



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE  
TECNOLOGÍA  
QUÍMICA



CONSEJO SUPERIOR  
DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS

# ISOMERIZACIÓN FOTOSENSIBILIZADA DE ESTILBENOS EN MEDIOS CONFINADOS

**Presentado por:**

Miguel Alcahuz Martín

**Directoras:**

Dra. M<sup>a</sup> Luisa Marín García

Dra. Paula Miró Richart

Máster en Química Orgánica Experimental e Industrial

Valencia, 20 de Septiembre de 2016



D/Dña **M<sup>a</sup> Luisa Marín García**, Profesora titular del Departamento de Química de la Universidad Politécnica de Valencia.

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo Fin de Máster, titulado “Isomerización fotosensibilizada de estilbenos en medios confinados” ha sido realizado en el **Instituto Universitario Mixto de Tecnología Química (UPV - CSIC)** por **Miguel Alcahuz Martin, Ingeniero Técnico Industrial especializado en Química Industrial titulado por la Universidad Politécnica de Valencia**, y para que así conste a los efectos oportunos, expiden y firman la presente autorización.

Valencia, 20 de Septiembre del 2016.

Fdo. Director del Trabajo Fin de Máster

## ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo
CBZ	Carbazol
CS	<i>Cis</i> -estilbeno
DCC	N,N'-d ciclohexilcarbodiimida
DIEA	N,N-Diisopropiletilamina
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	N,N-Dimetilformamida
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
TBTU	N,N,N',N'-Tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)uronio tetrafluoroborato
Hex	Hexano
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
TS	<i>Trans</i> -estilbeno
TE	Transferencia de energía
Te	Transferencia electrónica

# ÍNDICE

---

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Fotoquímica. Aspectos generales .....	2
1.2. Isomerización <i>cis/trans</i> de estilbeno .....	4
1.2.1. Isomerización térmica.....	4
1.2.2. Isomerización por irradiación directa .....	4
1.3. Isomerización fotosensibilizada .....	7
1.3.1. Sensibilizador .....	7
1.3.2. Isomerización fotosensibilizada mediante transferencia electrónica .....	7
1.3.3. Isomerización fotosensibilizada mediante transferencia de energía .....	8
1.3.4. Ácido 9-Carbazolacético (CBZ-CH <sub>2</sub> -COOH).....	9
1.3.5. Suprofen (SPF).....	9
1.4. Medios confinados.....	10
1.4.1. Ácidos biliares.....	10
1.4.1.1. Ácido cólico.....	11
1.4.1.2. Ácido desoxicólico.....	12
1.4.1.3. Ácido quenodesoxicólico .....	12
1.4.1.4. Ácido taurocólico.....	12
1.4.2. Funciones fisiológicas de los ácidos biliares.....	12
1.4.3. Agregados de los ácidos biliares .....	13
1.5. Isomerización fotosensibilizada de estilbenos en medios confinados .....	13
2. OBJETIVOS.....	15
3. PARTE EXPERIMENTAL .....	17
3.1. Caracterización de <i>cis/trans</i> -etilbeno, <i>trans</i> -4-etilbenmetanol y de los fotosensibilizadores .....	18
3.1.1. Fundamento teórico.....	18
3.1.2. Método experimental.....	18
3.1.3. Análisis de resultados.....	18
3.2. Irradiación de <i>cis/trans</i> -etilbeno en diferentes disolventes.....	19
3.2.1. Fundamento teórico.....	19
3.2.2. Método experimental.....	19
3.2.3. Análisis de resultados.....	19
3.3. Irradiación de <i>cis/trans</i> -etilbeno en diferentes agregados biliares .....	20
3.3.1. Fundamento teórico.....	20
3.3.2. Método experimental.....	20
3.3.3. Análisis de resultados.....	20

3.4. Control térmico de la fotoisomerización <i>cis/trans</i> del estilbeno.....	21
3.4.1. Fundamento teórico.....	21
3.4.2. Método experimental.....	21
3.4.3. Análisis de resultados.....	21
3.5. Irradiación fotosensibilizada de <i>trans</i> -etilbeno.....	21
3.5.1. Fundamento teórico.....	21
3.5.2. Método experimental.....	22
3.5.3. Análisis de resultados.....	23
3.6. Productos.....	24
3.6.1. Síntesis .....	24
3.6.1.1 Ácido cólico-ácido-9-carbazolacetico- <i>trans</i> -4-etilbenmetanol (CA- <i>trans</i> -Em-CBZ). .....	24
3.6.1.2 Ácido cólico- <i>trans</i> -4-etilbenmetanol (CA- <i>trans</i> -Em).....	24
3.6.1.3. Preparación de la diada carbazol-cólico-etilbeno .....	25
3.6.1.4 Preparación de la diada suprofeno-cólico-etilbeno .....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
4.1. Caracterización de <i>cis/trans</i> -etilbeno, <i>trans</i> -4-etilbenmetanol y de los fotosensibilizadores .....	28
4.1.1. Resultados .....	28
4.1.2. Discusión .....	29
4.2. Irradiación de <i>cis/trans</i> -etilbeno en diferentes disolventes.....	30
4.2.1. Resultados .....	30
4.2.2. Discusión .....	33
4.3. Irradiación de <i>cis/trans</i> -etilbeno en diferentes agregados biliares .....	38
4.3.1. Resultados .....	38
4.3.2. Discusión .....	42
4.4. Control térmico de la fotoisomerización <i>cis/trans</i> del estilbeno.....	48
4.4.1. Resultados .....	48
4.4.2. Discusión .....	49
4.5. Irradiación fotosensibilizada de <i>trans</i> -etilbeno.....	49
4.5.1. Resultados .....	49
4.5.2. Discusión .....	52
4.5.3. Estudios fotofísicos .....	54
4.6. Instrumentación general .....	58
5. CONCLUSIONES.....	59
6. ANEXOS .....	63
7. BIBLIOGRAFÍA .....	67

# 1. INTRODUCCIÓN.

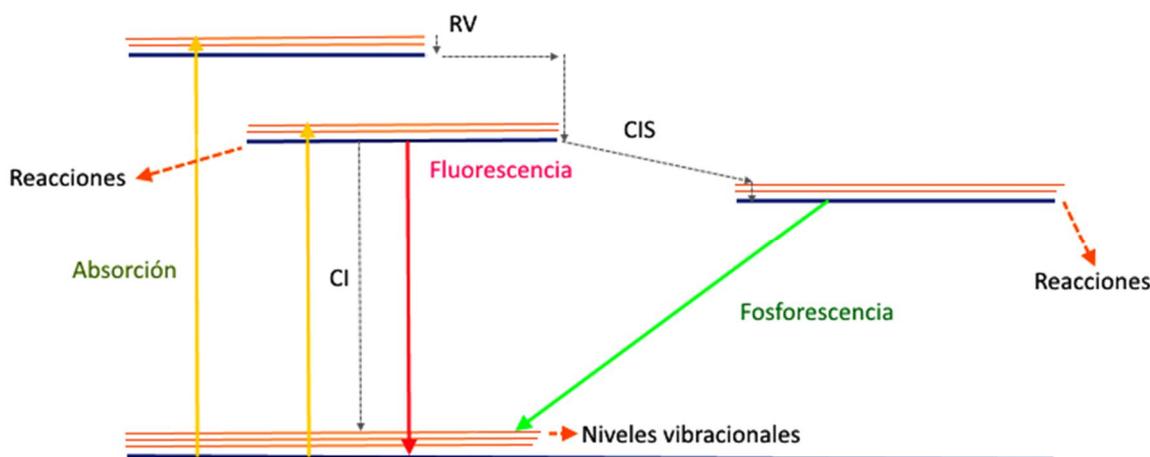
## 1.1 FOTOQUÍMICA: ASPECTOS GENERALES.

La fotoquímica es la ciencia que estudia tanto las transformaciones químicas como los procesos físicos, producidos tras la absorción de fotones por parte de las moléculas. El intervalo de longitudes de onda de la radiación empleada, abarca desde el UV-Vis (180-780 nm) hasta el IR cercano (780-2500 nm). [1]

Los dos principios físicos por los que se rige la fotoquímica son:

- La primera ley de la fotoquímica, o principio de Grotthus-Draper, que enuncia que para que una molécula dé a lugar una reacción fotoquímica tiene necesariamente que absorber radiación. La energía proveniente de la irradiación es absorbida selectivamente gracias a los cromóforos, grupos funcionales de la molécula que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas, tales como anillos aromáticos, dobles enlaces conjugados, grupos carbonilo, etc.
- La segunda ley de la fotoquímica, o principio de Stark-Einstein, afirma que por cada fotón absorbido únicamente se activa una molécula para sufrir una reacción posterior. [2]

Inicialmente, la molécula se encuentra en un estado electrónico no excitado ( $S_0$ ). Todo comienza cuando la molécula absorbe radiación (Absorción) y promociona sus electrones hasta niveles vibracionales más elevados de un excitado singlete de energía superior ( $S_n$ ). A partir de aquí, pueden ocurrir dos tipos de procesos: fotofísicos y fotoquímicos. El diagrama de Jablonski ilustra estos procesos (**Figura 1**).



**Figura 1.** Diagrama de Jablonski simplificado.

**PROCESOS FOTOFÍSICOS:** Abarcan todas aquellas transiciones que convierten un estado excitado en otro estado excitado diferente.

Los procesos fotofísicos pueden clasificarse en dos grupos: radiativos y no radiativos.

- Transiciones radiativas:

En éstas, la molécula absorbe o emite radiación electromagnética.

- Absorción S-S ( $S_0 + h\nu \rightarrow S_n$ ): Caracterizada experimentalmente por el coeficiente de absorptividad molar ( $\epsilon$ ). Este proceso transcurre en un tiempo de aproximadamente  $10^{-15}$  s.
- Emisión de fluorescencia ( $S_1 \rightarrow S_0 + h\nu$ ): Transición permitida y caracterizada por una constante de velocidad  $k_f$  con valores entre  $10^{-10}$ - $10^{-7}$  s. Pérdida de la energía electrónica a consecuencia de la emisión de un fotón.
- Emisión de fosforescencia ( $T_1 \rightarrow S_0 + h\nu$ ): Transición hacia el estado fundamental prohibida y caracterizada por una constante de velocidad  $k_p$  con valores entre  $10^{-6}$  - 1 s. Al ser una transición prohibida, los tiempos de vida de los estados excitados tripletes son considerablemente más largos que los del singlete.

- Transiciones no-radiativas:

La molécula en un estado excitado se convierte en otro estado excitado sin emisión de radiación electromagnética.

- Conversión interna (CI): Transiciones entre estados excitados de la misma multiplicidad de spin ( $S_1 \rightarrow S_0 + Q$ ) caracterizadas por una constante  $k_{ic}$  con valores entre  $10^{-11}$ - $10^{-9}$  s. Cuanto menor sea la diferencia de energía entre los estados excitados, mayor es la eficiencia de CI.
- Cruce entre sistemas (CIS): Transiciones prohibidas entre dos niveles vibracionales con diferente multiplicidad de spin ( $S_1 \rightarrow T_1 + Q$ , o bien,  $T_1 \rightarrow S_0 + Q$ ) caracterizadas por una constante  $k_{cis}$  con valores comprendidos entre  $10^{-10}$ - $10^{-8}$  s.
- Otro tipo de transición no-radiativa que ocurre entre estados vibracionales de un mismo estado electrónico es la relajación vibracional (RV). A temperatura ambiente, esta disipación de energía, se produce en un tiempo de alrededor  $10^{-12}$  s.

**PROCESOS FOTOQUÍMICOS:** Son aquellas transformaciones químicas producidas a partir de un estado excitado, tanto singlete como triplete. Implican una modificación de la estructura de la molécula, o su reacción con otras del medio. [1,3]

## 1.2 ISOMERIZACIÓN CIS-TRANS DE ESTILBENO

El estilbena es un compuesto orgánico perteneciente a la familia de los diariletlenos, que tiene la capacidad de isomerizarse (*cis-trans*) fotoquímica o térmicamente de forma reversible. Este proceso de isomerización va acompañado de un cambio muy notable en su geometría espacial.

La isomerización *cis-trans* del estilbena, y sus análogos sustituidos, ha sido objeto de numerosos estudios a lo largo de muchos años, por su estabilidad térmica y química, y disponibilidad comercial, llegando a constituir un modelo de estudio para la isomerización de las olefinas *cis/trans*.

### 1.2.1 Isomerización térmica

Para que ocurra la isomerización térmica *cis-trans* debe superarse la barrera energética de rotación del enlace  $\pi$  del C=C, que posee un valor aproximado de 60 kcal/mol. Otro factor a tener en cuenta es la estabilidad termodinámica de los dos isómeros: el isómero *trans*-estilbena es termodinámicamente más estable que el *cis*-estilbena, con una diferencia de aproximadamente 4,5 kcal/mol.

El equilibrio térmico en la isomerización estará más desviado hacia la formación del *trans*, ya que en su estado fundamental, éste posee menor energía.

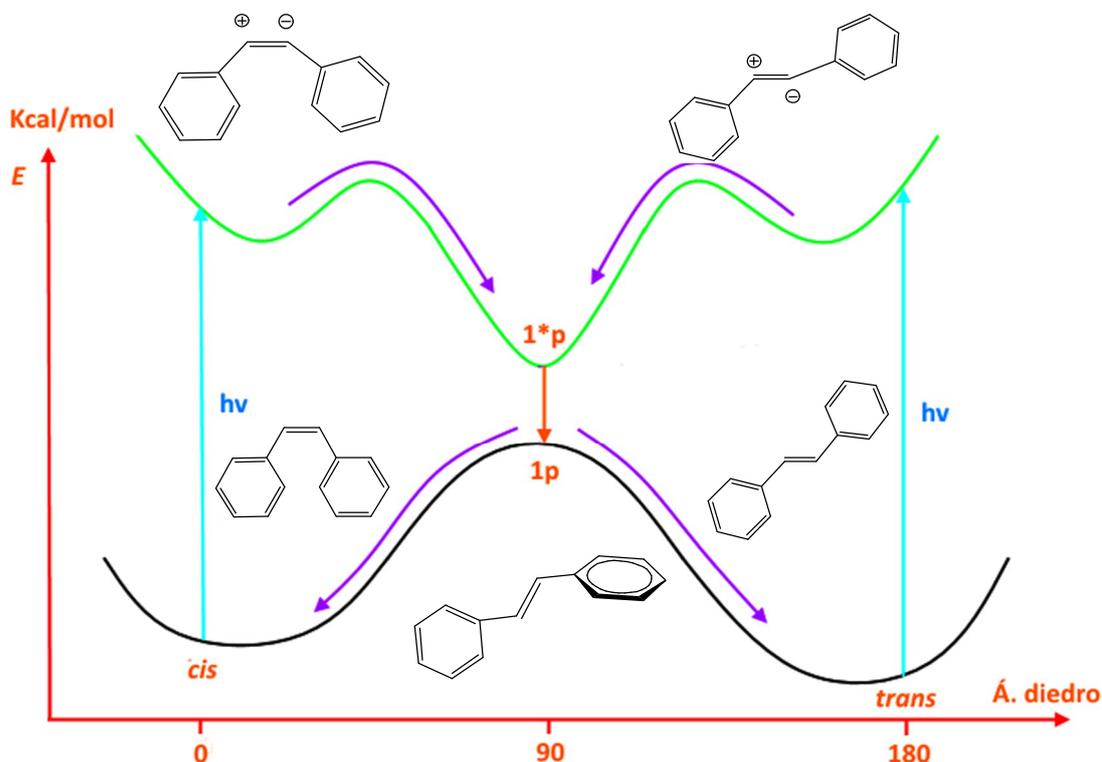
La isomerización en estado líquido del *cis*-estilbena a *trans*-estilbena requiere temperaturas elevadas para conseguir cierta conversión. A temperaturas inferiores a 200°C el grado de conversión es demasiado pequeño y muy lento, sin embargo, aumentando ligeramente la temperatura hasta 214°C se consigue mejorar la conversión entre un 7% y un 9% en 20 horas.

El problema surge cuando se sigue aumentando la temperatura. Un aumento considerable de la temperatura favorece el grado de descomposición de la molécula, tanto del *cis* como del *trans*. [4] Otros autores afirman haber conseguido mejores ratios de conversión empleando catalizadores como yodo molecular, sodio o peróxido de nitrógeno. [5] Se ha llegado a la conclusión de que esto es debido al carácter paramagnético de estas moléculas, que interactúan con los cuatro electrones del doble enlace.

### 1.2.2 Fotoisomerización por irradiación directa

La isomerización fotoquímica, o fotoisomerización, del *cis-trans* estilbena es un tipo de reacción fotoquímica que ocurre a partir de un estado excitado, tanto singlete como

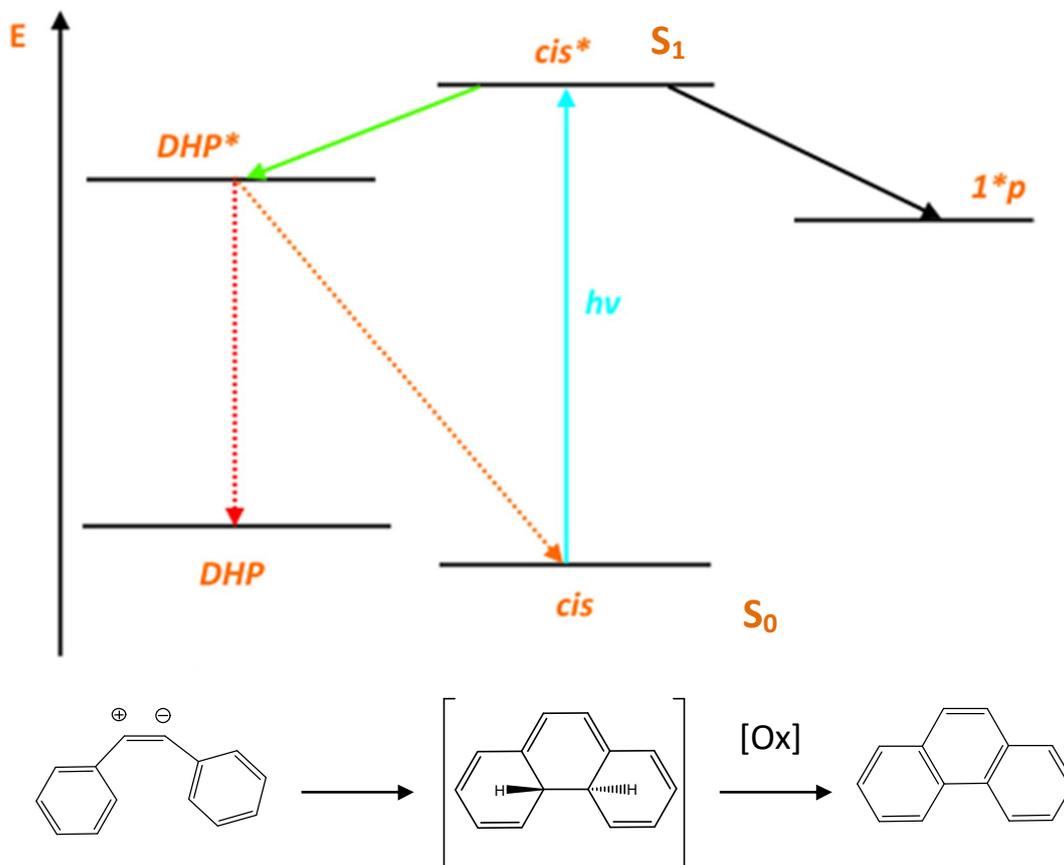
triplete. Para el caso del singlete, la fotoisomerización parte del estado excitado singlete de menor energía, el  $S_1$ , siendo para el *trans* 119 kcal/mol y el *cis* 115 kcal/mol (Figura 2). Los estados excitados  $S_1$  formados a partir de los estados fundamentales, giran un ángulo de  $25^\circ$  para el *cis* y  $13^\circ$  para el *trans*-estilbeno. Además, el doble enlace C=C sufre una elongación, y la distancia entre los carbonos aumenta un 4,5%. [6]



**Figura 2.** Diagrama de Jablonski para la fotoisomerización por irradiación directa a partir del singlete

Ambos estados excitados  $S_1$  se relajan rápidamente dando lugar a una especie zwitteriónica intermedia, llamada "phantom" ( $1^*p$ ), mucho menos energética. Por conversión interna, el "phantom" regresa al estado fundamental  $S_0$  ( $1p$ ), que decae equitativamente a los estados fundamentales de los isómeros *cis/trans*.

Una pequeña proporción del estado  $S_1$  del *trans* regresa al isómero *trans* emitiendo fluorescencia, sin embargo, desde el estado  $S_1$  del *cis* prácticamente no se observa emisión de fluorescencia, lo que indica que una parte sigue otro proceso distinto a la formación del "phantom". Parte del *cis*- $S_1$  puede sufrir una reorganización electrocíclica, y generar el compuesto  $4\alpha, 4\beta$ -dihidrofenantreno (DHP) que se oxidará a fenantreno (**Figura 3**).



**Figura 3.** Reorganización electrocíclica del *cis*- $S_1$ .

El modelo de fotoisomerización a partir del estado excitado triplete (para el *trans* 48 kcal/mol y *cis* 57 kcal/mol) no muestra mucha diferencia con respecto a la producida a partir del singlete. La mayor diferencia se encuentra en que el "phantom" en el estado triplete es biradical mientras que el "phantom" del singlete es zwitteriónico. No se observa emisión de fosforescencia y la relajación no radiativa da resultados muy parecidos a los obtenidos desde el singlete [6, 7, 9-13]

El proceso de isomerización puede verse afectado por varios factores:

- La temperatura, la polaridad y viscosidad del disolvente pueden afectar a la fotoisomerización. La competencia entre la fluorescencia y la isomerización *cis/trans* es extremadamente sensible a ligeras variaciones de estas magnitudes.

