivo fue entonces diluido a una densidad final de 104 células/mL con un caldo de Isosensite fresco e incubado con agitación a 37 °C hasta que las células entraron en un crecimiento exponencial.

**[0251]** Se transfirieron 0,09 mL del inóculo ajustado a cada uno de 24 pocillos de una placa de microtitración de poliestireno de 96 pocillos. Un pocillo de control de bacterias solo en presencia del medio de crecimiento solo fue incluido (como un control positivo).

**[0252]** Se pipetearon 0,09 mL de las soluciones madre del Compuesto 10 de la serie de dilución en el pocillo correspondiente a las placas de microtitración y se incubaron en la oscuridad a 37°C y las placas se examinaron tras 24 horas de incubación para determinar la turbidez en cada pocillo. Estos datos se utilizan para determinar la MIC.

**[0253]** Después de 24 horas de incubación a 37°C, 25µL muestras del líquido de los pocillos sin crecimiento bacteriano visible (de cuatro pocillos para arriba) fueron inoculados en placas de agar nutriente como manchas e incubados a 37°C para tras 24 horas para determinar la MBC.

Resultados

**[0254]** El resultado demostró que la MIC para el compuesto 10 en ausencia de luz era 0.0955 µg/ml, y que la MBC era de 0.382 µg/mL (Tabla 1).

Tabla 1

| Datos MIC y MBC para Compuesto 10  |             |                |
|--|-------------|----------------|
|  | MIC (µg/mL) | ABC (µg/mL)    |
| <b>Serie 1</b>   | 0,09555     | 0,382*         |
| <b>Serie 2</b>   | 0,09555     | No determinado |
| *Crecimiento en sub de 0,191 muy reducido desde inóculo inicial a unos 10 <sup>3</sup> /ml |             |                |

Conclusiones

**[0255]** El Los resultados demuestran que en ausencia de luz el compuesto 10 tiene valores bajos de MIC y MBC. Estos datos indican que el compuesto 10 es considerablemente más potente como un antibiótico que algunos antibióticos tradicionales (ver Tabla 2):

Tabla 2

| Valores MIC y MBC para el compuesto 10 y antibióticos convencionales |                     |                      |
|--|---------------------|----------------------|
| Compuesto  | Valores MIC (µg/mL) | Valores MBC (µg/mL)  |
| Compuesto 10   | 0,0955              | 0,382                |
| Vancomicina  | 1 <sup>a</sup>      | 4 – 16 <sup>b</sup>  |
| Zyvox® (Linezolid)   | 4 <sup>a</sup>      | 4 - >64 <sup>c</sup> |

|  |
|--|
| <p>(a) Critchey LA et al. Baseline study to determine in vitro activities of daptomycin against gram-positive pathogens isolated in the United States in 2000-2001. <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy</i> (2003); 47(5): 1689-93</p> <p>(b) Biavasco F et al. In vivo antibacterial activity of LY333338, a new semisynthetic glycopeptide. <i>Antimicrobial Agents and Chemotherapy</i> (1997); 41(10): 2165-72</p> <p>(c) Fuchs PC et al. In vitro bactericidal activity of daptomycin against staphylococci. <i>Journal of Antimicrobial Chemotherapy</i> (2002); 49: 467-70</p> |
|--|

**EJEMPLO C: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA INNATA DEL COMPUESTO 10 - ACTIVIDAD EN UNA GAMA DE CEPAS Y AISLADOS CLÍNICOS DE REFERENCIA**

5 **[0256]** Las Concentraciones Mínimas de Inhibición (MIC's) para el compuesto 10, en una gama de cepas y aislados clínicos de referencia, fue determinada utilizando medio de IsoSensite® y concentraciones mínimas de bactericida (MBC) determinadas por subcultivo sobre agar sangre Columbia.

Metodología

[0257]

1. Se formó una solución en agua de 5 mg/ml de la reserva del compuesto 10.
- 10 2. Se llevó a cabo una serie de diluciones para producir una gama de concentraciones de entre 32 – 0,001 mg/L.
3. Los microorganismos de ensayo fueron cultivados durante la noche en medio IsoSensite®.
4. Los cultivos fueron luego diluidos con caldo fresco a una concentración final de 10<sup>4</sup> organismos/ml y colocados en un agitador durante 90 minutos a 37°C.
- 15 5. 90 µL del caldo de cultivo conteniendo los microorganismos fueron transferidos a cada uno de 12 pocillos en una fila en una bandeja de microtitración y repetidos en una bandeja de control - cuatro organismos por bandeja.
6. 90 µL de la adecuada dilución del compuesto 10 se añadieron luego a cada pocillo conteniendo organismos para dar una serie final de dilución de 16 mg/L a 0.0005 mg/L.
- 20 7. Las soluciones fueron bien mezcladas e incubadas en la oscuridad durante 24 horas.
8. La MIC fue registrada y 25-µL de los pocillos que no mostraban ningún crecimiento fueron subcultivados en agar sangre para la determinación de MBC.
9. Los valores de MBC se registraron después de una noche de incubación de los subcultivos.
- 25 10. Controles del caldo no inoculado y de caldo más inóculo se llevaron a cabo para cada organismo en cada cubeta.

Resultados

**[0258]** Los resultados se muestran en la Tabla 3

**Tabla 3**

| Valores MIC y MBC para el compuesto 10 y antibiótico convencional |                           |                   |                   |
|---|---------------------------|-------------------|-------------------|
| Organismo   | Cepa                      | Cpd 10 MIC (mg/L) | Cpd 10 MBC (mg/L) |
| (a) Staphylococcus Aureus (Resistente a Meticilina)               |                           |                   |                   |
|   | ATCC BAA-44 Experimento 1 | 0,5               | 0,5               |
|   | Experimento 2             | 0,5               | 1                 |
|   | Experimento 3             | 2                 | 2                 |
|   | Experimento 4             | 0,5               | 1                 |

