

Síntesis de un dímero fotosensible derivado de clorina-e6 trimetil éster mediante metátesis  
olefínica

Edgar Eduardo Valero Carvajal

Trabajo de Grado para Optar al Título de Químico

Director

Julio Roberto Pinzón Joya

Químico, Ph.D

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2023

### **Dedicatoria**

Al G::A::D::U:: por hacer posible este maravilloso universo.

A mi familia por todo el sustento y apoyo a lo largo de estos años.

A mis amigos Christian Mier, Dallana Toloza, Daniela Jerez, Marcela Gelves, y en especial a Maicol Avellaneda por el constante apoyo y los mejores memes y momentos de la carrera.

A todos los compañeros de carrera y maestros que con su sabiduría hicieron posible la ejecución y culminación de este trabajo de grado.

### **Agradecimientos**

A la Universidad Industrial de Santander por toda la formación, experiencias y valores que mucho me han aportado en mi vida.

A la Escuela de Química y a todos los maestros y maestras que contribuyeron en mi formación profesional quienes siempre recordaré con ferviente gratitud.

**Tabla de Contenido**

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	12
1.Objetivos .....	13
2.Síntesis de un dímero fotosensible derivado de clorina-e6 trimetil éster mediante metátesis olefínica .....	14
2.1 Marco referencial .....	14
2.1.1. Fotosensibilizadores.....	14
2.1.1.1. Primera generación de fotosensibilizadores.....	14
2.1.1.2 Segunda y tercera generación de fotosensibilizadores.....	15
2.1.2. Mecanismos fotodinámicos .....	17
2.1.2.1 Mecanismo tipo I .....	18
2.1.2.2 Mecanismo tipo II.....	19
2.1.3 Fotosensibilizadores derivados de clorofila.....	20
2.1.4 Metátesis olefínica .....	22
2.1.4.1 Mecanismo de Chauvin-Hérisson.....	24
2.1.4.2 Catalizadores tipo Grubbs a base de rutenio.....	24
3. Antecedentes .....	27
4. Diseño Metodológico.....	28
4.1 Extracción de feofitina-a a partir de espinaca.....	28
4.2 Síntesis de clorina-e6 trimetil éster a partir de feofitina-a.....	29
4.3 Reacción de metátesis olefínica asistida por radiación de microondas sobre el grupo vinilo de la clorina e6 trimetil éster .....	31

4.4 Caracterización de los pigmentos obtenidos por UV-VIS.....	32
4.5 Caracterización de los pigmentos obtenidos por espectroscopia infrarroja FT-IR.....	32
4.6 Caracterización de los pigmentos obtenidos por resonancia magnética nuclear (RMN) .....	32
4.7 Caracterización de los pigmentos obtenidos por espectrometría de masas .....	33
5. Resultados y análisis.....	33
5.1 Resultados de extracción.....	33
5.1.1 Espectro de masas de la feofitina-a.....	35
5.1.2 Espectro FT-IR de la feofitina-a .....	35
5.1.3 Espectro UV-VIS de la feofitina-a.....	37
5.2 Caracterización de la clorina-e6 trimetil éster .....	38
5.2.1 Espectro de masas de la clorina-e6 trimetil éster.....	39
5.2.2 Espectro FT-IR de la clorina-e6 trimetil éster .....	40
5.2.3 Espectro UV-VIS de la clorina e6 trimetil éster .....	42
5.2.4 Espectro RMN- <sup>1</sup> H de la clorina-e6 trimetil éster.....	42
5.3 Caracterización del producto de reacción de la metátesis olefínica .....	45
5.3.1 Espectro de masas del producto de reacción.....	47
5.3.2 Espectro UV-VIS del producto de reacción.....	47
6. Conclusiones.....	50
7. Recomendaciones .....	51
Referencias Bibliográficas.....	52

**Lista de Figuras**

<a href="#">Figura 1.</a> Estructuras moleculares de los principales macrociclos presentes en fotosensibilizadores.....	15
<a href="#">Figura 2.</a> Estructuras moleculares de algunos de los primeros agentes fotosensibilizadores con aplicaciones médicas. ....	16
<a href="#">Figura 3.</a> Diagrama de Jablonski de los procesos fotofísicos típicos en moléculas fotosensibilizadoras. ....	18
<a href="#">Figura 4.</a> Diagrama de los mecanismos fotodinámicos tipo I y tipo II.....	20
<a href="#">Figura 5.</a> Estructuras moleculares de los macrociclos tetrapirrólicos presentes en las clorofilas. ....	21
<a href="#">Figura 6.</a> Estructuras moleculares de los pigmentos clorofila-a, feofitina-a y clorina-e6 trimetil éster.....	22
<a href="#">Figura 7.</a> Mecanismo de reacción de la metátesis olefínica propuesto por Jean-Louis Hérisson & Chauvin, 1971. ....	25
<a href="#">Figura 8.</a> Estructuras moleculares de los catalizadores de metátesis tipo Grubbs.....	26
<a href="#">Figura 9.</a> Estructura molecular del pigmento trimetil éster de clorina-e6.....	30
<a href="#">Figura 10.</a> Estructura molecular del dímero de clorina-e6 trimetil éster.....	32
<a href="#">Figura 11.</a> Biomasa de espinaca antes y después de la extracción Soxhlet sólido-líquido. ....	34
<a href="#">Figura 12.</a> Espectro de masas de la feofitina-a.....	35
<a href="#">Figura 13.</a> Espectro FT-IR de la feofitina-a.....	36
<a href="#">Figura 14.</a> (a) Representación de los orbitales moleculares de Gouterman en porfirinas. (b) Niveles de energía y transiciones que ocurren en el sistema de porfirina. ....	37

<a href="#">Figura 15.</a> <i>Espectro UV-VIS de la feofitina-a.</i> .....	38
<a href="#">Figura 16.</a> <i>Esquema general de las reacciones que ocurren en la formación de la clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	39
<a href="#">Figura 17.</a> <i>Espectro de masas de la clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	40
<a href="#">Figura 18.</a> <i>Espectro FT-IR de la clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	41
<a href="#">Figura 19.</a> <i>Comparación del perfil de absorción entre la feofitina-a y la clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	42
<a href="#">Figura 20.</a> <i>Espectro RMN-<sup>1</sup>H de la clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	44
<a href="#">Figura 21.</a> <i>Esquema general de la reacción de metátesis olefínica sobre el grupo vinilo de la clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	46
<a href="#">Figura 22.</a> <i>Fracciones de la clorina-e6 trimetil éster y del dímero recuperados después de la purificación mediante cromatografía en columna.</i> .....	46
<a href="#">Figura 23.</a> <i>Espectro de masas del dímero de clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	47
<a href="#">Figura 24.</a> <i>Ubicación de las posiciones alfa, beta y meso en el macrociclo de clorina.</i> .....	48
<a href="#">Figura 25.</a> <i>Comparación del perfil de absorción entre la clorina-e6 trimetil éster y el dímero de clorina-e6 trimetil éster.</i> .....	48

**Lista de Tablas**

<a href="#">Tabla 1.</a> <i>Condiciones del ciclo de reacción de la metátesis cruzada asistida por radiación de microondas.....</i>	31
<a href="#">Tabla 2.</a> <i>Parámetros de la extracción Soxhlet de pigmentos y fracción de feofitina obtenida.....</i>	34
<a href="#">Tabla 3.</a> <i>Asignación de las señales identificadas en el espectro FT-IR de la feofitina-a. ....</i>	36
<a href="#">Tabla 4.</a> <i>Asignación de las señales identificadas en el espectro FT-IR de la clorina-e6 trimetil éster. ....</i>	41
<a href="#">Tabla 5.</a> <i>Comparación de los máximos de absorción entre clorina-e6 trimetil éster y el dímero de clorina-e6 trimetil éster. ....</i>	49

## Glosario

**Chl:** clorofila

**Chl-*e6*:** clorina-*e6* trimetil éster

**FS:** fotosensibilizador

**FT-IR:** infrarrojo con transformada de Fourier

**h:** horas

**HOMO:** orbital molecular ocupado de mayor energía

**J:** constante de acoplamiento a n enlaces

**LUMO:** orbital molecular no ocupado de menor energía

**MALDI:** ionización/desorción láser asistida por matriz

**nm:** nanómetro

**Phe:** feofitina

**Phy:** fitol

**RMN:** resonancia magnética nuclear

**ROS:** especies reactivas de oxígeno

**TFD:** terapia fotodinámica

**UV-VIS:** ultravioleta visible

**δ:** desplazamiento químico en partes por millón

**°C:** grados centígrados

## Resumen

**Título:** Síntesis de un dímero fotosensible derivado de clorina-*e6* trimetil éster mediante metátesis olefínica\*

**Autor:** Edgar Eduardo Valero Carvajal\*\*

**Palabras Clave:** Metátesis olefínica, Clorofila, Feofitina-*a*, Clorina-*e6* trimetil éster, Fotosensibilizador.

**Descripción:** Uno de los aspectos más importantes de la ciencia es la búsqueda de soluciones a problemáticas actuales. Hoy en día, por ejemplo, se discuten desafíos ambientales, medicinales y de generación de energía que pueden ser afrontados desde la química como ciencia central. Gracias al desarrollo de compuestos con propiedades fotoquímicas como los fotosensibilizadores (FS), se ha conseguido degradar contaminantes ambientales mediante reacciones de fotooxidación catalítica, también se han utilizado ampliamente en técnicas de diagnóstico y tratamiento de enfermedades como la terapia fotodinámica e incluso en paneles de generación de energía debido a su capacidad para almacenar y transmitir energía que reciben directamente del sol. El presente trabajo de investigación se centra en la síntesis de un dímero fotosensible derivado de clorofila mediante metátesis olefínica. La reacción de metátesis olefínica permite la formación de enlaces dobles carbono-carbono en presencia de un catalizador. En este caso, se utilizó un catalizador tipo Grubbs de segunda generación para llevar a cabo la reacción. Los compuestos obtenidos se analizaron mediante técnicas de caracterización, como espectroscopía UV-VIS, espectroscopía FT-IR y espectrometría de masas. Los resultados obtenidos indican que el dímero de clorina-*e6* trimetil éster presenta propiedades fotofísicas interesantes, como una alta absorción en el rango visible y podría ser evaluado en aplicaciones prácticas como fotosensibilizador.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Julio Roberto Pinzón Joya, PhD en Química.

### Abstract

**Title:** Synthesis of a photosensitive dimer derived from chlorin-*e6* trimethyl ester by olefinic metathesis\*

**Author(s):** Edgar Eduardo Valero Carvajal\*\*

**Key Words:** Olefin metathesis, Chlorophyll, Pheophytin-*a*, Chlorin-*e6* trimethyl ester, Photosensitizer

**Description:** One of the most important aspects of science is the search for solutions to current problems. Nowadays, for example, environmental, medicinal and energy generation challenges are being discussed that can be addressed by chemistry as a central science. Thanks to the development of compounds with photochemical properties such as photosensitizers (PS), it has been possible to degrade environmental pollutants by catalytic photooxidation reactions, they have also been widely used in diagnostic techniques and treatment of diseases such as photodynamic therapy and even in power generation panels due to their ability to store and transmit energy received directly from the sun. The present research work focuses on the synthesis of a photosensitive dimer derived from chlorophyll by olefin metathesis. The olefin metathesis reaction allows the formation of carbon-carbon double bonds in the presence of a catalyst. In this case, a second-generation Grubbs-type catalyst was used to carry out the reaction. The compounds obtained were analyzed by characterization techniques such as UV-VIS spectroscopy, FT-IR spectroscopy and mass spectrometry. The results obtained indicate that the chlorin-*e6* trimethyl ester dimer presents interesting photophysical properties, such as high absorption in the visible range and could be evaluated in practical applications as a photosensitizer.

---

\* Degree Work

\*\* Faculty of sciences. School of chemistry. Director: Julio Roberto Pinzón Joya, PhD in Chemistry.

## Introducción

Un fotosensibilizador es un compuesto sensible a la luz. Etimológicamente proviene de dos raíces: “foto”, del griego, que significa luz, y “sensus”, voz latina, que significa sentir. En los eventos fotodinámicos, además del fotosensibilizador y la luz, participa el oxígeno molecular como fuente de oxígeno singlete (fotosensibilización tipo II) y de especies reactivas de oxígeno, ROS, (fotosensibilización tipo I) (Dumoulin, 2012). Actualmente existen problemas ambientales, medicinales y de generación de energía que buscan solución en las moléculas con propiedades fotodinámicas. Por ejemplo, la degradación fotocatalítica de contaminantes ambientales empleando ftalocianinas (Sorokin, 2012), el uso de derivados de clorofila en el tratamiento de tumores (Ocakoglu et al., 2015) o la generación de energía solar empleando sensibilizadores orgánicos (Hosseinnezhad et al., 2020).

En las plantas verdes, algas y cianobacterias se lleva a cabo el proceso de fotosíntesis en donde la energía de la radiación solar se convierte en energía química que utiliza el organismo para realizar reacciones bioquímicas las cuales de otro modo no podrían ocurrir espontáneamente. En este proceso son cruciales las clorofilas por sus funciones como fotoaceptores primarios, agentes de almacenamiento y transferencia de energía (Wolstenholme & FitzSimons, 1979). Las clorofilas son una fuente importante de fotosensibilizadores debido a que poseen en su estructura molecular un anillo de tetrapirrol, un sistema conjugado de electrones  $\pi$ , que les permite absorber radiación visible debido a transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ . En solventes orgánicos presentan dos bandas de absorción, típicas de estos pigmentos, la banda Q en la región de 540-850 nm y la banda B o Soret de 300-475 nm (Ameen et al., 2022). En este trabajo de investigación, se realizó la reacción de metátesis olefínica empleando un catalizador de Grubbs de segunda generación para obtener un fotosensibilizador derivado de clorofila.

## 1. Objetivos

### *Objetivo general*

Emplear la reacción de metátesis olefínica catalizada por el complejo de Grubbs de segunda generación para la obtención de un compuesto con potencial actividad fotodinámica a partir de la feofitina-*a* aislada de la especie *Spinacia oleracea*.

### *Objetivos específicos*

Obtener el precursor clorina-*e6* trimetil éster a partir de la feofitina-*a* aislada de la *Spinacia oleracea*.

Realizar la reacción de metátesis olefínica catalizada con el complejo de Grubbs de segunda generación sobre la clorina-*e6* trimetil éster.

Analizar los productos de reacción obtenidos mediante técnicas analíticas como espectroscopía UV-VIS, FT-IR, espectrometría de masas MS, y resonancia magnética nuclear RMN.

