



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS  
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**“Diseño, síntesis y estudio de propiedades fotofísicas de derivados de bases de Schiff y de fluoreno”**

**T E S I S**

**Que presenta**

**I.Q.I. Arturo Jiménez Sánchez**

**Para obtener el grado de**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

En la especialidad de

**CIENCIAS QUÍMICAS**

**Directora de tesis:** Dra. Rosa Luisa Santillan Baca

Distrito Federal, México

Julio 2014

---

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Química del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), con el apoyo de la beca No. 229300, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

---

## Participaciones realizadas

### El presente trabajo ha generado las siguientes publicaciones:

Arturo Jiménez-Sánchez, M. Rodríguez, M. Métivier, G. Ramos-Ortíz, J. L. Maldonado, N. Réboles, N. Farfán, K. Nakatani, R. Santillan, Synthesis and crystal structure of a series of Schiff bases. A photo-, solvato- and acidochromic compound, *New J. Chem.*, **2014**, 38, 730.

Arturo Jiménez-Sánchez, N. Farfán, R. Santillan, A reversible fluorescent–colorimetric Schiff base sensor for Hg<sup>2+</sup> ion, *Tetrahedron Lett.*, **2013**, 54, 5279.

### Presentaciones en congresos internacionales:

Arturo Jiménez-Sánchez, N. Farfán, R. Santillan. “Two fluorescent Schiff base sensors for Zn<sup>2+</sup>: the Zn<sup>2+</sup>/Cu<sup>2+</sup> ion interference”. Gordon Research Conferences, Bioanalytical Sensors, Salve Regina University, Newport, RI, USA, 22-27 de Junio de 2014.

Arturo Jiménez-Sánchez, G. Ramos-Ortíz, J. L. Maldonado, N. Farfán, K. Nakatani, R. Santillan. “From Design to Applications of two photo-, solvato-, iono- and acidochromic Schiff bases,”. International Materials Research Congress, Symposium on Organic Electronics. Cancún-Quintana Roo, 17-21 de Agosto de 2014.

Arturo Jiménez-Sánchez, I. Isunza, G. Ramos-Ortiz, N. Farfán, R. Santillan, “Synthesis and One- and Two- Photon Optical Properties of Ethynyl-Fluorene Labeled Dipolar, Quadrupolar and Octupolar Donor-Acceptor Molecules”. International Conference on Polymers and Advanced Materials and LatinAmerican Symposium on Coordination and Organometallic Chemistry, Huatulco-Oaxaca, 13-17 de Octubre de 2013.

Arturo Jiménez-Sánchez, J. C. Ortiz, N. Farfán, R. Santillan, “A fluorescent dual-model sensor for Zn<sup>2+</sup>/Cu<sup>2+</sup> and (PO<sub>4</sub>)<sup>n-</sup>/S<sup>2-</sup> via central metal return: a multifunctional sensing

approach”. International Conference on Polymers and Advanced Materials and LatinAmerican Symposium on Coordination and Organometallic Chemistry, Huatulco-Oaxaca, 13-17 de Octubre de 2013.

### **Presentaciones Orales:**

Semana de la investigación Facultad de Química – UNAM. “Síntesis y caracterización de interruptores moleculares con posible actividad óptica no-lineal”. Facultad de Química, Agosto-2011.

Proyecto interinstitucional CONACyT-SENER 153094 (2011). Diseño y desarrollo de celdas solares orgánicas (OPVs) eficientes para la generación de energía limpia. “Propiedades fotofísicas de derivados de fluoreno”. Facultad de Química – UNAM, Noviembre-2012.

Semana de la investigación Facultad de Química – UNAM. “Síntesis y caracterización de interruptores moleculares con posible actividad óptica no-lineal”. Facultad de Química, Julio-2011.

## *Palabras de agradecimiento*

Un profundo agradecimiento a mi asesora la doctora **Rosa Santillan** por permitirme formar parte de su grupo de investigación, por su guía y por confiar en mí. Al **Dr. Norberto Farfán** le debo mucho por estar siempre dispuesto a discutir mis resultados.

Al doctor **Jesús Rodríguez** le agradezco por las innumerables discusiones al respecto del interesante campo de la fluorescencia, sin duda cualquier concepto, desde el más fundamental fue discutido y aprendido con tu ayuda, gracias por eso, aunque agradezco más tu gran amistad.

A los miembros del jurado: **Dra. María de Jesús Rosales Hoz, Dra. Rosa Luisa Santillan Baca, Dr. Eusebio Juaristi y Cosio, Dr. Herbert Höpfl, Dr. Omar Solorza Feria y Dr. Héctor Ortega**, por sus apreciables comentarios y correcciones a este trabajo que sin duda lo mejoraron.

A las personas que me ayudaron mediante la obtención de diversos experimentos para la caracterización de las moléculas sintetizadas: **Q.F.B. Teresa Cortez Picasso, Q. Victor Manuel Gonzalez Días y F. Marco Antonio Leyva Ramírez**.

Agradezco al personal de la Biblioteca de Química: **Lic. Alicia Hernández Monroy, Lic. Belem García Villegas, Lic. Alejandra Rodríguez García y Lic. Gonzalo Trejo Santamaría** por todo su apoyo que ayudo a mejorar mi formación en el departamento de química.

Un especial agradecimiento al **Dr. Vianney Ortiz Navarrete** y al **Biol. Benjamín Ortíz López**, por los estudios en líneas celulares, así como al **M. en C. Víctor Hugo Rosales G.** de **LaNSE-Cinvestav**, por los estudios de citometría de flujo.

Asimismo, agradezco mucho a las licenciadas **Gloria León Maturano y Lorena Sánchez** por el apoyo secretarial por parte de Coordinación Académica.

Un agradecimiento muy merecido a las personas que me ayudaron en la parte experimental, específicamente en la síntesis de diversas moléculas, tanto las que presento como las que no

salieron, particularmente agradezco a **M. en C. Margarita Romero Ávila, I.Q.I. Rebeca Yépez Guerra y M. en C. Maria Eugenia Ochoa.**

Agradezco profundamente al **CINVESTAV-IPN** y al **CONACyT** por brindarme sus instalaciones y por el apoyo económico, respectivamente. Asimismo, agradezco mucho al departamento de **Supercómputo** del mismo centro que a través del **clúster Xihucoatl** se logró mejorar sustancialmente la calidad de la investigación aquí presentada.

Un agradecimiento muy especial a los doctores que me impartieron esas clases tan interesantes y elegantes, llenas de ciencia y talento. Sus influencias están diseminadas a lo largo de este trabajo. Gracias a las doctoras **Bárbara Gordillo, Teresa Mancilla, Rosa Santillan, Mary Rosales y Liliana Quintanar** y a los doctores **Andreas Köster, Eusebio Juaristi, Armando Ariza y Omar Solorza.**

A los doctores **Mario Rodríguez, Gabriel Ramos Ortiz y Keitaro Nakatani** les agradezco por su gran ayuda en el campo de la óptica.

Al doctor **Pascal Lacroix** le agradezco infinitamente por todo su apoyo en mis estancias en Francia, por sus enseñanzas en el área de la química computacional y por permitirme conocer y aprender de una cultura de trabajo eficiente, apasionada y de dedicación completa. Le agradezco también por enseñarme que la combinación del deporte y el trabajo es una fuente inagotable de energía.

A todo el departamento conjunto de Química Teórica les agradezco inmensamente, sin duda todos y cada uno de **“los teóricos”** de mi generación y generaciones cercanas tuvieron que lidiar conmigo en algún momento. Definitivamente creo que a todos les fui a quitar el tiempo en varias ocasiones. Particularmente, al doctor **Javier Carmona** por sus enseñanzas en TD-DFT, al doctor **Víctor Daniel Domínguez** por sus enseñanzas e incluso los trucos en el código DeMon2k, a los doctores **Aurelio Álvarez y Bernardo Antonio Zúñiga** por su colaboración en el proyecto de Xihucoatl, al doctor **Rafael Grande** por las innumerables veces que me ayudó para la visualización de mis cálculos.

A **Héctor Oliver** por su invaluable ayuda en la utilización del clúster de supercómputo Xihucoatl.

A mis compañeros del laboratorio: **Nancy Elelyn Magaña, Rebeca Yépez, Maria Eugenia Ochoa, Jesús Rodríguez, Oscar Pérez, Oscar Domínguez, Braulio Molina, Pedro Ramírez y Juan Carlos Flores**, por convivir conmigo y sobre todo todas esas agradables experiencias que no solo enriquecieron el ambiente de trabajo sino a mí como persona.

A **Andrés, Edgar Cruz Alcudia, Armando, Vladimir Morales y Juan Carlos Flores**, les agradezco mucho por todo el esfuerzo y la dedicación que pusieron en el trabajo que desarrollamos juntos y por enseñarme que transmitir un poco de conocimiento o experiencia en el laboratorio es una tarea bastante humana.

A la señora **María del Carmen Guzmán (Doña Carmen)**, le agradezco infinitamente su buen ejemplo de trabajo, su agradable compañía y sus sabios consejos, que simplemente se traducen para mí en la más humilde expresión humana de dedicación hacia los demás.

Es un hecho que he incurrido en omisiones al recordar a toda la gente que me ayudó en este trabajo. Les pido una disculpa.

## *Dedicatorias*

Este trabajo está dedicado a mis padres que han significado apoyo en todo momento. Ellos me guiaron, me motivaron y me dieron inspiración, creyeron siempre en mí.

A mi madre **Victoria Sánchez Monroy** porque me has dado el ejemplo más puro de amor por la vida y por la familia. Definitivamente te debo a ti mis logros como estudiante, pero más aún, como ser humano. Te amo mami!

A mi padre **Arturo Jiménez Huerta** por enseñarme a ser disciplinado en la escuela, aunque gracias a ti viví una infancia completamente libre y callejera. Una adolescencia llena de deporte, atletismo, box, karate-do, futbol, baloncesto, montaña; y ahora solo puedo decir, extraño todo eso.

A mi esposa **María del Carmen Ortiz Cervantes**, por ser una gran mujer, una gran amiga y también una investigadora nata. Son innumerables las veces que recurrí a ti para discutir ideas y conceptos de síntesis organometálica. Desde que te conozco tengo la certeza de que el amor y la química se llevan muy bien. Te amo mi amor.

A mis hermanas **Claudia y Olga** por todo el amor y las alegrías que me dan cada día. Por acompañarme en todo momento. Luego, a mis cuñados **Juan Rangel**, por tu amistad y enseñarme a cerca del interesante mundo del buen café; a **Juan José López** por tu amistad y por prestarme tu colección de música clásica. A mis sobrinas **Alejandra y Olga Guadalupe** les agradezco mucho por el aprendizaje que compartimos, por esas bolsas de gomitas que no faltan en mis cumpleaños y por no dejar que me gane la tecnología.

Finalmente a la familia **Ortiz Cervantes** por recibirme y considerarme como de su familia, por demostrarme que la vida puede ser muy sencilla si vives para tu trabajo y para cuidar la naturaleza.



## Índice general

<b>Resumen</b>	1
<b>Abstract</b>	4
<b>Índice de compuestos</b>	7
<b>Capítulo 1.</b> Diseño, síntesis, caracterización y aplicación de bases de Schiff fluorescentes con propiedades foto-, solvato-, iono- y acidocrómicas.	
1.1	Introducción 9
1.2	Antecedentes
1.2.1	Bases de Schiff 14
1.2.2	Procesos fotofísicos y efectos del medio en la emisión de fluorescencia 18
1.2.3	Efectos de procesos fotofísicos inter- e intramoleculares en la emisión de fluorescencia 27
1.2.4	Procesos fotofísicos en la absorción de dos fotones 33
1.3	Objetivos 40
<b>Capítulo 2.</b> Discusión de resultados	
2.1	Síntesis y caracterización de las bases de Schiff <b>1a-1d</b> , <b>2a-2c</b> , <b>L1</b> , <b>L2</b> y <b>L3</b> .
2.1.1	Síntesis y caracterización de derivados de 4- <i>N,N</i> -dimetilamino- <i>trans</i> -cinamaldehído ( <b>1a-1d</b> , <b>2a-2c</b> ) 41
2.1.2	Síntesis y caracterización de derivados de 4- <i>N,N</i> -dietilamino-salicilaldehído ( <b>L1</b> , <b>L2</b> y <b>L3</b> ) 44

2.2	Propiedades fotofísicas de los derivados de cinamaldehído y evaluación de las propiedades multifuncionales del compuesto ( <i>R</i> )-2-[3-(4-dimetilaminofenil)alilidenamino]-fenilglicinol ( <b>2a</b> )	
2.2.1	Análisis de la estructura cristalina y propiedades en el estado sólido	45
2.2.2	Propiedades fotofísicas en disolución	51
2.2.3	Propiedades solvatocrómicas de <b>2a</b>	54
2.2.4	Propiedades acidocrómicas de <b>2a</b>	59
2.2.5	Efecto del grupo N(Me) <sub>2</sub> en <b>2a</b>	61
2.2.6	Medición del proceso ESIPT por fluorescencia resuelta en tiempo	62
2.2.7	Cálculos computacionales DFT y TD-DFT	66
2.2.8	Propiedades ionocrómicas de <b>2a</b>	69
2.3	Sensores moleculares fluorescentes derivados de salicilaldehído	
2.3.1	( <i>R</i> )-2-[3-(4-(dietilamino)salicilaldimin)]-fenilglicinol ( <b>L1</b> )	77
2.3.2	Interferencia Zn <sup>2+</sup> /Cu <sup>2+</sup> : Compuestos 2,4-diterbutil-6-(1-hidroxiciclohexilmetilimin)metil)fenol ( <b>L2</b> ) y 2-(1-hidroxilciclohexil-metilimino-metil)fenol ( <b>L3</b> )	84
2.4	Propiedades fotofísicas de los derivados 9,9'-dioctil-2-(4-etinil-1-benzonitrilo)-9H-fluoreno ( <b>1NSD</b> ) y 2,4,6-tris[9,9'-dioctil-2-(etinil-1-fenil)-9H-fluoren]-1,3,5-triazina ( <b>3NSO</b> )	
2.4.1	Síntesis y caracterización de derivados <b>1NSD</b> y <b>3NSO</b>	101
2.4.2	Análisis de la estructura cristalina y cálculos TD-DFT, aspectos geométricos y frecuencias vibracionales del equivalente dipolar ( <b>1NSD</b> )	104
2.4.3	Propiedades fotofísicas en disolución de <b>1NSD</b> y <b>3NSO</b>	112

2.4.4 Propiedades de absorción de dos fotones (TPA) y emisión promovida por la absorción de dos fotones (TFEF)	119
2.4.5 Medición de $\delta_{\text{TPA}}$ en nanoagregados de <b>3NSO</b>	127
<b>Capítulo 3. Conclusiones</b>	131
<b>Capítulo 4. Parte experimental</b>	
4.1 Instrumentación y equipo	135
4.2 Métodos generales para la síntesis y caracterización espectroscópica	137
4.3 Preparación de las soluciones y mediciones	143
<b>Capítulo 5. Referencias</b>	145
<b>Apéndice</b>	154

## RESUMEN

En el presente trabajo se describe el diseño, la síntesis, la caracterización espectroscópica y el análisis de propiedades fotofísicas de moléculas con transferencia de carga intramolecular y de transferencia de protón inter o intramolecular acopladas, donde se exploran las propiedades de fluorescencia como principio fundamental para su aplicación en materiales moleculares con propiedades ópticas múltiples.

Los sistemas moleculares sintetizados pertenecen a dos familias: bases de Schiff con alto acoplamiento electrónico y moléculas derivadas de fluoreno con propiedades de transferencia de carga y de fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones.