ES 2 395 012 T3

|  |                      |                          |                          |
|--|----------------------|--------------------------|--------------------------|
|  | Experimento 5        | 0,5                      | >1                       |
|  | Experimento 6        | 0,5                      | 1                        |
| <b>Organismo</b>                                     | <b>Cepa</b>          | <b>Cpd 10 MIC (mg/L)</b> | <b>Cpd 10 MBC (mg/L)</b> |
|  | NCTC 11939 (EMRSA-1) | 0,5                      | 0,5                      |
|  | EMRSA-15*            | 1                        | 1                        |
|  | EMRSA-16*            | 0,5                      | 0,5                      |
| (b) Staphylococcus Aureus (Sensible a Metilina)      |                      |                          |                          |
|  | NCTC 6571            | 0,5                      | 0,5                      |
|  | ATCC 25923           | 0,5                      | 1                        |
| (c) Staphylococcus Epidermis (Resistente a Metilina) |                      |                          |                          |
|  | 38808*               | 0,5                      | 0,5                      |
|  | 33759*               | 0,5                      | 1                        |
|  | 33659*               | 0,5                      | 1                        |
|  | 36572*               | 0,25                     | 0,25                     |
| (d) Staphylococcus Epidermis (Sensible a Metilina)   |                      |                          |                          |
|  | 37453*               | 0,5                      | 0,5                      |
| (e) Enterococcus Faecium                             |                      |                          |                          |
|  | NCTC 12204           | 1                        | 1                        |
|  | E1*                  | 0,5                      | 1                        |
|  | E5*                  | 0,5                      | 1                        |
|  | E19*                 | 0,5                      | 0,5                      |
|  | E44*                 | 0,5                      | 0,5                      |
| (f) Enterococcus Faecalis                            |                      |                          |                          |
|  | ATCC 29212           | 1                        | >1                       |
|  | E3*                  | 0,5                      | 1                        |
|  | E4*                  | 0,5                      | 0,5                      |
|  | E10*                 | 0,5                      | 1                        |
| <b>Organismo</b>                                     | <b>Cepa</b>          | <b>Cpd 10 MIC (mg/L)</b> | <b>Cpd 10 MBC (mg/L)</b> |
|  | E37*                 | 0,5                      | 1                        |
| * = Aislados clínicos                                |                      |                          |                          |

Conclusiones

5 **[0259]** Los resultados demuestran que el compuesto 10 tiene muy bajos los valores de MIC y MBC para una gama de cepas bacterianas gram-positiva. Los valores de MIC y MBC son casi idénticos dentro de las limitaciones de la metodología, que sugiere que el modo de actividad antimicrobiana es bactericida frente a bacteriostática.

**EJEMPLO D: ENSAYOS DE TOXICIDAD DEL COMPUESTO 10 SOBRE CÉLULAS HUMANAS**

Metodología

[0260] Los compuestos de ensayo se analizaron en cuanto a toxicidad contra cultivos de células de piel humana utilizando queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK) y fibroblastos dérmicos humanos normales (NHDF), comprados a Cell Systems Biotechnologie GmbH, Alemania.

5 [0261] Las células NHEK y NHDF fueron utilizadas entre los pasos 3 y 10. Las células fueron sembradas con 7,5 y/o  $15 \times 10^4$  células/pocillo (placa de microtitración) y se les permitió unirse durante la noche en una incubadora (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Tras la incubación con diferentes concentraciones de los fotosensibilizadores seleccionados para varios períodos, las células fueron incubadas durante 24 horas en la oscuridad.

10 [0262] La toxicidad fue comprobada por un ensayo MTT estándar (Mossmann et al., 1983 J. Immunological Methods 65: 55 - 63). MTT es un indicador de células metabólicamente activas. Dependiente de la actividad enzimática en la mitocondria puede ser visualizada una reacción de color que puede ser medida por lector ELISA (540 nm). La viabilidad celular fue normalizada a uno, lo que significa que los valores OD de las células después de incubación en ausencia de un compuesto de ensayo se normalizaron a uno. Cada experimento fue repetido tres veces.

Resultados

15 [0263] Los resultados de los estudios de toxicidad en los queratinocitos y fibroblastos se muestran en las figuras 2 y 3. Los datos demuestran que el compuesto 10 no muestra una toxicidad innata para queratinocitos epidérmicos humanos normales o fibroblastos dérmicos humanos normales a dosis que se sabe que tienen un efecto antibacteriano.

EJEMPLO E: ENLACE DE LOS COMPUESTOS EJEMPLARES CON CELULAS BACTERIANAS

20 Enlaces de los Compuestos 8, 10 y 12 con *E. coli*

25 [0264] Se incubaron células de *E. coli* durante 5 min. con los Compuestos 8, 10 ó 12 a varias concentraciones (1-7,5 µM). Al finalizar el período de incubación, se realizó la sedimentación de las células por centrifugado para extraer la fracción del compuesto de ensayo no ligado y el pellet celular fue resuspendido en 2 ml de SDS 2% para obtener lisados de células. Después de la incubación durante la noche con SDS, la cantidad de compuesto de ensayo enlazado se estimó mediante análisis espectrofluorimétrico de las células lisadas. La concentración de los compuestos en las células lisadas se calculó mediante la medición de las intensidades al máximo del espectro de emisión de fluorescencia y mediante la interpolación de datos en un gráfico de calibración. La cantidad de compuesto de ensayo de células ligadas se expresó en nmoles del compuesto por mg de proteína celular. La concentración de proteína se determinó mediante el método de Lowry (Lowry et al., 1951, J. Biol. Chem. 193:265-275).

30 [0265] Todos los experimentos se efectuaron por triplicado y los resultados representan el promedio de las 3 determinaciones con desviaciones estándar.

[0266] La cantidad de porfirina recuperada de las células se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4

| Concentración de compuesto (µM) | Compuestos enlazados (nmol./mg de proteínas celulares) |               |                |
|---------------------------------|--|---------------|----------------|
| (a) 0 lavados                   |  |               |                |
|                                 | Compuesto 8  | Compuesto 12  | Compuesto 10   |
| 0,01                            | 0,024 ± 0,01   | 0,041 ± 0,02  | 0,026 ± 0,005  |
| 0,1                             | 0,056 ± 0,02   | 0,151 ± 0,02  | 0,274 ± 0,05   |
| 0,5                             | 0,522 ± 0,2  | 0,806 ± 0,14  | 1,542 ± 0,350  |
| 1                               | 3,670 ± 0,7  | 2,70 ± 0,30   | 2,70 ± 0,354   |
| (b) 3 lavados                   |  |               |                |
|                                 | Compuesto 8  | Compuesto 12  | Compuesto 10   |
| 0,01                            | 0,009 ± 0,001  | 0,021 ± 0,005 | 0,015 ± 0,0004 |
| 0,1                             | 0,030 ± 0,02   | 0,089 ± 0,02  | 0,078 ± 0,02   |

|     |              |              |               |
|-----|--------------|--------------|---------------|
| 0,5 | 0,274 ± 0,15 | 0,622 ± 0,10 | 0,334 ± 0,092 |
| 1   | 2,230 ± 0,8  | 1,930 ± 0,20 | 1,278 ± 0,102 |

**[0267]** Los resultados expuestos en la tabla 3 muestran que los tres compuestos de ensayo se enlazan a la *E. coli* con una eficiencia similar y que aproximadamente el 50% del compuesto que se asocia a las células al final del período de incubación (5 min.) se extrae mediante 3 lavados con PBS.