- Si se trata de un derivado sustituido del estilbena (normalmente los sustituyentes se encuentran localizados en las posiciones 4 o 4,4'), la naturaleza de éste afectará al estado excitado desde el que se produce la isomerización. Es decir, los derivados alquílicos y alcóidos tienden a realizar la isomerización a partir del estado excitado singlete, mientras que el grupo nitro a partir del triplete. [4,5]

## 1.3 ISOMERIZACIÓN FOTOSENSIBILIZADA

### 1.3.1 Sensibilizadores

Un sensibilizador fotoquímico, o fotosensibilizador, es una especie química capaz de promover una transformación fotoquímica o fotofísica (proceso de fotosensibilización), al absorber la radiación y, desde el estado excitado, transferir su energía de excitación a las moléculas reaccionantes (por ejemplo, generación de estados tripletes inaccesibles por excitación directa) sin experimentar cambio alguno.

Para llevar a cabo un proceso fotosensibilizado con éxito, hay que tener en cuenta ciertas características del fotosensibilizador:

- El valor de energía de singlete o triplete debe ser mayor que el de la molécula reaccionante.
- Debe absorber intensamente a una longitud de onda distinta de la que absorbe la molécula reaccionante.
- Debe poseer baja reactividad química. [1,3]

Los procesos de sensibilización pueden clasificarse en dos: transferencia electrónica y transferencia de energía.

### 1.3.2 Isomerización fotosensibilizada mediante transferencia electrónica

En la transferencia electrónica, el estado singlete o triplete del sensibilizador interacciona con el estado fundamental del sustrato sensibilizado. En ésta interacción se produce una transferencia de un electrón de un sustrato a otro.

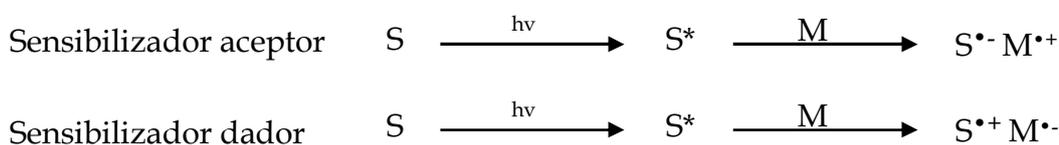
Dependiendo de la naturaleza de la molécula y del fotosensibilizador, aceptora (oxidante) o dadora (reductora), la transferencia del electrón puede producirse, o bien desde el sustrato al sensibilizador, o al revés, del sensibilizador al sustrato. Independientemente de ello, el proceso de transferencia electrónica generará un catión-radical y un anión-radical, que se verán fuertemente afectados por el medio en el que se encuentren, polaridad, temperatura, interferentes, etc.

La termodinámica de la reacción está determinada por la variación de energía libre,  $\Delta G$ ; controlada por los potenciales de reducción y oxidación de las especies que intervienen y las energías de los estados excitados, bien sea singlete o triplete, de las moléculas que absorben luz. En este contexto, la ecuación de Rehm-Weller permite averiguar si un proceso es ( $\Delta G < 0$ , exergónico) o no ( $\Delta G > 0$ , endergónico) espontáneo.

$$\Delta G(\text{kcal/mol}) = -23,06 * [E(\text{dador}) - E(\text{aceptor}) + (2,6/\epsilon) - 0,13] - E(S_1 \text{ ó } T_1)$$

**Ecuación 1.** Ecuación de Rehm-Weller.

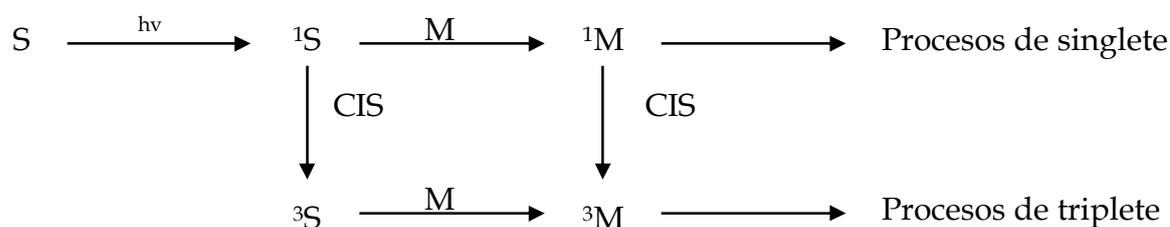
Muchas isomerizaciones de estilbenos a partir del estado triplete se han llevado a cabo mediante procesos de transferencia electrónica oxidativa empleando sales de pirilio (pirilio y tiopirilio) en disolución [14,15] y en medios confinados [16]. También se ha empleado fluorenona [17] y benzofenonas [18] para llevar a cabo ensayos similares.



**Figura 4.** Proceso de transferencia electrónica oxidativa y reductiva.

### 1.3.3 Isomerización fotosensibilizada mediante transferencia de energía

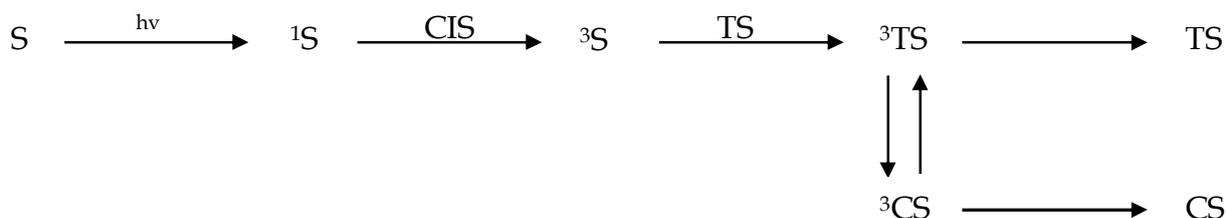
En la transferencia de energía, el estado excitado, habitualmente, triplete, aunque puede darse desde el singlete, de una molécula dadora (S) se desactivará al transferir esa energía a una molécula aceptora (M) que alcanzará un estado excitado triplete.



**Figura 5.** Proceso simplificado de transferencia de energía.

Para que ello se produzca, la molécula dadora debe contar con un valor de  $E_T$  mayor que la de la aceptora, en nuestro caso *cis/trans*-estilbeno, y transferirá su energía a éste último generando su estado excitado triplete. [3]

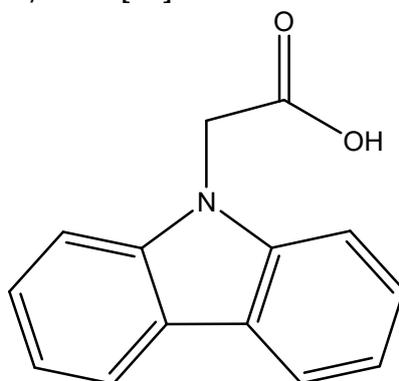
Además, dependiendo de cuánto mayor sea el valor de la energía triplete del fotosensibilizador la ratio *cis/trans* se verá afectada.



**Figura 6.** Irradiación fotosensibilizada del *cis/trans*-estilbeno.

### 1.3.4 Ácido 9-Carbazolacético (CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH)

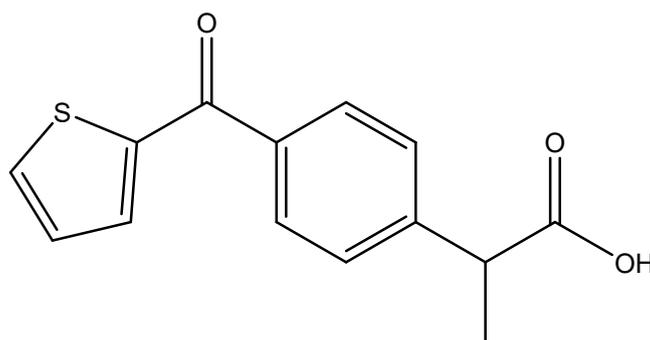
El ácido 9-carbazolacético es una de las moléculas escogidas para realizar ensayos de fotosensibilización. Es un derivado del carbazol (CBZ), una molécula cuya fotofísica comenzó a estudiarse en 1980, [19] y que actualmente está bien descrita. Sin embargo, las propiedades de su derivado no lo están, pero se ha comprobado que los derivados N-sustituídos presentan una energía de triplete ligeramente inferior a su precursor, por ejemplo, la E<sub>T</sub> del carbazol está entre 68-70 kcal/mol, mientras que su derivado N-metil en 66 kcal/mol y N-acetil en 64 kcal/mol. [20]



**Figura 7.** Estructura del ácido 9-carbazolacético.

### 1.3.5 Suprofeno (SPF)

El suprofeno (SPF) es un antiinflamatorio no esteroideo (AINEs), con propiedades fotosensibilizadoras, perteneciente al grupo de los ácidos 2-arilpropiónicos. Es un fármaco empleado para tratar los dolores y reducir la inflamación causada por la artritis reumatoide, el reuma y diversas lesiones musculares, actúa bloqueando la enzima COX, inhibiendo la producción de prostaglandinas.



**Figura 8.** Estructura del suprofeno (SPF).

Muchos fármacos de este tipo son capaces de fotosensibilizar reacciones adversas, en la piel de los pacientes, cuando se exponen a la luz solar durante el tratamiento, desencadenando algún tipo de fototoxicidad. [21,22]

El suprofeno es una de las moléculas seleccionadas para llevar a cabo la isomerización de *trans*-estilbeno a través de un proceso de transferencia de energía. Su estado triplete tiene carácter  $\pi\pi^*$  con una energía de 58 kcal/mol. A partir del primer estado excitado triplete, el SPF sufre descarboxilación, dando lugar a diversas especies intermedias. Este proceso se ve favorecido por la temperatura, que aumenta la ratio de degradación del triplete. [23]

## 1.4 MEDIOS CONFINADOS

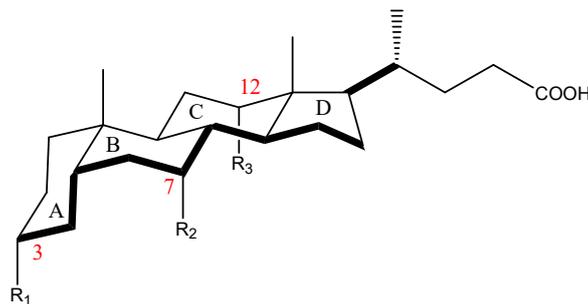
### 1.4.1 Ácidos biliares.

Los ácidos biliares (AB) son un grupo de compuestos solubles en agua pertenecientes a la familia de los esteroides, biosintetizados a partir de la degradación metabólica del colesterol en los hepatocitos del hígado.

Su estructura general consta de un esqueleto de 17 carbonos de ciclopentanoperhidrofenantreno, y una cadena alifática de 5 carbonos que termina con un grupo carboxílico. Las mayores diferencias estructurales entre los ácidos biliares se encuentran, en el número de grupos hidroxilo (uno, dos o tres) y en la orientación en el espacio de los mismos.

Los AB se dividen en dos grupos: primarios y secundarios. Los primarios se obtienen directamente del metabolismo del colesterol. Éstos, habitualmente, se encuentran conjugados con la glicina o la taurina, formando un enlace amida en el grupo carboxílico

terminal. La desconjugación de los productos formados del proceso anterior y la deshidroxilación en el carbono C-7, da lugar a los ácidos biliares secundarios.



Ácido biliar	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Cólico (CA)	OH	OH	OH
Desoxicólico (DCA)	OH	H	OH
Quenodesoxicólico (CDCA)	OH	OH	H
Ursodesoxicólico (UCA)	OH	OH( $\beta$ )	H
Litocólico (LCA)	OH	H	H

**Figura 9.** Estructura básica de los ácidos biliares.

Una fusión poco habitual de los anillos A y B en *cis*, provoca que los grupos hidroxilos queden orientados hacia la cara cóncava ( $\alpha$ ) de la molécula, haciendo que adquiera carácter hidrofílico (parte polar), mientras que hacia la cara convexa ( $\beta$ ) quedan orientados los grupos metilo y la cadena alifática, otorgando a la cara  $\beta$  carácter hidrofóbico (parte apolar), convirtiendo a los ácidos biliares en moléculas anfifílicas. [24]

### 1.4.1.1 Ácido cólico

El ácido cólico es un ácido biliar directamente biosintetizado a partir del catabolismo del colesterol, por lo que es un ácido biliar primario. Posee tres grupos hidroxilos en la cara  $\alpha$ ; uno en el carbono C-3, otro en el C-7, y otro en el C-12, por lo que es el único trihidroxílico de todos los ácidos biliares. Es uno de los más abundantes en la bilis humana (31%).

### 1.4.1.2 Ácido desoxicólico

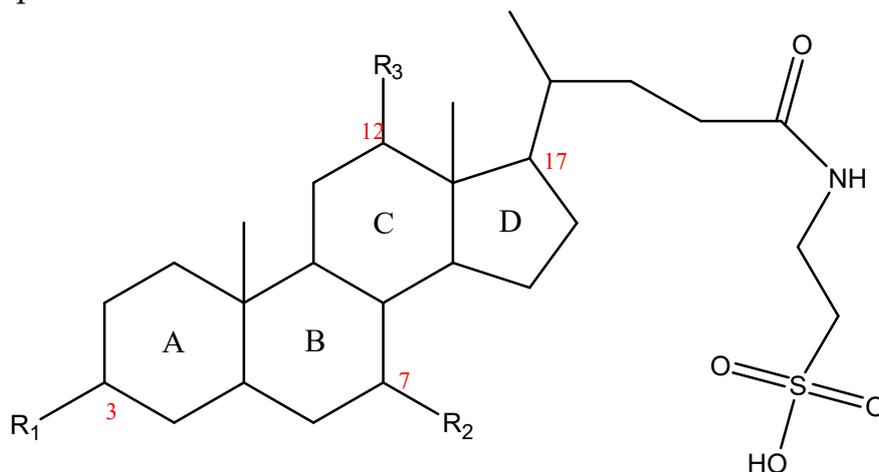
El ácido desoxicólico es un ácido biliar secundario sintetizado a partir de la glicodesconjugación o taurodesconjugación, y de la posterior deshidroxilación, mediante la enzima 7 $\alpha$ -hidroxilasa, del C-7 del ácido cólico.

### 1.4.1.3 Ácido quenodesoxicólico

El ácido quenodesoxicólico es un ácido biliar primario. Es el más abundante en la bilis humana (45%). Se diferencia del ácido cólico en que ha sufrido un deshidroxilación en C-12., causada por la enzima 12 $\alpha$ -hidrolasa.

### 1.4.1.4 Ácido taurocólico

El ácido taurocólico es un derivado del ácido cólico conjugado mediante unión peptídica con la taurina en el C-17. Forma parte de los ácidos biliares primarios. La desconjugación del aminoácido dará lugar a un ácido biliar secundario, dependiendo de la enzima con la que interaccione en el tracto intestinal.



**Figura 10.** Estructura del ácido taurocólico

## 1.4.2 Funciones fisiológicas de los ácidos biliares

Las funciones fisiológicas de los ácidos biliares en el organismo son muy variadas, incluyen la emulsificación de las grasas facilitando su accesibilidad a las lipasas, permiten una mejor absorción de las vitaminas liposolubles (A, K, D y E), evitan la precipitación del colesterol en la vesícula biliar, ya que su síntesis implica un correcto funcionamiento del mecanismo de degradación y eliminación del colesterol, son inhibidores de la colinesterasa y propician una mejor absorción del hierro.





## **2. OBJETIVOS.**

Durante la realización de este proyecto se marcaron como objetivos principales:

- Explorar la influencia de la polaridad del disolvente en la fotoisomerización por irradiación directa de *cis/trans*-estilbeno.
- Explorar la influencia de un entorno poco polar y semirrígido en la fotoisomerización por irradiación directa de *cis/trans*-estilbeno empleando para ello la encapsulación en agregados de diferentes ácidos biliares.
- Investigar la contribución térmica a la fotoisomerización por irradiación directa de *cis/trans*-estilbeno.
- Estudiar la isomerización fotosensibilizada intermolecular de *trans*-estilbeno empleando ácido 9-carbazolacético como fotosensibilizador.
- Preparar una diada de *trans*-estilbeno y ácido 9-carbazolacético para estudiar la isomerización fotosensibilizada intramolecular.
- Investigar el mecanismo de la reacción de isomerización fotosensibilizada mediante experimentos fotofísicos de desactivación de la emisión del fotosensibilizador.

### **3. PARTE EXPERIMENTAL.**

Este proyecto puede dividirse en cuatro partes. La primera, consiste en la caracterización fotofísica de todos los compuestos clave. La segunda, la irradiación directa de estilbenos en disolución y en agregados de ácidos biliares. La tercera, consiste en un control térmico de la reacción de isomerización. Por último, se muestran los resultados de la irradiación fotosensibilizada de *trans*-estilbeno en disolución.

### 3.1 CARACTERIZACIÓN DE CIS/TRANS-ESTILBENO, TRANS-4-ESTILBENMETANOL Y DE LOS FOTOSENSIBILIZADORES.

#### 3.1.1 Fundamento teórico.

Se registraron los espectros UV-Vis de los estilbenos con los que se iba a trabajar; el *cis/trans*-estilbeno, el *trans*-4-estilbenmetanol, y los fotosensibilizadores: el ácido 9-carbazolacético (CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH) y el suprofeno (SPF). De esta forma, se identificaron las zonas dónde absorbe cada isómero, se decidieron las longitudes de onda óptimas para irradiar y se identificaron los picos máximos de absorción.

#### 3.1.2 Método experimental.

Para la obtención de los espectros de absorción de ultravioleta-visible (UV-Vis) del *cis/trans*-estilbeno se prepararon dos disoluciones madre de concentración  $7,5 \times 10^{-3}$  M. Para el *trans*, que es un sólido, se pesaron 33,8 mg y se diluyeron en 25 mL de acetonitrilo. Para el *cis*, que es un líquido, se midieron 33  $\mu$ L y se diluyeron en 25 mL de acetonitrilo.

Para la preparación de la disolución madre de  $7,5 \times 10^{-3}$  M de *trans*-4-estilbenmetanol se pesaron 39,3 mg del producto y se diluyeron en 25 mL de acetonitrilo.

La disolución del CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH se preparó pesando 8,4 mg en 5 mL de metanol.

En cuanto a la disolución de suprofeno, se pesaron 48,8 mg del compuesto y se diluyeron en 25 mL de acetonitrilo.

De cada una de estas disoluciones, se tomaron 20  $\mu$ L y se diluyeron en 3 mL de acetonitrilo, permitiendo tener una concentración de  $5 \times 10^{-5}$  M para realizar las mediciones en el UV.

#### 3.1.3 Análisis de resultados.

Los resultados obtenidos del UV permiten relacionar la absorbancia con la longitud de onda. Gracias a la ecuación de Lambert-Beer, se puede calcular la absortividad molar ( $\epsilon$ , M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>), a cada longitud de onda.

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

Dónde  $A$  es la absorbancia,  $\epsilon$  es el coeficiente de absorptividad molar,  $c$  es la concentración de la muestra y  $l$  longitud de la cubeta. Las absorptividades molares en función de la longitud de onda para cada uno de los compuestos pueden verse en la **Figura 12**, **Figura 13**, **Figura 14** y **Figura 15**.

## **3.2 IRRADIACIÓN DEL CIS/TRANS-ESTILBENO EN DIFERENTES DISOLVENTES.**

### **3.2.1 Fundamento teórico.**

Se monitorizó mediante UV-Visible cómo afecta la polaridad de distintos disolventes a la fotoisomerización del *cis/trans*-estilbeno.

### **3.2.2 Método experimental.**

Las disoluciones preparadas para la obtención del espectro de absorción y absorptividades molares del *cis/trans*-estilbeno, se aprovecharon para realizar ensayos de la isomerización *cis/trans* del estilbeno en acetonitrilo, n-hexano y metanol.

Para la irradiación de los isómeros, se cogieron dos cubetas de 3 mL; cada una conteniendo un isómero con una concentración de  $5 \times 10^{-5}$  M (*ver apartado 3.1.2*). Se introdujeron dentro del fotorreactor, en el cual, se colocó en un lateral, solamente, una lámpara (que presenta un máximo de emisión a 350 nm), de modo que quedara a la altura de las cubetas.

Para comprobar el avance la fotoisomerización, se registraron medidas en el UV a diferentes tiempos. El rango de tiempos fue de 0 hasta 60 minutos (0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 18, 24, 30, 40, 50, 60 min).

### **3.2.3 Análisis de resultados.**

El avance de la fotoisomerización de cada uno de los isómeros en distintos disolventes se monitorizó por UV-Vis (absorbancia frente a longitud de onda). Para el *trans*-estilbeno, como producto de partida, ver **Figura 16**, **Figura 17** y **Figura 18**. Para el *cis*-estilbeno, ver **Figura 19**, **Figura 20** y **Figura 21**.

### 3.3 IRRADIACIÓN DEL *CIS*/*TRANS*-ESTILBENO EN AGREGADOS DE DIFERENTES ÁCIDOS BILIARES.

#### 3.3.1 Fundamento teórico.

Se estudió cómo afecta un entorno semirrígido a la velocidad de fotoisomerización y al equilibrio entre producto inicial y final empleando como producto de partida tanto *trans*-estilbeno como *cis*-estilbeno.

#### 3.3.2 Método experimental.

Se prepararon dos disoluciones de *cis/trans*-estilbeno  $5 \cdot 10^{-5}$  M (*ver apartado* 3.1.2) en cuatro agregados biliares.