## **2. Síntesis de un dímero fotosensible derivado de clorina-e6 trimetil éster mediante metátesis olefínica**

### ***2.1 Marco referencial***

#### ***2.1.1. Fotosensibilizadores***

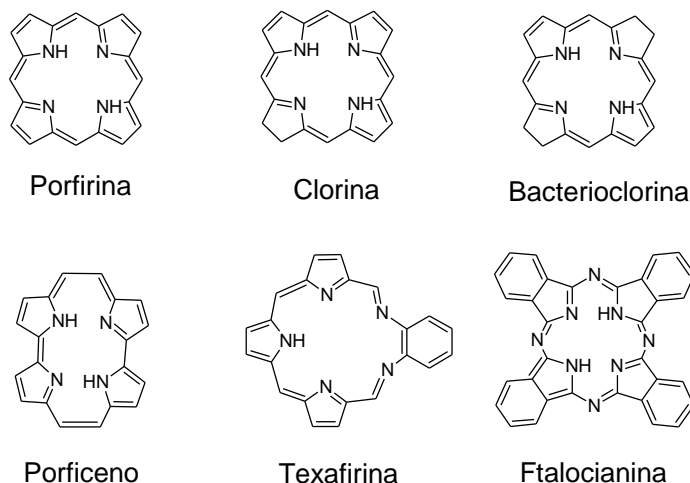
Los fotosensibilizadores (FS) más representativos se basan en estructuras tetrapirrólicas, la mayoría consisten en derivados de porfirinas, ftalocianinas, clorinas, bacterioclorinas y otros derivados tetrapirrólicos relacionados, como los porfíricos y las texafirinas (Dumoulin, 2012). Aunque los FS poseen un amplio campo de aplicaciones se han desarrollado principalmente para ser aplicados en terapia fotodinámica (TFD) siendo parte de los pilares fundamentales de esta técnica junto con la presencia de oxígeno y luz. En este contexto cumplen una función crucial debido a que absorben radiación a una longitud de onda específica y utilizan parte de esa energía para activar reacciones fotoquímicas que inducen la muerte celular en tumores cancerígenos (Kwiatkowski et al., 2018).

##### ***2.1.1.1. Primera generación de fotosensibilizadores***

La primera descripción de los efectos de los FS en células se atribuye a los experimentos de Oscar Raab en donde se irradiaron, con luz visible, células de protozoos tratadas con pigmentos de acridina observándose que emitían fluorescencia y posteriormente morían. Este fenómeno fue definido en 1904 por Von Tappeiner, profesor de Oscar Raab, como efecto fotodinámico (Allison & Sibata, 2010). Décadas después, en los 1970s, se introdujo el primer FS a escala comercial, una mezcla de porfirinas solubles en agua, que recibió el nombre de derivado de hematoporfirina (HpD) (Gomer Charles J. & Dougherty Thomas J., 1979).

**Figura 1**

*Estructuras moleculares de los principales macrociclos presentes en fotosensibilizadores.*



*Nota.* Se observan las estructuras moleculares de los macrociclos de porfirina, clorina, bacterioclorina, porfíceno, texafirina y ftalocianina. Adaptado de Dumoulin, F. (2012). Design and Conception of Photosensitisers. En V. Nyokong Tebello and Ahsen (Ed.), *Photosensitizers in Medicine, Environment, and Security* (pp. 1–46).

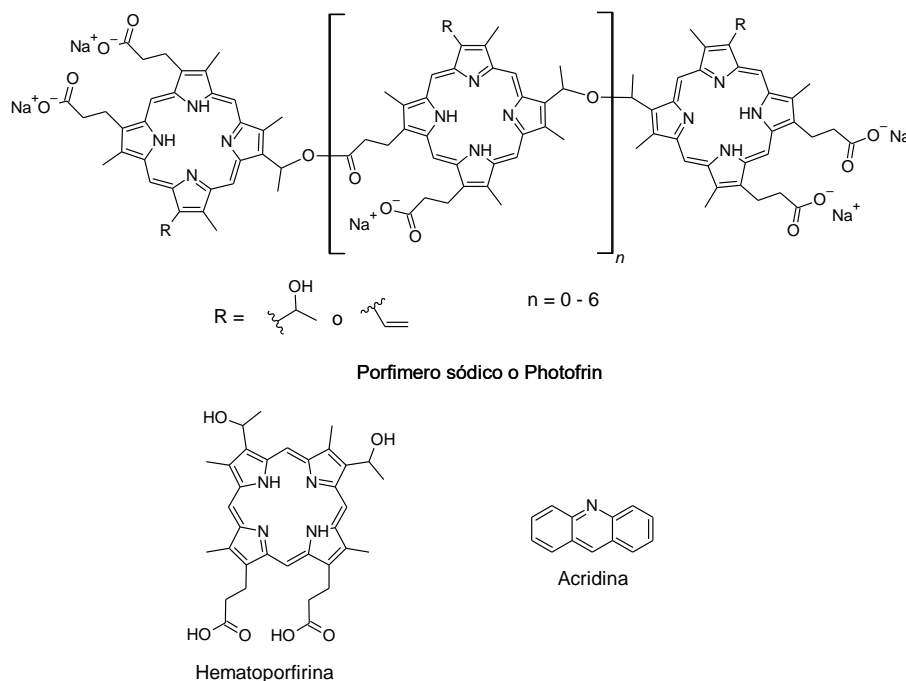
Posteriormente, a partir del HpD se aisló una mezcla de dímeros y oligómeros de porfirina actualmente registrados bajo el nombre comercial “Photofrin” también conocido como porfímero sódico (Figura 2). A pesar del éxito en el tratamiento de tumores, los primeros FS presentan limitaciones clínicas debido a su baja pureza química, baja penetrabilidad en los tejidos e hipersensibilidad a la luz en la piel como consecuencia de la alta acumulación de FS en el tejido epitelial y largos tiempos de vida media (Kwiatkowski et al., 2018).

### ***2.1.1.2 Segunda y tercera generación de fotosensibilizadores***

A partir de los 1980s se empezaron a evaluar nuevos compuestos para ser aplicados en TFD dentro de los cuales se incluyen: el ácido 5-aminolevulínico (ALA), y derivados de benzoporfirina, texafirina, tiopurina, clorina, bacterioclorina y ftalocianinas (Yoon Il Li Jia Zhu, 2013).

**Figura 2**

*Estructuras moleculares de algunos de los primeros agentes fotosensibilizadores con aplicaciones médicas.*



*Nota.* Se observan las estructuras moleculares del porfímero sódico, hematoporfirina y acridina, compuestos que son clasificados como fotosensibilizadores de primera generación. Adaptado de Kwiatkowski, S., Knap, B., Przystupski, D., Saczko, J., Kędzierska, E., Knap-Czop, K., Kotlińska, J., Michel, O., Kotowski, K., & Kulbacka, J. (2018). Photodynamic therapy mechanisms, photosensitizers and combinations. En *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 106, pp. 1098–1107).

Las ventajas de este grupo de FS son su pureza química, el alto rendimiento cuántico de oxígeno singlete, la capacidad de mayor penetrabilidad en tejidos profundos gracias a que pueden absorber radiación en el rango de 650-800 nm, mayor selectividad hacia tejidos cancerígenos y menor tiempo de residencia en el cuerpo lo cual disminuye los efectos secundarios del tratamiento. Por otro lado, una desventaja importante es la baja solubilidad en agua ya que limita la administración intravenosa del medicamento; este problema ha estimulado el desarrollo de una tercera generación de FS que se enfoca en sistemas de transporte que logren aumentar la afinidad

hacia tejidos tumorales y reducir el daño a tejidos sanos circundantes (Nowak-Stepniowska Agata. et al., 2013).

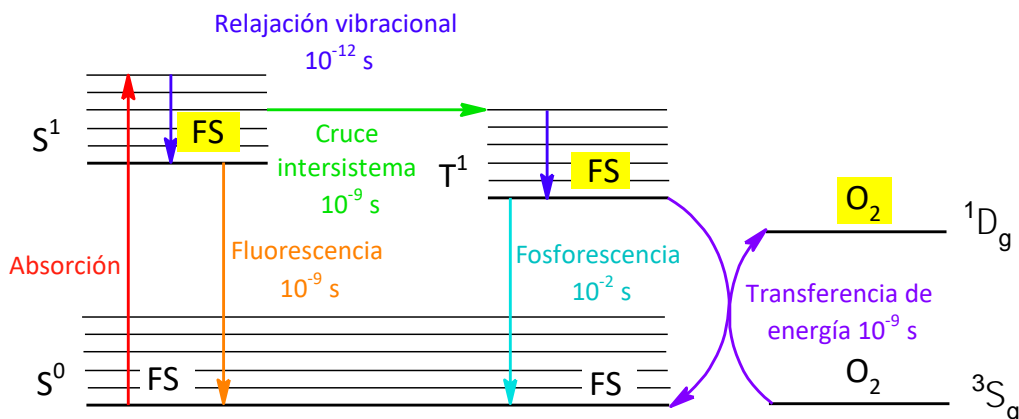
### ***2.1.2. Mecanismos fotodinámicos***

Los procesos de absorción de luz y transferencia de energía se basan en la interacción que ocurre entre el fotosensibilizador, el oxígeno molecular, y la luz a una longitud de onda específica. En principio los tres elementos son inocuos de manera individual y solo cuando interactúan pueden desencadenar reacciones oxidativas que inducen el daño celular en el tejido donde se encuentren. En general, se han descrito dos mecanismos principales para las reacciones fotodinámicas; ambas rutas tienen en común la etapa inicial del proceso fotodinámico y la dependencia de oxígeno molecular (Kwiatkowski et al., 2018).

Una vez que el FS se encuentra ubicado al interior de la célula es irradiado con una longitud de onda que coincide con el perfil de absorción del FS. Como consecuencia de la absorción de energía el FS realiza una transición del estado singlete basal al primer estado singlete excitado ( $S^0 \rightarrow S^1$ ). Esta especie tiene un tiempo de vida media relativamente corto ( $10^{-9}$  s), por lo tanto, la energía absorbida puede ser irradiada en forma de luz mediante fluorescencia o por conversión interna en forma de calor (Castano et al., 2004). Además de los procesos anteriores, el FS en el primer estado singlete excitado puede realizar un cruce intersistema invirtiendo el espín del electrón excitado para llegar al primer estado triplete excitado ( $S^1 \rightarrow T^1$ ) una especie con mayor tiempo de vida media ( $10^{-6}$  s) y cuyos electrones poseen espines paralelos (Robertson CA. et al., 2009).

**Figura 3**

Diagrama de Jablonski de los procesos fotofísicos típicos en moléculas fotosensibilizadoras.



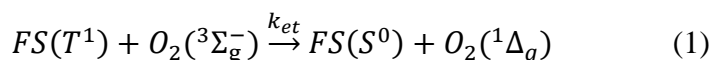
*Nota.* El diagrama de Jablonski muestra los procesos más relevantes que se dan en la formación del FS excitado y la transferencia de energía hacia el oxígeno molecular. Los tiempos dados son promedios encontrados en la literatura y pueden desviarse dependiendo del sistema. Adaptado de Castano, A. P., Demidova, T. N., & Hamblin, M. R. (2004). Mechanisms in photodynamic therapy: Part one Photosensitizers, photochemistry and cellular localization. En *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (Vol. 1, Número 4, pp. 279–293).

### 2.1.2.1 Mecanismo tipo I

En el mecanismo tipo I el FS en estado triplete excitado puede reaccionar directamente con un sustrato orgánico (p. ej. fosfolípidos, carbohidratos o proteínas) transfiriendo un protón o un electrón y formando un anión radical o un catión radical, respectivamente. Sin embargo, es más frecuente la formación del anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) mediante la transferencia de electrón (reducción monovalente) desde el FS excitado hacia el oxígeno molecular. Esta especie participa en otras reacciones seculares como reacciones de dismutación o desproporción catalizada por la enzima superóxido dismutasa (EC. 1.15.1.1) donde se forma peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). También actúa como agente reductor reduciendo iones metálicos como el ion férrico ( $Fe^{3+}$ ) a ion ferroso ( $Fe^{2+}$ ), este último ion cataliza la reacción Fenton que utiliza el peróxido de hidrógeno para generar aniones hidroxilo ( $OH^-$ ) y radicales hidroxilos ( $OH^{\cdot}$ ) (Castano et al., 2004).

### 2.1.2.2 Mecanismo tipo II

En el mecanismo tipo II el oxígeno molecular, que se encuentra inicialmente en el estado basal triplete, interacciona con el FS en el estado triplete excitado a través de una transferencia de energía tipo Dexter (Schweitzer & Schmidt, 2003) donde se forma el oxígeno singlete y se regenera el FS:

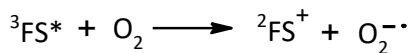


El oxígeno molecular posee en realidad dos estados excitados singlete ( $^1\Delta_g$ , 95 kJ/mol y  $^1\Sigma_g^+$ , 158 kJ/mol) por encima del estado basal triplete ( $^3\Sigma_g^-$ ). La transición desde el primer estado excitado  $^1\Delta_g$  hacia el estado basal  $^3\Sigma_g^-$  es de espín prohibido, por lo cual, el oxígeno  $^1\Delta_g$  es una especie con un tiempo de vida media relativamente largo. Por otra parte, el tiempo de vida media del segundo estado excitado  $^1\Sigma_g^+$  es mucho más corto debido a que la transición hacia el primer estado excitado  $^1\Delta_g$  está permitido por el espín (Derosa & Crutchley, 2002).

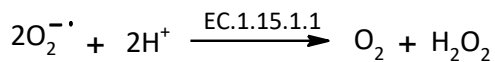
Una vez formado el oxígeno  $^1\Delta_g$  se puede utilizar con diferentes propósitos como en la oxidación de sustratos que no reaccionan con el oxígeno en estado basal, puesto que el estado singlete es más electrofílico y reacciona con enlaces C-C saturados, sulfuros, aminas y aniones (Clennan, 2000), también se utiliza como dienófilo en reacciones de cicloadición [4+2] con dienos conjugados de manera similar a las reacciones Diels-Alder y reacciona con olefinas con dos o más grupos alílicos causando un corrimiento de doble enlace y formando hidroperóxidos alílicos (Rawls & Van Santen, 1970).

**Figura 4**

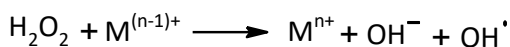
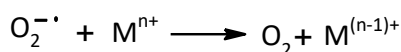
Diagrama de los mecanismos fotodinámicos tipo I y tipo II

**Mecanismo tipo I**

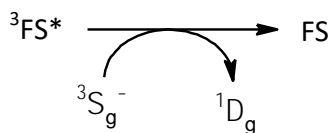
Reducción monovalente



Dismutación de superóxido



Reacción Fenton

**Mecanismo tipo II****Estados electrónicos del oxígeno molecular**

Estado	Orbital	Energía (kJ/mol)
${}^1\text{S}_g^+$	$\uparrow \downarrow$ p*	158
${}^1\text{D}_g$	$\uparrow \downarrow$ p*	95
${}^3\text{S}_g^-$	$\uparrow \uparrow$ p*	0

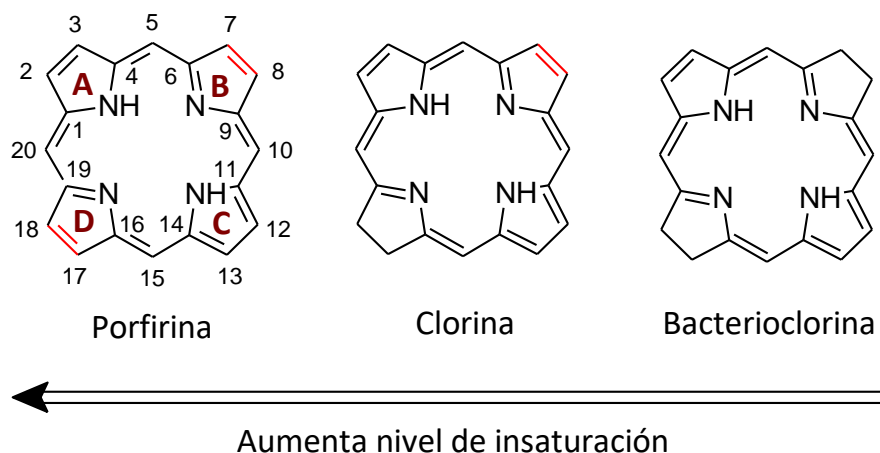
*Nota.* Se observa en la parte izquierda el esquema de reacción del mecanismo tipo I donde se forman especies reactivas de oxígeno como peróxido de hidrógeno, radicales libres y aniones superóxido. En la parte derecha (mecanismo tipo II) se muestra de manera general la formación del oxígeno singlete junto con los diferentes estados electrónicos del oxígeno molecular. Adaptado de Derosa, M. C., & Crutchley, R. J. (2002). *Photosensitized singlet oxygen and its applications*. [www.elsevier.com/locate/ccr](http://www.elsevier.com/locate/ccr).