## 5 EJEMPLO F: ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Estabilidad química

**[0268]** La siguiente metodología HPLC se estableció para el análisis de los compuestos ejemplares de la invención.

**[0269]** El método comprende la detección por UV a una longitud de onda de 420 nm, la cual es muy específica para estos compuestos. Con el fin de supervisar las impurezas no relacionadas con la estructura de la porfirina (y por tanto que no absorben a 420 nm) los espectros UV de todos los cromatogramas también se registraron entre 200 nm y 700 nm mediante DAD (*Diode Array Detector*) en algunos experimentos.

Columna: Zorbax Phenyl, 250 x 4,6 mm, 5 µm

Eluente A: 1,5 dodecilsulfato de sodio + 1ml de ácido fórmico en 1000 ml de agua

Eluente B: 1,5 dodecilsulfato de sodio + 1 ml de ácido fórmico en 200 ml de agua + 800 ml tetrahidrofurano

15 Gradiente:

**[0270]**

| Tiempo [min] | Eluente B [%] |
|--------------|---------------|
| 0            | 50            |
| 31           | 65            |
| 32           | 90            |
| 33           | 50            |
| 43           | 50            |

Velocidad de Flujo: 0,4 ml/min

Detección: 420 nm

20 Temperatura de la Columna: 25 °C

Volumen de Inyección: 10 µl

Soluciones: Derivados de la porfirina fueron disueltos en el eluente A para lograr una concentración final de aproximadamente 0,3 mg/ml.

**[0271]** El tiempo de retención típico de los compuestos ejemplares fue de aproximadamente 8 minutos (18 minutos de funcionamiento).

**[0272]** Se efectuaron ensayos de estrés cualitativos en los compuestos ejemplares de la invención. Se realizó el análisis mediante HPLC y LC-MS. Se efectuó ensayo de estrés a los compuestos en su forma sólida, en una solución acuosa y en una solución salina tamponada con fosfato. Las muestras fueron inicialmente incubadas durante más de 7 días a 50°C y se extrajo una muestra para ensayo. Las muestras fueron entonces incubadas por otros 7 días a 70°C, se extrajeron muestras como antes y las muestras fueron incubadas después durante 7 días a 90°C. Se efectuaron análisis de HPLC de soluciones recién preparadas y se compararon con las muestras después de 7, 14 y 21 días de incubación. Se efectuó, entonces, una comparación visual de los cromatogramas y se determinaron los contenidos de los productos principales y los subproductos en forma de valores porcentuales de área (véase Figura 4).

**[0273]** Los gráficos en 3D de los cromatogramas no muestran indicaciones de formaciones adicionales de fragmentos (no hay señal a longitudes inferiores de onda).

5 **[0274]** En el gráfico de la Figura 5 se observa una muestra después de 21 días en buffer PBS, la cual mostró el mayor efecto de degradación. Los resultados demostraron una degradación mínima en el análisis del medicamento sólido y el medicamento en solución calentada a 80°C durante varias semanas.

#### Conclusiones

10 **[0275]** Se encontró que los Compuestos 10 y 12 exhiben una buena estabilidad y eran muy estables incluso en las condiciones extremas del protocolo de ensayo. Aunque el Compuesto 8 era menos estable que los compuestos 10 y 12, se encontró que la estabilidad demostrada era suficiente para su uso práctico.

Estabilidad de los compuestos ejemplares en las formulaciones

**[0276]** La estabilidad de los tres compuestos ejemplares (Compuestos 8, 10 y 12) y un compuesto de referencia (Compuesto 1), almacenados a 40°C en la oscuridad durante 8 semanas en frascos de polietileno en varias formulaciones de base acuosa, fue evaluada como sigue:

- 15
- Sulfato sódico láureo (SLES, por su expresión Inglesa *Sodium Laureth Ether Sulphate*) + agua
  - 9:1 de agua:etanol
  - SLES + mezcla 9:1 de agua:etanol

**[0277]** Los espectros UV fueron registrados en el intervalo de 350-700 nm durante un período de 7 semanas y se realizó una evaluación visual de las muestras a las 8 semanas.

20 **[0278]** Los resultados indican que todos los compuestos ensayados exhibieron una buena estabilidad durante un período de 8 semanas (véase Figura 6).

**[0279]** Para los Compuestos 8 y 10, los estudios de estabilidad se extendieron por 17 semanas (véase Figura 7).

#### EJEMPLO G: ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA DEL COMPUESTO 10

25 **[0280]** El compuesto 10 fue ensayado en 3,2 mM en una formulación tópica en una ensayo de toxicidad dérmica aguda estándar para determinar si era posible detectar alguna toxicidad clínica o histológica del compuesto.

**[0281]** El protocolo de toxicidad aguda se basó en la Guía para ensayos de productos químicos OECD/ Sección 4 – Ensayo de efectos en la salud número 402: Toxicidad dérmica aguda.

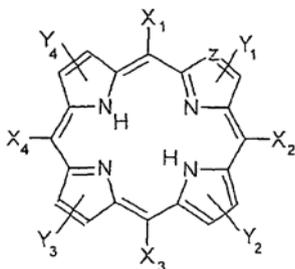
#### Resultados y Conclusiones

30 **[0282]** Después de observación clínica, macroscópica y microscópica, no se observó toxicología clínica. No se observó toxicología histológica en ninguno de los órganos importantes (incluyendo la piel).

**[0283]** En conclusión, el Compuesto 10 no produjo ningún efecto tóxico agudo: de hecho, no se observaron signos clínicos o patológicos significativos relacionados con la sustancia y su vehículo de aplicación.

## REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de la fórmula I siguiente en la preparación de un medicamento para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método en vivo que no supone exponer el compuesto a una fuente de luz de terapia fotodinámica o a una fuente de ultrasonidos de terapia sonodinámica.

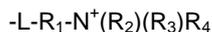


I

5

en donde:

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> representan de forma independiente un átomo de hidrógeno, una fracción lipofílica, un grupo fenilo, un grupo alquilo, alcarilo o aralquilo inferior, o un grupo catiónico de la fórmula siguiente:



10 en donde:

L es una fracción de enlace o está ausente;

R<sub>1</sub> representa alquileo inferior, alquenileo inferior o alquinileo inferior, el cual es opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido con oxígeno), flúor, OR<sub>5</sub>, C(O)R<sub>6</sub>, C(O)OR<sub>7</sub>, C(O)NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> y N<sup>+</sup>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>R<sub>14</sub>; y

15 R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> representan independientemente H, arilo, alquilo inferior, alquenilo inferior o alquinilo inferior, de los cuales los últimos tres son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido con oxígeno), arilo, OR<sub>5</sub>, C(O)R<sub>6</sub>, C(O)OR<sub>7</sub>, C(O)NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> y N<sup>+</sup>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>R<sub>14</sub>.