Las disoluciones de los agregados biliares (200 mM) se prepararon de la siguiente forma:

- Para el ácido cólico se pesaron 4,3 g de colato sódico y se disolvieron en 50 mL de una disolución de H<sub>2</sub>O/NaCl 0,2 M (2,9 mg en 250 mL).
- Para el ácido desoxicólico se pesaron 4,1 g de desoxicolato sódico y se disolvieron en 50 mL de una disolución de H<sub>2</sub>O/NaCl 0,2 M.
- Para el ácido taurocólico se pesaron 0,1 g de taurocolato sódico y se disolvieron en 10 mL de una disolución de H<sub>2</sub>O/NaCl 0,2 M.
- Para el ácido quenodesoxicólico se pesaron 82,9 mg de quenodesoxicolato sódico en 10 mL de una disolución de H<sub>2</sub>O/NaCl 0,2 M.

Para la irradiación los isómeros, se prepararon en paralelo cubetas de 3 mL; cada una conteniendo 3 mL de cada uno de los ácidos biliares con una concentración de 200 mM y se introdujeron 20  $\mu$ L de *cis*-estilbeno o *trans*-estilbeno ( $7,5 \times 10^{-3}$  M) para tener una concentración final  $5 \times 10^{-5}$  M. Se introdujeron dentro del fotorreactor, en el cual, se colocó en un lateral, una lámpara (que presenta un máximo de emisión a 350 nm), de modo que quedara a la altura de las cubetas.

Para comprobar el avance la fotoisomerización, se registraron medidas en el UV a diferentes tiempos. El rango de tiempos fue de 0 hasta 60 minutos (0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 18, 24, 30, 40, 50, 60 min).

#### 3.3.3 Análisis de resultados.

De la misma forma que para los estudios en diferentes disolventes, se estudió el avance de la reacción dentro de agregados biliares. Se registró el UV-Vis en función del tiempo de irradiación para ver la evolución de la reacción en función de la absorbancia. Para el *trans* ver **Figura 29**, **Figura 31**, **Figura 33** y **Figura 35**. Para el *cis* ver **Figura 30**, **Figura 32**, **Figura 34** y **Figura 36**.

### 3.4 CONTROL TÉRMICO DE LA FOTOISOMERIZACIÓN CIS/TRANS DEL ESTILBENO.

#### 3.4.1 Fundamento teórico.

Se registraron los espectros UV-Vis del *cis/trans*-estilbENO para controlar la isomerización térmica y asegurar que en los experimentos realizados en el fotorreactor la reacción de isomerización que está teniendo lugar es fotoinducida.

#### 3.4.2 Método experimental.

Las disoluciones preparadas del *cis/trans*-estilbENO, se aprovecharon para realizar los ensayos de la isomerización térmica *cis/trans* del estilbENO en acetonitrilo. Las disoluciones de ambos contenían una concentración de  $5 \times 10^{-5}$  M (*ver apartado 3.1.2*). Se introdujeron dentro del fotorreactor tapadas con papel de aluminio, en el cual, se colocó en un lateral, una lámpara, de modo que quedara a la altura de las cubetas.

Para comprobar el avance la isomerización térmica, se registraron medidas en el UV a diferentes tiempos. El rango de tiempos fue de 0 hasta 60 minutos (0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 18, 24, 30, 40, 50, 60 min). La temperatura alcanzada en el fotorreactor osciló entre 30-32°C en las sesiones de trabajo.

#### 3.4.3 Análisis de resultados.

A partir de la información obtenida del UV, *ver Figura 47* y *Figura 48*, es posible determinar el efecto de la temperatura sobre la reacción de isomerización a partir de cada uno de los isómeros.

### 3.5 IRRADIACIÓN FOTOSENSIBILIZADA DE TRANS-ESTILBENO.

#### 3.5.1 Fundamento teórico.

Se registraron los espectros UV-Vis para seguir la reacción de isomerización fotosensibilizada, tanto intermolecular como intermolecular. Para obtener información sobre qué ruta sigue la fotosensibilización se registraron los espectros del fotosensibilizador en presencia de concentraciones variables de *cis* o *trans*-estilbENO.

### 3.5.2 Método experimental.

Los ensayos de irradiación fotosensibilizada se pueden dividir en dos partes: la primera, ensayos fotoquímicos realizados en la lámpara monocromática, y la segunda, ensayos fotofísicos realizados en el fluorímetro.

#### A.) Ensayos fotoquímicos.

Todas las irradiaciones se realizaron con una lámpara monocromática, irradiando a 250 nm.

Para comprobar el avance la fotoisomerización, se registraron medidas en el UV a diferentes tiempos. El rango de tiempos fue de 0 hasta 60 minutos (0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 18, 24, 30, 40, 50, 60 min) excepto en la irradiación fotosensibilizada intramolecular que se dejó hasta los 210 minutos (90, 120, 150, 210 min).

Se prepararon disoluciones de *trans*-estilbeno, CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH y ácido carbazolacético-*trans*-4-estilbenmetanol (*trans*-Em-CBZ) diada empleada en la irradiación fotosensibilizada intramolecular cuya síntesis se describe más adelante) de la siguiente forma:

- Para el *trans*-estilbeno se pesaron 39,4 mg y se disolvieron en 25 mL de CH<sub>3</sub>CN para tener una concentración  $7,5 \times 10^{-3}$  M.
- Para el CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH se pesaron 8,5 mg y se disolvieron en 5 mL de CH<sub>3</sub>CN para tener una concentración  $7,5 \times 10^{-3}$  M.
- Para el ácido carbazolacético-*trans*-4-estilbenmetanol (*trans*-Em-CBZ) se pesaron 15,6 mg en 5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> para tener una concentración  $7,5 \times 10^{-3}$  M.

#### A.1.) Irradiación fotosensibilizada:

- Para la irradiación fotosensibilizada intermolecular a una cubeta de 3 mL que contenía 3 mL de acetonitrilo se le añadieron 20  $\mu$ L de *trans*-estilbeno  $7,5 \times 10^{-3}$  M y 20  $\mu$ L de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH  $7,5 \times 10^{-3}$  M.
- Para la irradiación fotosensibilizada intramolecular, se cogieron 20  $\mu$ L de la disolución de la diada *trans*-Em-CBZ  $7,5 \times 10^{-3}$  M y se llevaron a una cubeta que contenía 3 mL con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

#### A.2.) Experimentos control:

Se cogieron dos cubetas de 3 mL; cada una conteniendo 3 mL de CH<sub>3</sub>CN; a una se le añadieron 20  $\mu$ L de *trans*-estilbeno  $7,5 \cdot 10^{-3}$  M y a la otra 20  $\mu$ L de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH  $7,5 \times 10^{-3}$  M.

## B.) Ensayos fotofísicos:

En los ensayos en el fluorímetro, la concentración idónea de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH en la cubeta se determinó con el UV, ajustado a una absorbancia de 0,1 a 250 nm.

Para los ensayos en el fluorímetro se prepararon las siguientes disoluciones de *trans*-estilbeno y *cis*-estilbeno:

- Para el *trans*-estilbeno se pesaron 45 mg y se disolvieron en 5 mL de CH<sub>3</sub>CN para tener una concentración  $5 \times 10^{-2}$  M.
- Para el *cis*-estilbeno se midieron 44,5  $\mu$ L y se disolvieron en 5 mL de CH<sub>3</sub>CN para tener una concentración  $5 \times 10^{-2}$  M.

### 2.1.) Experimentos de desactivación de la fluorescencia de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH:

Se registró la evolución de la emisión (entre 260 y 460 nm) obtenida por excitación a 250 nm tras cada adición de *trans* o *cis*-estilbeno.

A la disolución de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH se adicionaron volúmenes crecientes de las disoluciones de cada uno de los isómeros por separado (provenientes de las disoluciones detalladas previamente); 2,5, 5, 10, 20  $\mu$ L.

### 2.2.) Experimentos control:

Los blancos (control) se realizaron añadiendo las mismas cantidades de *trans* o *cis*-estilbeno a cubetas de 3 mL que no contenían CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH.

## 3.5.3 Análisis de resultados.

A partir de los espectros de UV de la reacción de isomerización fotosensibilizada intermolecular e intramolecular, **Figura 51** y **Figura 52** respectivamente, y los obtenidos de las disoluciones control, **Figura 48** y **Figura 50**, se pudo obtener del proceso de fotosensibilización.

Además se obtuvieron matemáticamente dos espectros más al restar los datos de la disolución control de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH, a las obtenidas de las irradiaciones intermoleculares e intramoleculares **Figura 53** y **Figura 54**, para asegurar que la reacción transcurría adecuadamente.

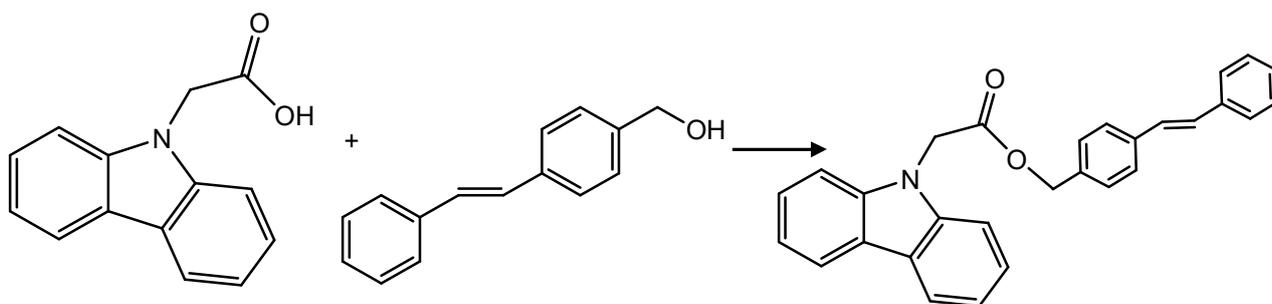
Los espectros obtenidos del fluorímetro, **Figura 56** y **Figura 58**, *trans* y *cis* respectivamente, así como sus controles, **Figura 55** y **Figura 57**, unido a los cálculos realizados (Rehm-Weller), proporcionaron información acerca de la ruta de isomerización fotosensibilizada del *trans*-estilbeno.

## 3.6 PRODUCTOS.

### 3.6.1 Síntesis.

#### 3.6.1.1 Carbazolacetato de *trans*-4-estilbenmetanol (*trans*-Em-CBZ)

A una disolución de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH (100 mg; 0,15 mmol) y TBTU (185 mg; 0,58 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se le añadieron 0,8 mL (4,6 mmol) de DIEA, y se dejó en agitación durante 1 hora, en una atmosfera de N<sub>2</sub>. Por otro lado, se preparó otra disolución de *trans*-4-estilbenmetanol (121 mg; 0,58 mmol) en DMF (5 mL), también en atmosfera de N<sub>2</sub>. Una vez transcurrida la hora, se adicionó ésta última disolución a la primera, y se dejó en agitación durante 1 día, en ausencia de luz. Se secó y se purificó mediante columna cromatográfica empleando AcOEt:Hex en gradiente. La proporción inicialmente era 30:70 (200 mL), luego 40:60 (200 mL), y finalmente 50:50. Las fracciones que contenían el producto se concentraron se secaron y se registró su espectro de RMN <sup>1</sup>H.



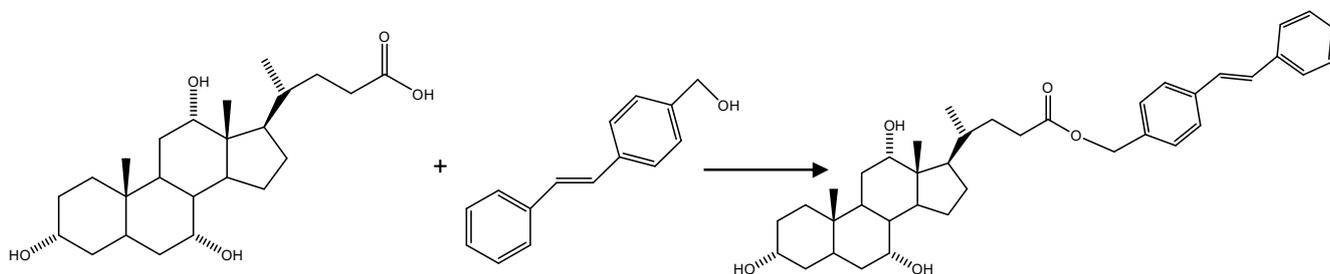
**Esquema 1.** Síntesis de *trans*-Em-CBZ

A continuación se detallan brevemente los ensayos en marcha hacia la preparación de diadas conteniendo carbazol y *trans*-estilbeno o suprofeno y *trans*-estilbeno con un espaciador de ácido cólico. La síntesis de estas diadas no está completa por lo que no se han llegado a emplear en irradiaciones fotosensibilizadas.

#### 3.6.1.2 Colato *trans*-4-estilbenmetanol (CA-*trans*-Em)

A una disolución de ácido cólico (631 mg; 1,5 mmol) y TBTU (494 mg; 1,5 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se le añadieron 0,8 mL (4,6 mmol) de DIEA, y se dejó en agitación durante 1 hora, en una atmosfera de N<sub>2</sub>. Por otro lado, se preparó otra disolución de *trans*-4-estilbenmetanol (200 mg; 0,95 mmol) en DMF (5 mL), también en atmosfera de N<sub>2</sub>. Una vez transcurrida la hora, se adicionó ésta última disolución a la primera, y se dejó en agitación durante 1 día, en ausencia de luz. Se secó y se purificó mediante columna

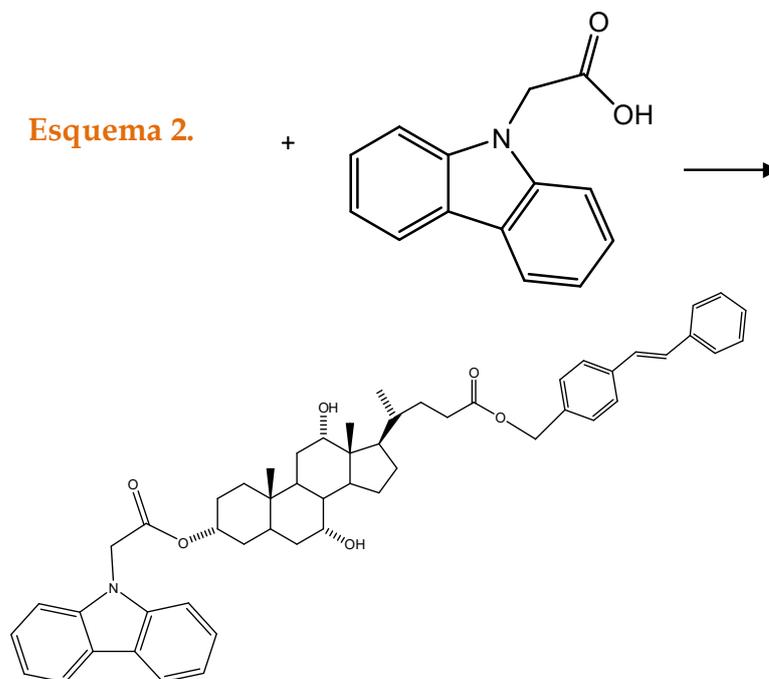
cromatográfica de AcOEt:Hex en gradiente. La proporción inicial fue 30:70 (200 mL), luego 40:60 (200 mL), y finalmente 50:50. Las fracciones del producto que se obtuvieron se concentraron se secaron y se registró su espectro de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  que figuran en el anexo.



**Esquema 2.** Síntesis de CA-*trans*-Em.

### 3.6.1.3 Preparación de la diada carbazol-cólico-estilbeno.

Una disolución de CA-*trans*-Em (220 mg; 0,36 mmol) y DMAP (49 mg; 0,40 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se dejó en agitación durante 1 hora, en atmosfera de  $\text{N}_2$ . Por otro lado, se preparó otra disolución de CBZ- $\text{CH}_2$ -COOH (247 mg; 1,09 mmol) en DMF (2 mL), también en atmosfera de  $\text{N}_2$ . Se adicionó esta última, a la primera, se enfrió hasta alcanzar los  $0^\circ\text{C}$ , y agitó durante 10 min. A continuación, se introdujo EDC (170,5 mg; 1,09 mmol) en DMF (5 mL) y se dejó en agitación durante toda la noche en ausencia de luz. Por falta de tiempo el producto obtenido no se pudo purificar.

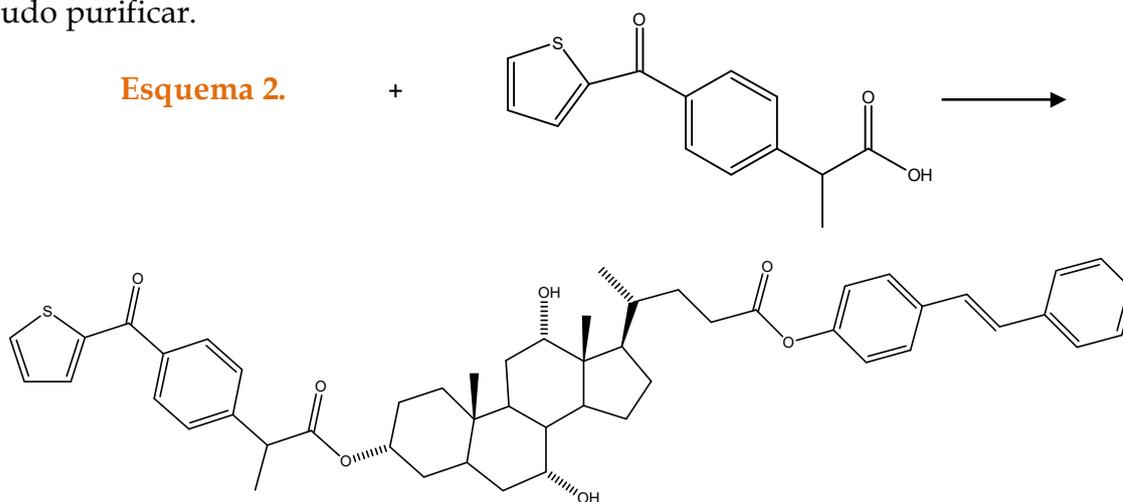


**Esquema 3.** CA-*trans*-Em-CBZ

### 3.6.1.4 Preparación de la diada suprofeno-cólico-estilbeno.

Se preparó una disolución conteniendo suprofeno (SPF; 129 mg; 0,5 mmol) y DCC (85 mg, 0,4 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro, y se agitó a  $0^\circ\text{C}$  durante 30 min, en atmósfera de  $\text{N}_2$ . Aparte, se preparó otra disolución que contenía CA-*trans*-Em (250 mg; 0,4 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro, en atmósfera de  $\text{N}_2$ . Una vez disuelto, se le añadió DMAP (4,25 mg). Pasados los 30 min, se adicionó ésta última a la primera, a  $0^\circ\text{C}$  y se mantuvo a esta temperatura, durante 8 horas, en ausencia de luz. Por falta de tiempo el producto obtenido no se pudo purificar.

Esquema 2.



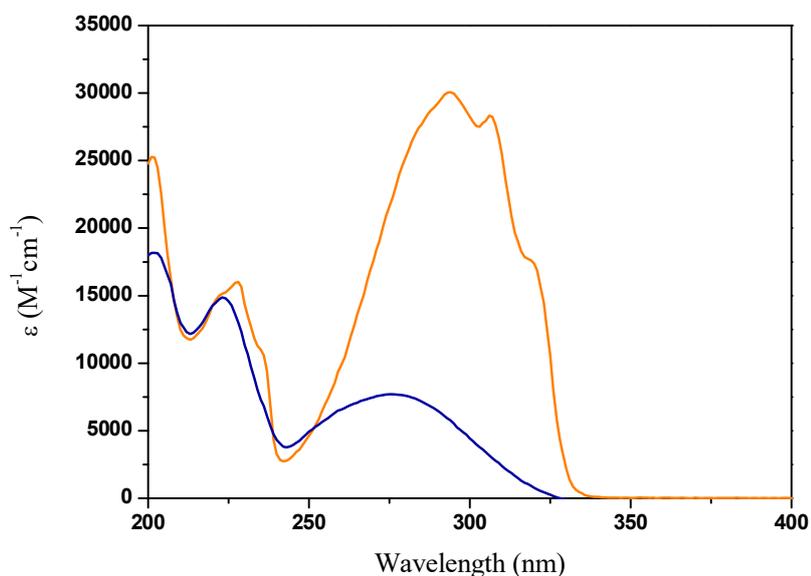
Esquema 4. CA-*trans*-Em-SPF

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

## 4.1 CARACTERIZACIÓN DE CIS/TRANS-ESTILBENO, TRANS-4-ESTILBENMETANOL Y DE LOS FOTOSENSIBILIZADORES.

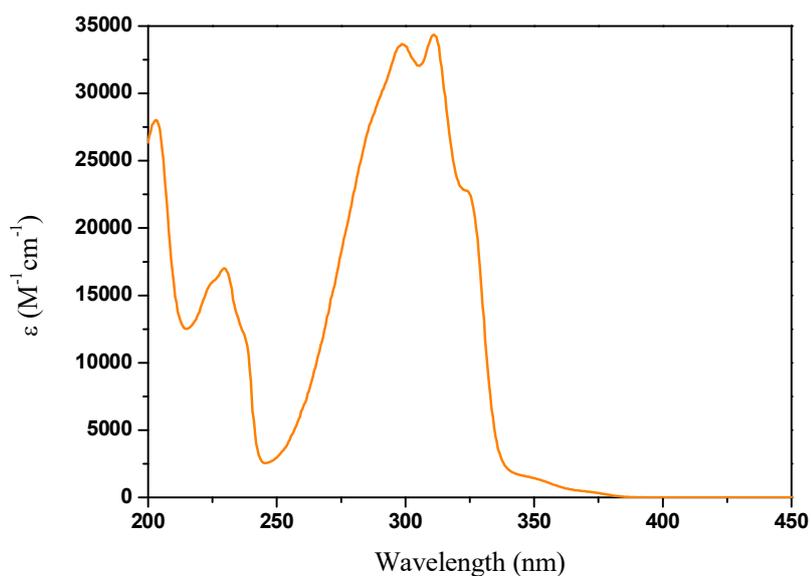
### 4.1.1 Resultados.