En lo concerniente a las bases de Schiff sintetizadas, se llevó a cabo la caracterización fotofísica mediante distintas técnicas. Se efectuó un análisis del arreglo supramolecular en el estado sólido cristalino mediante difracción de rayos-X de monocristal, con ello se descartaron las moléculas que no presentaron enlaces de hidrógeno. En particular, este análisis mostró que la molécula derivada de fenilglicinol exhibe distintas respuestas frente a la irradiación con luz de 365 nm, cambiando de color de amarillo a rojo únicamente en el estado cristalino, como consecuencia de su arreglo supramolecular. Adicionalmente, las técnicas de fluorescencia de estado estacionario y fluorescencia resuelta en tiempo (nanosegundos) fueron empleadas para caracterizar el proceso fotocromico. Los estudios revelaron que la banda ubicada alrededor de 475 nm proveniente de una transición  $\pi \rightarrow \pi^*$  de la molécula protonada en el nitrógeno imínico, es altamente sensible no sólo a la acidez del medio sino también exhibe cambios drásticos en sus propiedades fotofísicas con variaciones de la polaridad y muy ligeramente de la polarizabilidad del medio, lo cual fue estudiado en detalle teóricamente y mediante distintas escalas empíricas de disolvente. Con el objetivo de establecer la dinámica en el estado excitado, se realizó un estudio de los procesos que conlleva la absorción de luz por la molécula, haciendo un análisis de la reacción de transferencia de protón en el estado excitado (ESPT, Excited State Proton Transfer, por sus siglas en inglés), una reacción de tipo *transferencia acoplada de protón-electrón* (PCEL, Proton Coupled Electron Transfer) *en el estado excitado*, lo que permitió establecer un tiempo de decaimiento del estado  $S_1$  al  $S_0$  de 0.01 a 0.2 ns para dicha transferencia.

El análisis de las propiedades ionocrómicas para la base de Schiff derivada de fenilglicinol mostró que la banda desplazada batocromicamente también presenta actividad frente a la presencia de  $Hg^{2+}$

con una constante de enlace del orden de  $7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  y un límite de detección para  $\text{Hg}^{2+}$  del orden de  $3 \times 10^{-6} \text{ M}$ , presentando asimismo una buena selectividad hacia dicho ión metálico.

Con lo anterior se lograron establecer las características electrónicas y estructurales que promueven propiedades fotónicas-múltiples, como fotocromismo, solvatocromismo, acidocromismo y ionocromismo en una molécula. Dichas características implican una alta eficiencia en la transferencia de carga intramolecular, un desplazamiento de Stokes (diferencia entre los máximos de absorción y de emisión) grande, la presencia de enlace de hidrógeno intermolecular y/o sitio de protonación involucrado en la transferencia de carga y un sitio de coordinación con iones metálicos.

El presente trabajo también comprende el diseño y la síntesis de tres bases de Schiff con propiedades de reconocimiento altamente selectivo frente a  $\text{Zn}^{2+}$  mediante el encendido de la fluorescencia y con respuesta dual hacia aniones inorgánicos y/o orgánicos de interés. En este contexto, actualmente existe una problemática interesante donde se ha establecido que prácticamente todos los sensores moleculares fluorescentes para  $\text{Zn}^{2+}$  no son realmente específicos a dicho metal debido al problema de interferencia con  $\text{Cu}^{2+}$  y/o  $\text{Cd}^{2+}$ . Este problema resulta de importancia dado que en muestras reales de naturaleza biológica estos metales suelen estar presentes. Por ello, en este trabajo de tesis se encaminaron los esfuerzos en el diseño de sensores de  $\text{Zn}^{2+}$  que no presenten interferencia con  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$ . Por consiguiente, el trabajo de tesis detalla el diseño tanto computacional como experimental de tres nuevos sensores de  $\text{Zn}^{2+}$ ; sin embargo, la idea de este trabajo es demostrar que el aumento de la rigidez del ligante y su nivel de preorganización conllevan a aumentar su constante de asociación con  $\text{Zn}^{2+}$  y de hecho ayudan a discriminar totalmente a otros iones. Para ello se sintetizó el compuesto sin grupos *t*-butilo (**L3**) y se estudiaron en detalle los parámetros de transferencia de carga intramolecular, que están directamente involucrados en el mecanismo de encendido y apagado de la fluorescencia. Los resultados demostraron que en efecto el compuesto **L3** logra discriminar iones  $\text{Cu}^{2+}$ , aún cuando este último se encuentre en exceso.

Como tema final del trabajo de tesis, se estudiaron las propiedades fluorescentes de compuestos derivados de fluoreno con la finalidad de usarlos como marcadores biológicos de absorción de dos fotones (TPA, Two-Photon Absorption) y fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones (TPEF, Two-Photon Excited Fluorescence). Las propiedades TPA resultan interesantes dado que es posible estudiar la respuesta fluorescente en puntos altamente focalizados y con una señal de fluorescencia bastante amplia. En efecto, la absorción de dos fotones es un proceso óptico de tercer orden que ha tenido mucho auge recientemente, ya que a diferencia de la absorción lineal depende

del cuadrado de la intensidad de luz incidente, lo que la hace altamente eficiente debido a que se requieren fotones de la mitad de energía para lograr la transición electrónica. En consecuencia, las moléculas que exhiben propiedades TPA han sido ampliamente estudiadas y el desarrollo de nuevos materiales con propiedades de TPA constituye un reto importante en investigación.

Finalmente se efectuó el diseño, la síntesis, la caracterización química y el estudio de las propiedades de absorción de dos fotones y de fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones de los derivados de fluoreno sintetizados. El objetivo general de esta síntesis fue obtener dos derivados: el compuesto **1NSD** como un sistema electrónico dipolar y el **3NSO** como un sistema de naturaleza octopolar. En lo particular, los resultados muestran que las propiedades TPA para el arreglo octopolar (molécula **3NSO**) la sección cruzada (un parámetro relacionado a la absorción bifotónica) aumenta drásticamente, la cual se obtuvo a través de su respuesta en fluorescencia. Con ayuda de un análisis solvatocrómico se estableció que el cambio en el momento dipolar entre el estado excitado y el basal ( $\mu_{ee} - \mu_{gg}$ ) es de 14 Debyes (D) para la molécula dipolar. Sin embargo, en el caso de la molécula octopolar, la cual por su naturaleza no exhibe momento dipolar, se hizo una aproximación del momento de transición (momento dinámico,  $\mu_{ge}$ ) mediante la visualización de los Orbitales Naturales de Transición (NTOs) en términos de interacciones hueco-electrón, encontrando que la transferencia de electrón depende fuertemente de la formación de un hueco en el nivel HOMO-1. Las respuestas TPA obtenidas corroboraron que la molécula **3NSO** exhibe una mayor sección cruzada con respecto a su contraparte dipolar (o monopolar). Se concluye de acuerdo a lo observado para los dos compuestos que el efecto octopolar en el arreglo conteniendo fenil-acetileno como puente  $\pi$ -conjugado hace que la localización electrónica sea fuertemente polarizable al interactuar con luz. Así mismo, la libre rotación de ese triple enlace genera una fuerte dependencia con la viscosidad del medio, cuya respuesta puede ser monitoreada por fluorescencia. Por ello, se manifiesta la importancia que tiene el introducir grupos acetileno conectando al grupo electroceptor con el fluoreno en el acoplamiento electrónico del sistema y por consiguiente su efectividad en el aumento de la absorción bifotónica, es decir, del valor de la sección cruzada.

## ABSTRACT

The design, synthesis, spectroscopic characterization and analysis of the photophysical properties of molecules with intramolecular charge transfer and inter- or intramolecular coupled proton transfer are explored in this thesis, where the fluorescence properties are studied as a basic principle for the application in molecular materials with multifunctional optical properties.

The synthesized molecular systems are classified in two families: Schiff bases with high electronic coupling and fluorene-derived molecules with charge transfer properties and two photon excited fluorescence properties.

Regarding to the synthesized Schiff bases, a photophysical characterization was carried out by different techniques. An analysis of the supramolecular arrangement in the crystalline state was performed by single crystal X-ray diffraction, thereby molecules which showed no hydrogen bonds were discarded. In particular, this analysis showed that the phenylglycinol derived molecule exhibits an interesting response to irradiation with light at 365 nm by changing color from yellow to red only in the crystalline state, as a result of the supramolecular array. Additionally, steady state and time-resolved (nanoseconds) fluorescence techniques were used to characterize the photochromic process. The studies revealed that the band situated around 475 nm comes from a  $\pi \rightarrow \pi^*$  electronic transition of the imino nitrogen-protonated molecule, which is highly sensitive not only to the acidity of the medium but also exhibit dramatic changes in their photophysical properties with variations in the polarity of the medium but very slightly changes with the polarizability, which was studied in detail by various theoretical and empirical solvent scales. With the objective of establishing the dynamics in the excited state, a study of the processes involved in the absorption of light by the molecule, by doing an analysis of the proton transfer reaction in the excited state (ESPT), which is a type of Proton Coupled Electron Transfer (PCEL) in the excited state, thereby allowing us to establish a time of decay from the  $S_1$  state to the  $S_0$  state of 0.01 to 0.2 ns for this transfer.

The analysis of the ionochromic properties of the phenylglycinol derived Schiff base allowed us to establish that the bathochromically shifted band also has activity against the presence of  $Hg^{2+}$  ions with a binding constant of about  $7 \times 10^5 M^{-1}$  and a detection limit for  $Hg^{2+}$  of  $3 \times 10^{-6} M$ , also showing a good selectivity for this metal ion.

With the above it was possible to determine the electronic and structural characteristics that promote-multiple photonic properties as photochromism, solvatochromism, acidochromism and ionochromism in one molecule. These characteristics involve a high efficiency in the intramolecular charge transfer, a very large Stokes shift (difference between absorption and emission maxima), the presence of intermolecular hydrogen bonding and/or the presence of a protonation site involved in charge transfer and also a coordination site for metal ions.

This work also includes the design and synthesis of three Schiff bases with highly selective recognition properties against  $\text{Zn}^{2+}$  through a turn-on fluorescence response and a dual response toward inorganic and/or organic anions. In this context, there is now an interesting problem which has been established since virtually almost all fluorescent molecular sensors for  $\text{Zn}^{2+}$  are not really specific to the metal due to the problem of interference with  $\text{Cu}^{2+}$  and/or  $\text{Cd}^{2+}$  ions, this issue is of importance because in real samples of biological nature, these metals are usually present. Therefore, in this thesis the efforts were headed to the design of  $\text{Zn}^{2+}$  sensors which are not sensitive to  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ . Consequently, the thesis detailed both, the computational and experimental design of three new sensors for  $\text{Zn}^{2+}$ ; however, the idea of this work is to demonstrate that an increase in stiffness of the ligand and its level of preorganization leads to an increase in the association constant with  $\text{Zn}^{2+}$  and actually helps to fully discriminate other ions. For that purpose the compound **L3** lacking the *t*-butyl was synthesized, and the parameters of intramolecular charge transfer directly involved in the on-off mechanism of fluorescence were studied in detail. The results showed that in fact compound **L3** can discriminate  $\text{Cu}^{2+}$  ions, even when the latter is present in large excess.

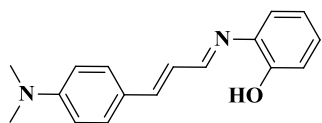
As a final topic of this thesis, the fluorescent properties of two fluorene-derived compounds were studied in order to use them as biomarkers of two-photon absorption (TPA) and fluorescence promoted by the two-photon absorption (TPEF, Two- Photon Excited Fluorescence). The TPA properties are of interest because it is possible to study the fluorescent response in highly targeted points with a fairly broad fluorescence signal. Indeed, the absorption of two photons is a third order optical process which has recently attracted much attention because in contrast with the linear absorption, it depends on the square of the intensity of incident light, making it highly efficient because it requires photons of half the energy to achieve the electronic transition. Consequently, molecules exhibiting TPA properties have been widely studied and the development of new TPA materials comprises a challenge of paramount importance.

Finally the design, synthesis, chemical characterization and study of the TPA and TPEF properties in the synthesized fluorene derivatives were performed. The overall objective of this synthesis was

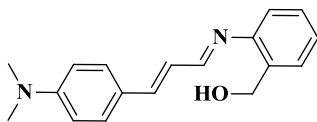


to obtain two derivatives: the **1NSD** compound as a dipolar electronic system and **3NSO** as an octupolar system. In particular, the results show that in the TPA properties for the octupolar arrangement (molecule **3NSO**), the cross section (a parameter related to the two-photon absorption) increases dramatically, which was obtained through their fluorescence response. Using a solvatochromic analysis it was established that the change in the dipole moment between the excited and the ground states ( $\mu_{ee} - \mu_{gg}$ ) is 14 D for the dipolar molecule. However, in the case of the octupolar molecule, which by its nature does not exhibit dipole moment, an approximation of the transition moment (dynamic moment  $\mu_{ge}$ ) was made by viewing the Natural Transition Orbitals (NTOs) in terms of hole-electron interactions; then it was found that electron transfer depends strongly on the formation of a hole in the HOMO-1 level. The TPA responses corroborated that the **3NSO** molecule exhibits a greater cross section with respect to its dipolar (or monopolar) counterpart. It is concluded, according to what was observed for both compounds, that the octupole effect in the array containing phenyl acetylene, as  $\pi$ -conjugated bridge, makes the electronic localization highly polarizable with light interaction. Also, the free rotation of the triple bond generates a strong dependence on the viscosity of the medium, whose response can be monitored by fluorescence. Therefore, the importance of introducing acetylene groups connecting the electron acceptor group with the fluorene in the electronic coupling of the system, and thus its effectiveness in increasing the cross section is demonstrated.