Z es -CH o N; y

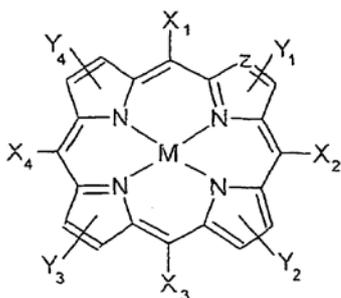
20 Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub> e Y<sub>4</sub> están ausentes o representan independientemente arilo, alquilo inferior, alquenilo inferior o alquinilo inferior, de los cuales los tres últimos son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados del alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido con oxígeno), arilo, OR<sub>5</sub>, C(O)R<sub>6</sub>, C(O)OR<sub>7</sub>, C(O)NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub>, N<sup>+</sup>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>R<sub>14</sub>. o, tomados junto con el anillo de pirrol al que se conectan, forman un grupo cíclico; y

25 R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> y R<sub>14</sub> representan independientemente H o un alquilo inferior

siempre que al menos uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> sea un grupo catiónico según se define anteriormente y al menos uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> sea un átomo de hidrógeno.

2. Uso de un compuesto de la fórmula II siguiente en la preparación de un medicamento para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método en vivo el cual no supone exponer el compuesto a una fuente de luz de terapia fotodinámica o a una fuente de ultrasonido de terapia sonodinámica.

30



II

en donde M es un elemento metálico o un elemento metaloide

y  $X_1, X_2, X_3, X_4, Y_1, Y_2, Y_3, Y_4$  y Z son como se definen en la Reivindicación 1.

- 5 **3.** Un uso según la Reivindicación 1 o 2, en el cual el medicamento es para eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método que no supone exponer el compuesto a estímulos que activan la actividad antimicrobiana.
- 4.** El uso según cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, en el cual el compuesto muestra actividad antimicrobiana en ausencia de irradiación con una fuente de luz de terapia fotodinámica o una fuente de ultrasonido.
- 5.** Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 2 a 4, en el cual M es un elemento metálico divalente o trivalente.
- 10 **6.** Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 2 a 5, en el cual M es seleccionado de Zn(II), La(III), Lu(III), Y(III), In(III), Cd(II), Mg(II), Al(III), Ru, Ni(II), Mn(III), Fe(III) y Pd(II).
- 7.** Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 2 a 4, en el cual M es un elemento metaloide, por ejemplo silicio (Si) o germanio (Ge).
- 8.** Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en el cual  $Y_1, Y_2, Y_3$  e  $Y_4$  están ausentes.
- 15 **9.** Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual Z es  $-CH$ .
- 10.** Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual  $R_1$  es un grupo alquileo inferior, alquenileno inferior o alquinileno inferior no sustituido.
- 11.** Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual  $R_1$  es  $-(CH_2)_m-$  y "m" es un número entero entre 1 y 20.
- 20 **12.** Un uso según la Reivindicación 11, en el cual "m" es un entero entre 1 y 10, por ejemplo entre 1 y 6, entre 1 y 5, entre 1 y 4, o entre 1 y 3.
- 13.** Un uso según la Reivindicación 12, en el cual "m" es 3.
- 14.** Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual  $R_2, R_3$  y/o  $R_4$  son grupos alquilo inferior, alquenilo inferior o alquinilo inferior.
- 25 **15.** Un uso según la Reivindicación 14, en el cual  $R_2, R_3$  y/o  $R_4$  son grupos alquilos inferiores no sustituidos.
- 16.** Un uso según las Reivindicaciones 14 ó 15, en el cual al menos uno de  $R_2, R_3$  y  $R_4$  es un grupo alquilo el cual es sustituido con un grupo amino primario, secundario o terciario, o con un grupo amonio cuaternario.
- 17.** Un uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual  $R_1$  es  $-(CH_2)_3-$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son  $CH_3$  y  $R_4$  es  $-(CH_2)_3-N(CH_3)_2$ .
- 30 **18.** Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual  $R_1$  es  $-(CH_2)_3-$ , y  $R_2, R_3$  y  $R_4$  son cada uno  $CH_3$ .
- 19.** Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual  $R_1$  es  $-(CH_2)_3-$ , y  $R_2, R_3$  y  $R_4$  son cada uno  $C_2H_5$ .
- 35 **20.** Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual L es seleccionado del grupo formado de fracciones de enlace fenoxi, fenileno, sulfonilamido, aminosulfonilo, sulfonilimino, fenilsulfonilamido, fenilo-aminosulfonilo, urea, uretano y carbamato.
- 21.** Un uso según la reivindicación 20, en el cual  $X_1, X_2, X_3$  y/o  $X_4$  son



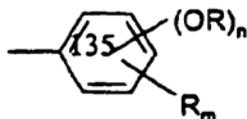
en donde R es  $-R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$  según se define en la Reivindicación 1 y "n" es un número entero entre 1 y 3.

- 40 **22.** Un uso según la reivindicación 20, en el cual  $X_1, X_2, X_3$  y/o  $X_4$  son



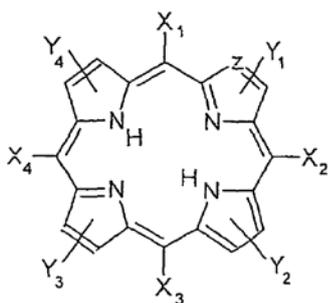
en donde R es  $-R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$  como se define en la Reivindicación 1 y "m" es un número entero entre 1 y 3.