A continuación, se muestra una gráfica con las absorptividades molares de ambos isómeros. El *trans*-estilbena, en naranja, y el *cis*-estilbena, en azul.



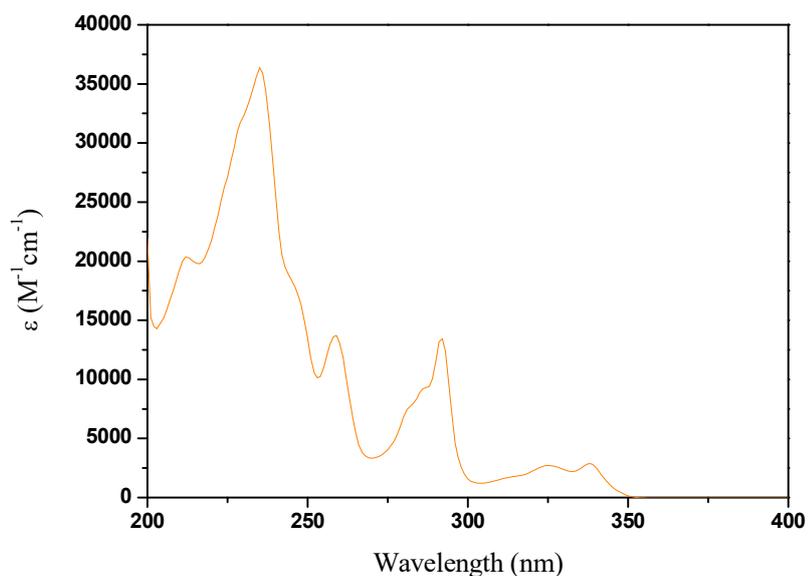
**Figura 12.** Absorptividades molares del *cis/trans*-estilbena (azul/naranja) en acetonitrilo.

La siguiente gráfica muestra la absorptividad molar del *trans*-4-estilbenmetanol:

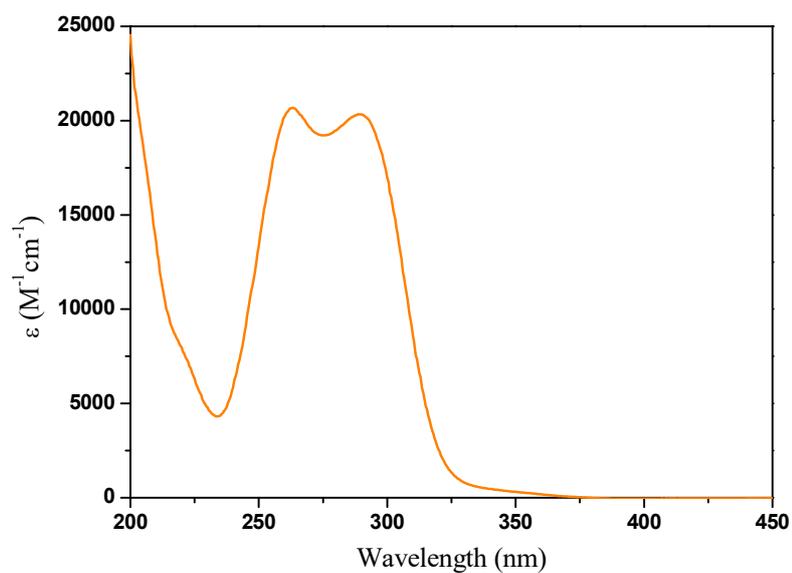


**Figura 13.** Absorptividad molar del *trans*-4-estilbenmetanol en acetonitrilo.

Por último, la absorptividad molar del ácido 9-carbazolacético y del suprofenó:



**Figura 14.** Absorptividad molar del CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH en metanol.



**Figura 15.** Absorptividad molar del suprofenó en acetonitrilo.

#### 4.1.2 Discusión.

En la primera gráfica se puede apreciar que tanto el *cis* como el *trans*-estilbeno absorben prácticamente en la misma región del espectro electromagnético, el *trans* absorbe

en una región más amplia que el *cis*; el *cis* hasta 325 nm, y el *trans* hasta 340 nm. También cabe destacar que no absorben con la misma intensidad, siendo el *trans* el que más absorbe.

El *trans* tiene un pico de máxima absorbancia a 294 nm ( $30070 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) y un hombro a 306 nm ( $28329 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), mientras que el *cis* tiene su máximo a 201 nm ( $18175 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) y dos hombros; uno a 223 nm ( $14873 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) y otro a 276 nm ( $7702 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

En la segunda gráfica, se puede apreciar el gran parecido entre el *trans*-estilbeno y el *trans*-4-estilbenmetanol. Sin embargo, este último, absorbe en una región ligeramente más amplia, entre hasta 375 nm. El *trans*-4-estilbenmetanol tiene un máximo a 311 nm ( $34336 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) y un hombro a 299 nm ( $33668 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

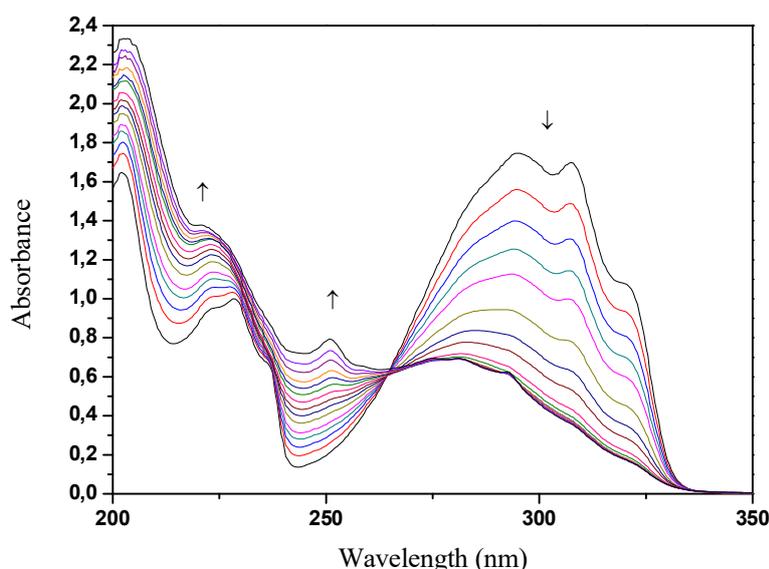
La gráfica del CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH muestra que su máximo se encuentra a 235 nm ( $36400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), y dos hombros a 259 y 292 nm, y absorbe hasta los 350 nm.

En la última, el suprofenos tiene un máximo a 263 nm ( $20675 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), y un hombro a 288 nm ( $20336 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), y absorbe hasta los 360 nm.

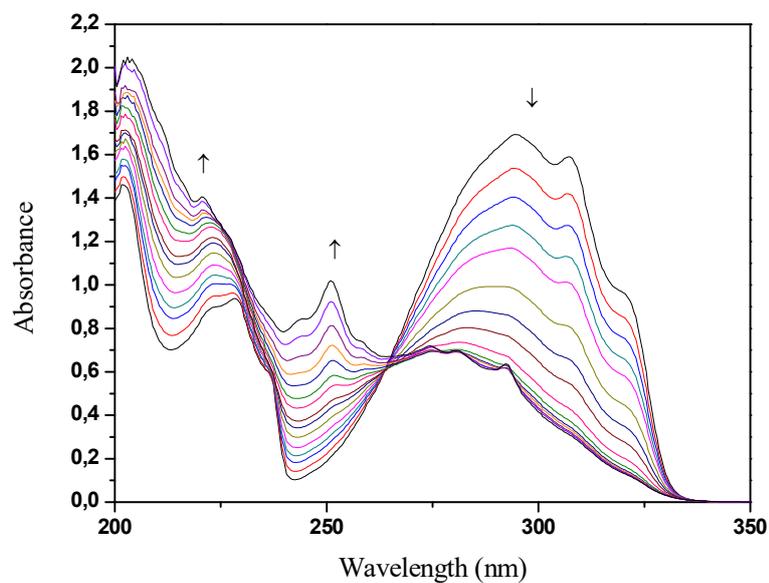
## 4.2 IRRADIACIÓN DEL CIS/TRANS-ESTILBENO EN DIFERENTES DISOLVENTES.

### 4.2.1 Resultados.

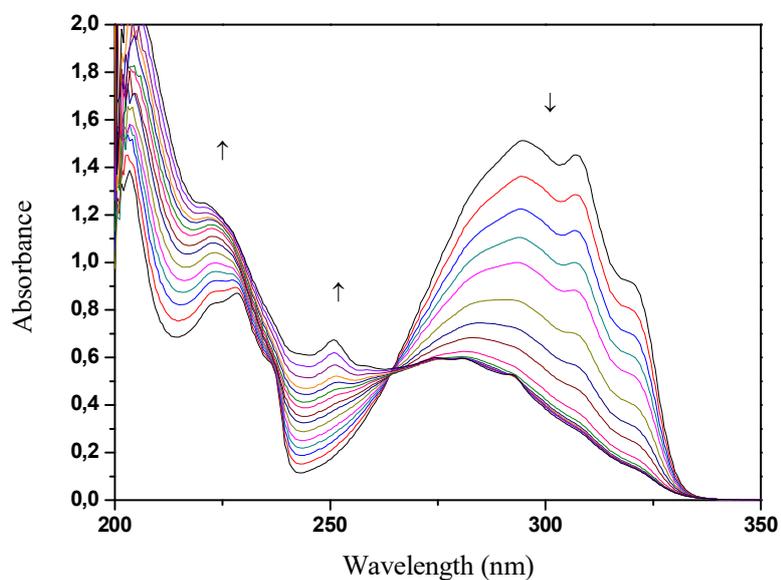
Tal y como se ha mencionado en el apartado 3.2.3, a continuación se muestran los registros de las mediciones en el UV-Vis para las irradiaciones directas de *cis/trans*-estilbeno en acetonitrilo.



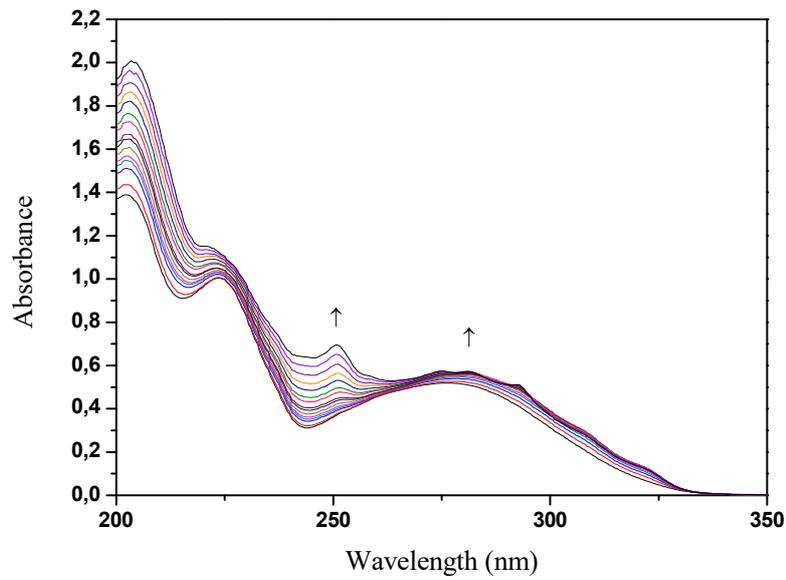
**Figura 16.** Evolución de la irradiación directa de *trans*-estilbeno por irradiación a 350 nm en acetonitrilo a diferentes tiempos (0-60 min).



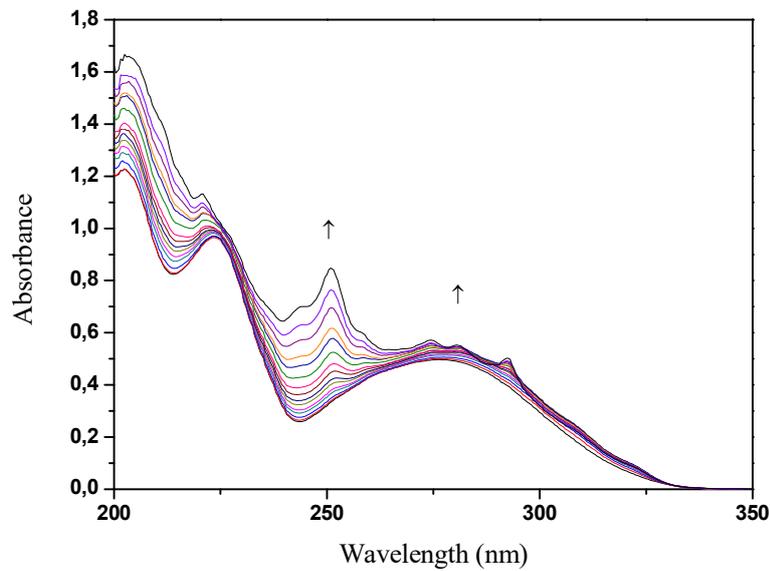
**Figura 17.** Evolución de la irradiación directa de *trans*-estilbeno por irradiación a 350 nm en n-hexano a diferentes tiempos (0-60 min).



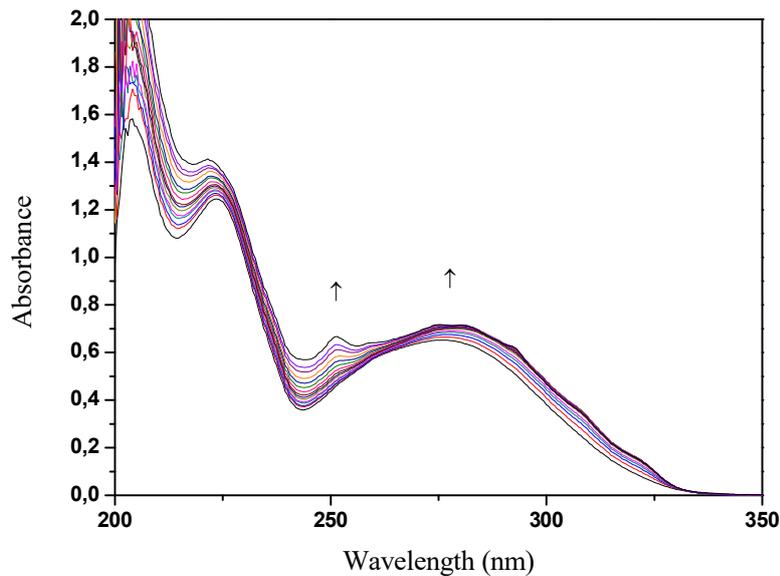
**Figura 18.** Evolución de la irradiación directa de *trans*-estilbeno por irradiación a 350 nm en metanol a diferentes tiempos (0-60 min).



**Figura 19.** Evolución de la irradiación directa de *cis*-estilbeno por irradiación a 350 nm en acetonitrilo a diferentes tiempos (0-60 min).



**Figura 20.** Evolución de la irradiación directa de *cis*-estilbeno por irradiación a 350 nm en n-hexano a diferentes tiempos (0-60 min).



**Figura 21.** Evolución de la irradiación directa de *cis*-estilbeno por irradiación a 350 nm en metanol a diferentes tiempos (0-60 min).

#### 4.2.2 Discusión.

Los datos obtenidos a partir de las gráficas del *trans*-estilbeno, nos permiten distinguir dos reacciones: la isomerización *trans-cis*, y la reorganización electrocíclica del *cis* dando lugar a un producto que finalmente se identificó como fenantreno.

Puesto que los dos isómeros absorben en la misma región podemos analizar la conversión de un isómero en el otro en base a la diferente absorbancia, en concreto a 300 nm. La absorbancia de una disolución es el resultado aditivo de la absorbancia de sus componentes ( $c_t$ , concentración de *trans*-estilbeno -  $c_c$ , concentración de *cis*-estilbeno):

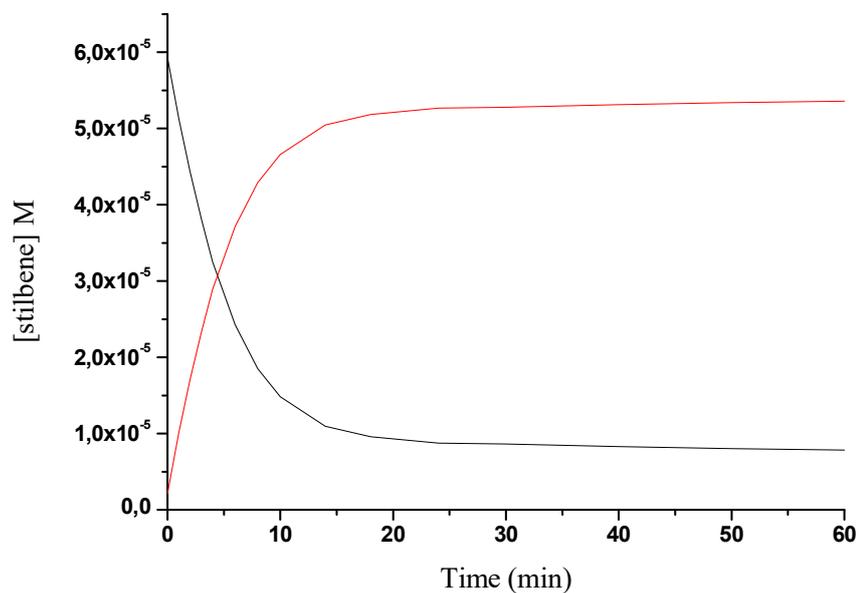
$$A_T = (c_t \cdot \epsilon_t + c_c \cdot \epsilon_c) \cdot l$$

Sabiendo que la concentración cada momento es igual a la suma de las concentraciones de los dos isómeros y prácticamente igual a la inicial (despreciando la formación de fenantreno):

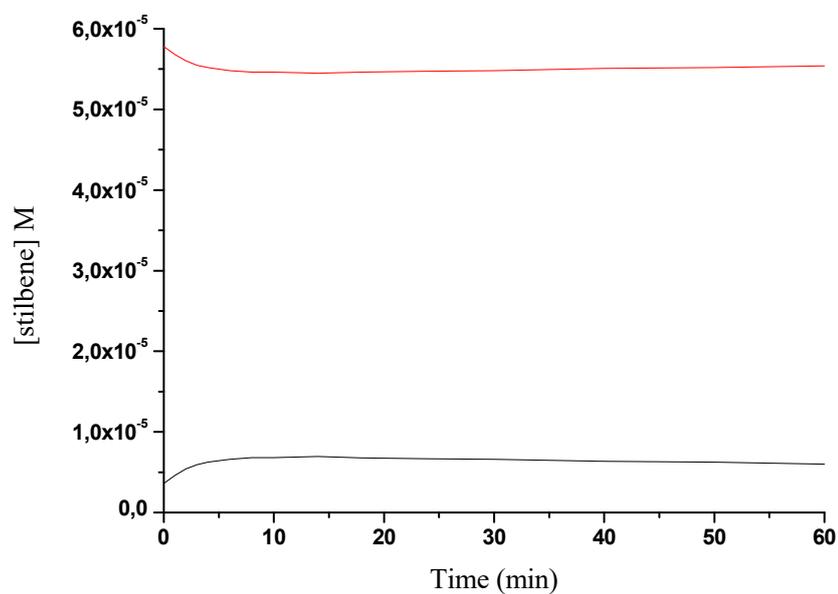
$$c_0 = c_t + c_c$$

Aparece así un sistema de ecuaciones en el que la concentración inicial es la concentración del isómero de partida a tiempo 0 minutos, y siendo  $\epsilon_t(300 \text{ nm}) = 28286,69$  y

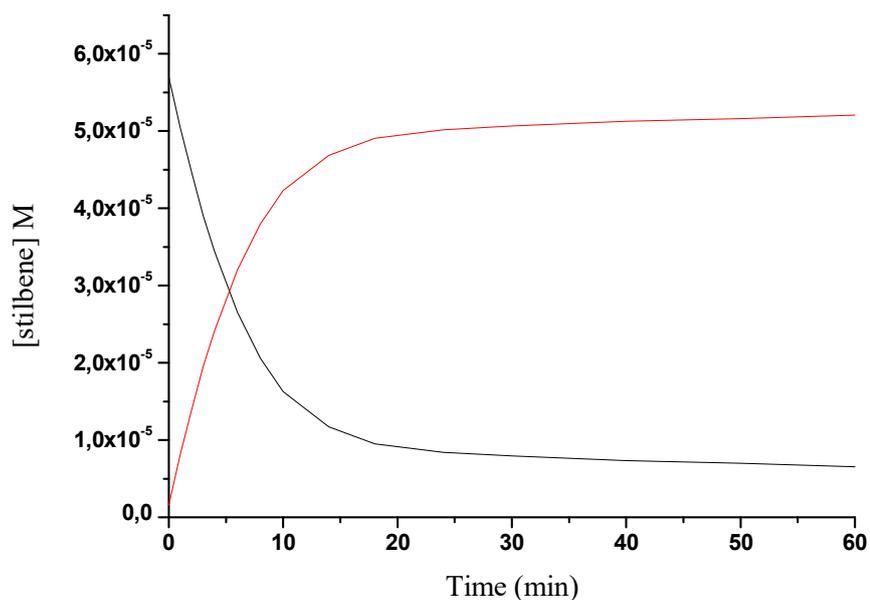
la  $\epsilon_c(300\text{nm}) = 4450,07$ . A continuación se muestra como varía la concentración para cada isómero en cada uno de los experimentos:



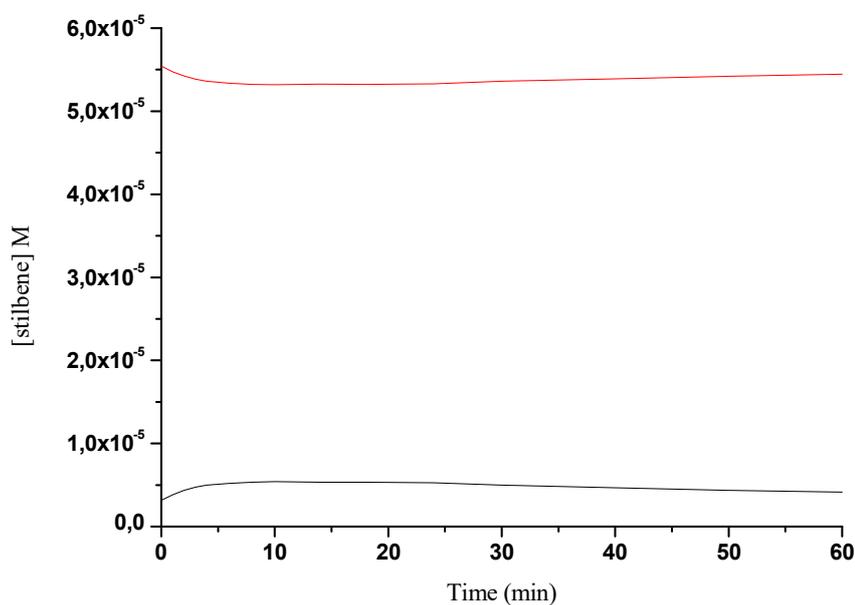
**Figura 22.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *trans*-estilbeno (negro) y *cis*-estilbeno (rojo) en acetoniitrilo.