**2.1.3 Fotosensibilizadores derivados de clorofila**

Las clorofilas (Chls) son un grupo de pigmentos formados estructuralmente por un macrociclo tetrapirrólico que según el nivel de insaturación se denomina porfirina, clorina o bacterioclorina (Figura 5). Se caracterizan por la presencia de un quinto anillo isocíclico, un alcohol diterpénico esterificado en la posición C17<sup>3</sup> llamado fitol (Phy) y un átomo de Mg coordinado al centro del macrociclo.

**Figura 5**

Estructuras moleculares de los macrociclos tetrapirrólicos presentes en las clorofilas.

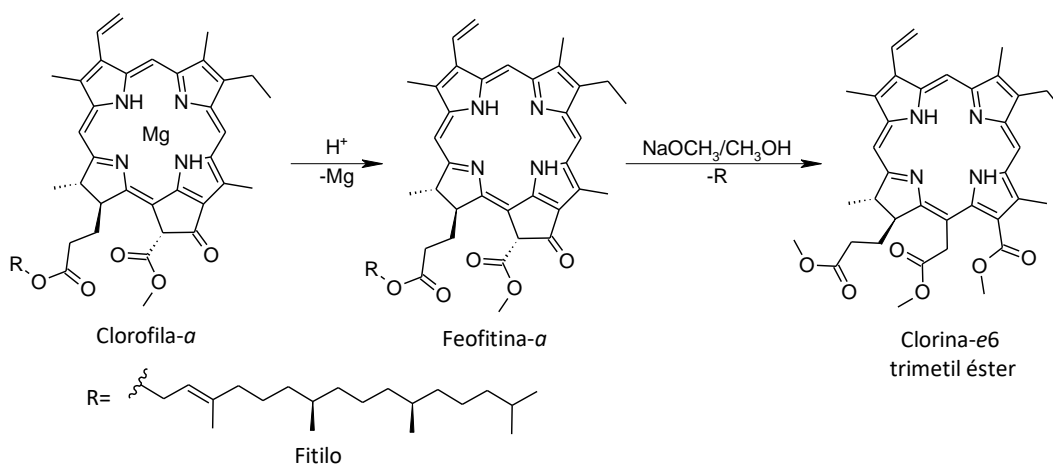


*Nota.* Se observan los macrociclos conjugados responsables del perfil de absorción típico de las clorofilas. Adaptado de Yoon Il Li Jia Zhu, S. Y. K. (2013). Advance in Photosensitizers and Light Delivery for Photodynamic Therapy. *Clin Endosc*, 46(1), 7–23.

La Chl-*a* es una dihidroporfirina que puede ser extraída y purificada con un alto rendimiento a partir de la mayoría de plantas y algas. Cuenta con un coeficiente de extinción molar alto a 660 nm ( $\epsilon \sim 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) y es un buen productor de oxígeno singlete (Krasnovsky et al., 1990). Al ser insoluble en agua y bastante inestable no cumple los requerimientos farmacéuticos para ser aplicada directamente, no obstante, constituye una fuente de nuevos compuestos con propiedades fotoquímicas potencialmente aplicables. Estos derivados deben contener el sistema conjugado de electrones  $\pi$  responsable del perfil de absorción de estos pigmentos, por lo tanto, las modificaciones más comunes ocurren sobre los sustituyentes periféricos, como el grupo vinilo en la posición C3 o el carbonilo de la posición C13<sup>1</sup> y también la incorporación de metales (Brandis Alexander S. and Salomon, 2006).

**Figura 6**

Estructuras moleculares de los pigmentos clorofila-*a*, feofitina-*a* y clorina-*e6* trimetil éster.



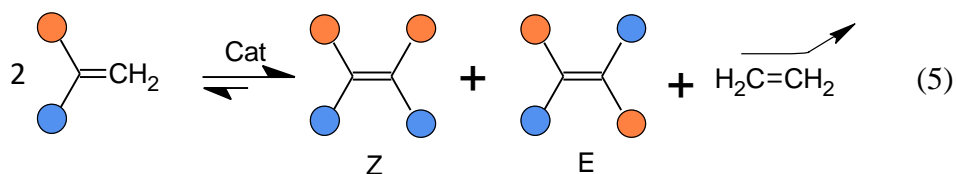
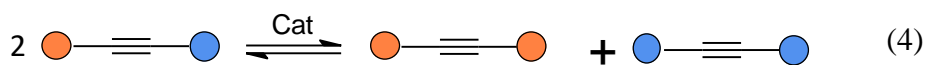
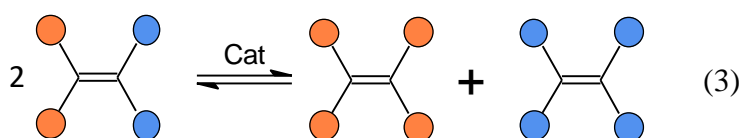
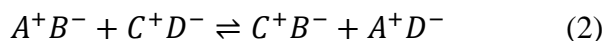
*Nota.* Se observa en general la obtención de la feofitina-*a* como derivado estable de la clorofila-*a* y su posterior modificación química para obtener el trimetil éster de clorina *e6*. Adaptado de Kadish Karl, Smith Kevin M., & Guilard Roger. (2000). *The Porphyrin Handbook Volume 1. 1*, 38–40.

La feofitina-*a* (Phe-*a*) es una base libre que se obtiene fácilmente como producto de la demetalación de la Chl-*a* en medios ligeramente ácidos. Posee mayor estabilidad en comparación con la clorofila y es la forma más común de almacenar esta clase de pigmentos para su posterior modificación (Figura 6). A partir de la Phe-*a* se puede obtener la clorina-*e6* (Chl-*e6*) en forma de trimetil éster a través de la reacción de alcoholisis alcalina utilizando sodio metálico y metanol (Kadish Karl et al., 2000). La Chl-*e6* y sus diferentes análogos poseen propiedades destacables debido a que tienen un máximo de absorción alrededor de los 650 nm, un rendimiento cuántico de oxígeno singlete de ca. 0,5 y una alta capacidad de acumulación en tejidos tumorales.

#### 2.1.4 Metátesis olefínica

Etimológicamente la palabra metátesis proviene del griego y significa transposición, por lo tanto, se habla de metátesis cuando, por ejemplo, se intercambian iones en una solución que

contiene dos pares iónicos con el objetivo de formar los pares iónicos más estables (2), análogamente, dos carbenos diferentes de una olefina pueden intercambiarse para formar una recombinación que conduce a dos olefinas simétricas (3) igualmente dos carbinos de un alquino se pueden intercambiar para formar dos alquinos simétricos (4) (Astruc, 2005).



Cronológicamente, en 1931 se reportó la observación de la metátesis de propeno reaccionando a una temperatura ca. 725 °C en donde se obtiene 2-buteno y etileno como productos, posteriormente, en la década de los 50s los laboratorios de Du Pont, Standard Oil y Phillips Petroleum realizan las primeras reacciones catalizadas de metátesis de propeno empleando molibdeno (Mo) o tungsteno (W) como catalizadores (Eleuterio, 1991). Las reacciones de metátesis generalmente ocurren bajo control termodinámico, es decir, tienden a formar un equilibrio lo cual, en ocasiones, puede representar un inconveniente limitando el rendimiento de la reacción. Sin embargo, una manera de superar este problema y obtener productos con un alto rendimiento es emplear alquenos o alquinos terminales, de esta manera la formación de etileno o

acetileno como subproductos volátiles desplazan el equilibrio de la reacción hacia la formación de productos (5) (Astruc, 2005).

#### ***2.1.4.1 Mecanismo de Chauvin-Hérisson***

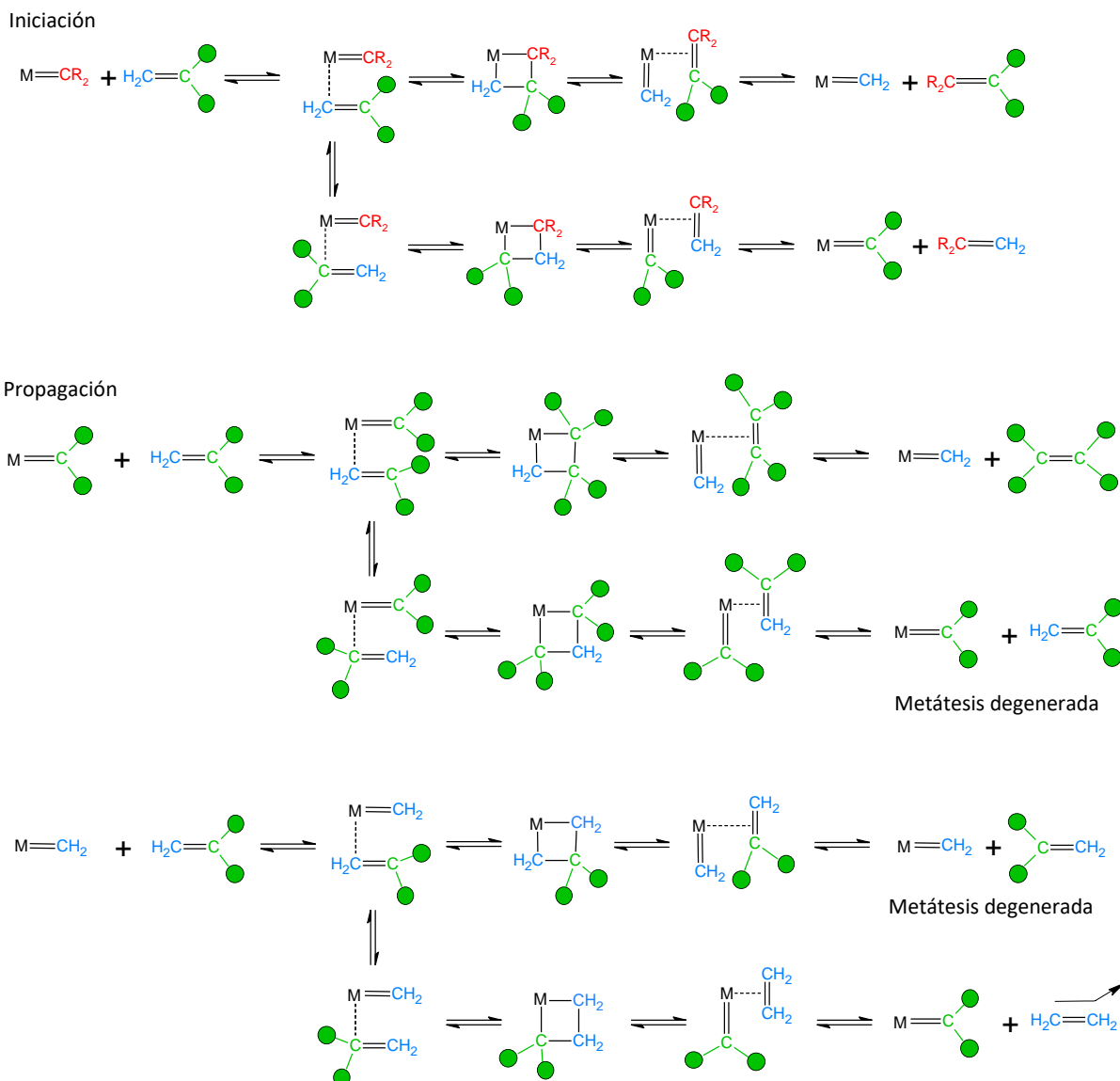
El mecanismo más reconocido y aceptado actualmente fue propuesto por Yves Chauvin y Jean-Louis Hérisson, del Institut Français du Pétrole en 1971 (Jean-Louis Hérisson & Chauvin, 1971). Este mecanismo involucra especies de metal-alquilideno o metal-carbeno que se coordinan con olefinas y, posteriormente, mediante una cicloadición [2+2] forman un intermediario de metalociclobutano en donde ocurre el intercambio de carbenos, luego, tras una retrocicloadición [2+2] se obtiene una nueva olefina, que contiene un carbeno del catalizador y otro de la olefina inicial, y un nuevo metal-alquilideno que contiene uno de los carbenos de la olefina inicial y puede volver a coordinarse con otra olefina en otro ciclo catalítico. Además, dependiendo de la orientación de la olefina coordinada, en el nuevo ciclo catalítico se pueden obtener dos metalociclobutanos diferentes, uno de ellos conduce a la formación de la olefina original (metátesis degenerada) y el otro conduce a la olefina simétrica (Astruc, 2005).

#### ***2.1.4.2 Catalizadores tipo Grubbs a base de rutenio***

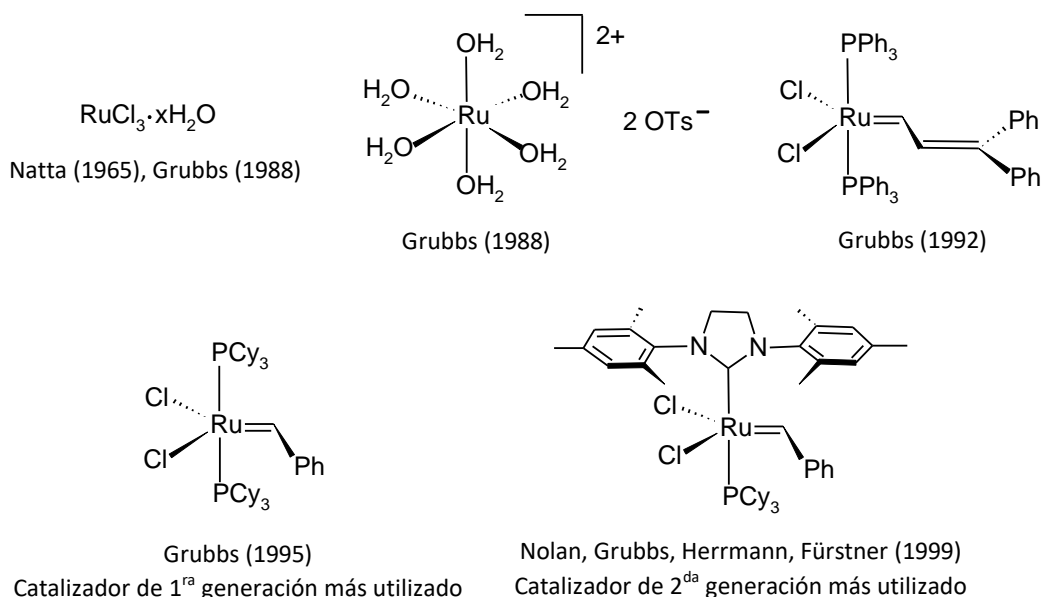
Entre mediados de la década de 1950 y principios de 1980 todas las reacciones de metátesis de olefinas se habían realizado utilizando sistemas multicomponentes de catalizadores homogéneos y heterogéneos poco caracterizados. Estos sistemas consistían en sales de metales de transición que se depositaban en soportes sólidos o se mezclaban con agentes alquilantes, algunos de estos sistemas clásicos son  $WCl_6/Bu_4Sn$ ,  $WOCl_4/EtAlCl_2$ ,  $MoO_3/SiO_2$  y  $Re_2O_7/Al_2O_3$  (Ivin & Mol, 1997).