23. Un uso según la reivindicación 20, en el cual  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y/o  $X_4$  son



- 5 en donde cada R de forma independiente es  $-R_1-N^+(R_2)(R_3)R_4$ , según se define en la Reivindicación 1 y "n" y "m" son números enteros entre 1 y 3 y donde la suma de "n" y "m" es un número entero entre 1 y 3.
24. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 21 a 23, en el cual "n" o "m" es 3.
25. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 21 a 23, en el cual "n" o "m" es 2.
- 10 26. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 21 a 23 o 25, en el cual "n" y/o "m" es 1.
27. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 21 a 23, en el cual L es mono-sustituido en la posición *para*.
28. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 21 a 23, en el cual L puede ser *mono* o *di*-sustituido en una(s) posición(es) *meta*.
- 15 29. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 21 a 23, en el cual L puede ser *mono* o *di*-sustituido en una(s) posición(es) *orto*.
30. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en el cual el compuesto comprende dos grupos catiónicos, según se define en la Reivindicación 1, en lados opuestos del anillo de porfirina, es decir, en las posiciones 5 y 15 del anillo o en las posiciones 10 y 20 del anillo.
- 20 31. Un uso según la Reivindicación 30, en el cual  $X_1$  y  $X_3$  son un átomo de hidrógeno, una fracción lipofílica, un grupo fenilo, un grupo alquilo, alcarilo o aralquilo inferior y  $X_2$  y  $X_4$  son grupos catiónicos, o *viceversa*.
32. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 30, en el cual el compuesto comprende dos grupos catiónicos, según se define en la Reivindicación 1, en posiciones vecinas del anillo de porfirina, o sea, en las posiciones 5 y 10 del anillo, o en las posiciones 10 y 15 del anillo, o en las posiciones 15 y 20 del anillo o en las posiciones 20 y 5 del anillo.
- 25 33. Un uso según la Reivindicación 32, en el cual  $X_1$  y  $X_2$  son hidrógenos y  $X_3$  y  $X_4$  son grupos catiónicos, o  $X_2$  y  $X_3$  son hidrógeno y  $X_4$  y  $X_1$  son grupos catiónicos.
34. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en el cual al menos uno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es una fracción lipofílica.
- 30 35. Un uso según la Reivindicación 34, en el cual la fracción lipofílica es un grupo alquilo saturado de cadena lineal de fórmula  $-(CH_2)_pCH_3$ , en donde "p" es un número entero entre 1 y 22.
36. Un uso según la Reivindicación 35, en el cual "p" está entre 1 y 18, por ejemplo entre 2 y 16 o entre 4 y 12..
37. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 33, en el cual ninguno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es una fracción lipofílica.
- 35 38. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en el cual ninguno de  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  y  $X_4$  es un grupo fenilo.
39. Un uso según una cualquiera de las Reivindicaciones precedentes, en el cual el compuesto es soluble en agua.
40. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5,15-bis-(4-{3-[(3-Dimetilamino-propil)-dimetilamónio]-propil-oxi}-fenil)-dicloruro de porfirina.

41. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5,15-bis-[4-(3-Trietilamonio-propiloxi)-fenil]-dicloruro de porfirina.
42. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5,15-bis-[3-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-dicloruro de porfirina.
- 5 43. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5,15-bis-[4-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-dicloruro de porfirina.
44. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5-[3,5-bis-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-15-dicloruro de undecilporfirina.
- 10 45. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5-{4-[3-Dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amonio-propiloxi]-fenil}-15-(4-dodeciloxi-fenil)-cloruro de porfirina.
46. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 3-[(3-[(3-4-[15-(4-Dodeciloxi-fenil)-porfirin-5-il]-fenoxi)-propil]-dimetil-amonio]-propil)-dimetil-amonio]-propil]-trimetil-tricloruro de amonio.
47. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5,15-bis-[3-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-10-undecil-dicloruro de porfirina.
- 15 48. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5-{4-[3-Dimetil-(3-trimetilamonio-propil)-amonio-propiloxi]-fenil}15-(4-dodeciloxi-fenil)-dicloruro de porfirina.
49. Un uso según la Reivindicación 1, en el cual el compuesto es 5-[4-(3-Dimetildecil-amonio-propiloxi)-fenil]-15-{4-[3-dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amonio-propiloxi]-fenil}-dicloruro de porfirina.
50. Un uso según cualquiera de las Reivindicaciones 40 a 49, en el cual el compuesto está en una forma metalada.
- 20 51. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el compuesto es sustancialmente no tóxico para las células de mamíferos.
52. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el medicamento es para administración oral.
- 25 53. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el medicamento es para administración parenteral.
54. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el medicamento es para administración tópica.
55. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el los microorganismos son seleccionados del grupo formado de bacterias, micoplasmas, levaduras, hongos y virus.
- 30 56. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual los microorganismos son bacterias que son resistentes a uno o más agentes antibióticos convencionales.
57. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual los microorganismos están sobre una superficie foto-inaccesible o en un área foto-inaccesible.
- 35 58. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el medicamento es para su uso en el tratamiento curativo y/o profiláctico de infecciones microbianas.
59. Un uso según la Reivindicación 58, en el cual la infección microbiana es una infección sistémica.
60. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el medicamento es para prevenir y/o tratar una infección dermatológica.
- 40 61. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el medicamento es para prevenir y/o tratar una infección pulmonar.
62. Un uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el medicamento es para prevenir y/o tratar la infección de heridas y/o úlceras.
- 45 63. Un compuesto de la fórmula I siguiente para su uso en eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método in vivo que no supone exponer el compuesto a una fuente de luz de terapia fotodinámica o a una fuente de ultrasonido de terapia sonodinámica.



I

en donde:

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> representan de forma independiente un átomo de hidrógeno, una fracción lipofílica, un grupo fenilo, un grupo inferior alquilo, alcarilo o aralquilo, o un grupo catiónico con la fórmula siguiente:



en donde:

L es una fracción de enlace o está ausente;

R<sub>1</sub> representa alquileo inferior, u alquilenilo inferior o alquinileo inferior, el cual es opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido con oxígeno), flúor, OR<sub>5</sub>, C(O)R<sub>6</sub>, C(O)OR<sub>7</sub>, C(O)NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> y N<sup>+</sup>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>R<sub>14</sub>; y

R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> representan independientemente H, arilo, alquilo inferior, alqueno inferior o alquilo inferior, de los cuales los últimos tres son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido con oxígeno), arilo, OR<sub>5</sub>, C(O)R<sub>6</sub>, C(O)OR<sub>7</sub>, C(O)NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> y N<sup>+</sup>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>R<sub>14</sub>.

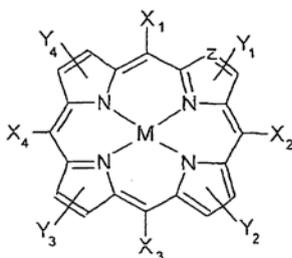
15 Z es -CH o N; y

Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub> e Y<sub>4</sub> están ausentes o representan independientemente arilo, alquilo inferior, alqueno inferior o alquilo inferior, de los cuales los tres últimos son opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo inferior, alquileo inferior (opcionalmente interrumpido con oxígeno), arilo, OR<sub>5</sub>, C(O)R<sub>6</sub>, C(O)OR<sub>7</sub>, C(O)NR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub>, N<sup>+</sup>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>R<sub>14</sub>. o, tomados junto con el anillo de pirrol al que se conectan, forman un grupo cíclico; y

R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> y R<sub>14</sub> representan independientemente H o un alquilo inferior

siempre que al menos uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> sea un grupo catiónico según se define anteriormente y al menos uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> y X<sub>4</sub> sea un átomo de hidrógeno.