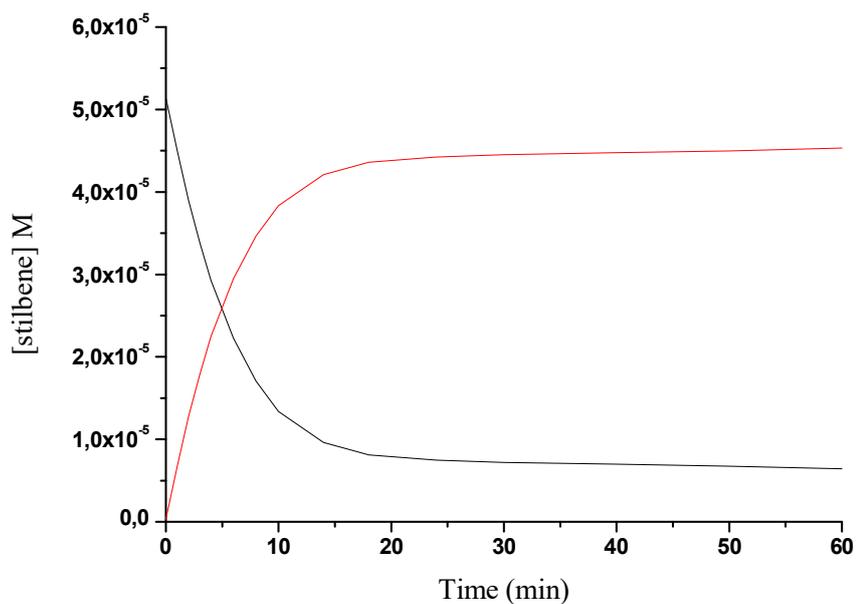
**Figura 23.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *cis*-estilbeno (rojo) y *trans*-estilbeno (negro) en acetoniitrilo.



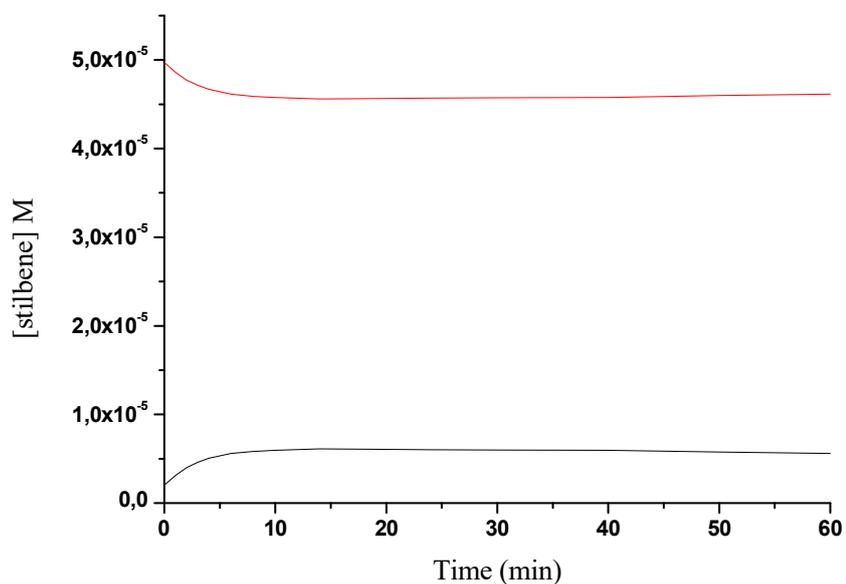
**Figura 24.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *trans*-estilbeno (negro) y *cis*-estilbeno (rojo) en n-hexano.



**Figura 25.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *cis*-estilbeno (rojo) y *trans*-estilbeno (negro) en n-hexano.



**Figura 26.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *trans*-estilbeno (negro) y *cis*-estilbeno (rojo) en metanol



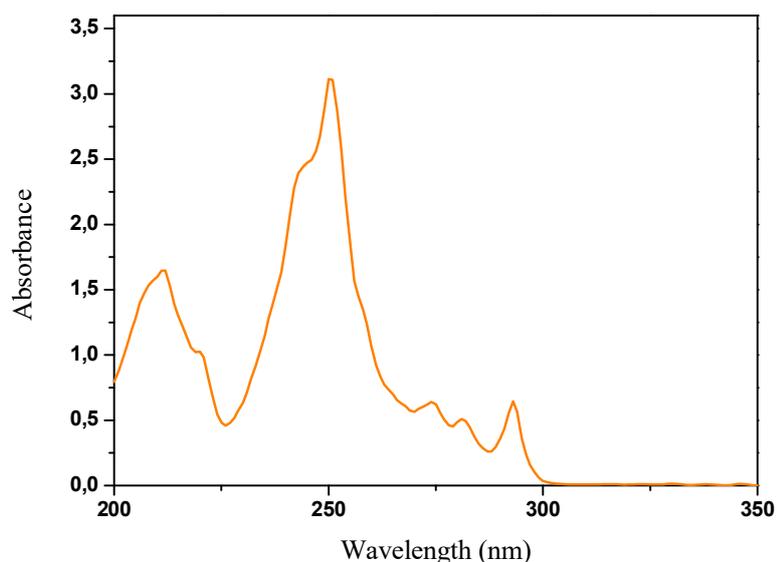
**Figura 27.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *cis*-estilbeno (rojo) y *trans*-estilbeno (negro) en metanol.

Las gráficas muestran como la concentración de un isómero varía con respecto al tiempo. Partiendo del *trans* se aprecia como su concentración va disminuyendo, a medida que la del *cis* aumenta; y al contrario ocurre, con el *cis*, aunque en menor medida debido a la reorganización electrocíclica del *cis*.

La polaridad del medio no parece que afecte a la velocidad de la isomerización, sin embargo, la reorganización electrocíclica se ve favorecida en medio apolar.

Transcurridos 60 minutos de irradiación se ve claramente una banda con un máximo a 250 nm, que no corresponde ni al *trans*-estilbeno ni al *cis*-estilbeno y que puede corresponder al producto resultante de la organización electrocíclica, el fenantreno. Se registró su espectro en n-hexano para comprobar que, efectivamente, la nueva banda que aparece a 250 nm corresponde a este compuesto (**Figura 28**).

Con los datos obtenidos a partir de las gráficas del *cis*-estilbeno, se puede concluir que toma la ruta de la reorganización electrocíclica está más favorecida que la isomerización al *trans* sobre todo en un disolvente apolar.

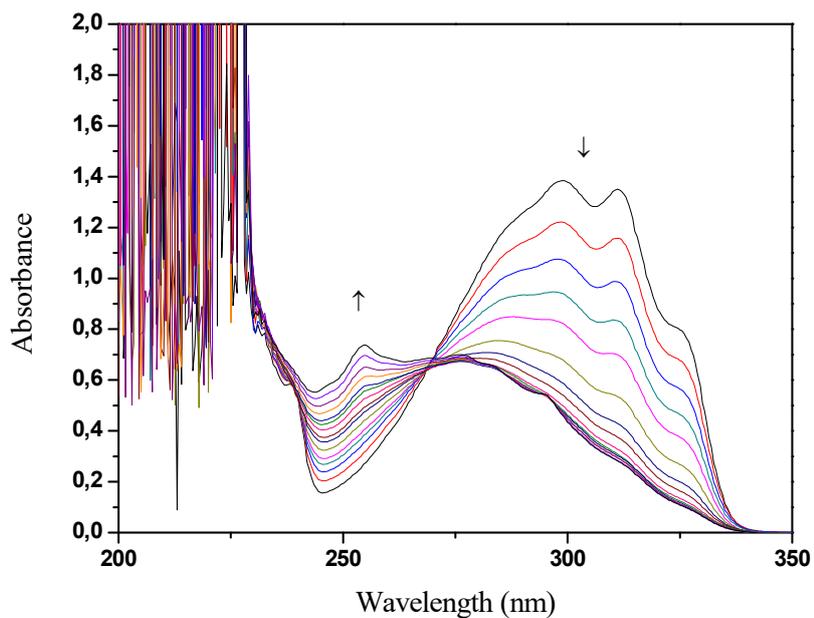


**Figura 28.** Espectro de absorción del fenantreno en n-hexano.

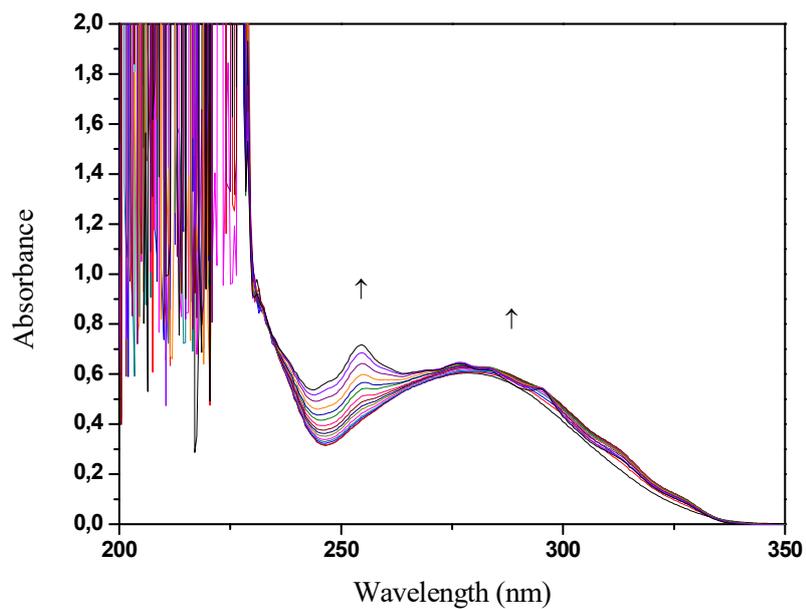
### 4.3 IRRADIACIÓN DEL CIS/TRANS-ESTILBENO EN AGREGADOS DE DIFERENTES ÁCIDOS BILIARES.

#### 4.3.1 Resultados.

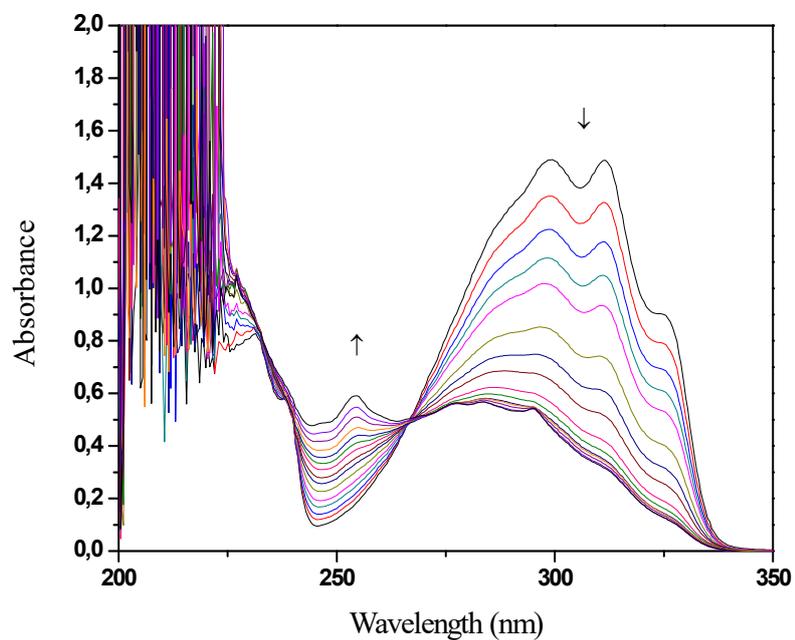
Los espectros UV muestran el transcurso de la reacción de fotoisomerización de ambos isómeros del estilbena en el interior de agregados biliares (cólico, desoxicólico, taurocólico y quenodesoxicólico).



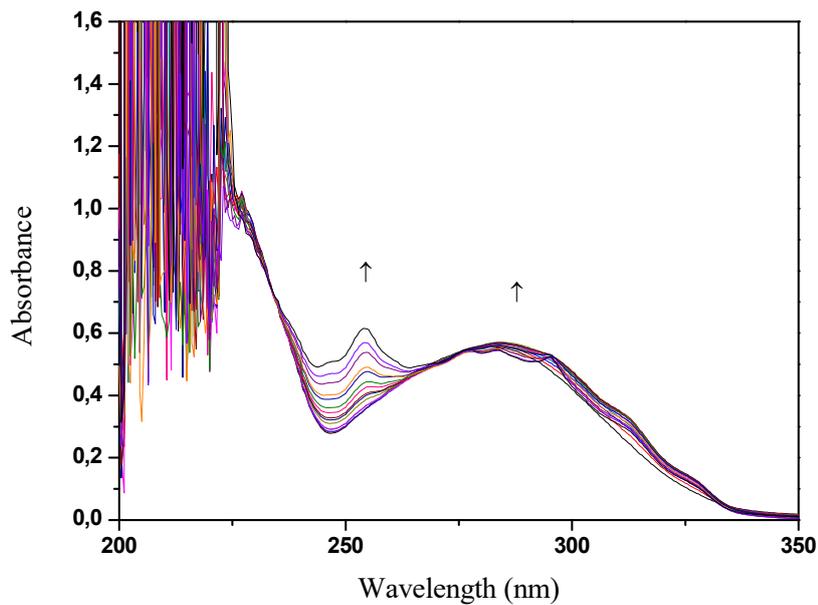
**Figura 29.** Evolución del *trans*-estilbena por irradiación a 350 nm en ácido cólico a diferentes tiempos (0-60 min).



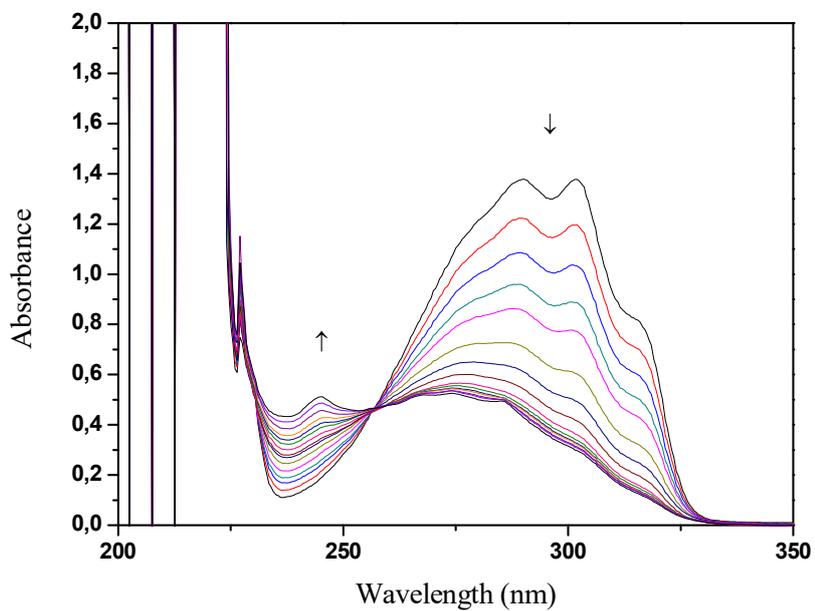
**Figura 30.** Evolución del *cis*-estilbena por irradiación a 350 nm en ácido cólico a diferentes tiempos (0-60 min).



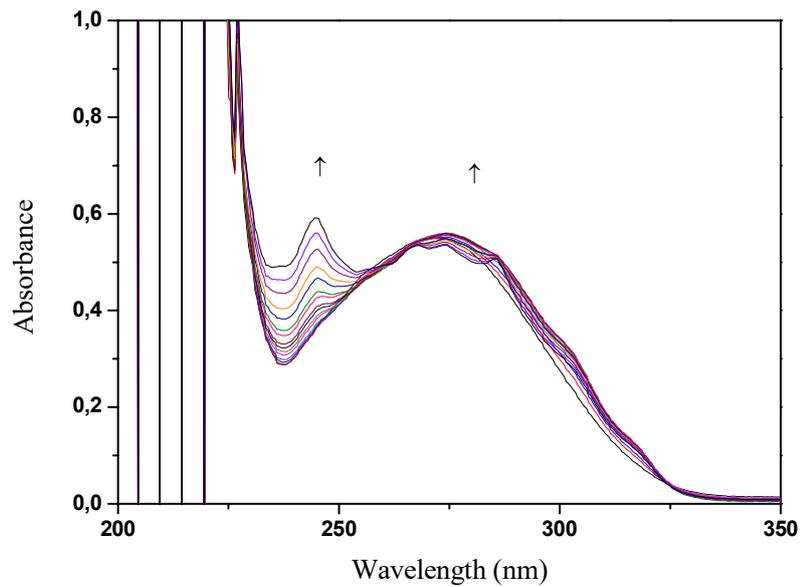
**Figura 31.** Evolución del *trans*-estilbena por irradiación a 350 nm en ácido desoxicólico a diferentes tiempos (0-60 min).



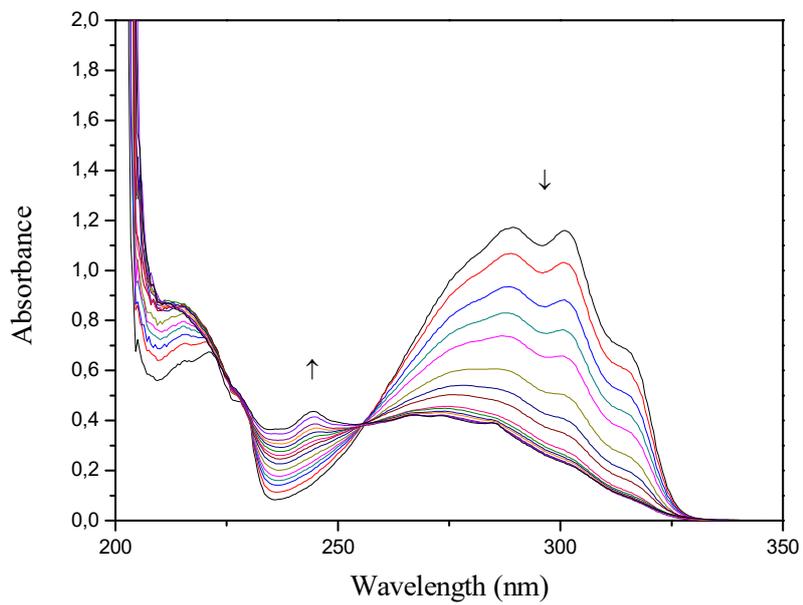
**Figura 32.** Evolución del *cis*-estilbeno por irradiación a 350 nm en ácido desoxicólico a diferentes tiempos (0-60 min).



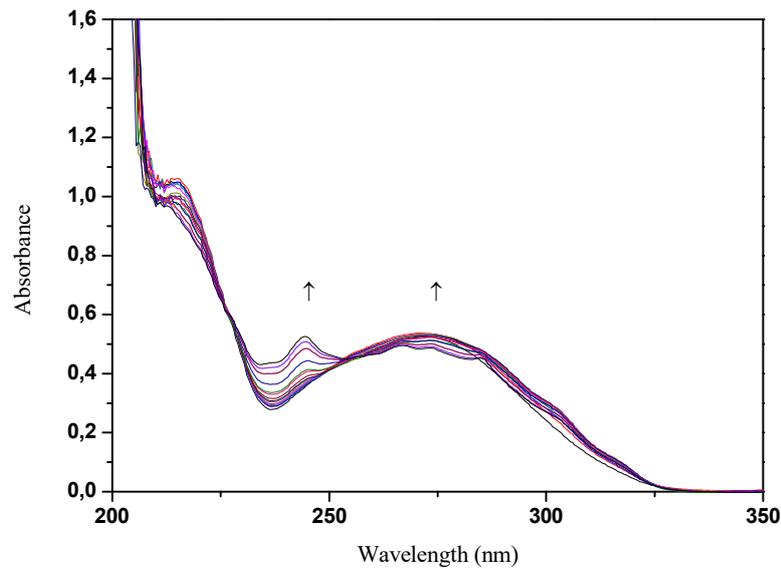
**Figura 33.** Evolución del *trans*-estilbeno por irradiación a 350 nm en ácido taurocólico a diferentes tiempos (0-60 min).