**Figura 7**

Mecanismo de reacción de la metátesis olefínica propuesto por Jean-Louis Hérisson & Chauvin, 1971.



*Nota.* El mecanismo propuesto por Hérisson y Chauvin posee dos etapas generales, una de iniciación en donde se forma el catalizador activo y otra de propagación en donde se forman los productos de reacción. Adaptado de Astruc, D. (2005). The metathesis reactions: from a historical perspective to recent developments. *New J. Chem.*, 29(1), 42–56.

**Figura 8***Estructuras moleculares de los catalizadores de metátesis tipo Grubbs*

*Nota.* Los catalizadores derivados de rutenio son estables en presencia de aire y compatibles con la mayoría de grupos funcionales. Entre ellos, el catalizador de segunda generación destaca por sus aplicaciones en polimerización por apertura de anillo y metátesis cruzada de olefinas. Adaptado de Astruc, D. (2005). The metathesis reactions: from a historical perspective to recent developments. *New J. Chem.*, 29(1), 42–56.

Las condiciones extremas y los ácidos de Lewis que necesitaban estos sistemas para funcionar los hacían incompatibles con la mayoría de los grupos funcionales y, por lo tanto, restringían su utilidad. Además, las combinaciones de catalizadores producían relativamente pocas especies activas haciendo que las reacciones fueran difíciles de iniciar y controlar.

En particular, el progreso de los catalizadores a base de rutenio desde sales simples hasta complejos de alquilideno finamente adaptados ha sido ejemplar. La amplia gama de aplicaciones posibles en la actualidad y la sencillez con la que pueden utilizarse los catalizadores tipo  $\text{L}_2\text{X}_2\text{Ru}=\text{CHR}$  (Figura 8) han hecho que la metátesis de olefinas se convierta en una técnica sintética de uso generalizado empezando a competir con técnicas más convencionales de

formación de enlaces carbono-carbono, como las reacciones de Diels-Alder y Wittig (Trnka & Grubbs, 2001).

### 3. Antecedentes

Desde un enfoque cronológico e histórico la fototerapia data de periodos antiguos concernientes a culturas egipcias, griegas y asiáticas (Daniell & Hill, 1991). Luego, durante varios siglos, permanece rezagada hasta que se recobra interés en el tema a comienzos del siglo XX gracias al trabajo sobre el tratamiento de la viruela de Niels Finsen (Finsen, 1903) y los aportes de los alemanes Oscar Raab y Herman von Tappeiner (Hönigsmann, 2013). Oscar Raab, estudiante de H. von Tappeiner, investigando los efectos tóxicos de la acridina en paramecios observó, de manera serendípica, que la luz tenía un papel importante en la efectividad del compuesto. Debido a este fenómeno H. von Tappeiner introdujo el término “acción fotodinámica” e investigó la eficacia de la TFD en tumores y enfermedades de la piel utilizando pigmentos como eosina y fluoresceína obteniendo resultados favorables (Dougherty et al., 1998).

El avance más importante en las primeras etapas de la TFD fue el desarrollo de la hematoporfirina, una mezcla de porfirinas e impurezas, que obtuvo Seherer, 1841 al separar el hierro de la sangre seca usando ácido sulfúrico. En adelante, durante las siguientes décadas se estudiaron las propiedades de la Hp en paramecios, eritrocitos, ratones, cerdos de guinea, y humanos después de la exposición a luz solar (Szeimies et al., 2001). Posteriormente, los experimentos realizados por Figge, 1945 mostraron la afinidad de las porfirinas hacia células malignas y de división rápida; así tanto la Hp como sus derivados (HpD) fueron importantes en las etapas subsecuentes de la TFD. Luego, investigaciones como las de Gomaa et al., 2012 evaluaron la eficacia de los derivados de clorofila concluyendo que son candidatos óptimos para

la mitigación de células cancerígenas dado que su alta selectividad hacia tejidos tumorales permite la protección de tejidos sanos y además han demostrado ser no-mutagénicos.

En cuanto al desarrollo de FS más modernos se destaca la síntesis de dímeros de clorina por parte de Jaquinod et al., 1996 mediante reacciones de acoplamiento McMurry partiendo de formilclorinas, también se documenta la termólisis de bishidroxibacterioclorinas realizada por Li et al., 2003. Además, Liu et al., 2008 utilizan la reacción de metátesis cruzada (MC) para modificar sustratos de vinilclorina y vinilporfirina empleando un catalizador de rutenio tipo Grubbs de segunda generación. observando que los complejos de Zn (II) eran más reactivos que las bases libres correspondientes y llegando a la conclusión de que la MC es una manera efectiva de producir clorinas y porfirinas vinil-sustituidas con excelente estereoselectividad *E* debido a los efectos estéricos de los macrociclos. Más adelante Lonin et al., 2012 sintetizaron glicoconjugados de Chl-*a* empleando la MC entre derivados de Chl-*a* y tetraacetato de alil- $\beta$ -galactopiranososa como posibles FS para TFD.

Los antecedentes más cercanos, en la Universidad Industrial de Santander, corresponden a la síntesis de derivados de metil feoforbida-*a* preparados por Rodríguez Prada & Pinzón Joya, 2018 a través de reacciones de transesterificación y sustitución nucleofílica para posterior evaluación como FS, por otra parte, también se ha llevado a cabo la fotooxidación de fenoles empleando aire y FS derivados de clorofila preparados por Muñoz Carreño et al., 2022.

## 4. Diseño Metodológico

### 4.1 Extracción de feofitina-*a* a partir de espinaca

La feofitina-*a* se extrajo a partir del material foliar de la espinaca (*Spinacia oleracea*), la cual se obtuvo en el mercado local. Las hojas frescas se lavaron con agua para eliminar restos de

tierra e impurezas, inmediatamente, se deshidrataron a 60 °C durante dos horas en un deshidratador de convección forzada. La biomasa seca resultante se trituró manualmente y, luego, se almacenó en empaques herméticos a temperatura  $\leq 4^{\circ}\text{C}$ . Se utilizaron 51,10 g de biomasa de espinaca en una extracción sólido-líquido empleando un sistema Soxhlet equipado con 300 mL de acetona como solvente extractor, el conjunto fue recubierto con papel aluminio para protegerlo de la luz directa y se llevó a cabo durante al menos 8 h. El extracto final se concentró en un rotoevaporador a presión reducida y se obtuvieron 1,53 g de extracto seco y 48,31 g de biomasa final. La purificación y separación de pigmentos se realizó mediante cromatografía líquida preparativa flash utilizando cartuchos de sílica gel esférica con tamaño de partícula de 45-60  $\mu\text{m}$  y poros de 100 Å como fase estacionaria; una solución de heptano/acetona (4:1) como fase móvil y eluyendo a un flujo de 10-15 mL/min. La fracción de feofitina-*a* recolectada fue protegida de la luz y almacenada a temperatura  $\leq 4^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis por espectrometría de masas y posterior uso en la síntesis del derivado trimetil éster de clorina-*e6*.

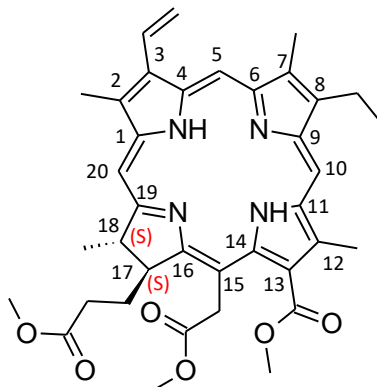
#### ***4.2 Síntesis de clorina-e6 trimetil éster a partir de feofitina-a***

En un balón Schlenk de 100 mL se disolvieron 226,8 mg de feofitina-*a* (0,260 mmol) en 50 mL de metanol con ayuda de un baño ultrasonido, seguidamente se instaló el conjunto sobre un baño de hielo, y se purgó con gas argón por al menos 5 min bajo agitación constante. Posteriormente, se añadió una porción de sodio metálico para formar el ion metóxido in situ. En seguida, se adaptó un burbujeador al balón Schlenk y se aplicó un flujo de argón constante hasta notar que el sodio había reaccionado por completo; a continuación, se detuvo el flujo de argón y se conservó la agitación durante una hora más. Finalmente, la masa de reacción se neutralizó con salmuera y se inició una extracción líquido-líquido con porciones de 50, 40 y 20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

La fase orgánica que contiene los pigmentos se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró con papel franja negra, y se evaporó el solvente por rotoevaporación hasta obtener ca. 2 mL de extracto.

**Figura 9**

*Estructura molecular del pigmento trimetil éster de clorina-e6*



Clorina-e6 trimetil éster

La purificación del extracto se realizó mediante cromatografía líquida de gravedad empleando una columna de 20 cm de longitud y 1,5 cm de diámetro interno empacada con sílica gel esférica con tamaño de partícula de 40-63  $\mu\text{m}$  y poros de 60  $\text{Å}$ ; el producto de reacción fue eluido con una solución de heptano/acetona (4:1) obteniéndose una fracción de color verde intenso. El producto recuperado se rotoevaporó a presión reducida y el solvente residual se eliminó usando un sistema de vacío. Se obtuvo un producto de apariencia oleosa el cual fue lavado con porciones de 1 mL de éter de petróleo ( $p.e.b \leq 40 \text{ }^\circ\text{C}$ ) o n-pentano. Se obtuvieron 78,48 mg de clorina-e6 trimetil éster (0.122 mmol; rendimiento 47,2 %), como un sólido verde oscuro el cual fue almacenado a temperatura  $\leq 4 \text{ }^\circ\text{C}$  y protegido de la luz.

### ***4.3 Reacción de metátesis olefínica asistida por radiación de microondas sobre el grupo vinilo de la clorina e6 trimetil éster***

La reacción se llevó a cabo en un reactor de microondas Biotage Initiator+ usando al menos cuatro ciclos programados consecutivos de tres pasos (Tabla 1). En un vial para reacción en microondas de 5 mL se disolvieron 10 mg de clorina-*e6* trimetil éster (0,0157 mmol) en 2 mL de 1,2-dicloroetano, seguidamente se añadieron 3,0 mg de catalizador Grubbs de segunda generación (ca. 25% mol) y se selló el vial con una tapa de cierre hermético. El contenido del vial se agitó a 900 rpm durante 5 min antes de iniciar los ciclos de reacción.

La masa de reacción se purificó mediante cromatografía líquida de gravedad empleando una columna de 20 cm de longitud y 1,5 cm de diámetro interno empacada con sílica gel esférica con tamaño de partícula de 40-63  $\mu\text{m}$  y poros de 60 Å, el sustrato de partida se eluyó usando como fase móvil 100 mL de heptano/acetona (4:1); luego, el producto de reacción fue eluido con 60 mL de heptano/acetona (7:3). La fracción color amarillo correspondiente al producto se concentró en un rotoevaporador a presión reducida hasta un volumen ca. 5 mL, finalmente se almacenó a temperatura  $\leq 4$  °C hasta su análisis y caracterización.

**Tabla 1**

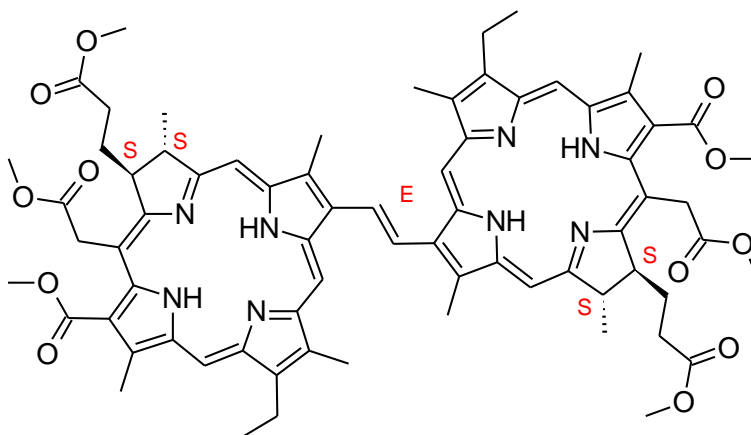
*Condiciones del ciclo de reacción de la metátesis cruzada asistida por radiación de microondas*

Paso	Temperatura (°C)	Agitación (rpm)	Potencia (W)	Tiempo (min)
1	83	900	300	2
2	83	900	0	20
3	50	900	0	5

*Nota.* La tabla describe las condiciones programadas para cada paso del ciclo de reacción. El ciclo se realizó al menos cuatro veces de manera consecutiva. La metodología fue adaptada a partir de las condiciones descritas por Meares, A., Bhagavathy, G. V., Zik, S. R., Gallagher, T., & Ptaszek, M. (2018). Expanding  $\pi$ -Conjugation in Chlorins Using Ethenyl Linker. *The Journal of Organic Chemistry*, 83(16), 9076–9087.

**Figura 10**

*Estructura molecular del dímero de clorina-e6 trimetil éster.*



Dímero de clorina-e6 trimetil éster

#### ***4.4 Caracterización de los pigmentos obtenidos por UV-VIS***

Se utilizó un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 50 UV-Vis de doble haz, equipado con lámpara flash de Xenón, detector de fotodiodos duales de silicio, y celda de plástico con paso óptico de 1 cm. Los compuestos fueron solubilizados en acetonitrilo.

#### ***4.5 Caracterización de los pigmentos obtenidos por espectroscopia infrarroja FT-IR***

Se utilizó un espectrofotómetro JASCO FT/IR 4X con ATR, los espectros se registraron en unidades de número de onda  $\text{cm}^{-1}$ .

#### ***4.6 Caracterización de los pigmentos obtenidos por resonancia magnética nuclear (RMN)***

Se utilizó un equipo Bruker Avance 400 MHz  $^1\text{H}$ -RMN, como disolvente se empleó cloroformo deuterado  $\text{CDCl}_3$  de la marca Merck. Se reporta la multiplicidad de las señales: Singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuartete (q), doblete de dobletes (dd), doble doblete de dobletes (ddd), doble de doble doblete de dobletes (dddd), triplete de dobletes (td), triplete de tripletes (tt)

y multiplete (m); la constante de acoplamiento (J) y los desplazamientos químicos ( $\delta$ ), se expresaron en Hz y ppm respectivamente.