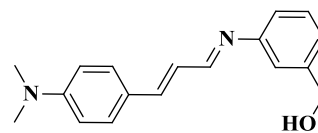
## ÍNDICE DE COMPUESTOS



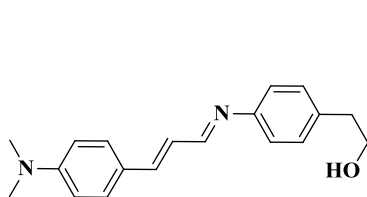
1a



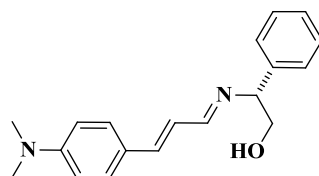
1b



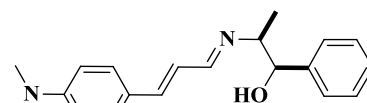
1c



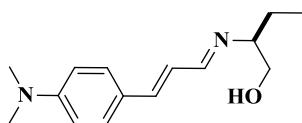
1d



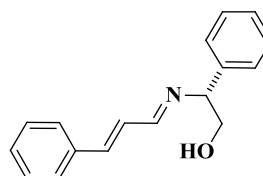
2a



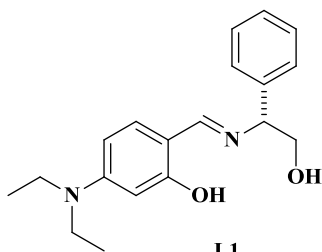
2b



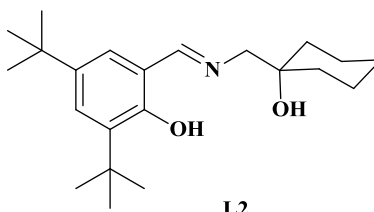
2c



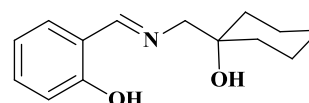
3



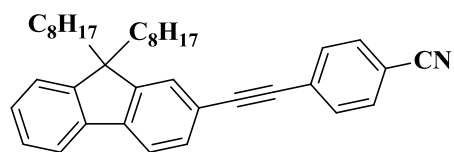
L1



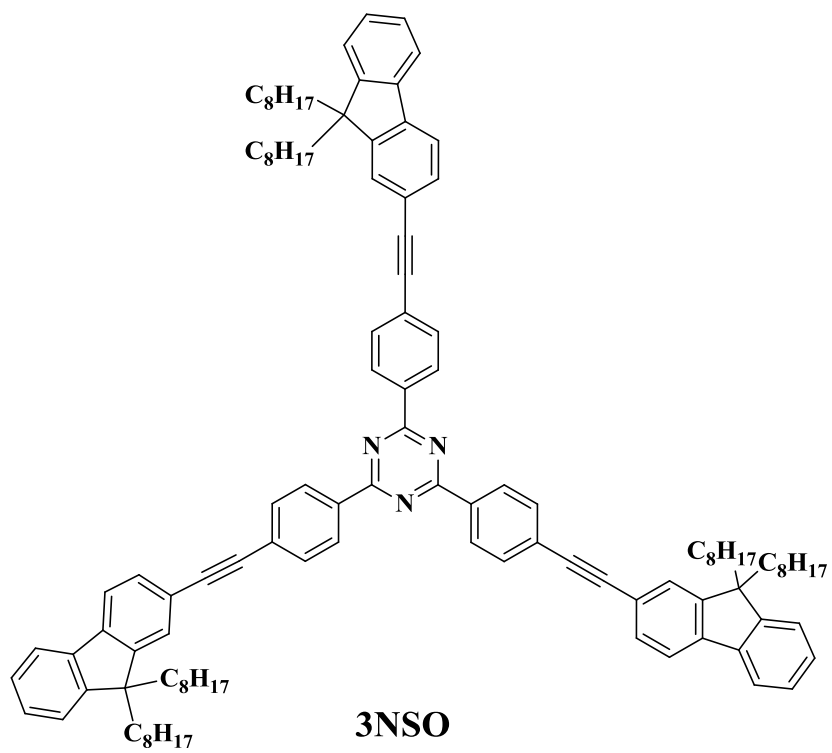
L2



L3



**1NSD**



**3NSO**

# **CAPÍTULO 1. DISEÑO, SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIÓN DE BASES DE SCHIFF FOTO-, SOLVATO-, IONO- Y ACIDOCRÓMICAS FLUORESCENTES.**

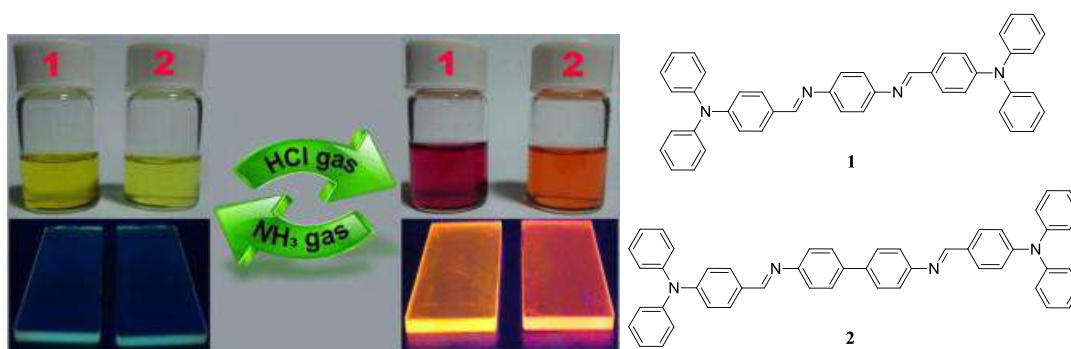
## **1.1 INTRODUCCIÓN**

### *Materiales Moleculares y Bases de Schiff*

El diseño de materiales moleculares fluorescentes ha tenido un gran avance en las últimas décadas,<sup>1</sup> este crecimiento se ha dado tanto en los aspectos fundamentales de la fluorescencia como en su aplicación; por citar un ejemplo, el número de publicaciones conteniendo la palabra “fluorescencia” en el título se ha incrementado de 150 en el año 1960 a 36,400 artículos en 2013 según datos del ISI web of science. Desde el descubrimiento de la fluorescencia del *Lignum Nephriticum* en 1965 hasta los usos recientes en dinámica molecular en sistemas vivos, el conocimiento de esta disciplina se ha enriquecido en gran medida debido al desarrollo de la espectroscopia ultrarrápida.<sup>2</sup>

Por otro lado, desde su descubrimiento, las bases de Schiff<sup>3</sup> han sido una de las familias de moléculas orgánicas más estudiadas en diversas áreas de la ciencia, posiblemente debido a su accesibilidad sintética, a su facilidad para coordinarse con diversos elementos de carácter metálico y a las propiedades electrónicas derivadas del enlace imino (-N=C-) conjugado electrónicamente dentro de la molécula. Todo ello confiere a las bases de Schiff características únicas como ligantes en compuestos de coordinación,<sup>4</sup> como sensores en química de reconocimiento no sólo de metales sino de aniones tanto orgánicos como inorgánicos.<sup>5</sup> Así mismo, muchos de estos compuestos presentan tautomería, que involucra cambios electrónicos y geométricos importantes en la molécula, lo que las hace candidatos idóneos en ciencia de materiales. Estos cambios pueden ser inducidos mediante impulsos luminosos, ya sea en el estado sólido o en disolución, mediante la presencia de ácidos, bases, metales o simplemente por la naturaleza del entorno químico. Es interesante hacer notar que en los casos en que estos fenómenos conduzcan a un cambio en la naturaleza

cromofórica y/o fluorescente de la molécula, se tendrá una gran gama de propiedades. Así pues, si la respuesta obtenida es un cambio de color al irradiar con luz de cierta longitud de onda, se habla de fotocromismo; al cambiar la polaridad y/o polarizabilidad del medio, de solvatocromismo; al variar la acidez del medio, de acidocromismo; al variar la temperatura del sistema, termocromismo; o incluso al exponer a ciertos iones afines con algún sitio de reconocimiento de la molécula, ionocromismo.<sup>6a</sup> Por citar un ejemplo, en la Figura 1.1 se muestra el efecto acidocrómico o evolución en el cambio de color en películas delgadas de los compuestos **1** y **2** al exponerlos a una corriente de HCl en fase gas durante 10 s y de NH<sub>3</sub> gas hasta recobrar el color original.<sup>6b</sup>



**Figura 1.1.** Cambios acidocrómicos producidos en los compuestos **1** y **2** al interactuar con una corriente de HCl (gas).

Como se mencionó anteriormente, el desarrollo de la espectroscopía ultrarrápida<sup>2,7</sup> ha sido determinante en el estudio fundamental de los procesos fotofísicos luminiscentes, ya que su caracterización se encuentra en el orden de femtosegundos.

### *Luminiscencia*

La luminiscencia (del latín, *lumen* = luz) es la emisión de luz ultravioleta, visible o infrarroja proveniente de especies moleculares electrónicamente excitadas, también ha sido llamada luz fría, mientras que su contraparte, la incandescencia, suele ser denominada luz caliente. Los compuestos luminiscentes son muy variados:

- Compuestos orgánicos como hidrocarburos aromáticos (naftaleno, pireno, antraceno, fluoreno, etc.), fluoresceína, rodaminas, cumarinas, aminoácidos (triptófano, tirosina, fenilalanina), difenilpolienos, etc.
- Compuestos inorgánicos como el ión uranilo ( $\text{UO}_2^+$ ), iones lantánidos como  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$ , cristales como ZnS, CdS, ZnSe, CdSe, GaS, GaP,  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Cr}^{3+}$  (rubí), entre otros.
- Compuestos organometálicos como complejos de rutenio,  $\text{Ru}(\text{bpy})_3$ , complejos con lantánidos, complejos con agentes quelantes fluorescentes como las 8-hidroxiquinolinas, entre otras.

En la Tabla 1.1 se resumen los distintos tipos de luminiscencia.<sup>8</sup> Es de resaltar que la fluorescencia y la fosforescencia son casos particulares de luminiscencia, donde el modo de excitación es mediante la absorción de un fotón, lo que lleva a la molécula a un estado electrónicamente excitado. La emisión de fotones es entonces llamada *fotoluminiscencia*, que es uno de los efectos físicos posibles cuando la materia interactúa con la luz, y depende de diversos factores, como se estudiará a lo largo de este trabajo.

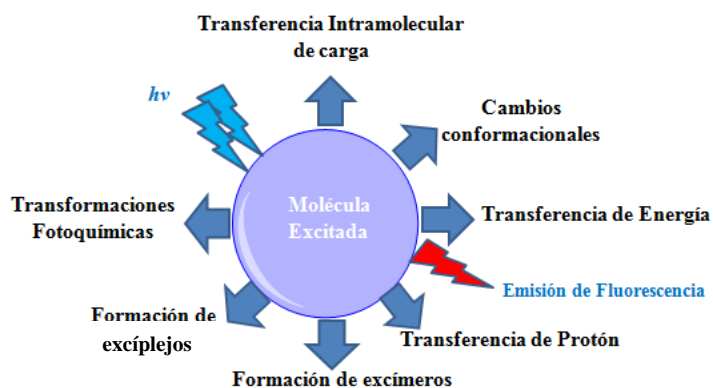
**Tabla 1.1.** Tipos de luminiscencia.

Fenómeno	Modo de excitación
Fotoluminiscencia (fluorescencia, fosforescencia, fluorescencia tardía)	Absorción de luz (fotones)
Radioluminiscencia	Radiación ionizante (rayos-X, $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )
Catodoluminiscencia	Rayos catódicos (haz electrónico)
Electroluminiscencia	Campo eléctrico
Termoluminiscencia	Calentamiento
Quimioluminiscencia	Procesos químicos (p. ej. oxidación)
Bioluminiscencia	Procesos bioquímicos
Triboluminiscencia	Fuerzas de fricción y electrostáticas

Es interesante notar que para una gran gama de bases de Schiff, la relación estructura-fluorescencia nunca es obvia, esto se debe a que presentan procesos fotofísicos y fotoquímicos ultrarrápidos en la transferencia de protón en el estado excitado y su isomería *cis-trans* (o *E-Z*), lo cual está directamente relacionado con el fotocromismo en dichos compuestos. Lo anterior hace interesante el estudio y el diseño de bases de Schiff con dicha propiedad.

#### *Procesos de desexcitación de moléculas foto-excitadas.*

Sin duda uno de los aspectos interesantes de la fluorescencia es que una vez que la molécula es excitada por la absorción de un fotón, su regreso al estado basal no sólo puede ocurrir mediante fluorescencia, sino que también se pueden presentar otras formas de desexcitación (Figura 1.2), como son conversión interna (retorno al estado basal sin emitir fluorescencia), cruce intersistemas (posiblemente seguido de emisión de fosforescencia), transferencia de carga intramolecular y cambios conformacionales. Algunos otros procesos que pueden ocurrir son las interacciones entre moléculas en el estado excitado: transferencia de electrones y/o protones, transferencia de energía, formación de excímeros y excíplejos.



**Figura 1.2.** Posibles mecanismos de desexcitación de moléculas excitadas.

Es precisamente en este hecho donde descansan los conceptos clave para el diseño de materiales fluorescentes y sus aplicaciones. En particular, para las bases de Schiff se han estudiado transformaciones fotoquímicas,<sup>9</sup> cambios conformacionales en el estado excitado,<sup>10</sup> transferencia de energía,<sup>11</sup> de carga<sup>12</sup> y de protón,<sup>13</sup> formación de excímeros<sup>14</sup> y

exciplejos,<sup>15</sup> fosforescencia,<sup>16</sup> y una variedad de fenómenos fotofísicos.<sup>17</sup> Sin embargo, en la mayoría de estos procesos el número de trabajos descritos en la literatura son muy escasos y en muy pocos se ha logrado establecer la relación estructura-propiedad lo cual resulta crucial para el diseño de sistemas más eficientes en la gran gama de aplicaciones que se desprenden de estos mecanismos de desexcitación.

Considerando lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se presenta el diseño, la síntesis y la caracterización, el análisis de las propiedades y la evaluación de las aplicaciones de nueve bases de Schiff, seis de las cuales presentan en común el fragmento 4-(*N,N'*-dimetil)cinamaldehído, y las tres restantes el fragmento salicilaldehído. Las propiedades analizadas en estos compuestos derivados de cinamaldehído fueron solvatocromismo, acidocromismo, fotocromismo y ionocromismo. El objetivo principal de este trabajo fue el de estudiar detalladamente la relación estructura-propiedad de los compuestos sintetizados. De esta manera, se encontró que el derivado de fenilglicinol como aminoalcohol (**2a**) presentó propiedades multifuncionales al dar respuesta a todas estas propiedades a la vez, una característica no descrita en la literatura para este tipo de compuestos. Por otra parte, para los derivados de salicilaldehído se evaluaron sus propiedades ionocrómicas como sensores moleculares fluorescentes y colorimétricos, presentando buena selectividad, sensibilidad y reciclabilidad (más de 10 ciclos) frente a iones metálicos y aniones inorgánicos y orgánicos.



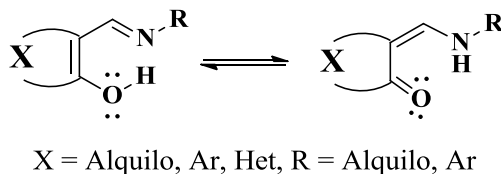
## 1.2 ANTECEDENTES

### 1.2.1 Bases de Schiff

Las bases de Schiff deben su nombre al químico alemán Hugo Schiff (1834 – 1915) quien las describió por primera vez y quien también es conocido por desarrollar la prueba de Schiff para detectar aldehídos orgánicos.<sup>3</sup> De acuerdo a la IUPAC su fórmula general es  $RC=NR'$  ( $R' \neq H$ ),<sup>18</sup> por lo que en ocasiones son llamadas azometinos o aldiminas secundarias.

Una de sus grandes cualidades es que se pueden sintetizar de manera relativamente sencilla, lo que las hace atractivas para su estudio en distintas áreas. Sintéticamente, se pueden obtener mediante la reacción de condensación entre una amina (alifática o aromática) y un aldehído, donde el primer paso comprende la adición nucleofílica para formar el hemiaminal y posteriormente una deshidratación para generar el enlace imina.

Una de las familias de bases de Schiff más estudiadas a lo largo de los últimos 60 años han sido las *Saliciliden-Anilinas* (SA),<sup>19</sup> debido tanto a su accesibilidad sintética como a la presencia de procesos tautoméricos que ocasionan cambios drásticos en el espectro de UV-Vis, como consecuencia del cambio en la estructura de la molécula. Cabe mencionar que no es una característica única de las SA sino de las bases de Schiff que generen arreglos intramoleculares donde se favorece la transferencia de hidrógeno intramolecular. En el Esquema 1.1 se presenta el equilibrio enolimina–cetoenamina típicamente presente en derivados que contienen un anillo con el arreglo (C=N...H-O) de seis miembros. De esta manera se puede obtener una molécula que presente en un estado una banda principal en dicho espectro y otra banda totalmente diferente en el otro estado, lo cual puede conducir a cambios incluso en el color, la solubilidad, la estabilidad térmica y fotoquímica.