**Figura 34.** Evolución del *cis*-estilbeno por irradiación a 350 nm en ácido taurocólico a diferentes tiempos (0-60 min).



**Figura 35.** Evolución del *trans*-estilbeno por irradiación a 350 nm en ácido quenedesoxicólico a diferentes tiempos (0-60 min).

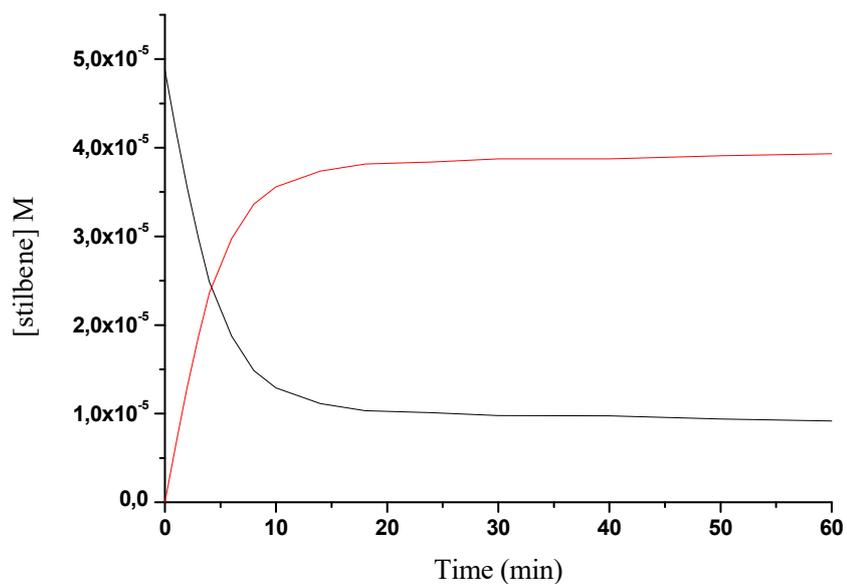


**Figura 36.** Evolución del *cis*-estilbena por irradiación a 350 nm en ácido quenodesoxicólico a diferentes tiempos (0-60 min).

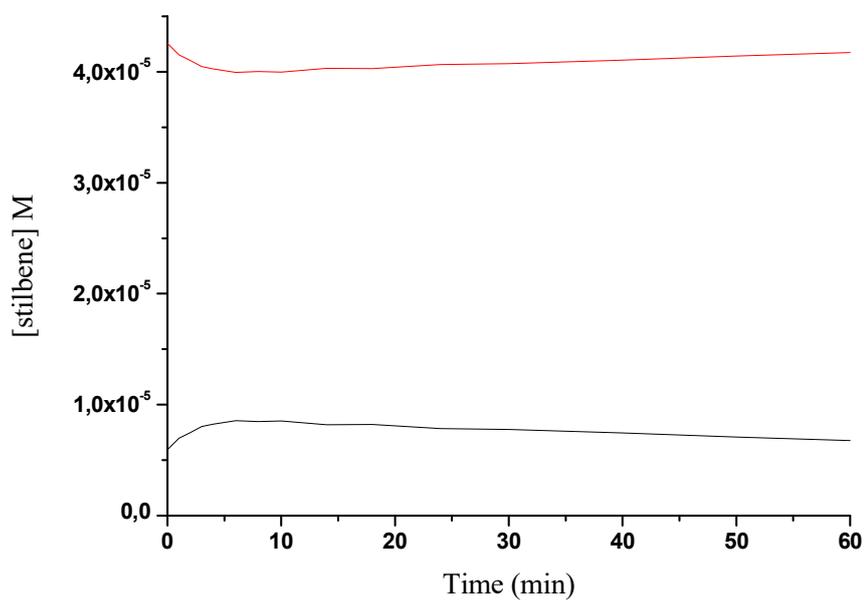
#### 4.3.2 Discusión.

Las reacciones de fotoisomerización del *trans* y *cis*-estilbena también suceden en el interior de agregados de ácido biliares, de forma análoga a las observadas en disolución.

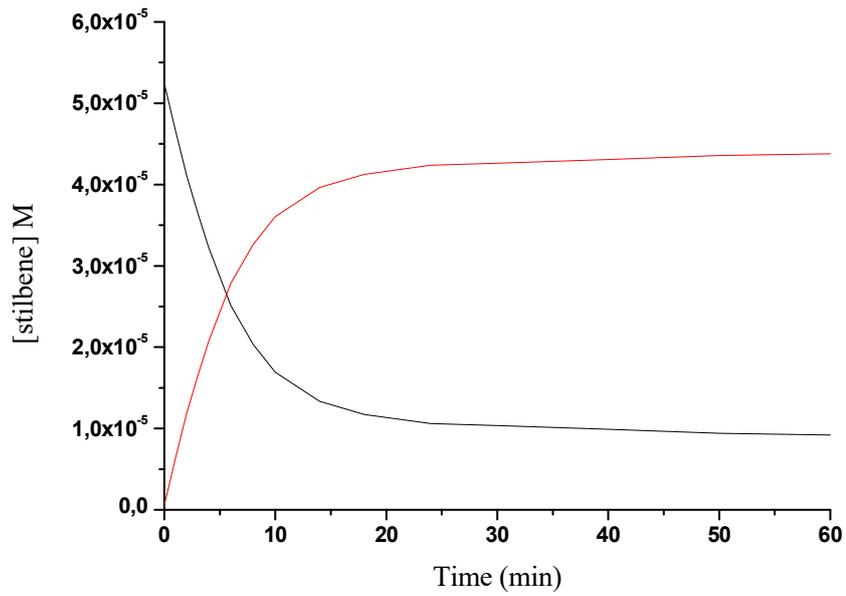
Para poder aplicar la evolución de la concentración de cada uno de los isómeros con el tiempo se aplicaron las ecuaciones de Lambert-Beer tal como se ha descrito anteriormente en el apartado **4.2.2**.



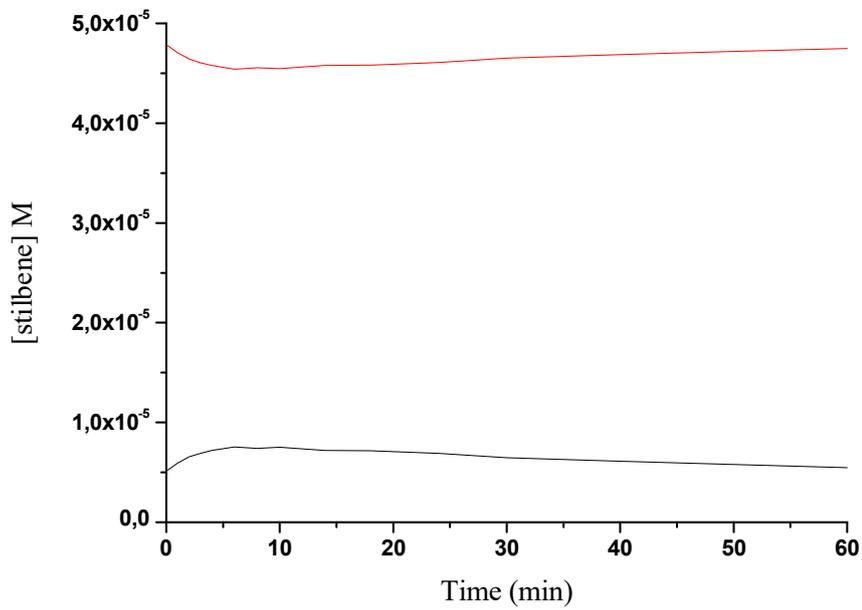
**Figura 37.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *trans*-estilbeno (negro) y *cis*-estilbeno (rojo) en ácido cólico.



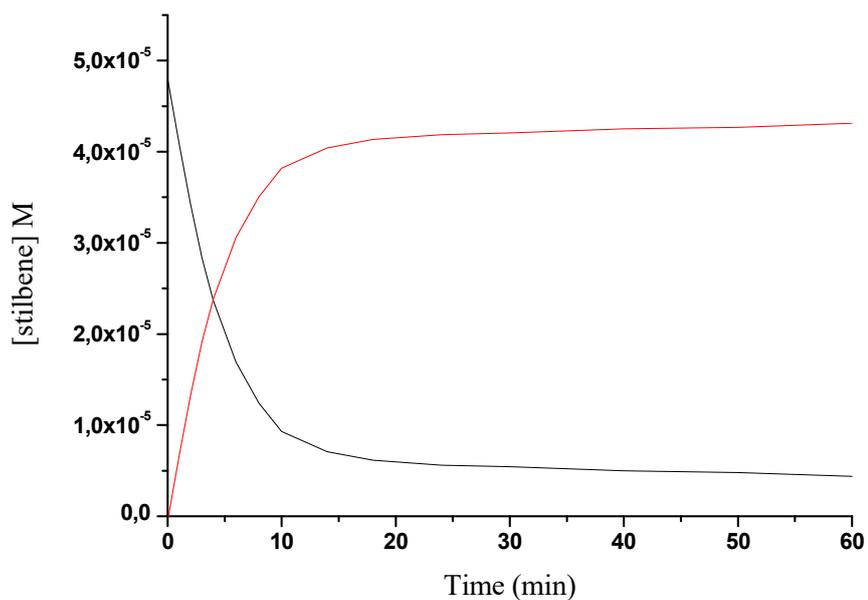
**Figura 38.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *cis*-estilbeno (rojo) y *trans*-estilbeno (negro) en ácido cólico.



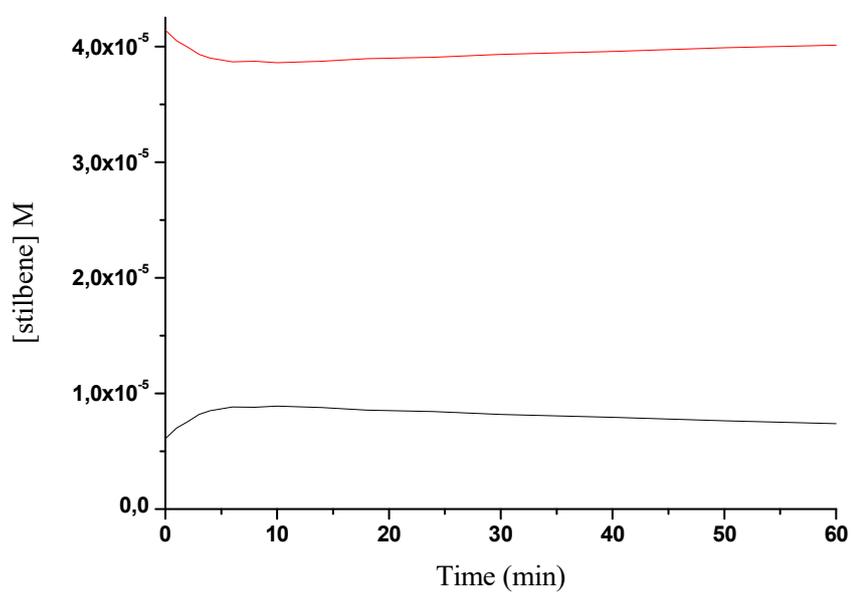
**Figura 39.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *trans*-estilbeno (negro) y *cis*-estilbeno (rojo) en ácido desoxicólico.



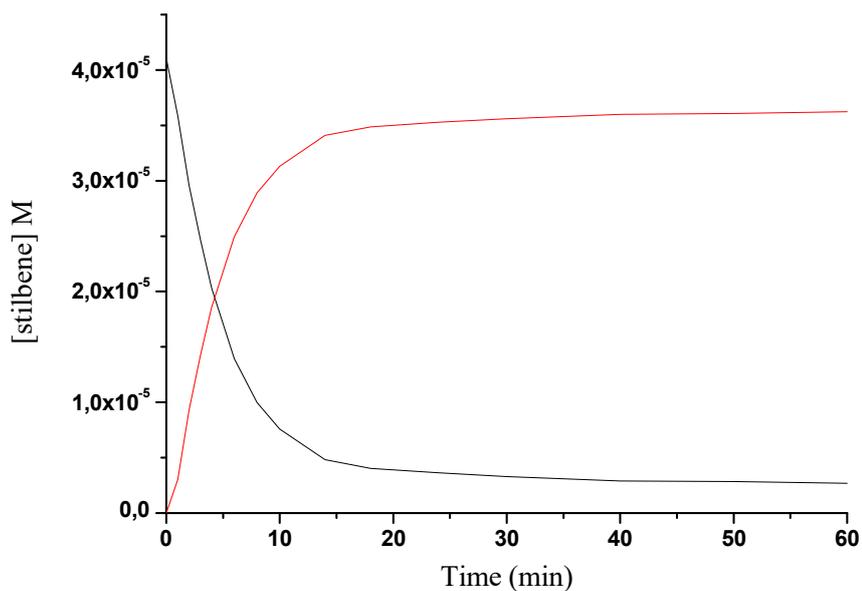
**Figura 40.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *cis*-estilbeno (rojo) y *trans*-estilbeno (negro) en ácido desoxicólico.



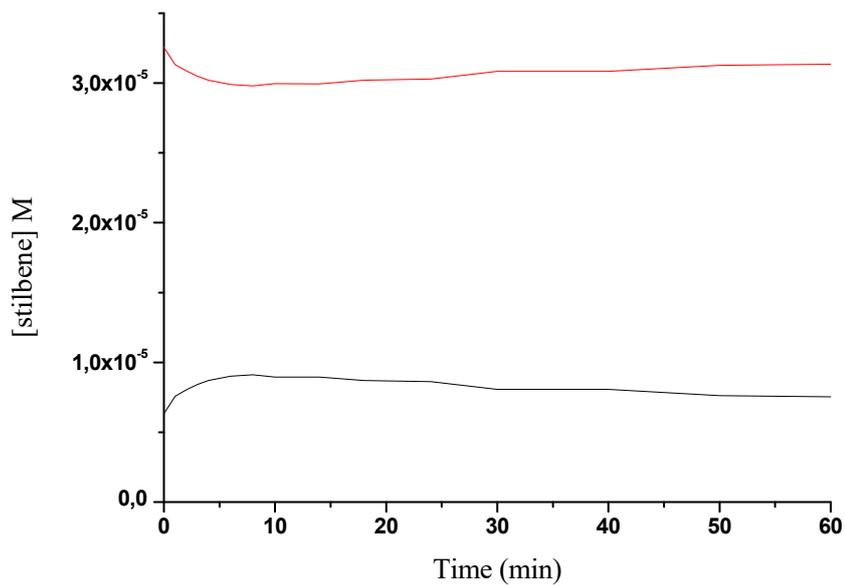
**Figura 41.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *trans*-estilbena (negro) y *cis*-estilbena (rojo) en ácido taucólico.



**Figura 42.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *cis*-estilbena (rojo) y *trans*-estilbena (negro) en ácido taucólico.

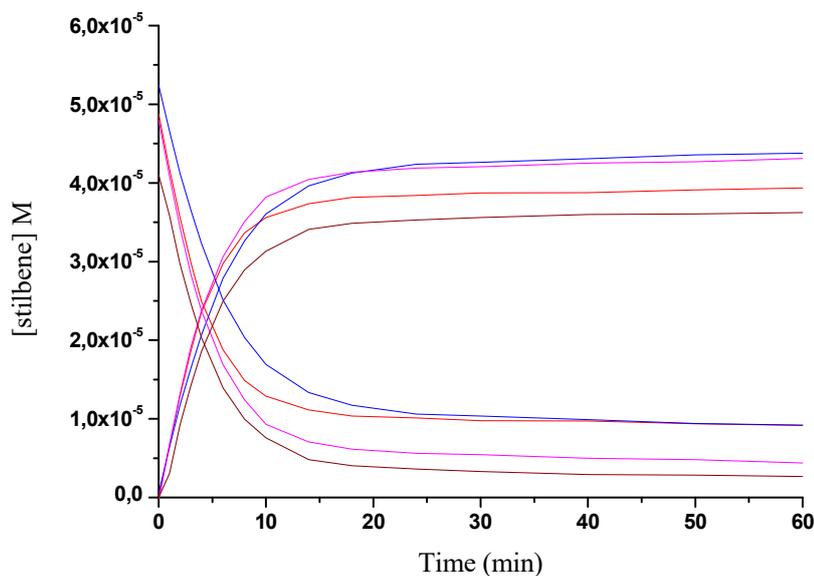


**Figura 43.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *trans*-estilbeno (negro) y *cis*-estilbeno (rojo) en ácido quenodesoxicólico.

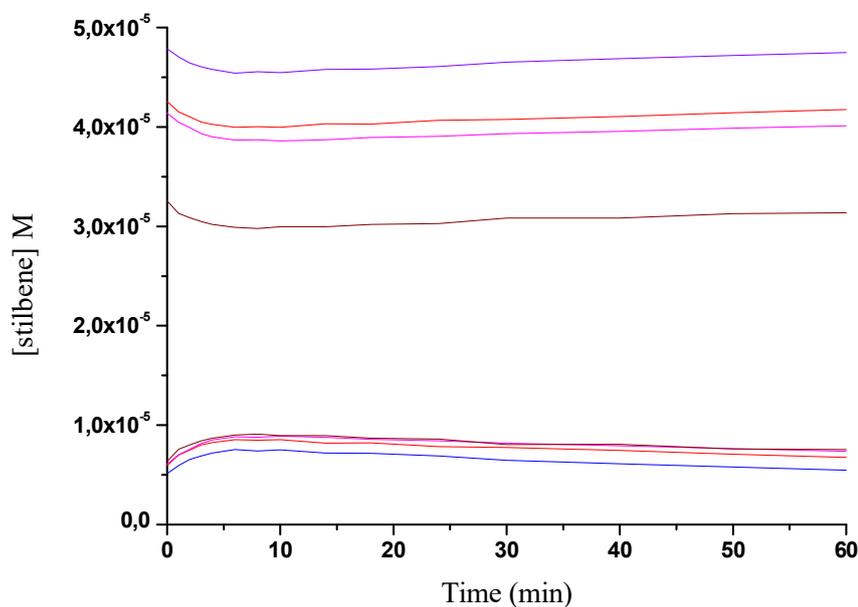


**Figura 44.** Evolución de la concentración frente al tiempo del *cis*-estilbeno (rojo) y *trans*-estilbeno (negro) en ácido quenodesoxicólico.

Para comparar mejor la evolución de las concentraciones de cada isómero en los distintos ácidos biliares se representaron juntos.



**Figura 45.** Evolución de la concentración de *trans*-estilbeno (curvas descendentes) y *cis*-estilbeno (curvas ascendentes) en los diferentes agregados de ácidos biliares (rojo-cólico; azul-desoxicólico; violeta-taurocólico; rojo oscuro-quenodesoxicólico) partiendo de *trans*-estilbeno.



**Figura 46.** Evolución de la concentración de *cis*-estilbeno (curvas superiores) y *trans*-estilbeno (curvas inferiores) en los diferentes agregados de ácidos biliares (rojo-cólico; azul-desoxicólico; violeta-taurocólico; rojo oscuro-quenodesoxicólico) partiendo de *cis*-estilbeno.

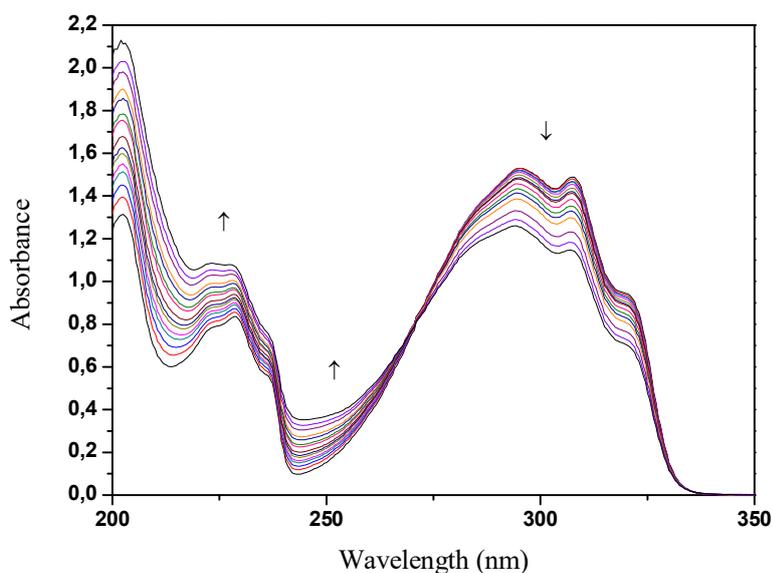
De esta forma, en la gráfica recopilatoria de las fotoisomerizaciones del *trans*-estilbeno se puede apreciar que la velocidad de conversión es más ligeramente más rápida en el interior del taurocólico y el quenodesoxicólico, y muy similar en el cólico y desoxicólico. El equilibrio *cis/trans* es diferente y más favorecido hacia el *cis* en el interior del ácido taurocólico. Este hecho puede correlacionarse con la mayor polaridad del ácido taurocólico, aunque de forma cualitativa.

En cuanto a la gráfica de la fotoisomerización del *cis*-estilbeno, pocas diferencias se aprecian entre los diferentes entornos, ya que la vía de ciclación sigue pareciendo mayoritaria.