#### ***4.7 Caracterización de los pigmentos obtenidos por espectrometría de masas***

Se utilizó un espectrómetro de masas MALDI-TOF Bruker Daltonik (Ultraflex III). Los espectros de masas se obtuvieron en modo positivo a temperatura ambiente usando DCTB como matriz, empleando el detector en modo lineal o reflectrón. Los compuestos fueron solubilizados en acetonitrilo.

### **5. Resultados y análisis**

#### ***5.1 Resultados de extracción***

El pigmento feofitina-*a* se obtuvo a partir de la biomasa de espinaca mediante un proceso de extracción sólido-líquido usando un sistema Soxhlet bajo las condiciones descritas en la Tabla 2. Al finalizar el proceso de extracción la biomasa presentaba un cambio de color debido a la pérdida de diversos pigmentos que componen las hojas de espinaca (Figura 11), el extracto obtenido fue acidulado con ácido acético antes de ser concentrado y purificado.

La purificación del extracto se realizó por cromatografía líquida flash; la primera fracción de pigmentos fue eluida usando 100% heptano, el eluato resultante de color naranja corresponde a los carotenoides, luego se cambió la fase móvil a heptano/acetona (4:1) y se recolectó una fracción color verde oliva seguida de otra fracción color marrón claro que corresponden a los pigmentos feofitina-*a* y *b* respectivamente. Los compuestos en eluir posteriormente fueron las clorofilas-*a* y *b*, y por último las xantófilas. La fracción que se aisló para su posterior modificación fue la feofitina-*a*.

**Figura 11**

*Biomasa de espinaca antes y después de la extracción Soxhlet sólido-líquido.*



*Nota.* Se observa el cambio en la apariencia de la biomasa de espinaca antes de la extracción (imagen izquierda) y después de la extracción (imagen derecha).

**Tabla 2**

*Parámetros de la extracción Soxhlet de pigmentos y fracción de feofitina obtenida*

Parámetros	Peso (g)/Condiciones
Biomasa inicial	51,0994 g
Tiempo	8 h
Volumen de acetona	300 mL
Extracto	1,5314 g
Feofitina- <i>a</i>	0,1593 g
Temperatura	ca. 60 °C

*Nota.* La tabla muestra las condiciones de extracción, la cantidad de extracto obtenido y la cantidad recuperada de feofitina luego de haber sido separada mediante cromatografía líquida flash.

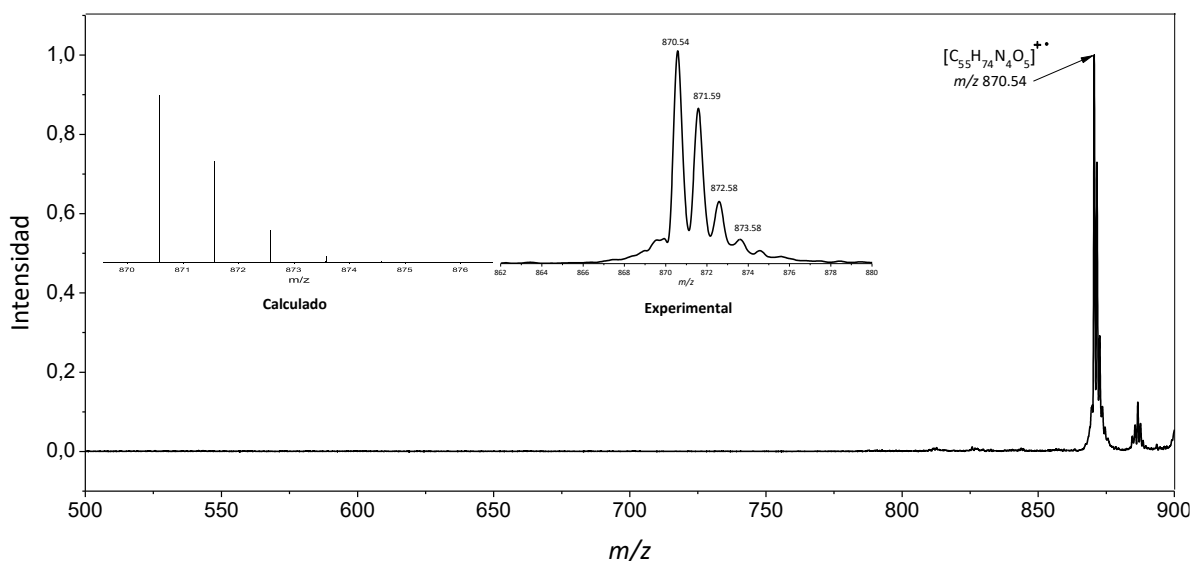
La feofitina-*a* es el derivado que se obtiene luego de la pérdida del metal central de Mg en la clorofila-*a*, este tipo de enlace covalente coordinado puede romperse al encontrarse en medios levemente ácidos. Esto se debe a la basicidad de los átomos de nitrógeno presentes en el macrociclo de la clorofila. La caracterización de feofitina-*a* se llevó a cabo mediante espectrometría de masas, espectroscopía ultravioleta visible (UV-VIS) y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR).

### 5.1.1 Espectro de masas de la feofitina-a

La fracción de feofitina-*a* extraída se identificó por medio de espectrometría de masas MALDI-TOF. Se utilizó DCTB como matriz, y se logró observar una señal a  $m/z$  870,54 (Figura 12) correspondiente al catión radical de feofitina-*a* ( $C_{55}H_{74}N_4O_5$ , masa monoisotópica: 870,566) (Suzuki et al., 2009).

#### Figura 12

Espectro de masas de la feofitina-*a*.



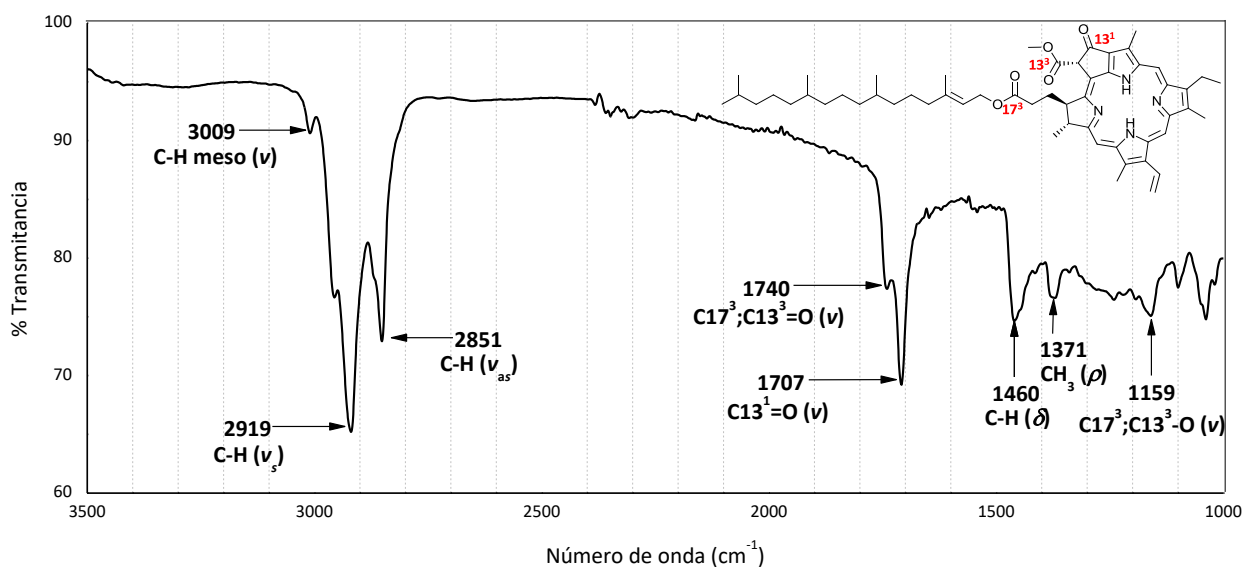
### 5.1.2 Espectro FT-IR de la feofitina-a

El análisis de la feofitina-*a* mediante espectroscopía FT-IR permitió identificar las señales típicas de los grupos funcionales presentes en su estructura. Las señales fueron identificadas y asignadas teniendo en cuenta estudios realizados con anterioridad (Ahmed, 2015; Kang et al., 2018). En la figura 13, se observa el espectro de transmitancia FT-IR de la feofitina-*a*, las bandas asignadas se resumen en la Tabla 3. En la región entre  $3000-2800\text{ cm}^{-1}$  se presentan señales intensas correspondientes a los estiramientos simétricos y asimétricos del enlace C-H de los grupos metilo, metileno y metino del fitol y el sistema aromático periférico.

En la región entre  $1750\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$  se encuentran las señales que pertenecen al estiramiento del enlace carbonilo  $\text{C}=\text{O}$  de los grupos éster ( $\text{C}13^3$ ,  $\text{C}17^3$ ) y cetona ( $\text{C}13^1$ ). En la región entre  $1600\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$  se observan las señales de las flexiones de tijereo del grupo metileno ( $1460\text{ cm}^{-1}$ ), balanceo del metilo ( $1371\text{ cm}^{-1}$ ) y finalmente, el estiramiento  $\text{C-O}$  ( $1159\text{ cm}^{-1}$ ) de los grupos éster ( $\text{C}13^3$ ,  $\text{C}17^3$ ).

**Figura 13**

*Espectro FT-IR de la feofitina-a.*

**Tabla 3**

*Asignación de las señales identificadas en el espectro FT-IR de la feofitina-a.*

Enlace	Posición	Vibración	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )
	meso	Estiramiento ( $\nu$ )	3009
C-H		Estiramiento simétrico ( $\nu_s$ )	2919
		Estiramiento asimétrico ( $\nu_{as}$ )	2851
C=O	$13^3$ , $17^3$	Estiramiento ( $\nu$ )	1740
C=O	$13^1$	Estiramiento ( $\nu$ )	1707
$-\text{CH}_2-$		Flexión tijereo ( $\delta$ )	1460
$-\text{CH}_3$		Flexión balanceo ( $\rho$ )	1371
C-O	$13^3$ , $17^3$	Estiramiento ( $\nu$ )	1159

*Nota.* La tabla resume las señales representativas de los grupos funcionales presentes en la feofitina-a.

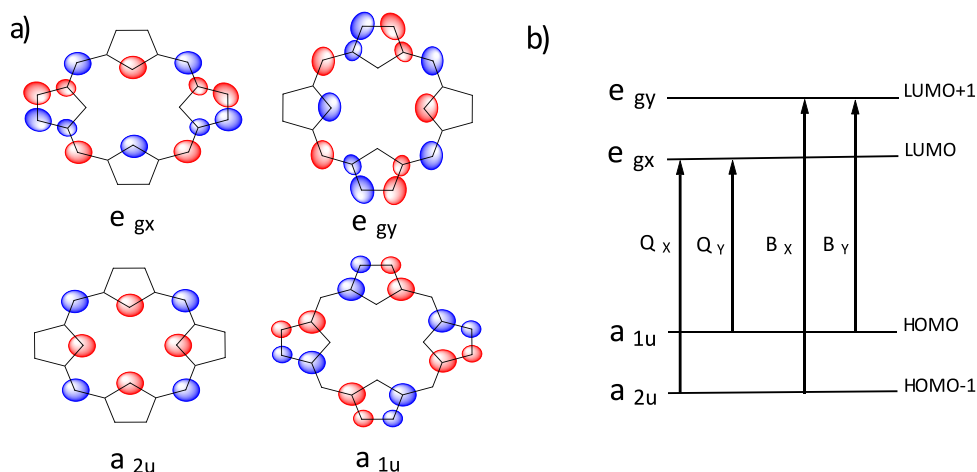
### 5.1.3 Espectro UV-VIS de la feofitina-a

La feofitina-a, al ser un derivado de la clorofila-a, contiene un sistema conjugado de electrones  $\pi$  que le permite absorber y emitir radiación visible debido a transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ . En el espectro de absorción (Figura 15) se observa una banda intensa en la región de 350-450 nm conocida como banda Soret o banda B, y un conjunto de bandas de menor intensidad en la región de 500-700 nm clasificadas como bandas Q (Ameen et al., 2022).

El origen de las bandas B y Q se explica a través del modelo de los cuatro orbitales de Gouterman (Figura 14). El modelo de Gouterman contempla la transición entre dos orbitales moleculares HOMO ( $a_{1u}$ ,  $a_{2u}$ ) y dos LUMO ( $e_{gx}$ ,  $e_{gy}$ ). La transición más energética, que corresponde a la banda B, ocurre entre el estado fundamental y el segundo estado excitado; por otra parte, las bandas Q de menor energía se deben a transiciones entre el estado fundamental y el primer estado excitado (Namuangruk et al., 2014).

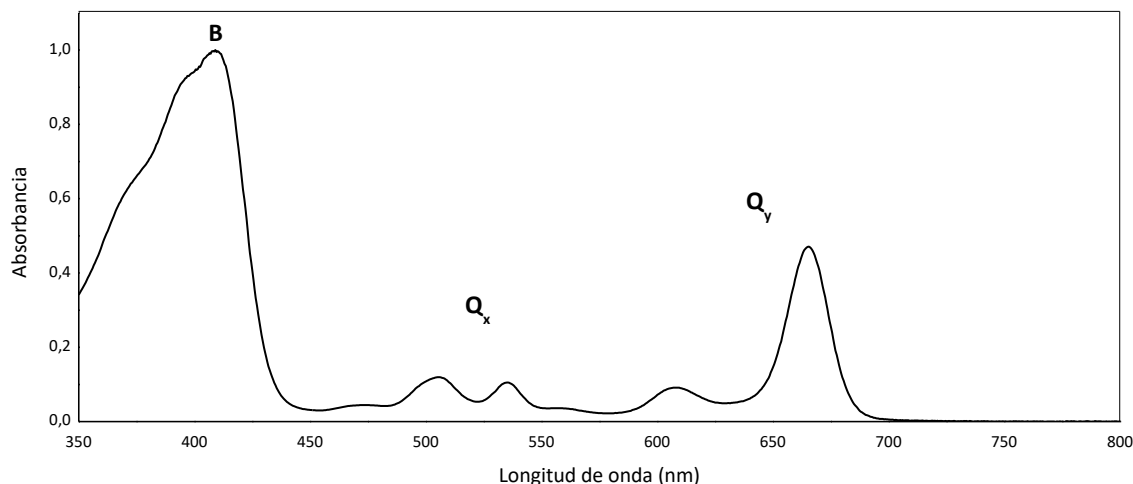
**Figura 14**

(a) Representación de los orbitales moleculares de Gouterman en porfirinas. (b) Niveles de energía y transiciones que ocurren en el sistema de porfirina.



*Nota.* Representación del modelo orbital molecular de Gouterman. Adaptado de Namuangruk, S., Sirithip, K., Rattanatwan, R., Keawin, T., Kungwan, N., Sudyodsuk, T., Promarak, V., Surakhot, Y., & Jungstittiwong, S. (2014). Theoretical investigation of the charge-transfer properties in different meso-linked zinc porphyrins for highly efficient dye-sensitized solar cells. *Dalton Transactions*, 43(24), 9166–9176.