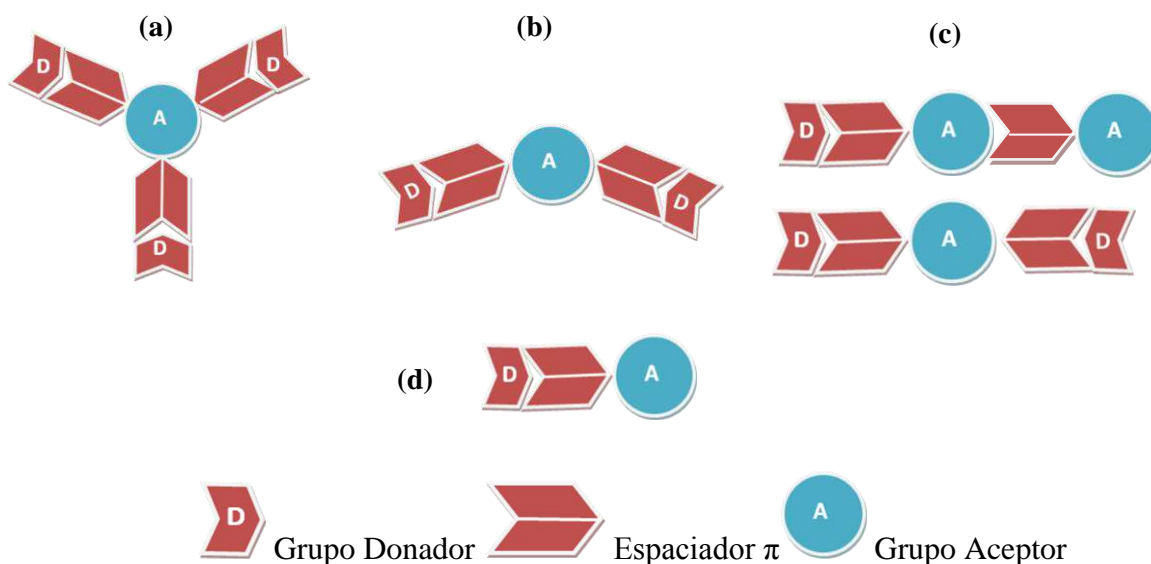


**Esquema 1.1** Equilibrio tautomérico tipo enolimina-cetoenamina.

Aunque en la mayoría de las bases de Schiff estudiadas hasta hace unas tres décadas estos cambios se ocasionan por efectos térmicos o simplemente cambiando el disolvente en el que se encuentran, los cambios fotoinducidos o promovidos por la interacción con un haz de luz de cierta longitud de onda han ampliado el campo de estudio de estos sistemas tanto en el estado sólido como en disolución.<sup>20</sup> Así, el estudio de los efectos del medio (efectos de interacción con el disolvente) en dicha tautomería e incluso la capacidad para coordinarse con ciertos iones metálicos es un área de creciente interés.

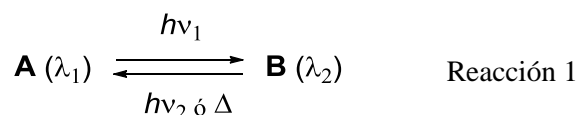
En general, las bases de Schiff conteniendo sistemas con electrones  $\pi$  deslocalizados y grupos donadores (D) y aceptores (A) en su estructura han sido de gran interés en la ciencia de materiales. Estas estructuras pueden ubicar dichos grupos D/A en distintos arreglos, como D- $\pi$ -A, D- $\pi$ -A- $\pi$ -D, D- $\pi$ -A- $\pi$ -A, etc., lo cual dependerá de la aplicación que se busque. Aunque dicho arreglo electrónico suele ser un paso complicado y algunas veces involucra reactivos o síntesis de alto costo económico, el desarrollo y la mayor disponibilidad de herramientas computacionales para el estudio *in silico* de las propiedades electrónicas ha sido eficaz en el diseño de sistemas electrónicos moleculares más eficientes. Figura 1.3.

Como se ha comentado, recientemente se ha puesto especial énfasis en el estudio de las propiedades foto-, solvato-, termo- y ionocrómicas de una amplia cantidad de bases de Schiff. Minkin y colaboradores resumieron recientemente todas estas propiedades en diversas bases de Schiff y describieron el papel que juegan el equilibrio tautomérico y la transferencia de hidrógeno en dichas propiedades.<sup>6a</sup> Así, el equilibrio prototrópico enolimina-cetoenammina (Esquema 1.1) presente en diversas bases de Schiff ha sido estudiado en el estado sólido, en disolución, vapor, películas delgadas y nanopartículas. La presencia de alguna de las propiedades mencionadas al principio de este párrafo dependerá principalmente del arreglo de los grupos D/A (en caso de tenerlos), de la existencia de grupos afines a algún analito en particular y de la geometría de la molécula.



**Figura 1.3** Arreglos electrónicos: (a) Octupolar; (b) Pseudocuarupolar; (c) Cuadrupolares y (d) Dipolar, entre grupos donadores (D) y aceptores (A).

Uno de los procesos fotoinducidos que resulta especialmente interesante estudiar en bases de Schiff es el fotocromismo. El fotocromismo se define como una transformación reversible de una especie química, inducida en una o ambas direcciones por radiación electromagnética entre dos estados teniendo dos diferentes regiones de absorción de luz, Reacción 1.<sup>21,22</sup>



Normalmente, una reacción fotocromica involucra una transformación reversible entre dos especies, donde B tiene al menos una banda de absorción desplazada a diferente longitud de onda que A. Además, la radiación de activación generalmente es en la región del UV-Vis. La reacción de B hacia A ocurre predominantemente por un mecanismo térmico aunque también puede ser dirigida fotoquímicamente. La reversibilidad es el criterio principal en el fotocromismo.

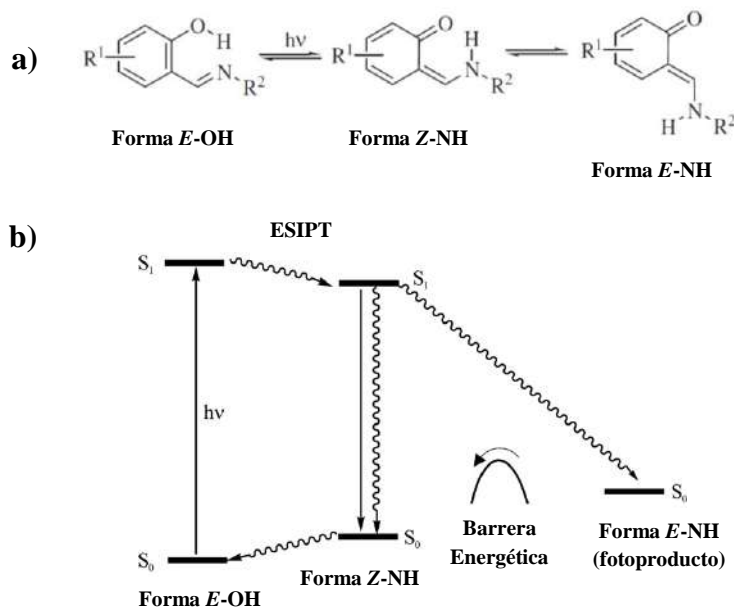
Los primeros ejemplos de fotocromismo fueron desarrollados en compuestos orgánicos. Los términos fototropía y fototropismo<sup>23</sup> fueron empleados para describir este fenómeno;

sin embargo, actualmente se aplica exclusivamente a sistemas biológicos. El término fotocromismo fue propuesto por primera vez por Hirshberg en 1950.<sup>24</sup>

El interés en el fotocromismo de materiales orgánicos comenzó a incrementarse substancialmente alrededor de 1940. Dichos estudios implicaban una visión de los mecanismos de los fotoprocesos que determinan la estructura de las especies coloridas e incoloras, así como la síntesis de nuevos compuestos. Desde el trabajo pionero de Hirshberg en Israel,<sup>23-25</sup> hasta el desarrollo de la espectroscopía resuelta en el tiempo por Porter,<sup>26</sup> se han abierto nuevos enfoques en el estudio de los estados excitados y especies de muy corto tiempo de vida media involucrados en la foto-reactividad de moléculas fotocromáticas, como consecuencia principalmente del desarrollo de la fluorescencia.<sup>8</sup>

Los cambios espectrales observados están relacionados a una modificación tanto de la estructura del sistema como en la distribución electrónica. De esta manera, resulta fundamental considerar todo proceso fotocromático como consecuencia de procesos fotofísicos y fotoquímicos previos. Los procesos fotofísicos son aquellos que al irradiarlos conllevan diferentes estados electrónicos pero la identidad de la molécula es preservada; los cambios fotoquímicos producen un cambio químico como ruptura y/o formación de enlaces químicos, como resultado de la absorción de luz.<sup>27</sup>

Por otro lado, en el caso particular de las bases de Schiff el mecanismo general de fotocromismo está asociado con la excitación a un estado  $\pi^*$  donde el protón hidroxílico es rápidamente transferido al átomo de nitrógeno del grupo imina mediante un proceso llamado transferencia intramolecular de protón en el estado excitado (ESIPT, por sus siglas en inglés) donde se forma el tautómero *Z*-ceto (estado  $\pi^*$ ) el cual puede relajarse al estado basal formando el tautómero *E*-ceto (proceso fotocromático) o bien, regresar al estado basal, ya sea por procesos térmicos o por fluorescencia, Figura 1.4.<sup>28</sup> El estado basal de la forma *E*-ceto, en el cual el enlace de hidrógeno no se forma, se encuentra en un nivel energético mayor que la forma *Z*-ceto, entonces la diferencia energética entre estos dos tautómeros es lo suficientemente pequeña para que la forma *E*-ceto se rearregle térmicamente para formar el tautómero *Z* inicial.

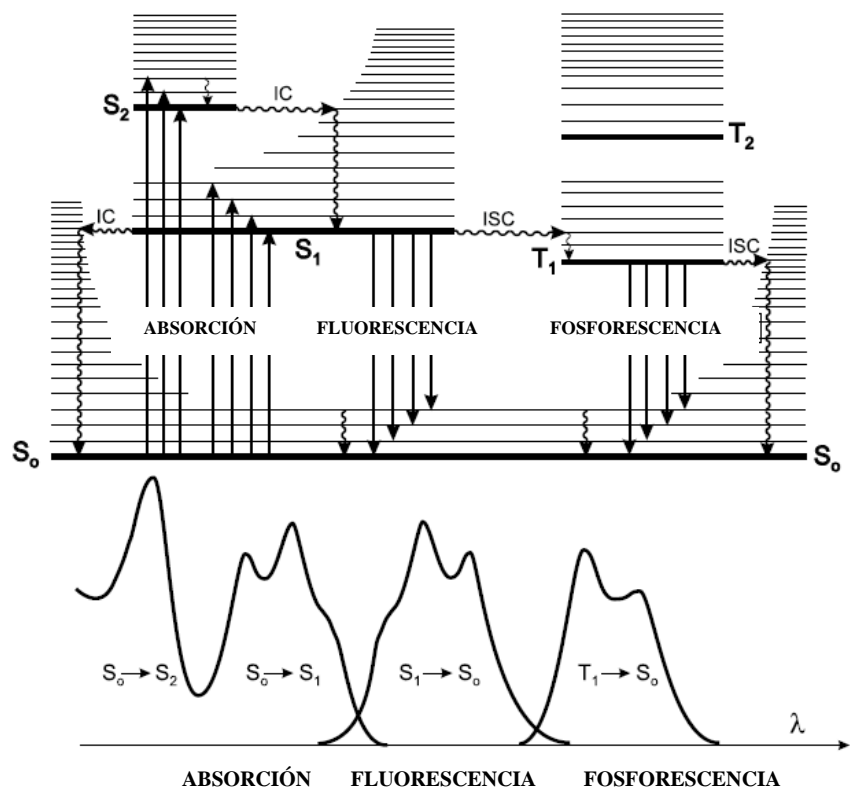


**Figura 1.4** (a) Formas *E*-OH, *Z*-NH y *E*-NH presentes en algunas bases de Schiff. (b) Diagrama de energía potencial de los estados  $S_0$  y  $S_1$  para algunas bases de Schiff fotocromicas a temperatura ambiente.

## 1.2.2 Procesos fotofísicos y efectos del medio en la emisión de fluorescencia

Como se mencionó anteriormente, los procesos fotofísicos se definen como todo proceso físico (que no involucra cambios químicos) el cual resulta de la excitación de una molécula o un sistema de moléculas por radiación electromagnética no-ionizante (fotones).

En la Figura 1.5 se representa el diagrama de Perrin-Jablonski, el cual resulta útil para visualizar ciertos procesos fotofísicos unimoleculares, tales como absorción fotónica, conversión interna, fluorescencia, cruce intersistemas, fosforescencia, fluorescencia retardada y transiciones electrónicas triplete-triplete. Estos procesos unimoleculares pueden ocurrir tanto en moléculas aisladas en fase vapor a muy baja presión o incluso en disoluciones diluidas.



**Figura 1.5** Diagrama de Perrin-Jablonski donde se esquematizan los procesos de absorción, fluorescencia y fosforescencia.

Dichos procesos fotofísicos unimoleculares se pueden dividir en las siguientes categorías:<sup>29</sup>

- Transiciones por excitación (absorción) radiativa* en las cuales la molécula es excitada de un estado electrónico de menor energía a uno de mayor energía por la absorción de un fotón.
- Transiciones de desexcitación (luminiscencia) radiativa* en las cuales la molécula es desexcitada de un estado electrónico de mayor a uno de menor energía mediante la emisión de un fotón. Las transiciones radiativas entre estados de la misma multiplicidad se denominan *fluorescencia*, mientras que las que involucran dos estados de distinta multiplicidad se describen como *fosforescencia*.
- Transiciones no-radiativas* entre niveles vibracionales isoenergéticos de diferentes estados electrónicos. Normalmente tales transiciones resultan de la activación

térmica del estado electrónico inicial seguidas de la desactivación térmica al estado electrónico final. Una transición térmica entre dos estados de la misma multiplicidad se denomina *conversión interna*. Mientras que una entre dos estados de distinta multiplicidad se denomina *cruce intersistemas*.

#### *Transiciones de Absorción:*

1. La *absorción* de  $S_0 - S_1$  y  $S_0 - S_p$  (donde el subíndice p denota subsecuentes estados electrónicos, 2, 3, 4,... para estados singlete) es permitida por espín, normalmente las bandas mayoritarias de un espectro de absorción corresponde a estas transiciones.
2. La *absorción* de  $S_0 - T_1$  y  $S_0 - T_q$  (donde el subíndice q denota subsecuentes estados electrónicos, 2, 3, 4,... para estados triplete) es prohibida por espín, sin embargo puede ser observado usando fuentes intensas de luz.
3. La *absorción* de  $T_1 - T_q$  es comúnmente observada mediante fotólisis flash.  $T_1$  es poblado mediante cruce intersistemas de  $S_1$ , el cual es inicialmente excitado.
4. La *absorción* de  $S_1 - S_p$  es comúnmente observada mediante fotólisis flash (en nanosegundos).  $S_1$  es inicialmente poblado mediante luz flash intensa de muy corta duración.

#### *Transiciones de Luminiscencia:*

5. La *fluorescencia* de  $S_1 - S_0$  de corta duración ( $\sim 1 - 10^3$  ns) corresponde a la emisión de fluorescencia normal.
6. La *fosforescencia* de  $T_1 - S_0$  generalmente ocurre y es de mayor duración ( $\sim 1 - 10^4$  ms) que la fluorescencia ya que es una transición prohibida por espín.
7. La *fluorescencia* de  $S_p - S_0$  sólo ha sido observada en muy pocos compuestos, uno de ellos es el azuleno.