## 4.4 CONTROL TÉRMICO DE LA FOTOISOMERIZACIÓN *CIS/TRANS* DEL ESTILBENO.

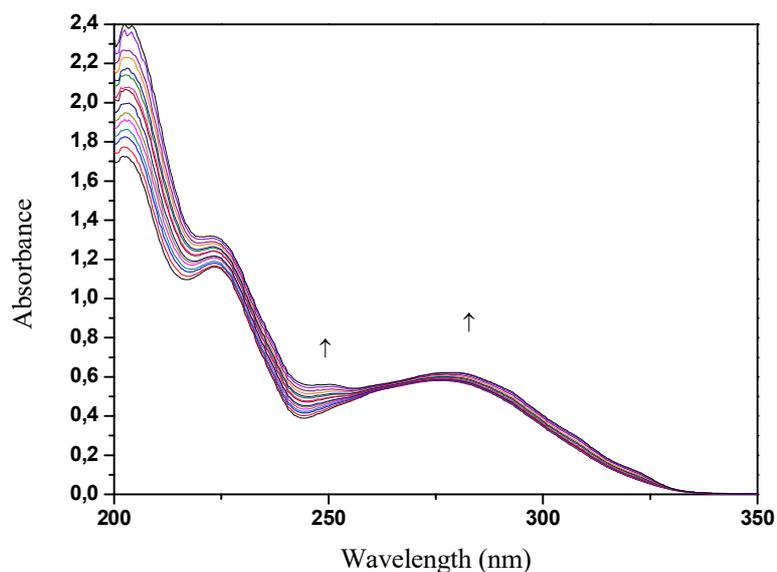
### 4.4.1 Resultados.

La **Figura 47** y la **Figura 48** permiten comprobar el efecto de la temperatura sobre la reacción de isomerización. La primera gráfica corresponde al *trans*-estilbeno.



**Figura 47.** Evolución de la isomerización térmica del *trans*-estilbeno en acetonitrilo en ausencia de luz.

La siguiente, hace referencia a la del *cis*-estilbeno:



**Figura 48.** Evolución de la isomerización térmica del *cis*-estilbeno en acetoniitrilo en ausencia de luz.

#### 4.4.2 Discusión.

Se realizó el control térmico sobre los isómeros en el mismo intervalo de tiempo en acetoniitrilo. Los resultados obtenidos a partir del *trans*-estilbeno indican que la temperatura no ejerce demasiada influencia sobre la reacción de fotoisomerización, ya que al cabo de una hora la absorbancia se ha reducido en un 33%, mientras que con la isomerización fotoinducida de *trans*-estilbeno conseguía una reducción de la absorbancia de un 67%. Partiendo del *cis*-estilbeno, el incremento de la absorbancia por reacción térmica es de un 16%, mientras que se observa un 29% en la fotoisomerización fotoinducida. Cabe destacar que la tendencia a la reorganización electrocíclica en ausencia de luz es menor.

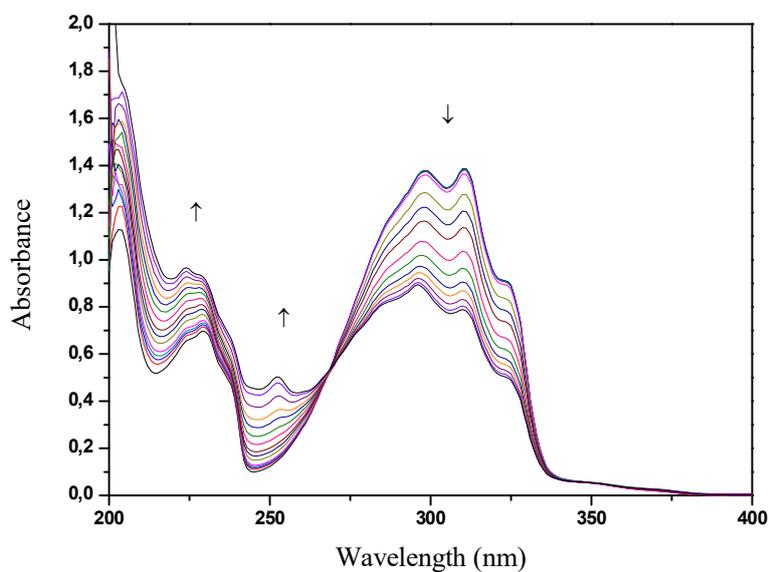
Por estas razones, descartamos la influencia de la temperatura en las reacciones de fotoisomerización.

### 4.5 IRRADIACIÓN FOTOSENSIBILIZADA DE *TRANS*-ESTILBENO.

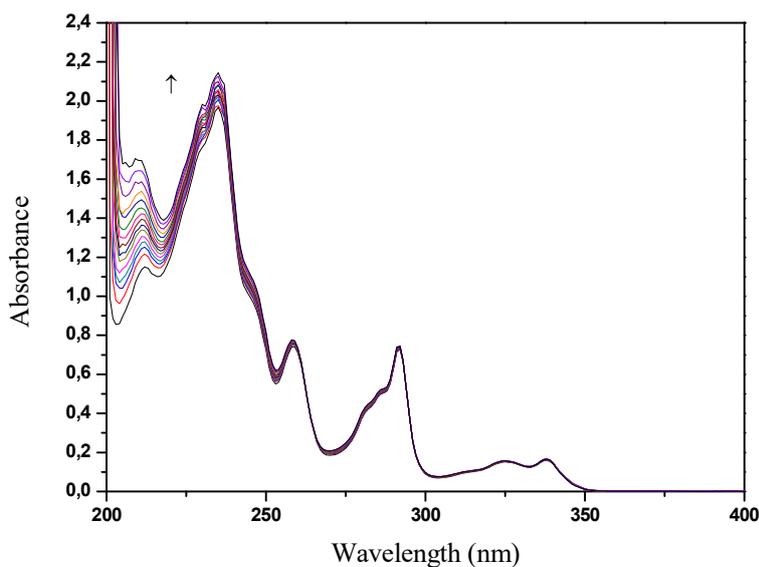
#### 4.5.1 Resultados

Se van a realizar las irradiaciones fotosensibilizadas empleando lámpara monocromática a 250 nm. Por ello, en primer lugar se realizaron los controles en estas

condiciones para comprobar el avance en la isomerización por irradiación directa del *trans*-4-estilbenmetanol y la estabilidad del fotosensibilizador. Las pruebas de fotosensibilización con el suprofeno como fotosensibilizador no han podido mostrarse en este proyecto debido a la falta de tiempo. Las primeras gráficas muestran (Figuras 49 y 50) los controles del *trans*-4-estilbenmetanol y CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH.

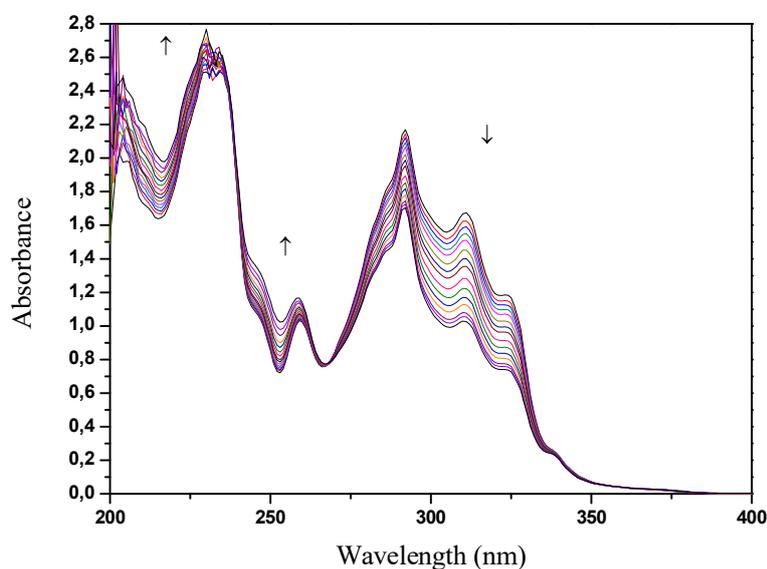


**Figura 49.** Evolución de la absorbancia del *trans*-4-estilbenmetanol  $5 \times 10^{-5}$  M en acetoniitrilo tras irradiar a 250 nm.

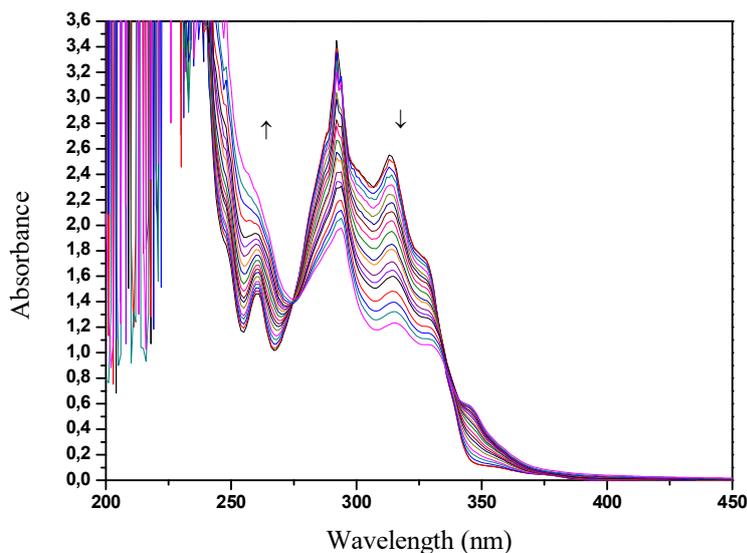


**Figura 50.** Evolución de la absorbancia del ácido 9-carbazolacético  $5 \times 10^{-5}$ M en acetonitrilo tras irradiar a 250 nm.

Los espectros a continuación muestran el avance la reacción fotosensibilizada intermolecular e intramolecular. Para la reacción fotosensibilizada intermolecular se emplearon disoluciones equimoleculares de *trans*-4-estilbenmetanol y CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH, tal como se ha descrito en el apartado 3.5.2. La irradiación intramolecular se estudió únicamente con la diada resultante de la unión directa de *trans*-4-estilbenmetanol y á CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH, ya que la diada en la que el fotosensibilizador y estilbeno están separados por ácido cólico no estaba perfectamente purificada para completar los estudios.



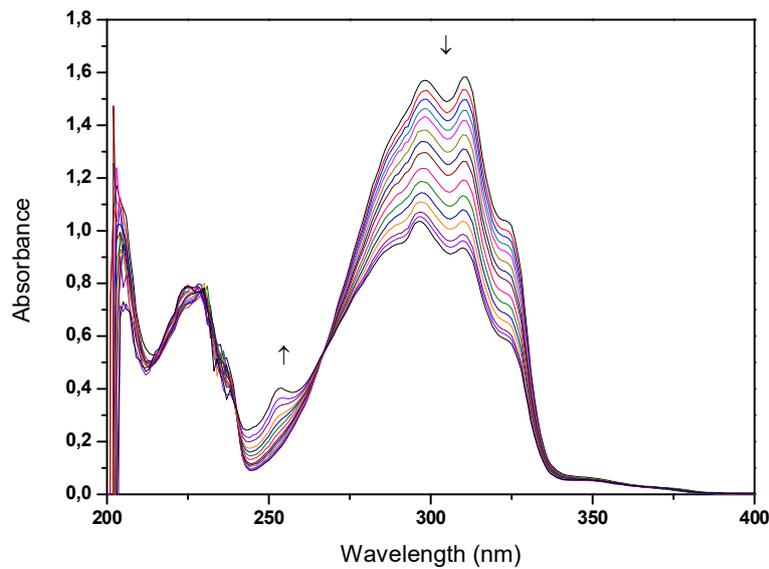
**Figura 51.** Evolución de la absorbancia de la reacción fotosensibilizada intermolecular de *trans*-4-estilbenmetanol y ácido 9-carbazolacético a  $5 \times 10^{-5}$  M cada uno en acetonitrilo tras irradiación monocromática a 250 nm.



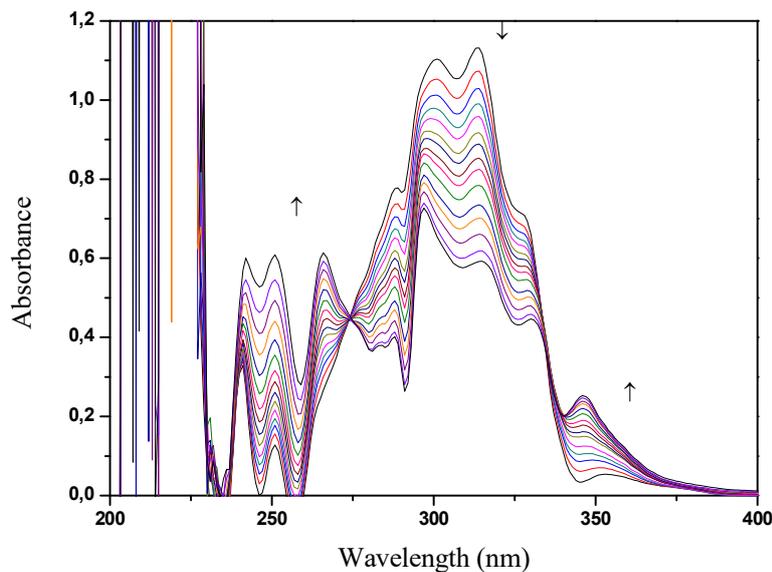
**Figura 52.** Evolución de la absorbancia de la reacción fotosensibilizada intramolecular de la diada *trans*-Em-CBZ  $5 \times 10^{-5}$  M en diclorometano tras irradiación monocromática a 250 nm.

#### 4.5.2 Discusión

Las **figuras 49 y 50** muestran que la contribución de la irradiación directa de *trans*-4-estilbenmetanol no es despreciable, mientras que el sensibilizador es estable en estas condiciones. Por ello, con objeto de discutir mejor los resultados de las irradiaciones fotosensibilizadas tanto inter como intramoleculares se realizaron matemáticamente las restas de los espectros de estas reacciones menos el del control de irradiación directa del CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH y se compararon con los resultados obtenidos por irradiación directa a 250 nm (**Figura 49**). Así se obtuvieron la **Figura 53** para la irradiación fotosensibilizada intermolecular y la **Figura 54** para la irradiación fotosensibilizada intramolecular.



**Figura 53.** Gráfica resta: reacción intermolecular (**Figura 51**) menos control del ácido 9-carbazolacético (**Figura 50**).



**Figura 54.** Gráfica resta: reacción intramolecular (**Figura 52**) menos control del ácido 9-carbazolacético (**Figura 50**).

Al observar la gráfica resta de irradiación fotosensibilizada intermolecular menos la control del CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH, se obtuvo un espectro UV que recordaba claramente al de irradiación directa de *trans*-4-estilbenmetanol (**Figura 49**). Sin embargo, la disminución de la absorbancia en la reacción de la irradiación fotosensibilizada intermolecular es del 44%,

mientras que en la irradiación directa es del 35%, lo cual indica que el CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH está contribuyendo a la fotoisomerización, y que en parte está ocurriendo por fotosensibilización

De la reacción intramolecular (**Figura 54**) se obtuvo un espectro con dos puntos isobásticos, uno a 275 y otro a 330 nm, lo que podría indicar la aparición de un nuevo producto además de la disminución de la absorbancia del *trans*-4-estilbenometanol debida probablemente a la isomerización fotosensibilizada.

### 4.5.3 Estudios fotofísicos.

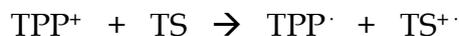
El proceso de fotoisomerización de *cis/trans*-estilbeno puede ocurrir por transferencia de energía o por transferencia electrónica oxidativa o reductiva en función del fotosensibilizador empleado.

Los datos de potenciales redox de *trans*-estilbeno son: E(TS/T<sup>+</sup>) = +1,49 V y de E(TS/T<sup>-</sup>) = -2,26 V. Si se analiza la viabilidad de una reacción de transferencia electrónica eligiendo dos fotosensibilizadores como el carbazol (empleado en este TFM) o el trifenilpirilio (TPP, también empleado en la literatura) uno se encuentra con lo siguiente:

$$\begin{aligned} \text{CBZ: } E_S &= 86,4 \text{ kcal/mol.} \\ E_T &= 70,2 \text{ kcal/mol.} \\ I_{\text{CIS}} &= 0,36 \\ E(\text{CBZ}^{\cdot+}/\text{CBZ}) &= 1,16 \text{ V.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{TPP: } E_S &= \\ E_T &= 52 \text{ kcal/mol.} \\ I_{\text{CIS}} &= 0,53 \\ E(\text{TPP}^{\cdot+}/\text{TPP}) &= -0,29 \text{ V.} \end{aligned}$$

La reacción de transferencia electrónica en el caso de emplear trifenilpirilio sería oxidativa:



Aplicando Rehm-Weller:

$$\Delta G(\text{kcal/mol}) = -23,06 * [E(\text{dador}) - E(\text{aceptor})] - E(S_1 \text{ ó } T_1)$$

$$\Delta G(\text{kcal/mol}) = -23,06 * [-0,29 - 1,49] - 52 = -10 \text{ kcal/mol}$$

Por lo tanto sería factible desde el triplete.

En el caso de emplear carbazol como fotosensibilizador nos encontramos con una transferencia electrónica reductiva:



Aplicando de nuevo Rehm-Weller:

$$\Delta G(\text{kcal/mol}) = -23,06 * [E(\text{dador}) - E(\text{aceptor})] - E(S_1 \text{ ó } T_1)$$

$$\Delta G(\text{kcal/mol}) = -23,06 * [-2,26 - 1,16] - 86,4 = -7,6 \text{ kcal/mol}$$

Por lo tanto, es factible desde el singlete.

Con el triplete sucede que la  $\Delta G(\text{kcal/mol}) > 0$  y por lo tanto es endergónica y no es posible la transferencia electrónica desde ese estado excitado.

La transferencia de energía sería termodinámicamente favorable tanto al *cis* como al *trans*-estilbeno.

Dado el tiempo limitado de este TFM solo se ha examinado la isomerización fotosensibilizada por transferencia electrónica desde el singlete. Por tanto, únicamente se han realizado experimentos de desactivación del singlete del CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH con *cis/trans*-estilbeno en estado estacionario.

A partir de los datos de energía de singlete y triplete de *cis/trans*-estilbeno y CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH:

TS: E<sub>S</sub> = 119 kcal/mol

E<sub>T</sub> = 48 kcal/mol

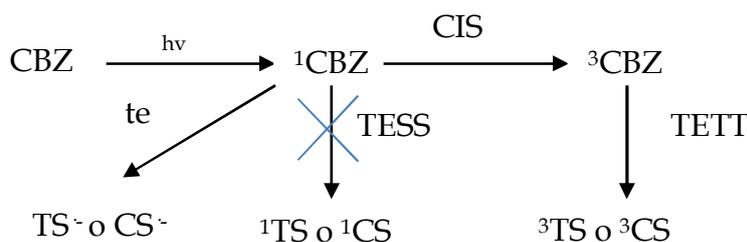
CS: E<sub>S</sub> = 115 kcal/mol

E<sub>T</sub> = 56 kcal/mol

CBZ: E<sub>S</sub> = 86 kcal/mol

E<sub>T</sub> = 70 kcal/mol

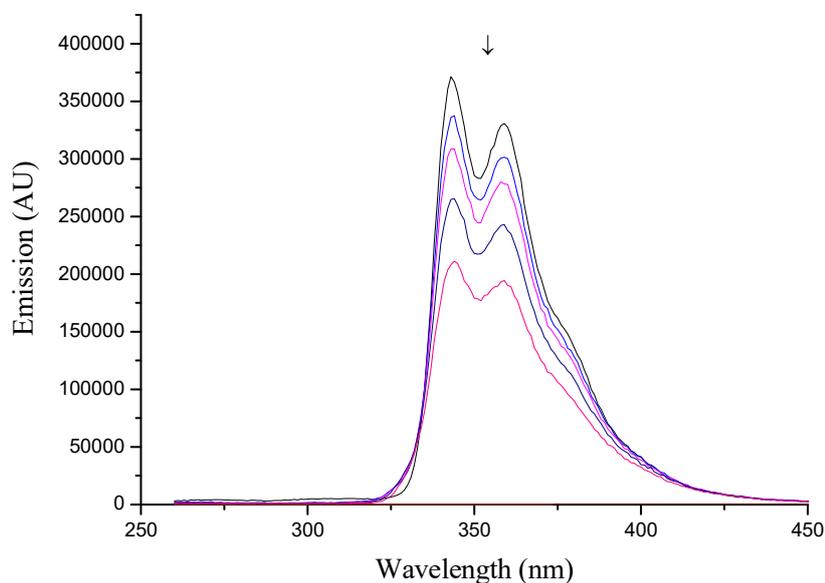
Nos encontramos con la siguiente situación:



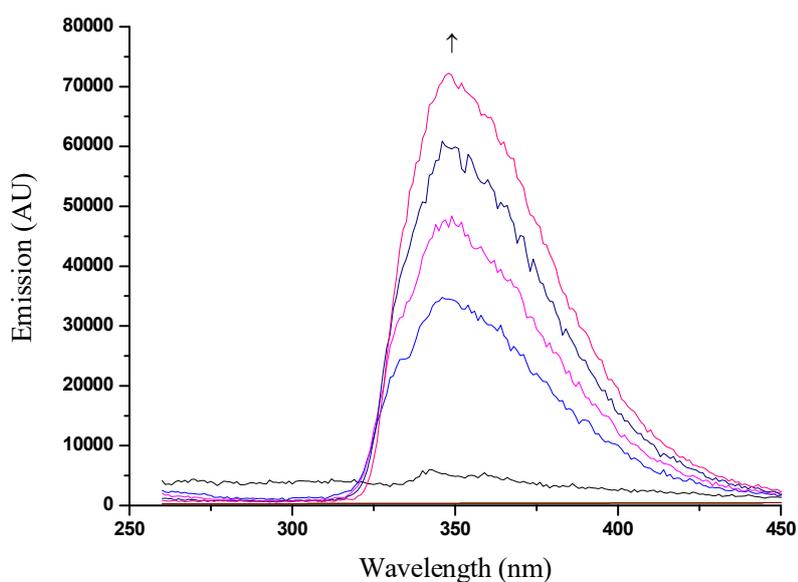
Con objeto de hacer algunas investigaciones acerca del mecanismo de la irradiación fotosensibilizada se eligieron *cis/trans*-estilbeno y CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH y se realizaron estudios de emisión en de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH estado estacionario.