**Figura 15**  
*Espectro UV-VIS de la feofitina-a.*



*Nota.* En el espectro de absorción de la feofitina-a se identifican las bandas B ( $\lambda_{\text{máx}}=409$  nm) y Q ( $\lambda_{\text{máx}}=505, 535, 607, \text{ y } 665$  nm) típicas de las moléculas derivadas de clorofila.

### **5.2 Caracterización de la clorina-e6 trimetil éster**

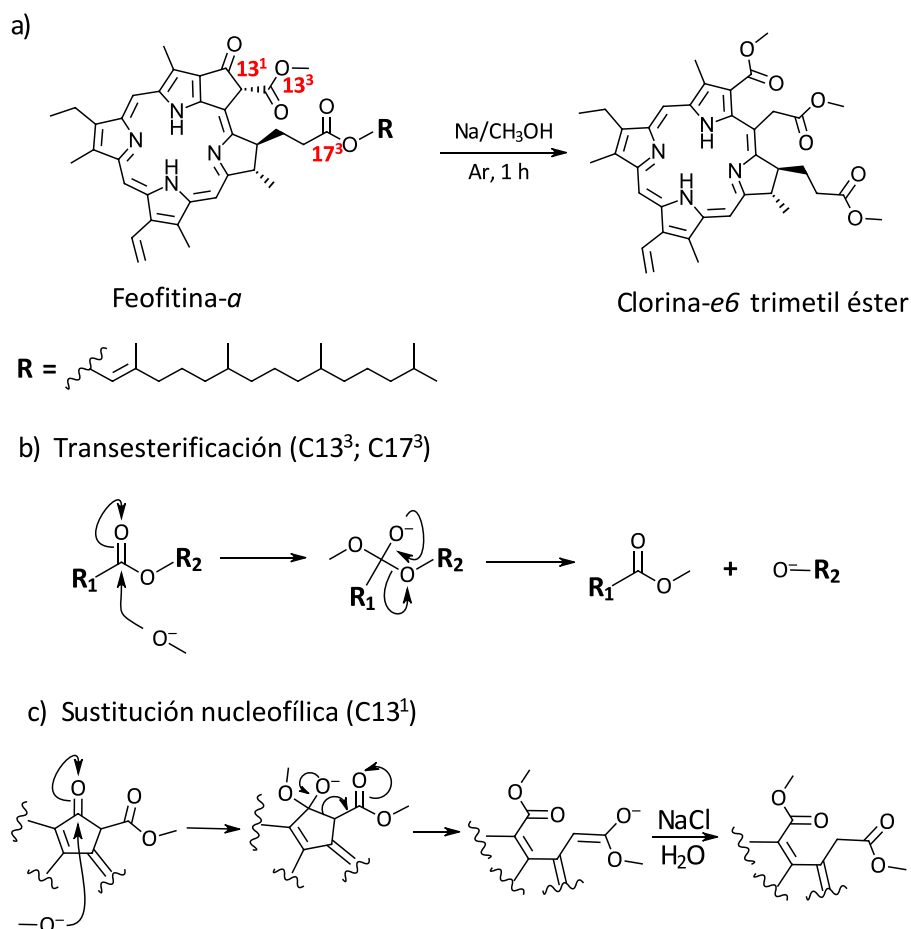
A partir de la feofitina-a extraída se obtuvo la clorina-e6 trimetil éster a través de la reacción de alcoholisis alcalina utilizando sodio metálico y metanol (Figura 16a). La metodología fue adaptada con base en los aportes de Kadish Karl et al., 2000. La molécula de feofitina-a contiene dos grupos éster en las posiciones 13<sup>3</sup> y 17<sup>3</sup> susceptibles a reacciones de transesterificación en medio ácido o alcalino (Figura 16b).

También, se encuentra un anillo de ciclopentanona fusionado al macrociclo con un centro quiral en la posición 13<sup>2</sup>, esta estructura puede enolizarse y formar su respectivo epímero el cual es difícil de aislar. Para superar este inconveniente se debe escindir el anillo de ciclopentanona a través de una reacción de sustitución nucleofílica de grupo acilo en donde el metóxido de sodio actúa como nucleófilo atacando el carbono carbonílico, que se encuentra en la posición 13<sup>1</sup>,

formando un intermediario tetraédrico que posteriormente conduce a la ruptura del enlace C-C de la ciclopentanona seguido de la formación de un nuevo grupo metil éster (Figura 16c).

### Figura 16

Esquema general de las reacciones que ocurren en la formación de la clorina-e6 trimetil éster.



*Nota.* Se observa en el literal (a) el esquema general de la síntesis de clorina-e6 trimetil éster seguido de las reacciones de transesterificación (b) y sustitución nucleofílica (c) que ocurren sobre los grupos éster y cetona de la feofitina-a, respectivamente.

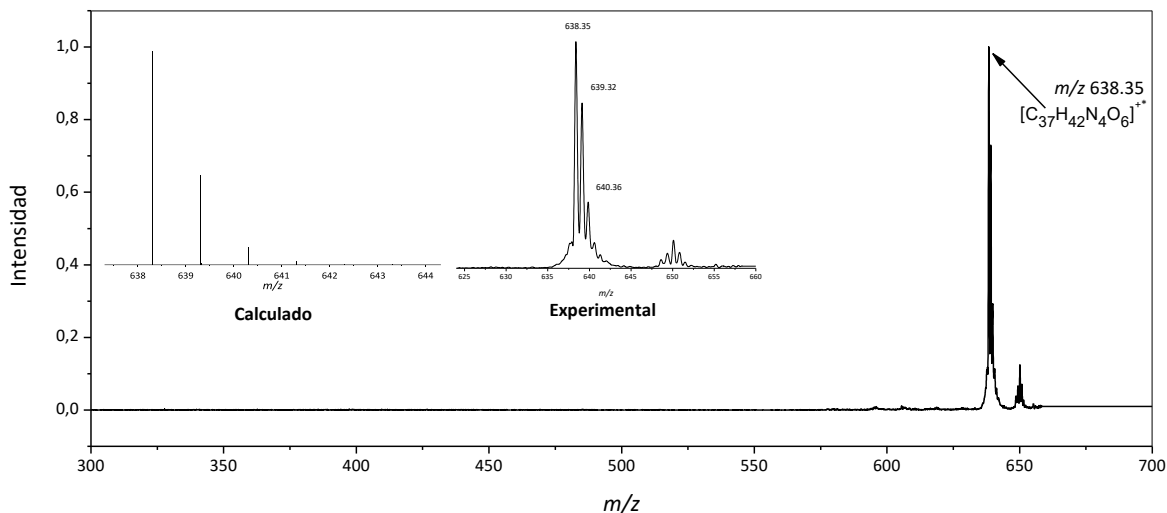
#### 5.2.1 Espectro de masas de la clorina-e6 trimetil éster

La molécula de clorina-e6 trimetil éster obtenida de la modificación de la feofitina-a se identificó por medio de espectrometría de masas MALDI-TOF. Se utilizó DCTB como matriz, y

se logró observar una señal a  $m/z$  638.35 (Figura 17) correspondiente al catión radical de clorina-*e6* trimetil éster ( $C_{37}H_{42}N_4O_6$ , masa monoisotópica: 638.3104). Esta masa corresponde a la pérdida del grupo fitilo y la formación del éster metílico causando la apertura del anillo de ciclopentanona.

### Figura 17

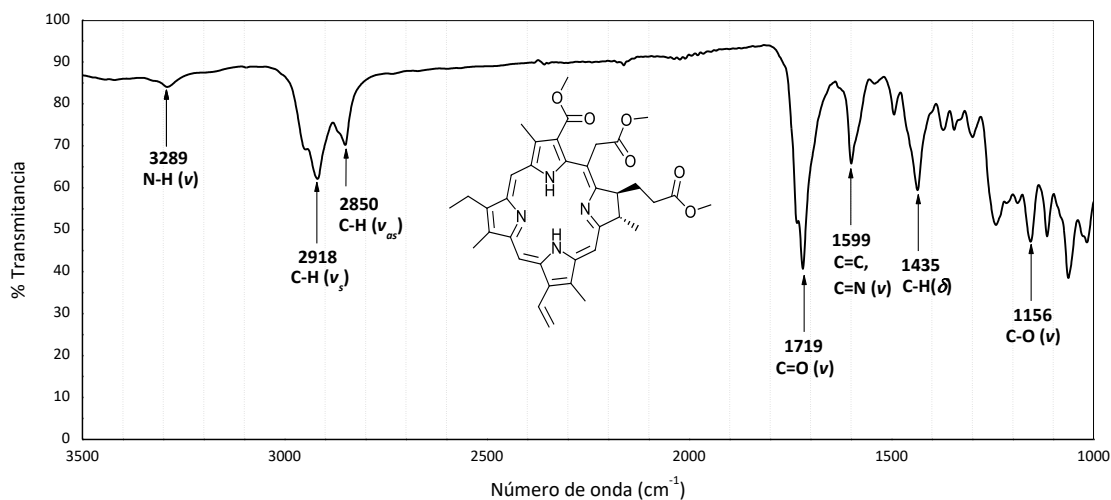
*Espectro de masas de la clorina-e6 trimetil éster.*



### 5.2.2 Espectro FT-IR de la clorina-e6 trimetil éster

El análisis de la clorina-*e6* trimetil éster mediante espectroscopía FT-IR permitió identificar las señales típicas de los grupos funcionales presentes en su estructura. Las señales fueron identificadas y asignadas teniendo en cuenta estudios realizados con anterioridad (Gladkova et al., 2010). En la Figura 18, se observa el espectro de transmitancia FT-IR de la clorina-*e6* trimetil éster, las bandas asignadas se resumen en la Tabla 4.

En la región entre  $3500-2800\text{ cm}^{-1}$  se presentan señales de intensidad baja correspondientes a los estiramientos N-H del grupo amina secundario. También, se aprecian señales de intensidad media debido a estiramientos simétricos y asimétricos del enlace C-H de los grupos metilo, metileno y metino.

**Figura 18***Espectro FT-IR de la clorina-e6 trimetil éster.*

En la región entre  $1750\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la señal que pertenece al estiramiento del enlace carbonilo  $\text{C}=\text{O}$  de los grupos metil éster. También, se aprecia la ausencia de la señal correspondiente al enlace  $\text{C}=\text{O}$  del grupo cetona en la región entre  $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ . Dentro de las señales que se encuentran entre  $1600\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$  se identifican el estiramiento de los enlaces  $\text{C}=\text{C}$  y  $\text{C}=\text{N}$  ( $1599\text{ cm}^{-1}$ ), las flexiones de tijero del grupo metileno ( $1435\text{ cm}^{-1}$ ), y el estiramiento  $\text{C}-\text{O}$  ( $1156\text{ cm}^{-1}$ ) de los grupos metil éster.

**Tabla 4***Asignación de las señales identificadas en el espectro FT-IR de la clorina-e6 trimetil éster.*

Enlace	Vibración	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )
N-H	Estiramiento ( $\nu$ )	3289
C-H	Estiramiento simétrico ( $\nu_s$ )	2918
	Estiramiento asimétrico ( $\nu_{as}$ )	2850
C=O	Estiramiento ( $\nu$ )	1719
C=C, C=N	Estiramiento ( $\nu$ )	1599
$-\text{CH}_2-$	Flexión tijero ( $\delta$ )	1435
C-O	Estiramiento ( $\nu$ )	1156

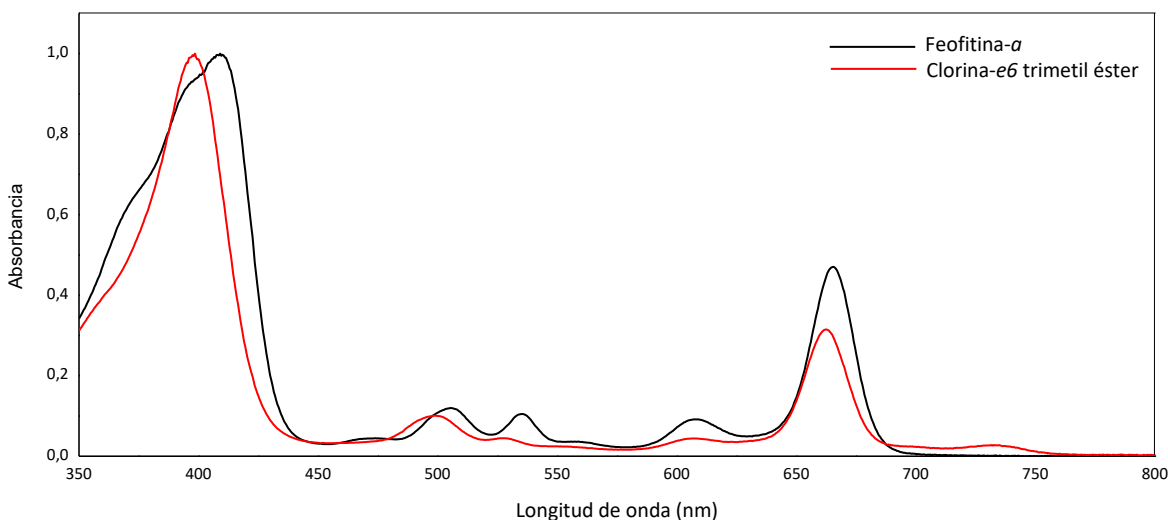
*Nota.* La tabla resume las señales características de los grupos funcionales presentes en la clorina-e6 trimetil éster.

### 5.2.3 Espectro UV-VIS de la clorina e6 trimetil éster

En el espectro de absorción de la clorina-*e6* trimetil éster se pueden identificar las bandas B, Q<sub>x</sub> y Q<sub>y</sub> características de aquellas moléculas que contienen un macrociclo conjugado de porfirina. La comparación entre el perfil de absorción de la feofitina-*a* y la clorina-*e6* trimetil éster (Figura 19) permite identificar un leve corrimiento en los máximos de absorción de la banda B y Q<sub>x</sub> de la clorina con respecto a la feofitina.

#### Figura 19

Comparación del perfil de absorción entre la feofitina-*a* y la clorina-*e6* trimetil éster.



*Nota.* En el espectro de absorción de la clorina-*e6* trimetil éster se identifican las bandas B ( $\lambda_{\text{máx}} = 398$  nm) y Q ( $\lambda_{\text{máx}} = 499, 528, 607, \text{ y } 662$  nm) típicas de las moléculas derivadas de clorofila.