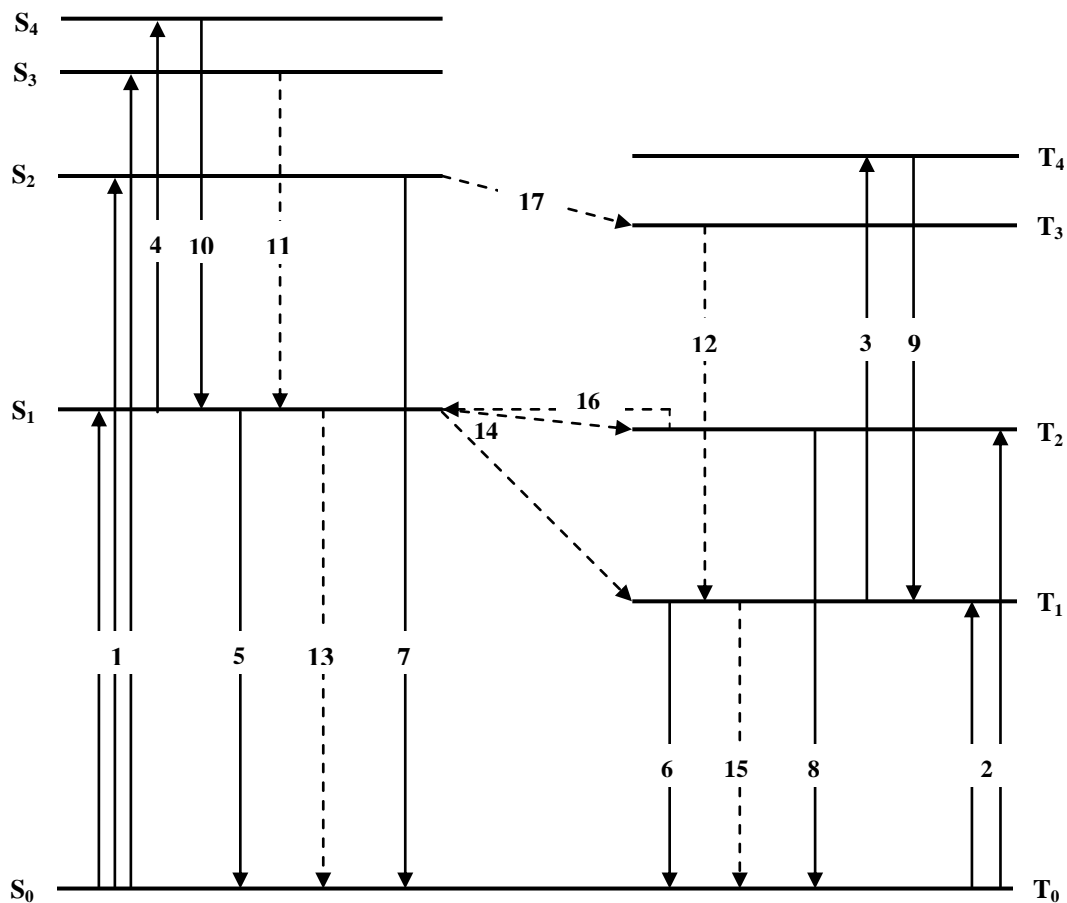
8. La *fosforescencia* de  $T_q - S_0$  ha sido informada en muy pocos compuestos, uno de ellos es el fluoranteno, pero es un proceso muy poco probable.
9. La *fluorescencia* de  $T_q - T_1$  correspondiente al inverso de  $T_1 - T_q$  (absorción) ha sido descrita para el azuleno y naftaleno.
10. La *fluorescencia* de  $S_p - S_1$  es el inverso de  $S_1 - S_p$  (absorción) y aunque es un proceso posible no se ha observado.

*Transiciones no-radiativas:*

11. La *conversión interna*  $S_2 - S_1$  y  $S_p - S_{p-1}$  usualmente ocurre rápidamente. Esto se debe al bajo rendimiento de la transición de fluorescencia  $S_p - S_0$  en la mayoría de las moléculas.
12. La *conversión interna*  $T_2 - T_1$  y  $T_q - T_{q-1}$  es usualmente rápida, y esto se debe al bajo rendimiento de la transición de fosforescencia  $T_q - S_0$  en la mayoría de las moléculas.
13. La *conversión interna al estado basal*  $S_1 - S_0$  y,
14. El *cruce intersistemas*  $S_1 - T_1$  y  $S_1 - T_q$  constituyen el *quencheo o apagamiento interno* de  $S_1$ , lo cual compite con la fluorescencia normal  $S_1 - S_0$ .
15. El *cruce intersistemas*  $T_1 - S_0$  compite con la fosforescencia normal  $T_1 - S_0$ .
16. El *cruce intersistemas*  $T_1 - S_1$  puede ocurrir por activación térmica de  $T_1$  durante su tiempo de vida hacia un nivel isoenergético vibracional con  $S_1$ . Este proceso puede llevar a generar *fluorescencia retardada*.
17. El *cruce intersistemas*  $S_p - T_q$  de estados excitados singulete de mayor energía ( $^1M^{**}$ ) ha sido observado para el azuleno y fluoranteno.

Estos procesos unimoleculares se muestran esquemáticamente en la Figura 1.6.





**Figura 1.6** Procesos fotofísicos unimoleculares: las líneas sólidas representan *transiciones radiativas*; las líneas punteadas representan *transiciones no-radiativas*.

La probabilidad de que ocurra un proceso fotofísico unimolecular se suele expresar en función del tiempo  $t$ , y corresponde al parámetro de primer orden de velocidad  $k_X$ , medido en  $s^{-1}$ . Si una concentración molar  $[X^*]$  de una especie molecular excitada  $X^*$  decae mediante un proceso unimolecular con una cierta  $k_X$ , la velocidad de decaimiento de  $[X^*]$  es:

$$-\frac{d[X^*]}{dt} = k_X[X^*] \quad \text{Ec.1}$$

Si una concentración molar  $[X^*]$  de una especie molecular excitada  $X^*$  decae por un proceso bimolecular con un parámetro de velocidad de segundo orden  $k_{XY}$ , en  $M^{-1} s^{-1}$ ,

debido a la interacción con otra especie Y de concentración molar [Y], la velocidad de decaimiento de [X\*] es:

$$-\frac{d[X^*]}{dt} = k_{XY}[X^*][Y] \quad \text{Ec.2}$$

Cuando  $k_{XY}$  es independiente de  $t$ , se dice que el sistema obedece la cinética de *Stern-Volmer*. La cinética de Stern-Volmer no es aplicable para interacciones de transferencia de energía u otras interacciones bimoleculares en sistemas viscosos, donde la difusión molecular es inhibida.

Debido a que la mayoría de los espectros de absorción y fluorescencia, así como otras propiedades fotofísicas se registran en disolución, la molécula está expuesta a la influencia de las moléculas de disolvente que la rodean, las cuales pueden producir cambios importantes en las propiedades fotofísicas observadas. Existen dos tipos de interacciones intermoleculares responsables de los cambios espectrales en disolución.<sup>30-37</sup> Las *interacciones generales* (o universales) las cuales se deben a la influencia colectiva del disolvente como medio dieléctrico, y dependen de la constante dieléctrica estática  $\epsilon$  y del índice de refracción  $n$  del disolvente. Adicionalmente, en ciertos disolventes existe la posibilidad de observar interacciones específicas, tales como la interacción de enlaces de hidrógeno, interacciones de transferencia de carga intramolecular o solvatación preferencial.<sup>31</sup>

Los cambios espectrales debidos a interacciones generales son descritos en términos de la teoría del dieléctrico de Onsager<sup>32</sup> y el principio de Franck-Condon. En términos generales la teoría de Onsager postula que en disolución una molécula de soluto con un momento dipolar  $\mu$  en una cavidad esférica de radio  $a$  y en un medio de constante dieléctrica estática  $\epsilon$  polariza el dieléctrico, produciendo así un campo reactivo de Onsager:

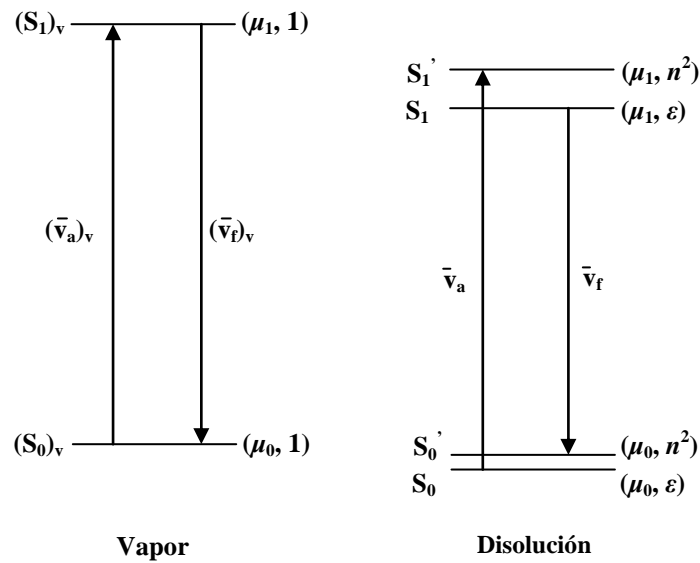
$$R = \frac{2\mu}{a^3} \frac{(\epsilon - 1)}{(2\epsilon + 1)} = \frac{2\mu}{a^3} f(\epsilon) \quad \text{Ec. 3}$$

Donde

$$f(\varepsilon) = \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} \quad \text{Ec. 4}$$

El nivel energético del estado basal  $S_0$  de una molécula de soluto no excitada y con un momento dipolar  $\mu_0$  en un disolvente  $\varepsilon$  se reduce con respecto a su nivel energético  $(S_0)_v$  en vapor, debido a su campo reactivo, Ec. 5, (Figura 1.7).

$$R_0 = \frac{2\mu_0}{a^3} f(\varepsilon) \quad \text{Ec. 5}$$



**Figura 1.7** Influencia del disolvente para la transición 0-0 en la absorción y la fluorescencia.

La transición electrónica de absorción 0-0 conlleva a un estado electrónico excitado  $S_1'$  de momento dipolar  $\mu_1$ . Por el principio de Franck-Condon, la transición electrónica es mucho más rápida que el tiempo de relajación dieléctrica  $\tau_d$  del disolvente, de manera que el campo reactivo en el estado  $S_1'$  es:

$$R_1' = \frac{2\mu_0}{a^3} f(n^2) \quad \text{Ec. 6}$$

Donde  $n^2$  es la constante dieléctrica de alta-frecuencia a un número de onda  $\bar{\nu}_a$ . La energía para la transición electrónica de absorción está dada por:

$$\nu_a = (\nu_a)_v + (R_1' - R_0)(\mu_1 - \mu_0)/hc \quad \text{Ec. 7}$$

Donde  $h$  es la constante de Planck y  $c$  la velocidad de la luz. Si el tiempo de vida media  $\tau_M$  del soluto en el estado excitado excede el tiempo de relajación dieléctrica  $\tau_d$  del disolvente, entonces  $\mu_1$  polarizará el disolvente, produciendo un campo reactivo:

$$R_1 = \frac{2\mu_1}{a^3} f(\varepsilon) \quad \text{Ec. 8}$$

y la energía se reducirá de  $S_1'$  a  $S_1$ . La transición electrónica de fluorescencia 0-0 ( $\bar{\nu}_f$ ) ocurrirá de  $S_1$  al estado de Franck-Condon  $S_0'$ , donde el campo reactivo es:

$$R_0' = \frac{2\mu_1}{a^3} f(n^2) \quad \text{Ec. 9}$$

Subsecuentemente la relajación dieléctrica retorna a la molécula al estado  $S_0$ . La energía de la transición electrónica de fluorescencia está entonces dada por:

$$\nu_f = (\nu_f)_v + (R_0' - R_1)(\mu_1 - \mu_0)/hc \quad \text{Ec. 10}$$

Si consideramos que en fase vapor la diferencia entre la transición electrónica 0-0 de absorción y de fluorescencia son iguales  $(\bar{\nu}_f)_v = (\bar{\nu}_a)_v$ , dicha diferencia será:

$$\Delta\nu = \nu_a - \nu_f = \frac{2(\mu_1 - \mu_0)^2}{hca^3} \left[ \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right] \quad \text{Ec. 11}$$

De esta manera, el efecto de las moléculas de disolvente en los espectros de absorción y de fluorescencia ha sido intensamente estudiado por varios investigadores como Ooshika,<sup>33</sup> Bayliss y McRea,<sup>34</sup> Mataga,<sup>35</sup> Lippert,<sup>36</sup> Neporent y Bakhshiev,<sup>37</sup> Basu,<sup>38</sup> Bilot y Kawski,<sup>39</sup> entre otros. Estos autores han establecido varios criterios a través de una relación lineal entre los parámetros de la polaridad del disolvente y los cambios espectrales utilizando series de disolventes de distinta polaridad e índice de refracción. En concreto, Lippert

consideró los desplazamientos espectrales debido a las interacciones de enlace de hidrógeno.<sup>31a</sup> Aunque la teoría de Onsager y las derivaciones propuestas principalmente por Lippert y Mataga han resultado muy útiles en la comprensión de efectos generales y/o específicos en moléculas solvatocrómicas, esta teoría asume un continuo de constante dieléctrica uniforme y al soluto (en este caso el fluoróforo) envuelto en una cavidad de naturaleza esférica o elipsoidal, lo cual la hace impropia cuando se requiere estudiar a fondo el tipo de interacciones que juegan un papel importante, y más aún cuantificar en qué medida dichas interacciones interfieren con los procesos fotofísicos de una molécula.

Recientemente, en 2009 fue desarrollada por Javier Catalán<sup>40</sup> una nueva metodología empírica para explicar las propiedades solvatocrómicas experimentales en cromóforos. Es sabido que la relación entre los efectos del disolvente y los cambios espectrales puede ser denotada por una ecuación multilineal.<sup>41-42</sup> El nuevo tratamiento matemático para efectos del solvente introducido por Catalán se basa en cuatro escalas de disolventes empíricas e *independientes*.

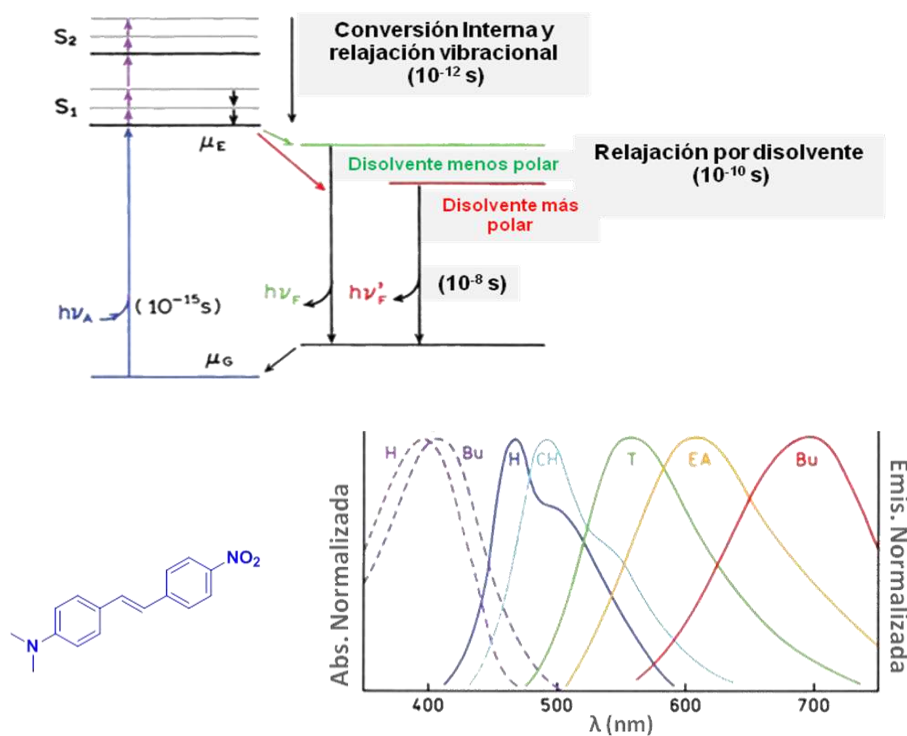
$$y = y_0 + a_{SA} SA + b_{SB} SB + c_{SP} SP + d_{SdP} SdP \quad \text{Ec. 12}$$

Donde SA, SB, SP y SdP son los parámetros de acidez, basicidad, polarizabilidad y dipolaridad (polaridad) del disolvente, respectivamente. Los valores de estos parámetros se obtienen de las tablas propuestas por Catalán.<sup>40</sup> Finalmente, los coeficientes  $a_{SA}$ ,  $b_{SB}$ ,  $c_{SP}$  y  $d_{SdP}$  representan la contribución de cada tipo de interacciones.