25 **64.** Un compuesto de la fórmula II siguiente para uso en eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos mediante un método in vivo que no supone exponer el compuesto a una fuente de luz de terapia fotodinámica o a una fuente de ultrasonido de terapia sonodinámica.



II

en donde M es un elemento metálico o un elemento metaloide

y X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub>, Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub> y Z son los que se definen en la Reivindicación 63.

30 **65.** Un compuesto para uso en eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos según la Reivindicación 63 o 64, en el cual el compuesto es seleccionado del grupo formado de:

- 5,15-bis-(4-{3-[(3-Dimetilamino-propil)-dimetil-amonio]-propil-oxi}-fenil)-dicloruro de porfirina;
- 5,15-bis-[4-(3-Trietilamonio-propiloxi)-fenil]-dicloruro de porfirina;
- 5,15-bis-[3-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-dicloruro de porfirina;
- 5,15-bis-[4-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-dicloruro de porfirina;
- 5 5-[3,5-bis-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-15- dicloruro de undecilporfirina;
- 5-{4-[3-Dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amonio-propiloxi]-fenil}-15-(4-dodeciloxi-fenil)-cloruro de porfirina;
- 3-[(3-[(3-{4-[15-(4-Dodeciloxi-fenil)-porfirin-5-il]-fenoxi)-propil]-dimetil-amonio]-propil)-dimetil-amonio)-propil]-trimetil-tricloruro de amonio;
- 5,15-bis-[3-(3-Trimetilamonio-propiloxi)-fenil]-10-undecil-dicloruro de porfirina;
- 10 5-{4-[3-Dimetil-(3-trimetilamonio-propil)-amonio-propiloxi]-fenil}15-(4-dodeciloxi-fenil)-dicloruro de porfirina
- 5-[4-(3-Dimetildecil-amonio-propiloxi)-fenil]-15-{4-[3-dimetil-(3-dimetilaminopropil)-amonio-propiloxi]-fenil}-dicloruro de porfirina; y
- formas metaladas los mismos.
- 15 **66.** Un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones 63 a 65, para uso en eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos según cualquiera de las Reivindicaciones 63 a 65, en el cual el microorganismo es seleccionado del grupo formado de bacterias, micoplasmas, levaduras, hongos y virus.
- 67.** Un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones de 63 a 65, para uso en eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos según la Reivindicación 66, en el cual los microorganismos son bacterias que son resistentes a uno o más agentes antibióticos convencionales.
- 20 **68.** Un compuesto según cualquiera de las Reivindicaciones de 63 a 65, para uso en eliminar o atenuar el crecimiento de microorganismos según cualquiera de las Reivindicaciones 63 a 67, en el cual los microorganismos están sobre una superficie foto-inaccesible o en un área foto-inaccesible.