### 5.2.4 Espectro RMN-<sup>1</sup>H de la clorina-e6 trimetil éster

El espectro RMN-<sup>1</sup>H permite corroborar la estructura de la molécula antes de utilizarse en la reacción de metátesis. Las señales identificadas se listan a continuación. RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 9.69 (1H, s), 9.57 (1H, s), 8.74 (1H, s), 8.05 (1H, dd,  $J = 12.0, 12.0$  Hz), 6.33 (1H, d,  $J = 16$  Hz), 6.13 (1H, d,  $J = 12.0$  Hz), 5.37 y 5.25 (2H, d  $J = 20$  Hz, 15<sup>1</sup>(a), 15<sup>1</sup>(b)), 4.47 (1H, m), 4.38 (1H, m), 4.25 (3H, s), 3.76 (3H, s), 3.77 (2H, q,  $J = 8.0$  Hz), 3.63 (3H, s), 3.57 (3H, s), 3.47 (3H,

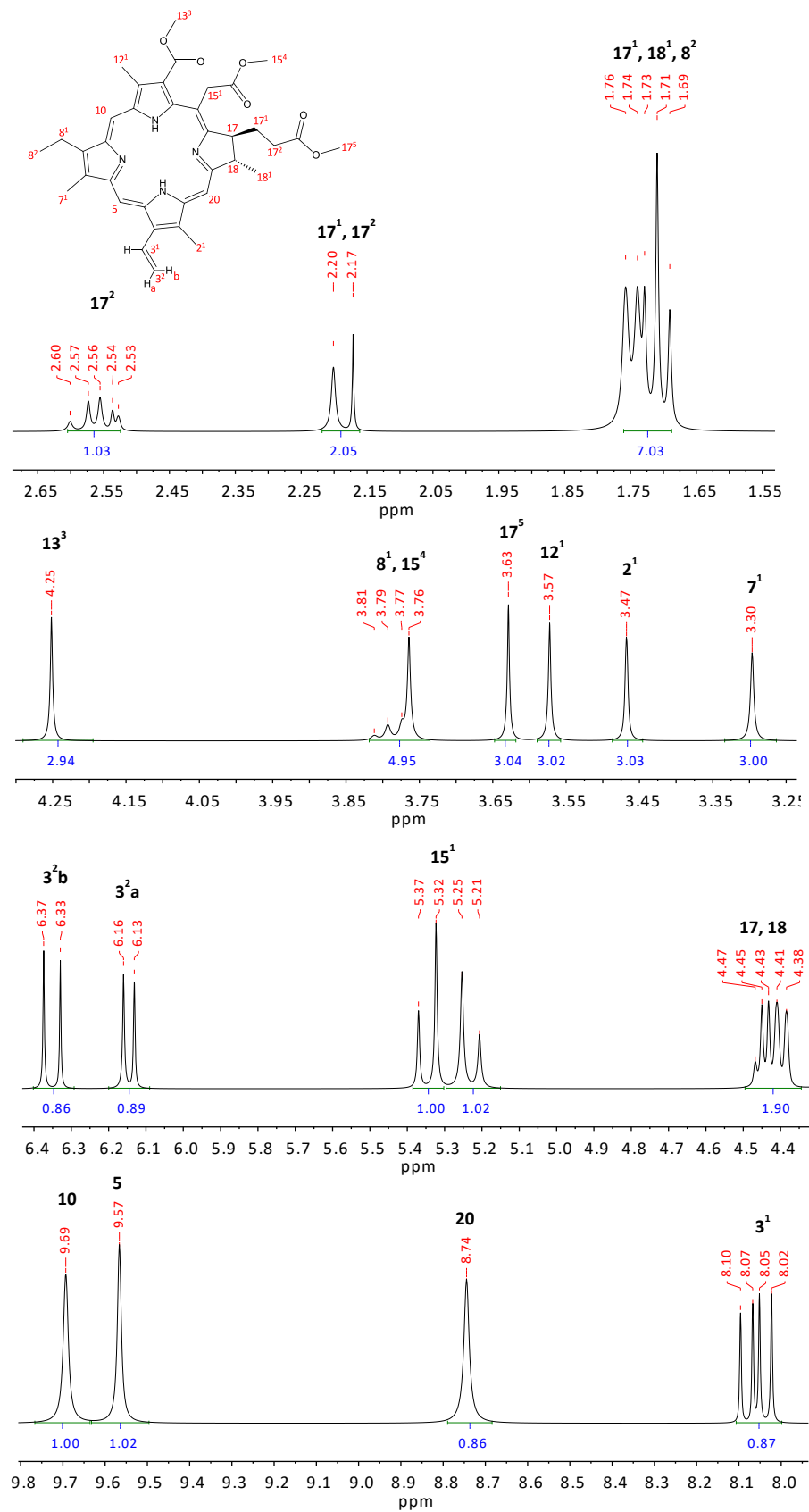
s), 3.30 (3H, s), 2.60 (1H, m), 2.20 (2H, m), 1.76 (1H, m), 1.74 (3H, d,  $J = 8.0$  Hz), 1.71 (3H, t,  $J = 8.0$  Hz).

En la figura 20 se observa el espectro RMN- $^1\text{H}$  de la clorina-*e6* trimetil éster; las señales ubicadas a 9.69, 9.57 y 8.74 ppm corresponden a los protones enlazados a los carbonos meso del sistema aromático (posiciones 10, 5 y 20 respectivamente). Estas señales se encuentran a campos bajos debido al desplazamiento químico causado por la anisotropía del sistema aromático.

La señal a 8.05 ppm con multiplicidad doblete de dobletes corresponde al protón de la posición 3<sup>1</sup>, la cual surge como consecuencia del acoplamiento con los protones Ha y Hb del carbono 3<sup>2</sup>. Así mismo, el acoplamiento de los protones Ha y Hb con el protón del carbono 3<sup>1</sup> genera señales de doblete a 6.13 y 6.33 ppm, respectivamente. Estas señales se asignaron de acuerdo con el valor de la constante de acoplamiento teniendo en cuenta la posición *cis*, *trans* respecto al protón en 3<sup>1</sup>.

Las señales de multiplicidad doblete a 5.37 y 5.25 ppm surgen del acoplamiento mutuo de los protones diastereotópicos del carbono 15<sup>1</sup>. Por otra parte, los protones de los carbonos 17 y 18 generan una señal multiplete en la región de 4.47-4.38 ppm debido al acoplamiento mutuo y con los protones de las posiciones 18<sup>1</sup> y 17<sup>1</sup>.

Los protones de los grupos metílicos en las posiciones 13<sup>3</sup>, 15<sup>4</sup>, 17<sup>5</sup>, 12<sup>1</sup>, 2<sup>1</sup>, 7<sup>1</sup> sufren un corrimiento químico a campos bajos debido a la presencia de enlaces dobles y átomos de oxígeno del grupo éster; sus señales aparecen como singletes a 4.25, 3.76, 3.63, 3.57, 3.47 y 3.30 ppm, respectivamente. La señal singlete de los protones del carbono 15<sup>4</sup> se solapa con la señal cuartete a 3.77 ppm generada por los protones del carbono 8<sup>1</sup> al acoplarse con los protones de la posición 8<sup>2</sup>.

**Figura 20***Espectro RMN-<sup>1</sup>H de la clorina-e6 trimetil éster.*

Los protones ubicados en las posiciones  $17^1$  y  $17^2$  son diastereotópicos debido a que el carbono 17 es un centro quiral; sus señales se encuentran a 2.20, 1.76 ppm y 2.60, 2.20 ppm, respectivamente. Finalmente, a campos más altos se encuentran las señales correspondientes a los protones en las posiciones  $18^1$  y  $8^2$ ; la señal doblete a 1.74 ppm, que corresponde a los protones del carbono  $18^1$ , se genera por el acoplamiento con el protón de la posición 18 y se encuentra solapada con la señal de uno de los protones de la posición  $17^1$ . La señal triplete a 1.71 ppm, que pertenece a los protones de la posición  $8^2$ , se genera por el acoplamiento con los protones del carbono  $8^1$ .

### *5.3 Caracterización del producto de reacción de la metátesis olefínica*

Partiendo de la clorina-*e6* trimetil éster se obtuvo el dímero de clorina-*e6* trimetil éster a través de la reacción de metátesis olefínica asistida por radiación de microondas utilizando un complejo de rutenio tipo Grubbs de segunda generación como catalizador (Figura 21). La metodología fue adaptada con base en los aportes de Meares et al., 2018.

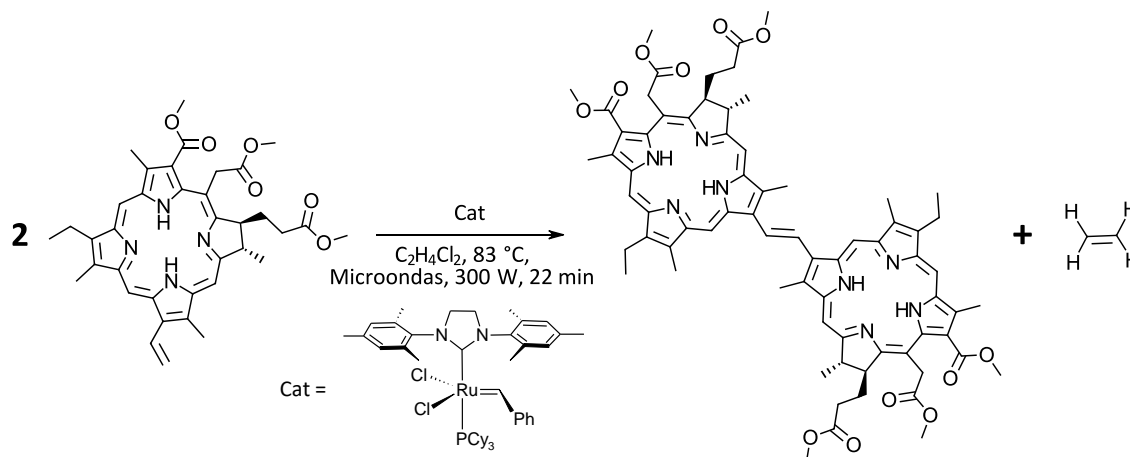
La molécula de clorina-*e6* trimetil éster contiene un grupo vinílico en la posición 3 que es susceptible a participar en reacciones de metátesis cruzada en presencia del catalizador adecuado. Además del grupo vinilo, la molécula cuenta con múltiples enlaces dobles en su estructura que se encuentran en el sistema aromático y por lo cual son menos reactivos en comparación con el doble enlace del vinilo. De esta manera la reacción de metátesis solamente puede modificar el grupo vinílico dejando el sistema aromático intacto.

En las reacciones de metátesis cruzada sobre grupos vinilo es posible obtener la mezcla de isómeros *Z/E*. Sin embargo, la reacción tiende a favorecer la formación del isómero *E* sobre el isómero *Z* debido a que posee menor impedimento estérico y por lo tanto mayor estabilidad. En el

caso de las moléculas semejantes a la clorina-*e6* trimetil éster, en donde el grupo vinilo se encuentra unido a un sustituyente voluminoso como el macrociclo aromático, el impedimento estérico del isómero *Z* es tan alto que únicamente se forma el producto *E*.

### Figura 21

Esquema general de la reacción de metátesis olefínica sobre el grupo vinilo de la clorina-*e6* trimetil éster.



*Nota.* Se observan las condiciones de reacción de la metátesis cruzada catalizada por un complejo tipo Grubbs de segunda generación.

### Figura 22

Fracciones de la clorina-*e6* trimetil éster y del dímero recuperados después de la purificación mediante cromatografía en columna.



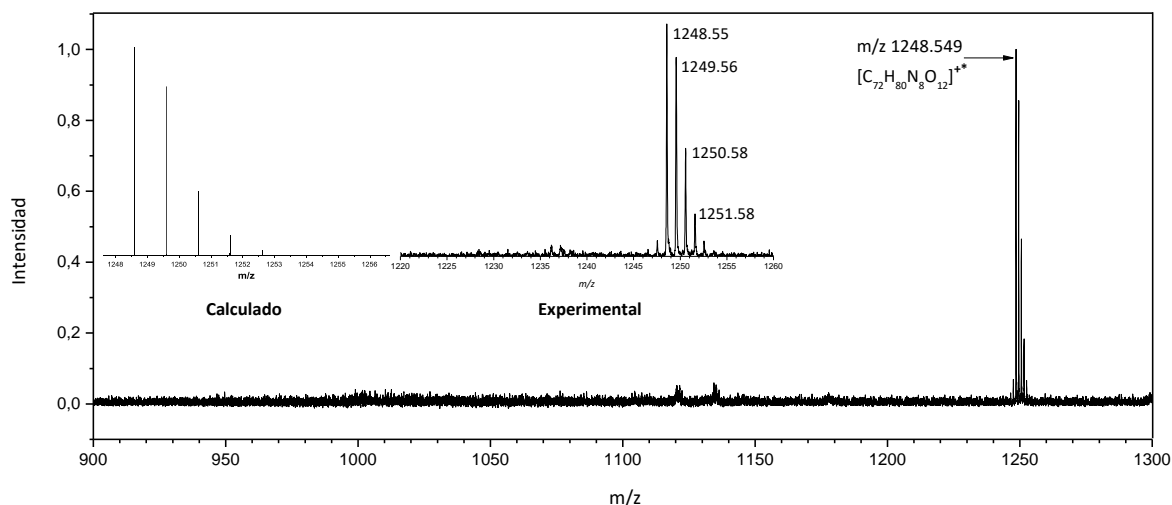
*Nota.* Una vez purificada la masa resultante de la reacción de metátesis se puede observar un cambio de color entre el sustrato inicial verde intenso (imagen izquierda) y el dímero obtenido de color naranja (imagen derecha).

### 5.3.1 Espectro de masas del producto de reacción

El dímero de clorina-*e6* trimetil éster obtenido de la reacción de metátesis cruzada se identificó por medio de espectrometría de masas MALDI-TOF. Se utilizó DCTB como matriz lográndose observar una señal a  $m/z$  1248.549 (Figura 23) correspondiente al catión radical del dímero de clorina-*e6* trimetil éster ( $C_{72}H_{80}N_8O_{12}$ , masa monoisotópica: 1248.5896). Esta masa corresponde a la suma de las masas de dos clorinas menos la masa correspondiente al etileno.

#### Figura 23

Espectro de masas del dímero de clorina-*e6* trimetil éster.



### 5.3.2 Espectro UV-VIS del producto de reacción

En el espectro de absorción del dímero de clorina-*e6* trimetil éster se pueden identificar las bandas B, Q<sub>x</sub> y Q<sub>y</sub> que indican la presencia del macrociclo de clorina. En la figura 25 se observa un desplazamiento batocrómico significativo en los máximos de absorción de la banda Q<sub>y</sub> del dímero con respecto al precursor además de un aumento en la intensidad relativa de la misma banda.

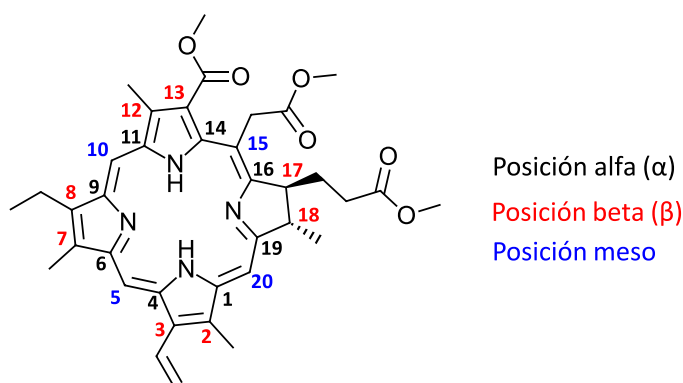
El corrimiento de la banda Q<sub>y</sub> hacia longitudes de onda mayores es consecuencia de la unión de los sistemas macrocíclicos  $\pi$  de clorina a través del puente  $\beta$ - $\beta$  de etileno. Un factor

importante es la coplanaridad del puente de etenilo respecto a los macrociclos, ya que así se favorece el acoplamiento electrónico que permite la expansión del sistema  $\pi$  conjugado.