En la **Figura 55** podemos observar que la emisión debida a CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH (con dos máximos a 340 y 360 nm) tras excitación a 250 nm en acetonitrilo disminuyó tras adicionar concentraciones crecientes de *trans*-estilbeno (0 - 3 x 10<sup>-4</sup> M). Se realizó un

experimento control en el que únicamente se utilizó *trans*-estilbeno en las mismas condiciones y se pudo observar la emisión característica de éste (**Figura 56**). Puesto que el *trans*-estilbeno también emite en la misma zona se puede concluir que la disminución real será mayor a la observada en la **Figura 55**.

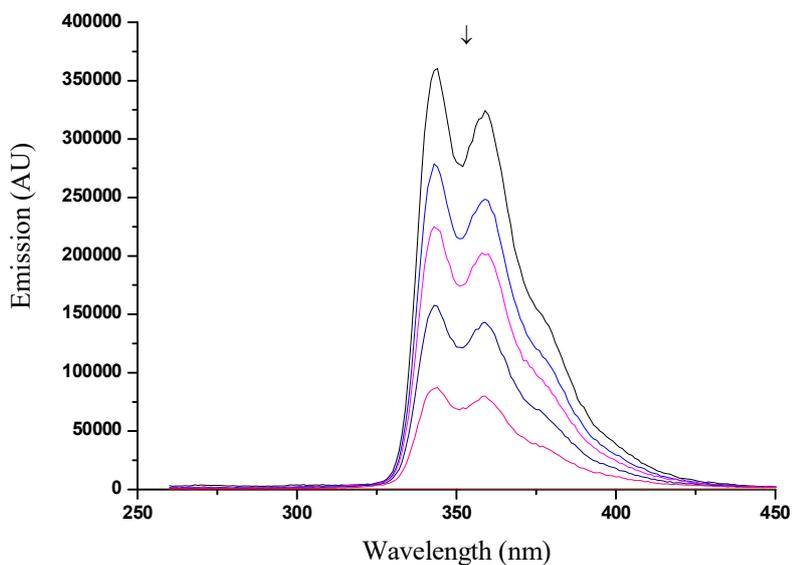


**Figura 55.** Irradiación de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH a 250 nm en presencia de concentraciones crecientes de *trans*-estilbeno ( $0 - 3 \times 10^{-4}$  M) en acetonitrilo.

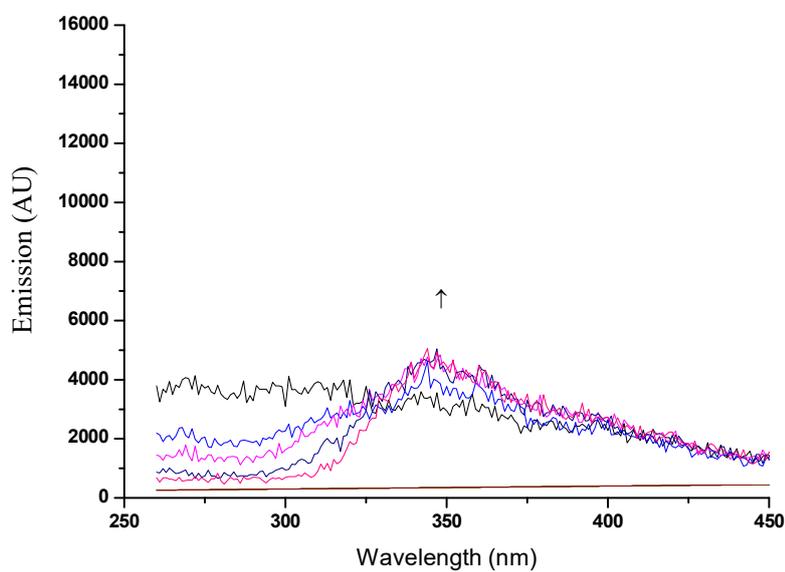


**Figura 56.** Irradiación de *trans*-estilbeno 250 nm ( $0 - 3 \times 10^{-4}$  M) en acetonitrilo.

Más claro aún resulta el experimento llevado a cabo empleando *cis*-estilbeno como desactivante **Figura 57**, ya que este no emite por excitación directa (**Figura 58**).



**Figura 57.** Irradiación de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH a 250 nm en presencia de concentraciones crecientes de *cis*-estilbeno (0 - 3 × 10<sup>-4</sup> M) en acetonitrilo.



**Figura 58.** Irradiación de *cis*-estilbeno 250 nm (0 - 3 × 10<sup>-4</sup> M) en acetonitrilo.

De nuevo podemos concluir que la isomerización fotosensibilizada de *trans*-estilbeno en presencia de CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH transcurre parte desde el singlete del CBZ-CH<sub>2</sub>-COOH aunque no se puede descartar la TE desde el triplete del fotosensibilizador.

#### 4.6 INSTRUMENTACION GENERAL.

El equipo utilizado para medir los espectros de absorción de ultravioleta-visible ha sido con un espectrofotómetro Cary 300 UV-Vis (UV0811M209, Varian).

Las irradiaciones y el control térmico se realizaron en un fotorreactor Luzchem modelo LZC-AV, con una lámpara de longitud de onda de emisión centrada en 350 nm.

RMN Bruker Ultrashield 300 MHz para los espectros de resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C empleando CDCl<sub>3</sub> como disolvente.

Los ensayos de fluorescencia se realizaron en un Easylife X Filter Fluorescence Lifetime Fluorometer. La longitud de onda de excitación fue de 250 nm y se registró la emisión entre 260-460 nm.

Los ensayos de irradiación fotosensibilizada de *trans*-estilbeno se realizaron con una lámpara monocromática Microbeam a 250 nm.

## **5. CONCLUSIONES.**

A partir de todos los ensayos realizados se pudieron llegar a las siguientes conclusiones.

De los ensayos de irradiación directa se concluyó:

- La irradiación directa de *trans*-estilbeno dió fundamentalmente el isómero *cis* independientemente de la polaridad del disolvente.
- Se obtuvo además, fenantreno como producto derivado de la ciclación del isómero *cis*. El rendimiento de formación de este producto resultó más alto en n-hexano que en el resto de disolventes más polares.
- La irradiación directa de *cis*-estilbeno dio fundamentalmente fenantreno, ciclación que se vio favorecida de nuevo en n-hexano.

De los ensayos de irradiación directa en agregados de ácidos biliares se concluyó:

- No se observaron diferencias significativas al comparar la irradiación de *trans* o *cis* estilbeno en los diferentes ácidos biliares respecto a disolución.

De los controles térmicos se concluyó:

- El control térmico de las reacciones de isomerización partiendo de *cis/trans*-estilbeno puso de manifiesto un avance de la reacción insignificante respecto a la fotoinducida, no observándose la aparición de fenantreno.

De los ensayos de irradiación fotosensibilizada se concluyó:

- El ácido 9-carbazolacético es estable en las condiciones de irradiación fotosensibilizada.
- El grado de isomerización fotosensibilizada es mayor que el de la isomerización por irradiación directa.
- Estudios fotofísicos indican que la emisión de ácido 9-carbazolacético se desactiva en presencia de concentraciones crecientes tanto de *trans*-estilbeno como de *cis*-estilbeno, por lo que apuntan a la participación de estado excitado singlete en un proceso de transferencia electrónica.
- Los cálculos empleando la ecuación de Rehm-Weller apoyan la viabilidad termodinámica del proceso.

Se establecen pues, como propuestas de trabajo futuro:

- Optimizar las condiciones de irradiación fotosensibilizada para aumentar la selectividad en la excitación del sensibilizador.
- Determinar las constantes de desactivación del estado excitado singlete del sensibilizador, mediante experimentos en tiempo resuelto.
- Explorar la viabilidad del suprofeno como sensibilizador.
- Caracterizar las diadas sintetizadas en el apartado 3.6.1.
- Estudiar la participación del triplete del ácido 9-carbazolacético en el proceso de transferencia de energía a *cis/trans*-estilbeno.

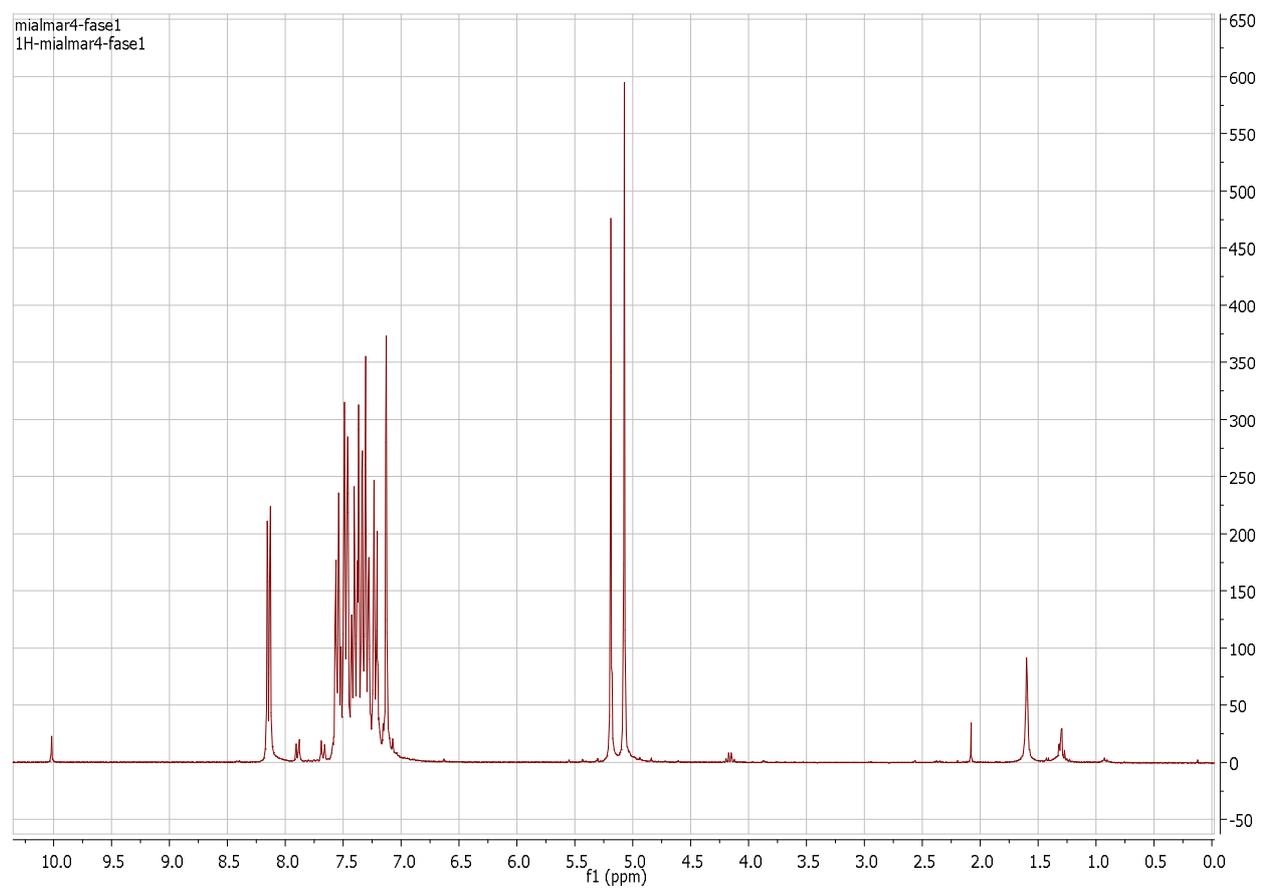


## 6. ANEXOS.

# ANEXO 1: ESPECTROS DE RMN.

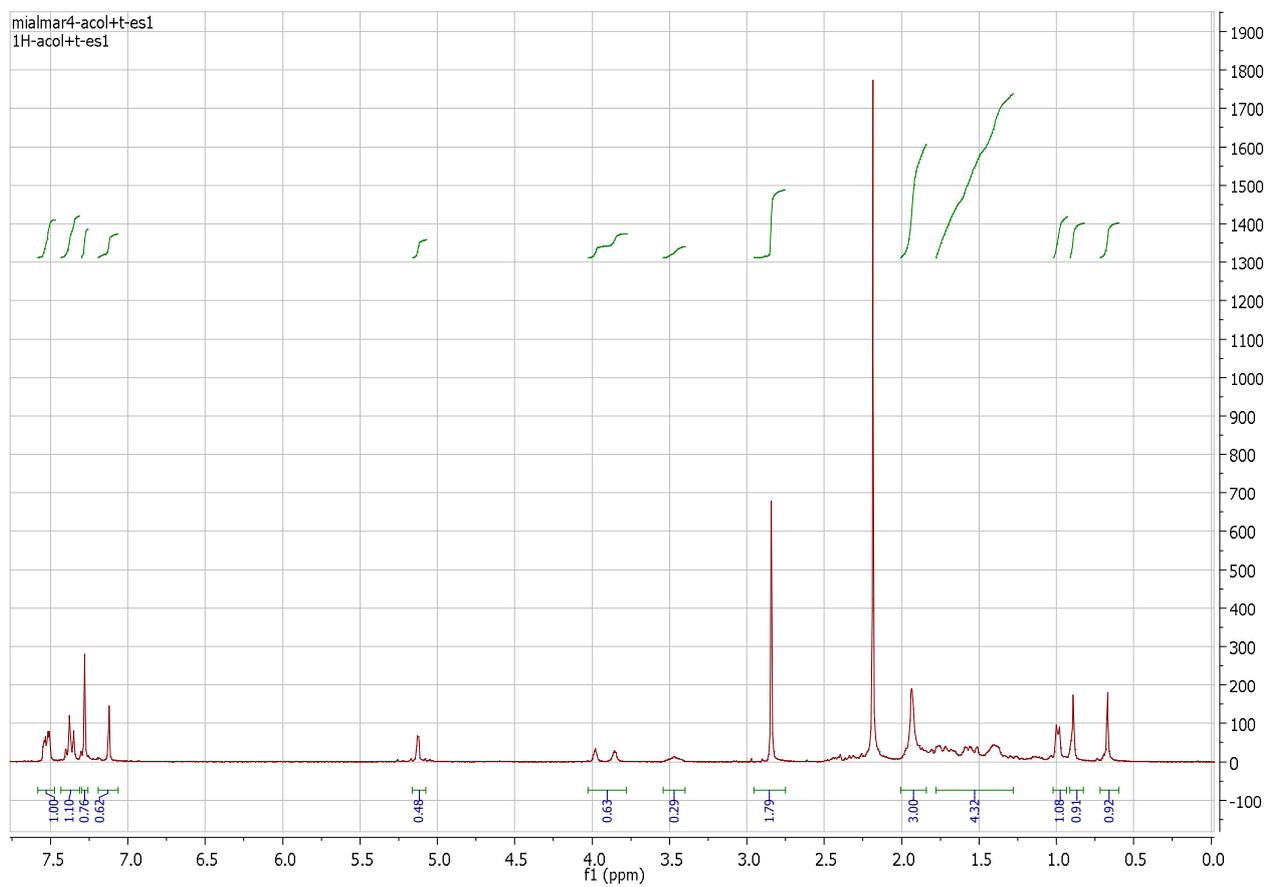
## Carbazolacetato de *trans*-4-estilbenmetanol (*trans*-Em-CBZ)

### Espectro de <sup>1</sup>H RMN



# Colato de *trans*-4-estilbenmetanol (CA-*trans*-Em)

## Espectro de $^1\text{H}$ RMN





## 7. BIBLIOGRAFÍA

- 1 J. W. Verhoeven "Glossary of terms used in photochemistry IUPAC Recommendation" *Pure and Applied Chemistry* **1996**, 68, 2223-2286.
- 2 W. Reusch "Virtual textbook of organic chemistry" **1999**.
- 3 N. J. Turro, J. C. S., V. Ramamurthy "Principles of Molecular Photochemistry: An Introduction" *University Science Books* **2009**.
- 4 T. W. J. Taylor, A. R. Murray. "Isomeric changes in certain stilbenes" **1938**, 395, 2078-2086.
- 5 R. Kuhn, "Molecules Organiques" *Solvay Report* **1931**, p. 364.
- 6 <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/photchem.htm> (consultada 19/7/2016)
- 7 V. Papper "Substituted stilbenes: a new view on well-known systems. New applications in chemistry and biophysics" *Photochemistry and Photobiology* **2001**, 140, 39-52.
- 8 C. Dugave, L. Demange "Cis-trans isomerization of organic molecules and biomolecules: implications and applications" *Chemical Review* **2003**, 103, 2475-532.
- 9 <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/photchem.htm>
- 10 G. Hammond, A. Lamola, N. J. Turro, J. S. Bradshaw, D. O. Cowan, R. C. Counsell, V. Vogt, C. Dalton "Mechanism of photochemical reactions in solution. Photochemical cis-trans isomerization" *J. Am. Chem. Soc* **1964**, 86, 3197-3217.
- 11 Tong-Ing Ho, Tzu-Min Su, Tian-Chyuan Hwang "A convenient method for measuring Quantum Yields photoisomerization of trans-stilbene" *Journal of Photochemistry and Photobiology* **1988**, 41, 293-298.
- 12 S. Malkin, E. Fischer "Temperature dependence of photoisomerization. Direct and sensitized photoisomerization of stilbenes" *J. Phys. Chem* **1964**, 68, 1153-1163.
- 13 H. A. Hammond, D. E. DeMeyer., J. L. R. Williams "Quantum Yields for the sensitized photoisomerization of cis and trans-stilbenes" **1969**, 5180-5181.
- 14 F. G. Honrubia "Sales pirilio y tiopirilio como fotosensibilizadores de transferencia electrónica en reacciones de aril olefinas" UPV, **1999**.

- 15 M. A. Miranda, H. Garcia "2,4,6-Triphenylpyrylium Tetrafluoroborate as an electron-transfer photosensitizer" *Chem. Rev.* **1994**, 94, 1076.
- 16 A. Corma, V. Fornés, H. García, M. A. Miranda, J. Primo, M. J. Sabater "Photoinduced electron transfer within Zeolite cavities *cis*-stilbene isomerization photosensitized by 2,4,6-Triphenylpyrylium cation imprisoned inside Zeolite Y" *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 2276-2280.
- 17 R. A. Caldwell, R. P. Gajewski "Fluoronone photosensitized isomerization of *trans*-stilbene. Inefficiencies both in intersystem crossing and in triplet excitation transfer" *J. Am. Chem. Soc.* 1970, 532-534.
- 18 M. V. Baldoví, A. Corma, H. García, V. Martí "Shape-Selective photosensitized isomerization of stilbene using a benzophenone incorporated within acid zeolites" *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35, 9447-9450.
- 19 B. Zalent, G. Durocher "One-electro photooxidation of carbazole in the presence of carbón tetrachloride" *J. Org. Chem.* **1981**, 1496-1499.
- 20 Taylor and Francis Group "Handbook of photochemistry" **2006** Third Edition.
- 21 Manufacturer's PIL, Surgam® 300 mg tablets; Sanofi, The electronic Medicines Compendium. Dated October **2013**.
- 22 British National Formulary; 68th Edition (Sep 2014) British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, London
- 23 F. Boscá, M. L. Marin, M. A. Miranda, "Photoreactivity of the nonsteroidal anti-inflammatory 2-arylpropionic acids with photosensitizing side effects" *Photochemistry & Photobiology* **2001**, 74(5), 637-655.
- 24 <http://themedicalbiochemistrypage.org/es/bileacids-sp.php> (consultada 19/7/2016)
- 25 M. G. Mendoza "Nuevas sondas fotoactivas para el estudio de sistemas supramoleculares basados en ácidos biliares" **2013**.
- 26 M. G. Mendoza, M. L. Marin, M. A. Miranda "Dansyl-labeled cholic acid as a tool to build speciation diagrams for the aggregation of bile acids" *J. Phys. Chem. B.* **2012**, 116, 14776-14780.

- 27 M. G. Mendoza, E. Nuin, I. Andreu, M. L. Marin, M. A. Miranda "Photophysical probes to assess the potential of cholic acid aggregates as drug carriers" *J. Phys. Chem. B.* **2012**, 116 10213-10218.
- 28 M. G. Mendoza, M. L. Marin, M. A. Miranda "Dansyl derivatives of cholic acid as tools to build speciation for sodium cholate aggregation" *J. Phys. Chem.* **2011**, 2, 782-785.
- 29 M. P. Grosvenor, J. E. Lofroth, *Pharm. Res.* **1995**, 12, 682-686.
- 30 R. S. Moutinho, C. G. Pereira, E. de Castro, B. Gameiro, P. Lima, J. J. *Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, 45, 62-69.
- 31 B. de Castro, P. Gameiro, C. Guimaraes, J. Lima, S. J. Reis, *Pharm. Biomed. Anal.* **2001**, 24, 595-602.
- 32 M. Posa, J. Csanadi, K. E. Kover, V. Guzsvany, G. Batta "Photophysical Probes To Assess the Potential of Cholic Acid Aggregates as Drug Carriers" *Colloids Surf. B* **2012**, 94, 317-323.
- 33 M. R. Ams, D. Ajami, S. L. Craig, J. Yang and J. R. Jr "Control of stilbene conformation and fluorescence in self-assembled capsules" *J. Org. Chem.* **2009**, 5, No. 79
- 34 A. Parthasarathy, L. S. Kaanumalle, V. Ramamurthy "Controlling Photochemical Geometric Isomerization of a Stilbene and Dimerization of a Styrene Using a Confined Reaction Cavity in Water" *Org. Lett.*, **2007**, 9 (24), pp 5059-5062
- 35 S. Nakazato, T. Takizawa, T. Arai "Photoisomerization and energy transfer in naphthalene-terminated stilbene dendrimers" *Photochem. Photobiol. Sci.* **2011**, 11, 885