FIGURA 1

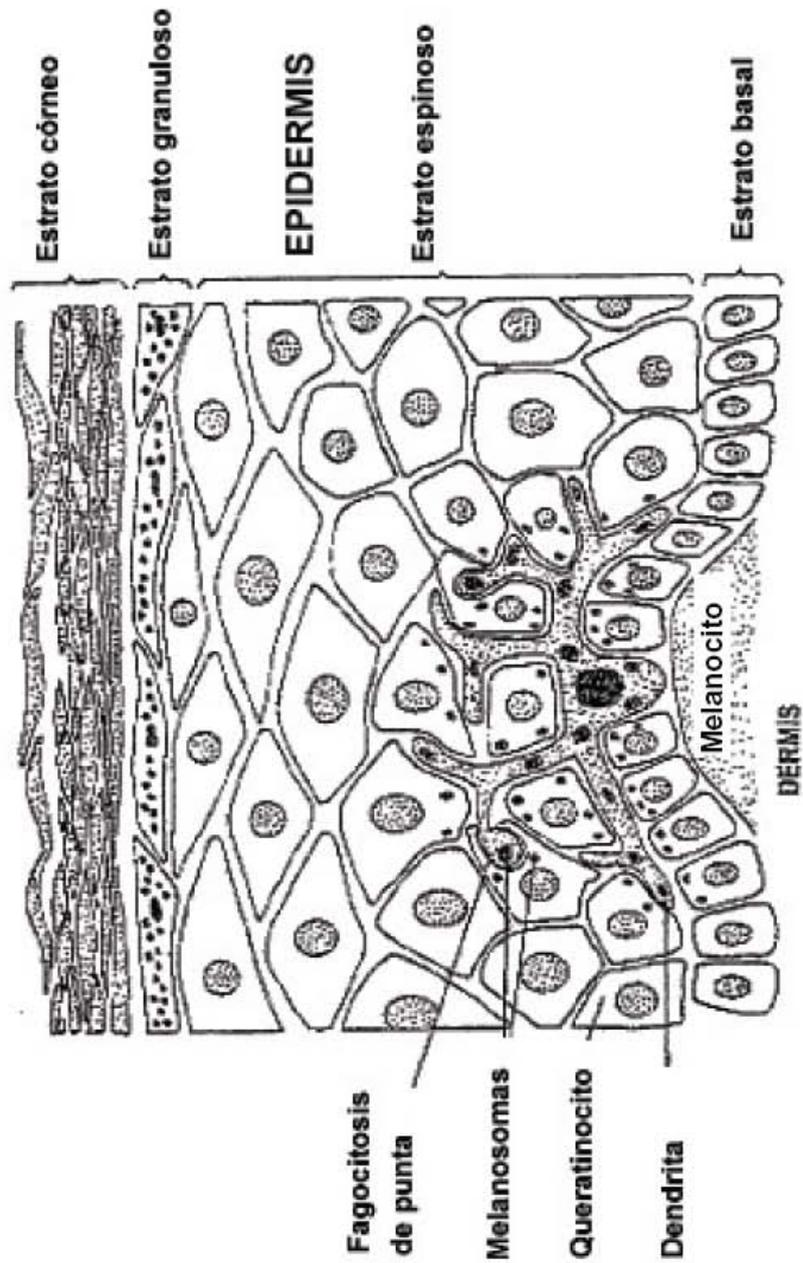


FIGURA 2

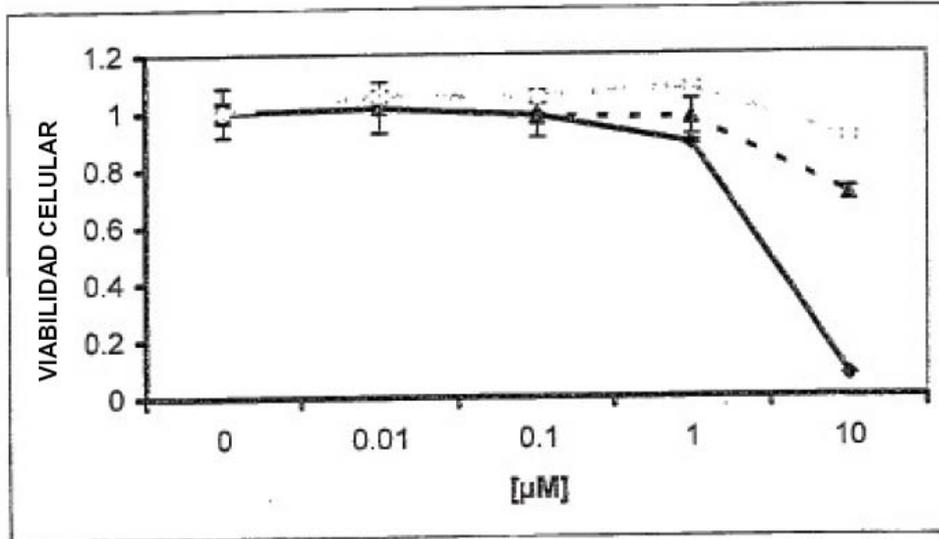


FIGURA 3

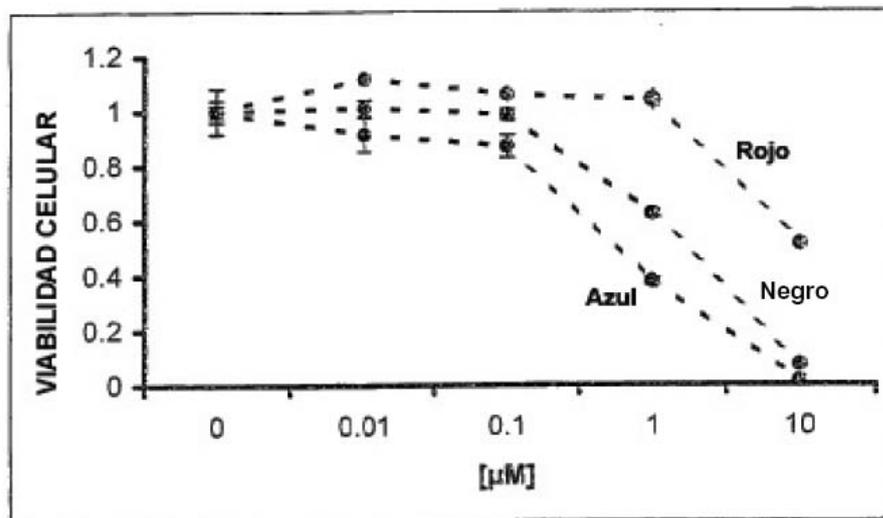


FIGURA 4(A)

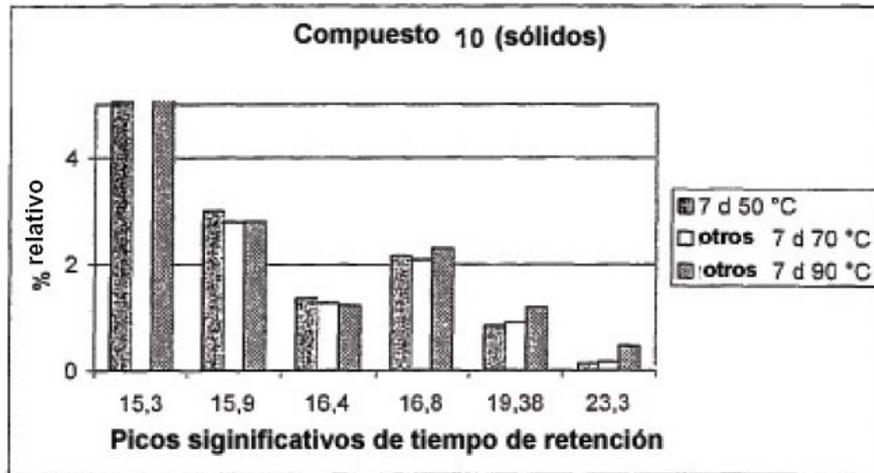


FIGURA 4(b)

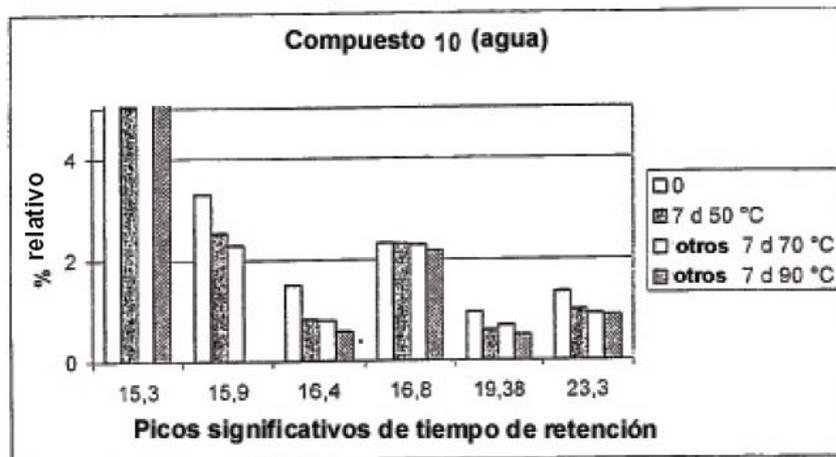


FIGURA 4(C)