Es importante resaltar que el hecho de efectuar un análisis solvatocrómico multilineal es de gran utilidad para establecer cuantitativamente en qué medida los parámetros antes mencionados intervienen en respuestas como absorción fotónica, emisión, rendimiento cuántico, desplazamiento de Stokes, etc.

Finalmente, un efecto solvatocrómico se evidencia por desplazamientos grandes en los máximos de emisión, como resultado de la diferente estabilización de la molécula en el estado excitado por parte de cada disolvente. Así, para una molécula cuyo momento dipolar (estático) en el estado excitado es mayor que el correspondiente en el estado basal ( $\mu_e > \mu_g$ ),

al aumentar la polaridad del disolvente el proceso de emisión ocurrirá a una menor energía, Figura 1.8.

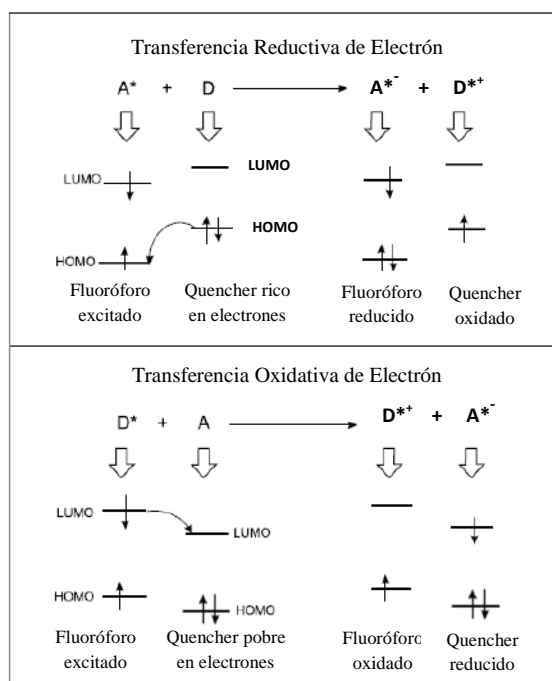


**Figura 1.8.** Representación del efecto del disolvente para una molécula con  $\mu_e > \mu_g$  donde se muestran: *Arriba*, periodos de tiempo aproximados para el proceso de absorción en comparación con el proceso de relajación por disolvente y de emisión; y *Abajo*: efecto solvatócromico positivo (hacia el rojo) en H (hexano), CH (ciclohexano), T (tolueno), EA (acetato de etilo) y Bu (butanol).

### 1.2.3 Efectos de procesos fotofísicos inter- e intramoleculares en la emisión de fluorescencia

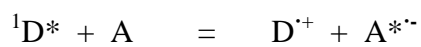
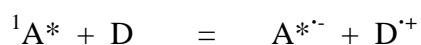
Resulta interesante que la mayoría de los procesos fotofísicos intermoleculares responsables de la desexcitación de una molécula involucran procesos de transferencia rápida del donador (D) al aceptor (A), como son transferencia de electrón, transferencia de protón y transferencia de energía.

*Transferencia Fotoinducida de Electrón (TFE)*. En general este proceso es responsable del *quenching* (apagamiento) de la fluorescencia. El proceso TFE juega un papel importante en el proceso de la fotosíntesis y en sistemas artificiales para la conversión de energía solar basada en la separación fotoinducida de cargas. En este sentido el efecto de *quenching* de la fluorescencia suele proveer información útil en el proceso de transferencia de electrones que ocurre en este tipo de sistemas, Figura 1.9.



**Figura 1.9** Transferencia de electrón reductiva y oxidativa.

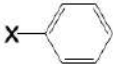
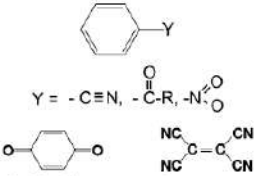
Las propiedades reductivas u oxidativas de una molécula pueden incrementarse en el estado excitado. En la Figura 1.9 se representan esquemáticamente los procesos de transferencia oxidativa y reductiva de un electrón de acuerdo a las siguientes reacciones:



La Tabla 1.2 muestra algunos ejemplos de moléculas donadoras yceptoras.

Por otro lado, la TFE depende fuertemente de la polaridad del disolvente y de las características de fluorescencia de la molécula, de tal manera que dicha transferencia se puede modular con una variación extremadamente ligera en la polaridad del medio.

**Tabla 1.2.** Ejemplos de grupos orgánicos que funcionan como electrodonadores y electroaceptores en el estado excitado.

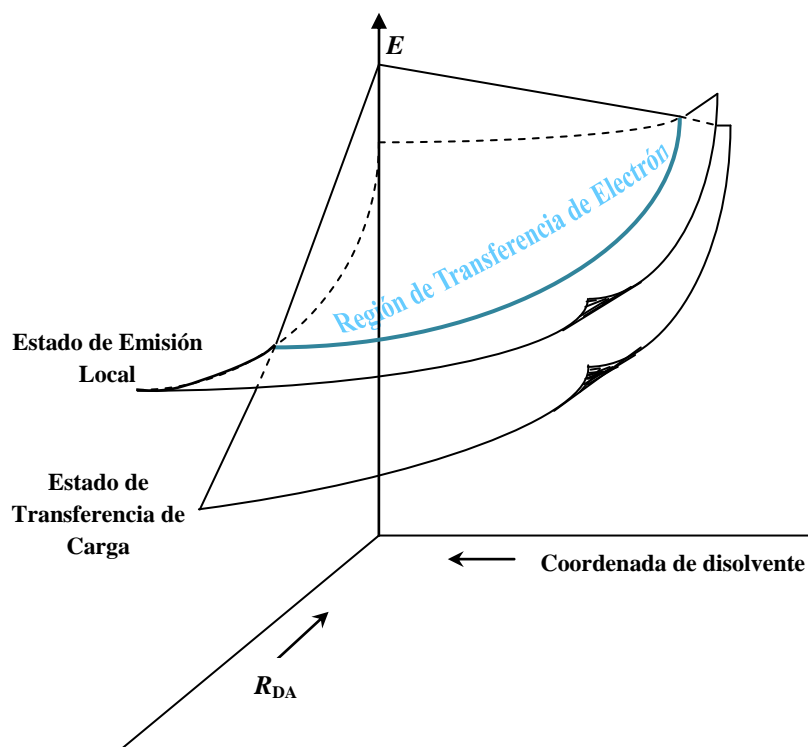
Electro-Donadores, D*	Electro-Aceptores, A*
 <p>X = H-, (CH<sub>3</sub>),N-, CH<sub>3</sub>-O-, HS-</p> <p>Naftaleno, antraceno, fenantreno, pireno, perileno, etc.</p>	 <p>Y = -C≡N, -C(=O)-R, -NO<sub>2</sub></p> <p>NC-C(CN)<sub>2</sub>-CN</p>

La Figura 1.10 muestra una representación tridimensional esquemática de una superficie de energía potencial responsable de la transferencia de electrón fotoinducida y su dependencia en la distancia de separación del fragmento donador (D) y el aceptor (A); asimismo, se manifiesta el papel de las moléculas de disolvente.<sup>43</sup> Aquí la coordenada de energía (*E*) se puede modificar de acuerdo a la polaridad del medio. Típicamente la energía de un estado excitado tiende a disminuir con un aumento de la polaridad del medio, si este estado involucra especies donador – aceptor.

*Transferencia Fotoinducida de Protón (TFP).* El enlace de hidrógeno juega un papel importante en el estudio de las interacciones moleculares de sistemas supramoleculares en el estado basal. Sin embargo, en el estudio de estados excitados la existencia de enlaces de hidrógeno es un prerrequisito fundamental para que se pueda llevar a cabo la transferencia de protón en el estado excitado (ESIPT, excited state intra- or inter-molecular proton transfer), un tipo de reacción de transferencia acoplada de protón-electrón (PCEL, proton coupled electron transfer) como se estudiará más adelante. Esto se debe a que la transferencia de protón debe competir con otros procesos de decaimiento en el estado excitado. Cuando el enlace de hidrógeno está presente desde el estado basal, el



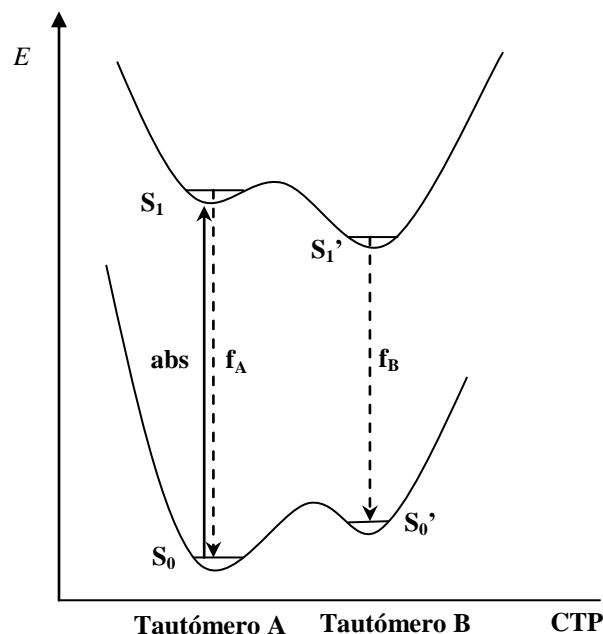
desplazamiento requerido del protón en el estado excitado es relativamente pequeño y la reacción seguramente procederá de manera muy eficiente.



**Fig. 1.10** Dependencia de la transferencia de electrón fotoinducida y la distancia D – A ( $R_{DA}$ ) considerando una coordenada de solvatación caracterizada por la distancia entre las moléculas de disolvente y el sistema donador aceptor.

Desde hace 60 años, Förster<sup>43</sup> y Weller<sup>44</sup> demostraron que la constante de acidez de una molécula en el estado excitado puede cambiar drásticamente en comparación con el estado basal, dando como consecuencia que se favorezca fuertemente el proceso de transferencia de protón en el estado excitado. Así, el proceso ESIPT puede ilustrarse haciendo uso de un diagrama de curvas de energía potencial doble, Figura 1.11.

La figura 1.11 se refiere a un sistema donde la transferencia de protón corresponde a un cambio estructural, por ejemplo si las estructuras inicial y final (A y B) fueran idénticas el diagrama de curvas de energía potencial doble luciría simétrico. Es importante mencionar que la formación del estado  $S_1'$  ocurre en una escala de tiempo de picosegundos.



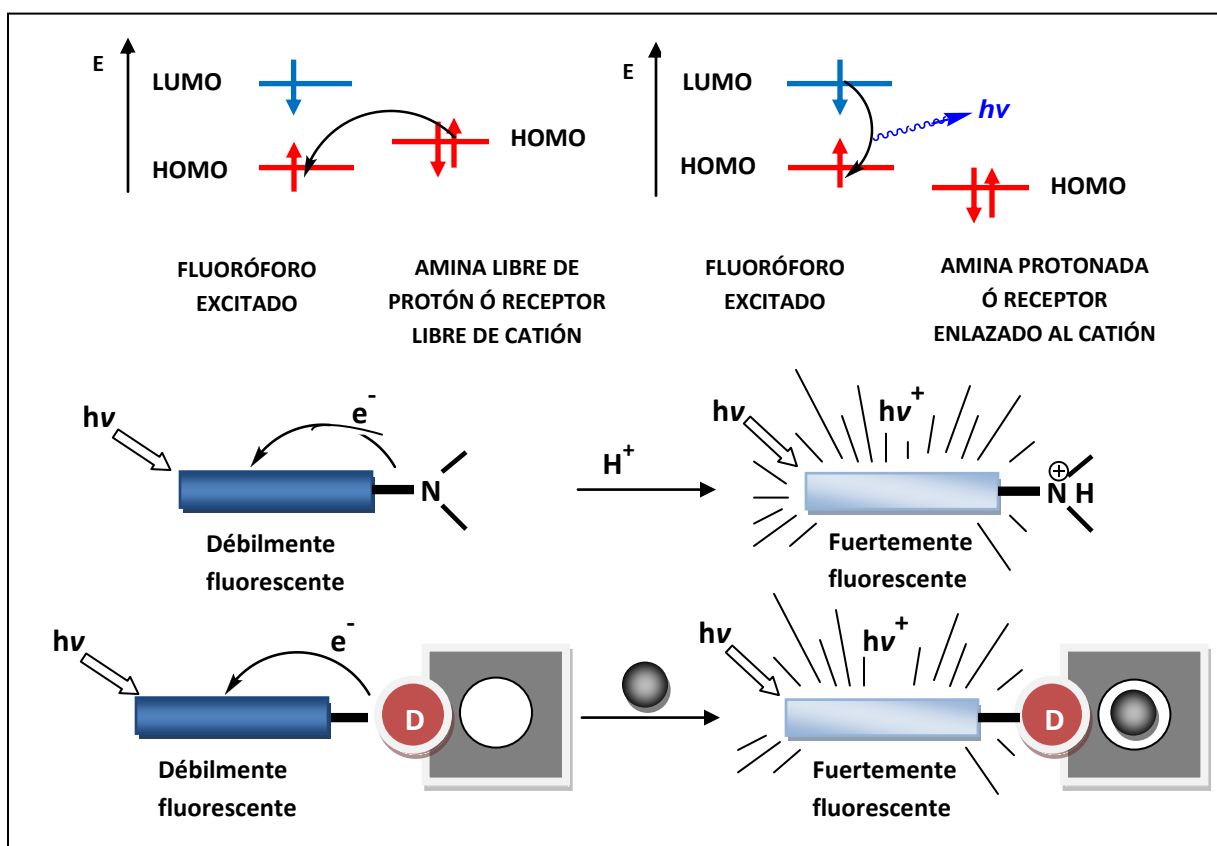
**Figura 1.11** Diagrama de curvas de energía potencial doble a lo largo de una coordenada de transferencia de protón (CTP);  $f_A$  y  $f_B$  representan el proceso de fluorescencia de los tautómeros A y B, respectivamente.