La fuerte conjugación entre las clorinas afecta la estructura electrónica del dímero disminuyendo la diferencia de energía entre los orbitales HOMO y LUMO. En consecuencia, la transición electrónica del estado basal hacia el primer estado excitado del dímero requiere menor energía que la misma transición en el monómero.

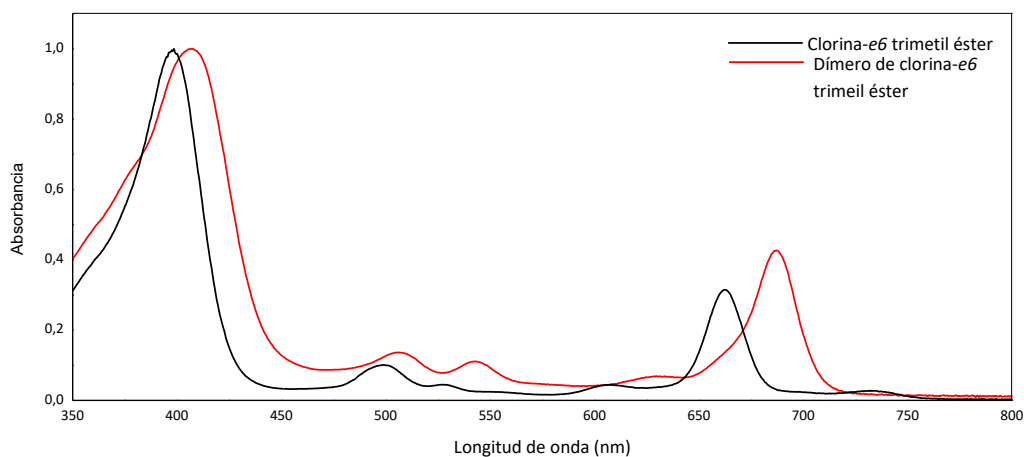
### Figura 24

Ubicación de las posiciones *alfa*, *beta* y *meso* en el macrociclo de clorina.



### Figura 25

Comparación del perfil de absorción entre la clorina-e6 trimetil éster y el dímero de clorina-e6 trimetil éster.



*Nota.* En el espectro de absorción del dímero de clorina-e6 trimetil éster se identifican las bandas B ( $\lambda_{\text{máx}}=407$  nm) y Q ( $\lambda_{\text{máx}}=506, 542, 630,$  y  $687$  nm) típicas de las moléculas derivadas de clorofila.

**Tabla 5**

*Comparación de los máximos de absorción entre clorina-e6 trimetil éster y el dímero de clorina-e6 trimetil éster.*

Molécula	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)					$\Delta\lambda_{\text{máx}}$ (nm)				
	B	Q <sub>x</sub>	Q <sub>y</sub>	B	Q <sub>x</sub>	Q <sub>y</sub>	B	Q <sub>x</sub>	Q <sub>y</sub>	
Clorina-e6 trimetil éster	398	499	528	607	662					
Dímero de clorina-e6 trimetil éster	407	506	542	630	687	9	7	14	23	25

*Nota.* La tabla compara los máximos de absorción de las bandas B, Q<sub>x</sub> y Q<sub>y</sub> de la clorina-e6 trimetil éster y su dímero. Se observa un desplazamiento batocrómico significativo en la banda Q<sub>y</sub> del dímero.

## 6. Conclusiones

Se realizó la reacción de metátesis olefínica cruzada asistida por radiación de microondas sobre el grupo vinilo de la clorina-*e6* trimetil éster empleando un catalizador tipo Grubbs de segunda generación. El sustrato de la reacción se obtuvo mediante la modificación química de la molécula feofitina-*a* extraída a partir de una matriz vegetal. Los compuestos obtenidos fueron identificados empleando espectrometría de masas (MS) confirmando las fórmulas moleculares y los patrones isotópicos de cada molécula.

Se logró obtener la molécula de clorina-*e6* trimetil éster como derivado estable de la clorofila-*a* utilizando reacciones clásicas de transesterificación y sustitución nucleofílica sobre el grupo acilo. El espectro de absorción UV-VIS de la molécula exhibe las bandas B y Q características de los compuestos porfirínicos. Su estructura fue verificada empleando resonancia magnética nuclear de protones (RMN-<sup>1</sup>H) confirmando la presencia del grupo vinilo idóneo para la reacción de metátesis olefínica ya que cumple la función de puente β-β en el dímero obtenido.

Se identificó la masa del producto de la reacción de metátesis de clorina-*e6* trimetil éster confirmando que coincide con la masa y el patrón isotópico del dímero esperado. El espectro de absorción UV-VIS del dímero evidencia un desplazamiento batocrómico de 25 nm en la banda Q más intensa con respecto a la misma banda Q del precursor. La absorción intensa del dímero a longitudes de onda en la región del rojo (687 nm) constituye una propiedad útil para el desarrollo de nuevos fotosensibilizadores.

### **7. Recomendaciones**

Determinar el rendimiento cuántico de los estados de excitados, el rendimiento cuántico de oxígeno singlete y la producción de especies reactivas de oxígeno del dímero.

Realizar modificaciones sobre los grupos periféricos del dímero con el objetivo de incorporar grupos polares que permitan aumentar la solubilidad en agua del compuesto.

Realizar reacciones de metátesis olefínica con vinil clorinas sustituidas en diferentes posiciones para evaluar el efecto de los sustituyentes sobre las propiedades fotofísicas de los productos.

### Referencias Bibliográficas

- Ahmed, J. K. (2015). Effect of Chlorophyll and Anthocyanin on the Secondary Bonds of Poly Vinyl Chloride (PVC). *International Journal of Materials Science and Applications*, 4(2), 21.
- Allison, R. R., & Sibata, C. H. (2010). Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7(2), 61–75.
- Ameen, S., Shaheer Akhtar, M., & Shin, H.-S. (2022). *Chlorophylls*. IntechOpen.
- Astruc, D. (2005). The metathesis reactions: from a historical perspective to recent developments. *New J. Chem.*, 29(1), 42–56.
- Brandis Alexander S. and Salomon, Y. and S. A. (2006). Chlorophyll Sensitizers in Photodynamic Therapy. En R. J. and R. W. and S. H. Grimm Bernhard and Porra (Ed.), *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications* (pp. 461–483). Springer Netherlands.
- Castano, A. P., Demidova, T. N., & Hamblin, M. R. (2004). Mechanisms in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization. En *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (Vol. 1, Número 4, pp. 279–293). Elsevier.
- Clennan, E. L. (2000). New Mechanistic and Synthetic Aspects of Singlet Oxygen Chemistry. *Tetrahedron*, 56(47), 9151–9179.
- Daniell, M. D., & Hill, J. S. (1991). A HISTORY OF PHOTODYNAMIC THERAPY. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 61(5), 340–348.

- Derosa, M. C., & Crutchley, R. J. (2002). *Photosensitized singlet oxygen and its applications*. [www.elsevier.com/locate/ccr](http://www.elsevier.com/locate/ccr)
- Dougherty, T. J., Gomer, C. J., Henderson, B. W., Jori, G., Kessel, D., Korbélik, M., Moan, J., & Peng, Q. (1998). *REVIEW Photodynamic Therapy*.
- Dumoulin, F. (2012). Design and Conception of Photosensitisers. En V. Nyokong Tebello and Ahsen (Ed.), *Photosensitizers in Medicine, Environment, and Security* (pp. 1–46). Springer Netherlands.
- Eleuterio, H. S. (1991). Olefin metathesis: chance favors those minds that are best prepared. *Journal of Molecular Catalysis*, 65(1), 55–61.
- Figge, F. I. J. (1945). K:rebs-forsch. En *Int. Med* (Número 2). Hans, and Banzer.
- Finsen, N. R. (1903). Remarks on the red-light treatment of small-pox. *BMJ*, 1(2214), 1297–1298.
- Gladkova, O. L., Parkhats, M. V., Gorbachova, A. N., & Terekhov, S. N. (2010). FTIR spectra and normal-mode analysis of chlorin e6 and its degradation-induced impurities. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 76(3–4), 388–394.
- Gomaa, I., Ali, S. E., El-Tayeb, T. A., & Abdel-kader, M. H. (2012). Chlorophyll derivative mediated PDT versus methotrexate: An in vitro study using MCF-7 cells. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 9(4), 362–368.
- Gomer Charles J., & Dougherty Thomas J. (1979). Determination of [3H]- and [14C]Hematoporphyrin Derivative Distribution in Malignant and Normal Tissue. *Cancer Research*, 39(1), 146–151.

- Hönigsmann, H. (2013). History of phototherapy in dermatology. En *Photochemical and Photobiological Sciences* (Vol. 12, Número 1, pp. 16–21). Royal Society of Chemistry.
- Hosseinnezhad, M., Nasiri, S., Movahedi, J., & Ghahari, M. (2020). Improving the efficiency of organic sensitizers with various anchoring groups for solar energy applications. *Solar Energy*, 211, 228–235.
- Ivin, K. J., & Mol, J. C. (1997). 1 - Introduction. En K. J. Ivin & J. C. Mol (Eds.), *Olefin Metathesis and Metathesis Polymerization (Second Edition)* (Second Edition, pp. 1–11). Academic Press.
- Jaquinod, L., Nurco, D. J., Medforth, C. J., Pandey, R. K., Forsyth, T. P., Olmstead, M. M., & Smith, K. M. (1996). Synthesis and Characterization of Bis(chlorin)s from the McMurry Reaction of Formylchlorins. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 35(9), 1013–1016.
- Jean-Louis Hérisson, P., & Chauvin, Y. (1971). Catalyse de transformation des oléfines par les complexes du tungstène. II. Télomérisation des oléfines cycliques en présence d'oléfines acycliques. *Die Makromolekulare Chemie*, 141(1), 161–176.
- Kadish Karl, Smith Kevin M., & Guillard Roger. (2000). *The Porphyrin Handbook Volume 1. 1*, 38–40.
- Kang, Y. R., Park, J., Jung, S. K., & Chang, Y. H. (2018). Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins. *Food Chemistry*, 245, 943–950.
- Krasnovsky, A. A., Neverov, K. V., Egorov, S. Y., Roeder, B., & Levald, T. (1990). Photophysical studies of pheophorbide a and pheophytin a. phosphorescence and

- photo-sensitized singlet oxygen luminescence. En *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* (Vol. 5).
- Kwiatkowski, S., Knap, B., Przystupski, D., Saczko, J., Kędzierska, E., Knap-Czop, K., Kotlińska, J., Michel, O., Kotowski, K., & Kulbacka, J. (2018). Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. En *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 106, pp. 1098–1107). Elsevier Masson SAS.
- Li, G., Dobhal, M. P., Graham, A., Shibata, M., Zheng, G., Kozyrev, A., & Pandey, R. K. (2003). Thermolysis of vic-dihydroxybacteriochlorins: Effect of the nature of substrates in directing the formation of chlorin - chlorin dimers with fixed and flexible orientations and their preliminary in vitro photosensitizing efficacy. *Journal of Organic Chemistry*, 68(10), 3762–3772.
- Liu, X., Sternberg, E., & Dolphin, D. (2008). Cross-metathesis of the vinyl group on tetrapyrrolic macrocycles: reactivity, selectivity, and mechanism. *The Journal of organic chemistry*, 73(17), 6542—6550.
- Lonin, I. S., Grin, M. A., Lakhina, A. A., & Mironov, A. F. (2012). Synthesis of chlorophyll a glycoconjugates using olefin cross-metathesis. *Mendeleev Communications*, 22, 157–158.
- Meares, A., Bhagavathy, G. V., Zik, S. R., Gallagher, T., & Ptaszek, M. (2018). Expanding  $\pi$ -Conjugation in Chlorins Using Ethenyl Linker. *The Journal of Organic Chemistry*, 83(16), 9076–9087.
- Muñoz Carreño, B. J., Pinzón Joya, J. R., & Romero Bohórquez, A. R. (2022). *Fotooxidación de fenoles utilizando aire y un fotosensibilizador derivado de clorofila.*

- Namuangruk, S., Sirithip, K., Rattanatwan, R., Keawin, T., Kungwan, N., Sudyodsuk, T., Promarak, V., Surakhot, Y., & Jungsuttiwong, S. (2014). Theoretical investigation of the charge-transfer properties in different meso-linked zinc porphyrins for highly efficient dye-sensitized solar cells. *Dalton Transactions*, 43(24), 9166–9176.
- Nowak-Stepniowska Agata., Pergoł Paulina., & Padzik-Graczyk Alfreda. (2013). *Photodynamic method of cancer diagnosis and therapy--mechanisms and applications*. 59(1), 53–63.
- Ocakoglu, K., Er, O., Kiyak, G., Lambrecht, F. Y., Gunduz, C., & Kayabasi, C. (2015). 131I-Zn-Chlorophyll derivative photosensitizer for tumor imaging and photodynamic therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 493(1–2), 96–101.
- Rawls, H. R., & Van Santen, P. J. (1970). A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autoxidation. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 47(4), 121–125.
- Robertson CA., Evans DH., & Abrahamse H. (2009). Photodynamic therapy (PDT) a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. *J Photochem Photobiol B*, 96(1), 1–8.
- Rodriguez Prada, K. I., & Pinzon Joya, J. R. (2018). Síntesis de compuestos fotosnesibles derivados de clorofila con potencial actividad biológica [recurso electrónico]. UIS.
- Schweitzer, C., & Schmidt, R. (2003). Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chemical Reviews*, 103(5), 1685–1757.

- Seherer, Jos. (1841). Chemisch-physiologische Untersuchungen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 40(1), 1–64.
- Sorokin, A. B. (2012). Photocatalytic Degradation of Pollutants with Emphasis on Phthalocyanines and Related Complexes. En V. Nyokong Tebello and Ahsen (Ed.), *Photosensitizers in Medicine, Environment, and Security* (pp. 433–467). Springer Netherlands.
- Suzuki, T., Midonoya, H., & Shioi, Y. (2009). Analysis of chlorophylls and their derivatives by matrix-assisted laser desorption/ionization–time-of-flight mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 390(1), 57–62.
- Szeimies, R.-M., Dräger, J., Abels, C., & Landthaler, M. (2001). Chapter 1 History of photodynamic therapy in dermatology. En P. Calzavara-Pinton, R.-M. Szeimies, & B. Ortel (Eds.), *Photodynamic Therapy and Fluorescence Diagnosis in Dermatology* (Vol. 2, pp. 3–15). Elsevier.
- Trnka, T. M., & Grubbs, R. H. (2001). The development of L2X2RU=CHR olefin metathesis catalysts: An organometallic success story. *Accounts of Chemical Research*, 34(1), 18–29.
- Wolstenholme, G. E. W., & FitzSimons, D. W. (1979). *Chlorophyll organization and energy transfer in photosynthesis*.
- Yoon Il Li Jia Zhu, S. Y. K. (2013). Advance in Photosensitizers and Light Delivery for Photodynamic Therapy. *Clin Endosc*, 46(1), 7–23.