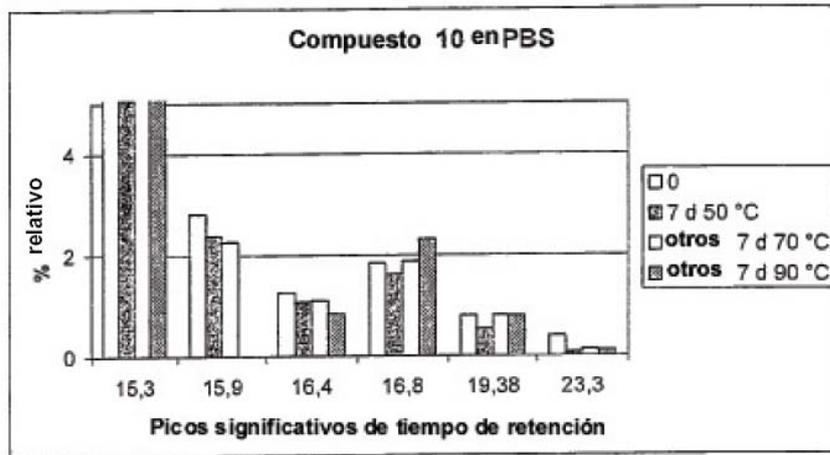


FIGURA 5

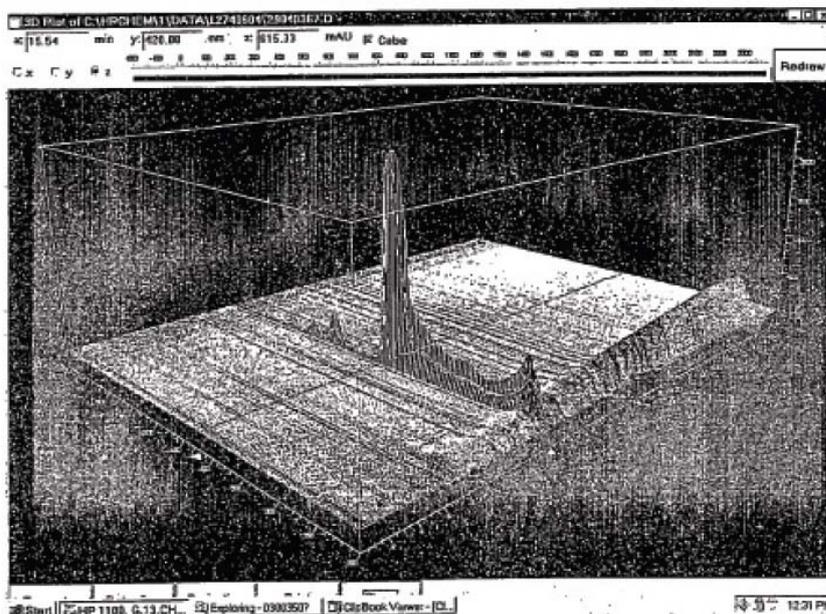


FIGURA 6(A)

### Compuesto 1

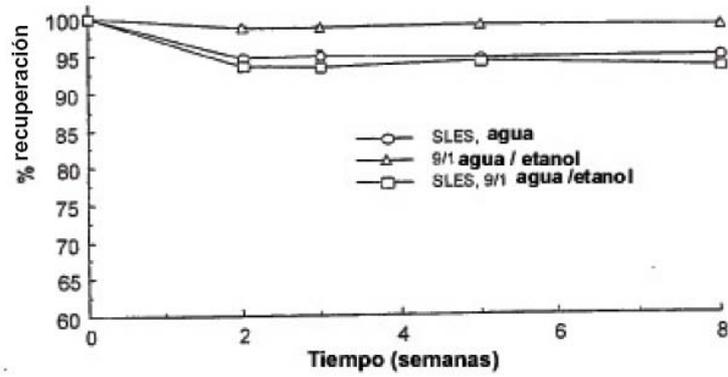


FIGURA 6(B)

### Compuesto 8

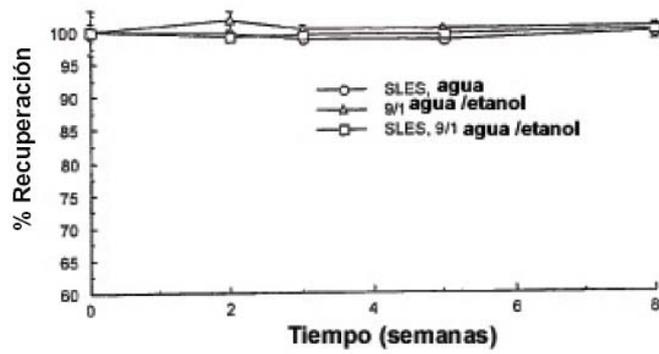


FIGURA 6(C)

### Compuesto 12

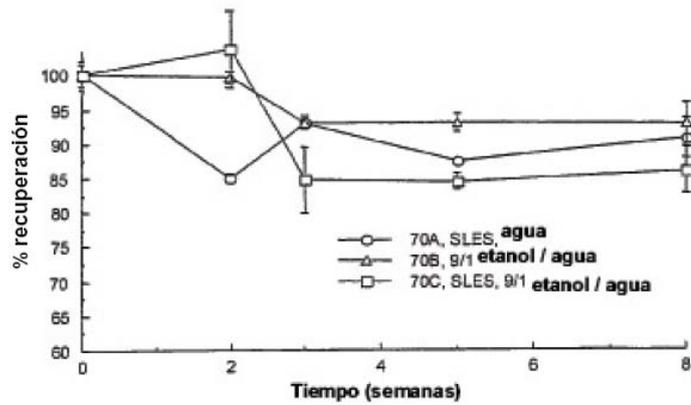


FIGURA 6(D)

### Compuesto 10

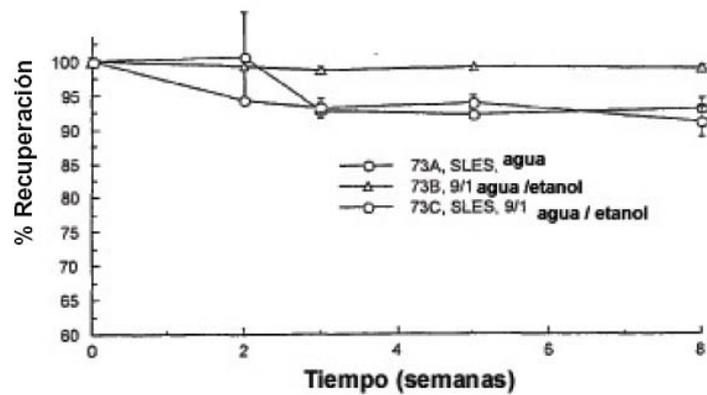


FIGURA 7(A)

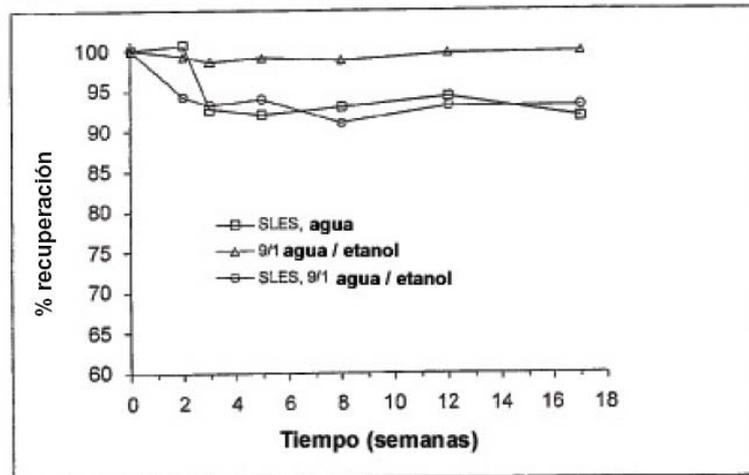


FIGURA 7(B)