*Sensores moleculares fluorescentes de iones metálicos y aniones.* El diseño de sensores moleculares colorimétricos y/o fluorescentes ha adquirido gran relevancia debido a la variedad de aplicaciones que tienen en campos como la química analítica, bioquímica, medicina, ciencias ambientales y ciencia de materiales, entre otros. Mediante métodos fluorescentes se han podido detectar diversos analitos: cationes como  $H^+$ ,  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ , aniones como halogenuros, carboxilatos, fosfatos, ATP y otros, moléculas neutras como diversos azúcares y finalmente gases como, por ejemplo,  $O_2$ ,  $CO_2$  y  $NO$ . Sin embargo, la necesidad de sintetizar sensores altamente selectivos con límites de detección inferiores al orden submicromolar ha aumentado,<sup>8</sup> particularmente para iones metálicos tóxicos como  $Hg^{2+}$  que adicionalmente no presentan geometrías de coordinación muy versátiles, adoptando comúnmente tres de ellas: lineal, trigonal plana y tetraédrica. Además, uno de los criterios estructurales más explotados en el diseño de compuestos de coordinación de mercurio ha consistido en utilizar donadores tiolato.<sup>5d</sup>

El éxito de un sensor molecular fluorescente depende principalmente de su selectividad (la capacidad de discriminar una especie química de otra), sensibilidad (grado de respuesta del

receptor a una señal de entrada) y tiempo de respuesta. En este tipo de moléculas el fluoróforo es la *especie señal*, es decir, éste actúa como un transductor de señal que convierte la información (presencia de un analito) en una señal óptica que expresa el cambio en las propiedades fotofísicas del fluoróforo.<sup>8</sup>

La Figura 1.12 ilustra el mecanismo en términos de orbitales moleculares. Con la excitación del fluoróforo un electrón del orbital molecular ocupado más alto en energía (HOMO) es promovido al orbital molecular desocupado más bajo en energía (LUMO), el cual permite la TFE del HOMO de la especie donadora (amina libre de protón o catión libre de receptor) al fluoróforo causando el *quenching* de la fluorescencia.



**Figura 1.12** Principio de los sensores TFE fluorescentes de  $H^+$  o iones metálicos.

Con la protonación (o enlace con un catión), el HOMO de la amina disminuye en energía con respecto al del fluoróforo; consecuentemente la TFE ya no es posible, observándose entonces la señal de fluorescencia.<sup>7</sup> Es decir, en términos generales el proceso de

transferencia de electrón compite favorablemente con el decaimiento radiativo hacia el estado basal, disminuyendo substancialmente la señal de fluorescencia. Cuando el receptor se une a un analito particular, el nivel HOMO baja en energía con respecto al nivel HOMO del receptor libre, previniendo la transferencia de electrón y favoreciendo la fluorescencia.<sup>8</sup>

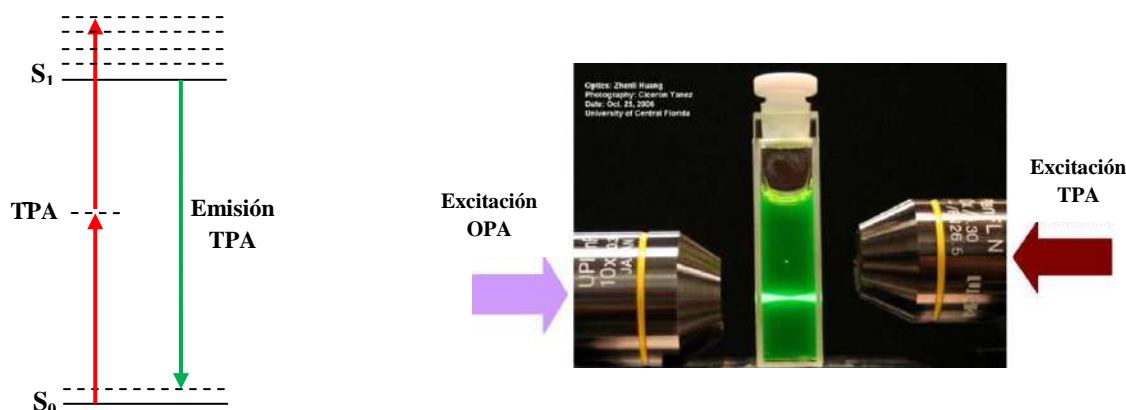
#### 1.2.4 Procesos fotofísicos en la absorción de dos fotones.

La absorción simultánea de dos fotones por una molécula fue descrita teóricamente por primera vez en los años treinta por Maria Göppert-Mayer en su tesis doctoral,<sup>45</sup> y experimentalmente por Kaiser y Garrett en 1961.<sup>46</sup> La diferencia principal entre la absorción de un fotón (OPA, por sus siglas en inglés) y la absorción de dos fotones (TPA) es que el proceso TPA implica la interacción simultánea de dos fotones, de tal manera que la fuerza de la absorción aumenta con el cuadrado de la intensidad de la luz, mientras que el proceso OPA depende linealmente de la intensidad de la luz, Figura 1.13.<sup>47</sup> El proceso TPA se puede describir en términos de la interacción de la densidad electrónica de una molécula con un campo eléctrico. Sin embargo, las características electrónicas que hacen adecuada a una molécula para generar una respuesta TPA no son totalmente claras.<sup>48</sup> Por otro lado, la mayoría de las moléculas que presentan la característica de absorción de dos fotones pueden ser descritas por la Ecuación 13.

$$\delta_{fg} = \frac{1}{5} \left[ \underbrace{\left( \frac{\Delta\mu_{gf}\mu_{gf}}{h\nu} \right)^2}_{\text{Término D}} + \sum_{i \neq f,g} \underbrace{\left( \frac{\mu_{gi}^2 \mu_{if}^2}{(E_{gi} - h\nu)^2} \right)}_{\text{Término T}} \right] \quad \text{Ec. 13}$$

donde  $\delta_{fg}$  es la sección cruzada de absorción de dos fotones,  $\Delta\mu_{gf}$  es el cambio en el momento dipolar estático entre el estado final y el inicial (o basal),  $E_{gi}$  es energía necesaria para llegar del estado basal al intermedio, la  $\delta_{fg}$  tiene unidades de Göppert-Mayer, GM (1 GM =  $10^{-50}$  cm<sup>4</sup> s photons<sup>-1</sup> molecula<sup>-1</sup>). Los términos D y T se conocen como término dipolar y de absorción de dos fotones, respectivamente. Así, los momentos dipolares estáticos son cero para moléculas centrosimétricas y el término dipolar se cancela. De esta

manera la sección cruzada de TPA es fuertemente dominada por la interacción entre tres estados, el estado basal y dos estados excitados. En consecuencia, sólo prevalece el término T de la ecuación 13.

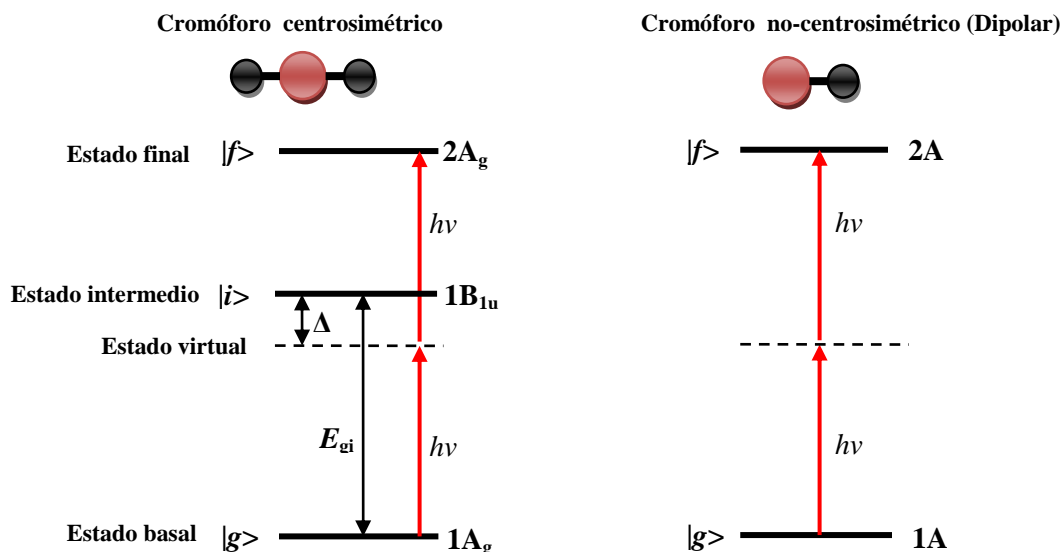


**Figura 1.13** Diagrama de Perrin-Jablonski esquematizando en proceso de absorción de dos fotones (TPA) y su emisión correspondiente (a la izquierda). Demostración de la selectividad espacial para la excitación OPA y la TPA en una disolución de fluoresceína.

Los tres estados esenciales en este modelo presentan una simetría alternada, donde las funciones de onda del estado basal  $|g\rangle$  y final  $|f\rangle$  son *gerade* (es decir, simétricas con respecto al centro de inversión) y el estado intermedio  $|i\rangle$  es *ungerade* (antisimétricas). Por ejemplo, para una molécula de naturaleza cuadrupolar ( $D_{2h}$ ) estos estados son  $1A_g$ ,  $1B_{1u}$ , y  $2A_g$ , mientras que para una molécula no centrosimétrica ( $C_2$ ) sólo se permiten los estados final ( $2A$ ) e inicial ( $1A$ ). Figura 1.14. En efecto, las transiciones electrónicas de un fotón son dipolo-permitidas para ambos  $g \leftrightarrow i$  y  $i \leftrightarrow f$ .

En el caso de TPA, la frecuencia óptica  $\nu$  está fuera de resonancia con estas dos transiciones, pero crea un estado no-estacionario (es decir, virtual) que es una superposición (o mezcla) de  $|g\rangle$  y  $|f\rangle$ , en la que la polarización inducida está desincronizada de la polarización en el estado intermedio por una diferencia de frecuencia que corresponde a una energía  $\Delta = E_{gi} - h\nu$ . Este “estado virtual” sólo existe mientras la molécula experimenta el campo del primer fotón (unos 5 fs).<sup>49</sup> La presencia transitoria de  $|i\rangle$  con simetría *ungerade* permite que el segundo fotón con frecuencia  $\nu$  pueda inducir una transición

dipolo-eléctrica al estado *gerade* final  $|f\rangle$ . La transición  $1A_g \leftrightarrow 2A_g$  es, por lo tanto, permitida en TPA, pero prohibida en OPA. Este cambio en las reglas de selección entre OPA y TPA es general para todos los cromóforos centrosimétricos.



**Figura 1.14** Diagrama de niveles de energía para los estados presentes en un cromóforo: centrosimétrico (izquierda) y no-centrosimétrico (derecha). Los estados están ejemplificados para una molécula  $D_{2h}$  y  $C_2$ , pero el diagrama es general para la transición TPA de menor energía.

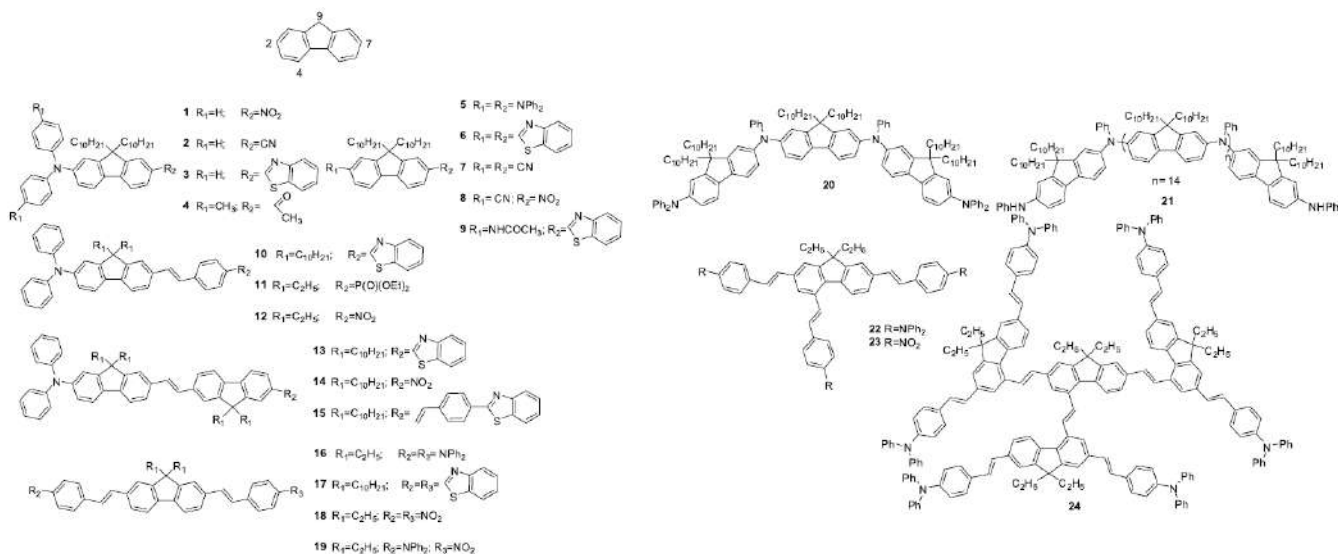
En las moléculas no-centrosimétricas, la transición  $g \leftrightarrow f$  es dipolo-permitida y el término D de la ecuación 13 es distinto de cero. En este caso,  $|f\rangle$  juega el papel de  $|i\rangle$ , y la transición ahora aparece tanto OPA y TPA. Así, el término T ejerce una contribución menor en cromóforos de naturaleza dipolar.

Finalmente, es importante mencionar que la magnitud de  $\mu_{gi}^2$  y  $\mu_{gf}^2$  es proporcional a los valores de la fuerza del oscilador de un fotón ( $f_{OPA}$ ), de tal manera que estos valores se pueden calcular del espectro de absorción OPA. Sin embargo, el valor de  $\mu_{if}$  (momento de transición) no se ha logrado determinar experimentalmente. Por ello, el desarrollo de cromóforos TPA eficientes se ha dado de manera empírica con la ayuda de cálculos

teóricos de ese momento de transición. Dentro de los arreglos moleculares más comunes se encuentran los sistemas donador-aceptor unidos a los extremos de un sistema  $\pi$ -conjugado (D- $\pi$ -A) el cual aumenta la magnitud de desplazamiento de carga dentro de la molécula del nivel energético HOMO centrado en el donador al nivel LUMO centrado en el aceptor, en consecuencia el valor de  $\mu_{gf}^2$  también aumenta. Este principio también ocurre en cromóforos centrosimétricos como D- $\pi$ -A- $\pi$ -D o A- $\pi$ -D- $\pi$ -A, lo que los hace sistemas TPA eficientes.

### Derivados de fluoreno en los sistemas TPA

Por otro lado, los cromóforos utilizados comúnmente para TPA involucran un amplio número de estructuras conjugadas desde grupos estilbeno hasta cianinas. Particularmente, el grupo de Belfield ha sido pionero en el estudio de propiedades TPA en derivados conjugados de fluoreno,<sup>50</sup> estos derivados han sido utilizados como fuentes luminiscentes tipo OLED (Organic Light-Emitting Diodes), especialmente como emisores en el azul caracterizados por rendimientos cuánticos altos, Figura 1.15.<sup>51</sup>



**Figura 1.15** Estructuras de derivados de fluoreno diseñados y sintetizados para el estudio de las relaciones estructura-propiedad TPA.

Como se muestra en la Figura 1.15, la unidad bifenilo bloqueada en el anillo de fluorenilo proporciona un sistema rígido y plano. Como consecuencia, la estructura proporciona un mayor traslape de los orbitales moleculares entre los anillos dando lugar a una mayor deslocalización electrónica, que sirve como un análogo  $\pi$ -conjugado de los derivados 4,4'-bifenilo disustituidos, térmica y fotoquímicamente más estables. Es importante destacar que el fluoreno se puede funcionalizar en las posiciones 2, 4, 7 y/o 9.

Las posiciones reactivas 2, 4, y 7 se han utilizado para extender la longitud de la conjugación, que es crucial para lograr una alta respuesta TPA. La posición reactiva 9 del fluoreno facilita la introducción de cadenas alquílicas que ayudan a mejorar la solubilidad de la molécula. En el caso de sondas (“probes”) biológicas se pueden introducir grupos más hidrófilos como fragmentos oxi-etileno, que permitan la solubilidad en medios acuosos. Sin embargo, se ha mostrado que los diversos sustituyentes en la posición 9 no tienen efecto sobre las propiedades electro-ópticas del sistema conjugado.<sup>51,52</sup>

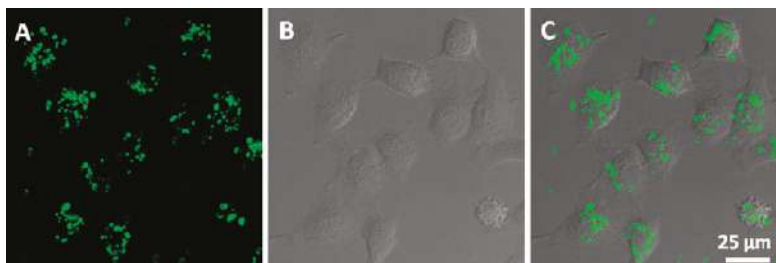
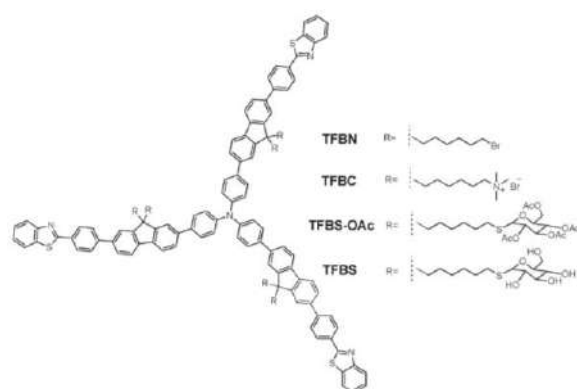
#### *Microscopía de Fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones*

Una de las principales ventajas del proceso de absorción de dos fotones es su aplicación en el área de imagen de fluorescencia en sistemas biológicos. El desarrollo de materiales con valores de sección cruzada de TPA grandes ha atraído mucha atención en las últimas dos décadas, por sus aplicaciones vitales en diversas áreas como almacenamiento 3D de datos, Microscopía de fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones (TPM, *Two-Photon Microscopy*) y en terapia fotodinámica.<sup>53</sup>

Dentro de ellas, la TPM es una técnica poderosa para imágenes de células vivas con alta resolución espacial, en comparación con la microscopía de OPA.<sup>54</sup> En este contexto, las moléculas cuadrupolares han ofrecido una cierta ventaja sobre las dipolares; sin embargo, se ha encontrado que las moléculas de naturaleza octopolar han generado respuestas TPA o valores de sección cruzada,  $\delta$  mucho más grandes, (en la Figura 1.3 se esquematizan las arquitecturas moleculares de estos tres tipos de arreglos). Si bien, los valores altos de  $\delta$  en sistemas octopolares se deben a la transferencia eficiente de carga intramolecular entre las tres unidades periféricas y el centro de la molécula, la respuesta TPA observada suele ser



mucho mayor a lo esperado cuando se pasa de un sistema cuadrupolar a uno octopolar, es decir, los valores de  $\delta$  pueden aumentar exponencialmente. La Figura 1.16, muestra una fotografía obtenida por Liu<sup>55</sup> por la fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones mediante microscopía de transmisión en células HeLa incubadas con la molécula TFBS.



**Figura 1.16** Imágenes de de células HeLa incubadas con TFBS, obtenidas por: (A) Fluorescencia promovida por TPA, (B) Transmisión y (C) traslape entre ambas.

Este tipo de microscopía está inherentemente caracterizada por la alta localización espacial de este proceso de excitación, lo cual indica que la fluorescencia ocurre únicamente en un punto focal donde el láser incidente se enfoca. En consecuencia, las imágenes de fluorescencia se observan en puntos bien definidos, a diferencia de la microscopía de OPA, donde la luminiscencia se distribuye homogéneamente en las distintas regiones celulares.

Con estos antecedentes, en el presente trabajo se desarrolló en primer lugar un sistema molecular que presenta fotocromismo pero con la posibilidad de que en función de su estructura molecular también puede presentar propiedades solvatocrómicas, ionocrómicas y acidocrómicas. Con este propósito, se sintetizaron derivados de bases de Schiff que también

incorporen quiralidad en su estructura. Por otro lado, se diseñó un sistema que conjunta una simetría dipolar en un arreglo octopolar análogo, para la determinación de su respuesta TPA.

## 1.4 OBJETIVOS

### Objetivos generales

- Sintetizar y caracterizar distintos derivados de bases de Schiff con respuesta óptica-múltiple, presentando propiedades de transferencia intramolecular de carga y transferencia intermolecular de protón, fotoinducidas.
- Sintetizar sensores moleculares fluorescentes derivados de bases de Schiff para iones metálicos y aniones.

### Objetivos específicos

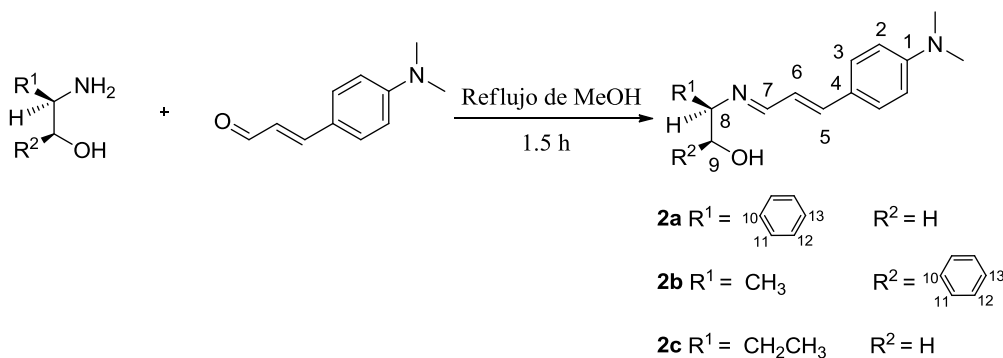
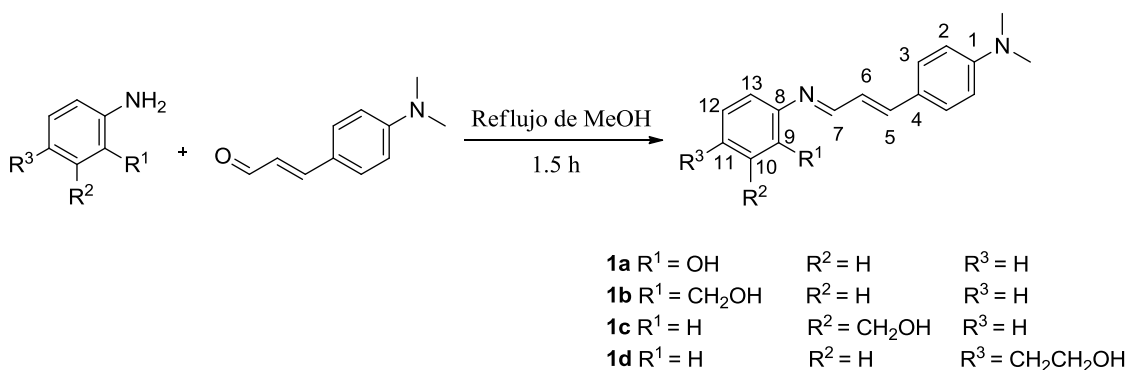
- Estudiar las propiedades electrónicas de las bases de Schiff sintetizadas, mediante espectroscopía de absorción y emisión de estado estacionario y resuelta en tiempo.
- Analizar el comportamiento de los derivados con respuesta óptica-múltiple en distintos disolventes para estudiar su naturaleza electrónica en el estado excitado (proceso de relajación) y cuantificar la transferencia de carga intramolecular.
- De acuerdo a la demanda actual, diseñar y fabricar dispositivos simples y prácticos de laboratorio que permitan evaluar la aplicación de los sensores colorimétricos y fluorescentes sintetizados. Asimismo, evaluar su uso práctico y continuo (reutilizable) en muestras problema.
- Llevar a cabo cálculos computacionales mediante la teoría de los funcionales de la densidad dependiente y no dependiente del tiempo que ayuden a analizar, entender y diseñar nuevas moléculas con propiedades fluorescentes. Asimismo, evaluar la naturaleza de las transiciones electrónicas observadas, los orbitales moleculares que están involucrados en ellas y los parámetros de transferencia de carga debida a la excitación electrónica, que nos lleven a entender el mecanismo mediante el cual ocurren las propiedades ópticas discutidas.

## CAPÍTULO 2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 2.1 Síntesis y caracterización de derivados de bases de Schiff **1a-1d**, **2a-2c**, **L1**, **L2** y **L3**.

#### 2.1.1 Síntesis y caracterización de derivados de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído

Los derivados **1a-1d** y **2a-2c** se prepararon mediante condensación de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído con el aminoalcohol correspondiente en cantidades equimolares agitándose durante 1.5 h a reflujo de metanol, con excepción del compuesto **1b** donde se empleó tolueno: etanol durante 3 h.



**Esquema 2.1.** Síntesis de las bases de Schiff **1a**, **1c**, **1d** y **2a-2c**. En el caso de **1b** el reflujo se llevó a cabo en tolueno:etanol (50:50, v/v)

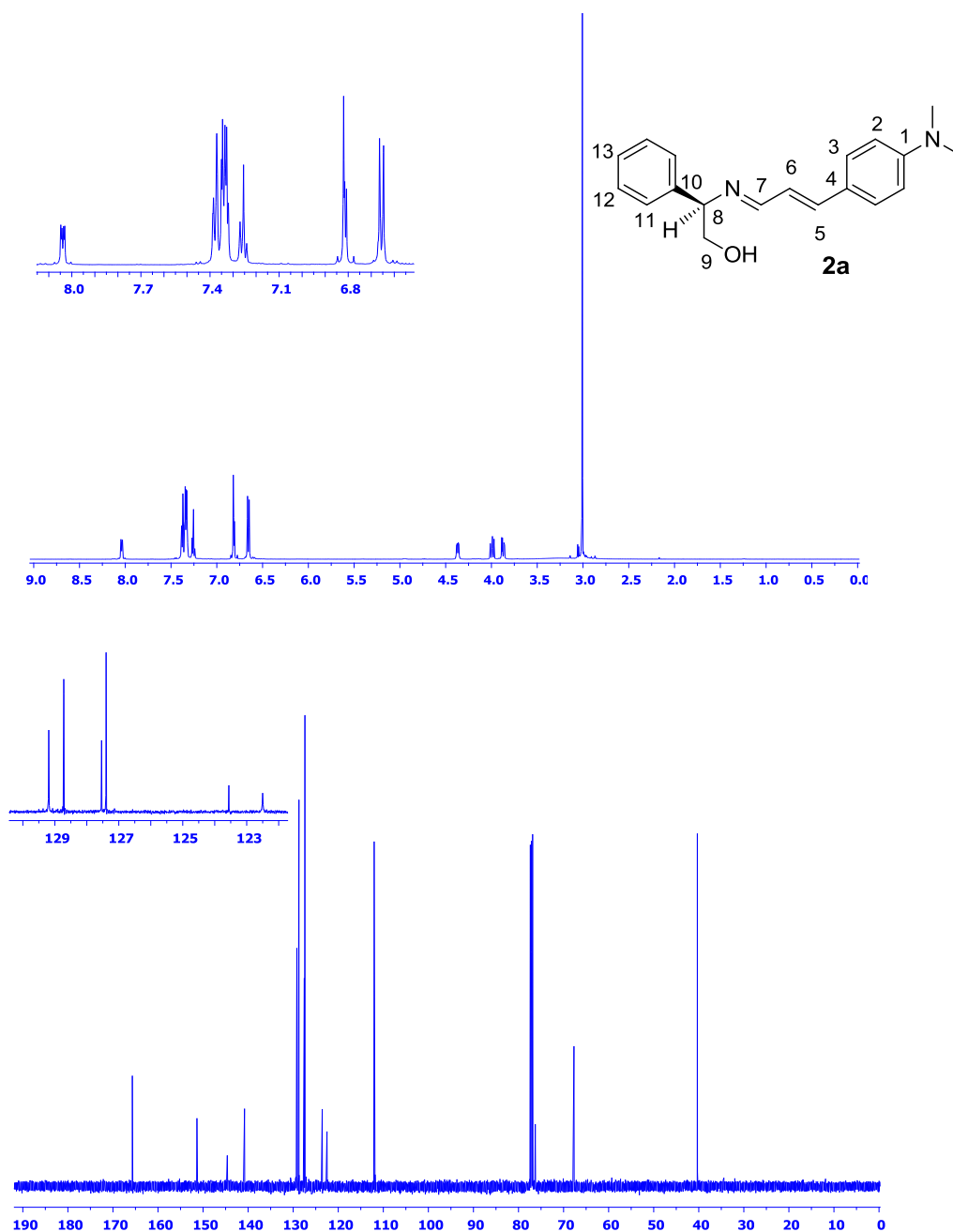
Como se puede apreciar en el Esquema 2.1, la familia de compuestos sintetizados difícilmente presentaría el enlace de hidrógeno intramolecular común en las bases de Schiff derivadas de salicilaldehído. Esto se debe a que la interacción del hidrógeno hidroxílico proveniente del aminoalcohol con el nitrógeno imínico resultaría altamente tensionada si existiera, lo cual lleva a tener una alta probabilidad de generar interacciones de hidrógeno intermoleculares en el estado cristalino para los derivados sintetizados. Los derivados **1b**, **1c** y **2a** lograron cristalizarse y se observó la presencia de enlaces de hidrógeno intermoleculares del tipo  $\text{-O-H}\cdots\text{N}_{\text{imina}}$ . En el caso del compuesto **1a**, no se observaron enlaces de hidrógeno  $\text{-O-H}\cdots\text{N}_{\text{imina}}$ .

La caracterización mediante RMN en disolución confirmó la obtención de los siete derivados de tal manera que se detectó la desaparición del hidrógeno proveniente del grupo aldehído alrededor de 9.6 ppm, y se observó la formación del grupo imina mediante la presencia del hidrógeno  $\gamma$  (imínico) en el intervalo de 7.9 a 8.4 ppm.

Para la base de Schiff **1b**, en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  obtenido en  $\text{CDCl}_3$  se observa la señal simple correspondiente al hidrógeno imínico en 8.21 ppm, los hidrógenos aromáticos entre 6.62 y 7.54 ppm y la señal del grupo metilo en 3.01 ppm. Por su parte en RMN de  $^{13}\text{C}$  se observan las señales correspondientes al carbono imínico (C7) en 161.9 ppm, las señales aromáticas entre 110.0 y 155.0 ppm y la señal del metilo en 40.3 ppm. Sin embargo, para este compuesto se observaron señales correspondientes a la hidrólisis de la imina, puesto que al disolver cristales de **1b** se observó la señal correspondiente al hidrógeno del aldehído y un incremento en su integral con el tiempo. Este hecho dificultó mucho el estudio del compuesto **1b** en disolución aún cuando se partió de cristales para todos sus estudios.

Por su parte, los espectros RMN de  $^1\text{H}$  de los compuestos **1c** y **1d** muestran las señales correspondientes al hidrógeno imínico en 8.22 y 8.21 ppm, respectivamente; los hidrógenos aromáticos entre 6.60 y 7.50 ppm para ambos compuestos y la señal del grupo metilo en 3.03 ppm para **1c** y 3.02 ppm para **1d**. En los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  se observan las señales correspondientes al carbono imínico para **1c** y **1d** en 162.6 y 162.2 ppm, respectivamente; las señales aromáticas entre 110.0 y 155.0 ppm en ambos casos y la señal del metilo en 40.3 ppm en ambos casos.

Por otro lado, el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **2a** presenta señales correspondientes al hidrógeno imínico en 8.04 ppm, los hidrógenos aromáticos entre 6.60 y 7.50 ppm y la señal del grupo metilo en 3.01 ppm. Asimismo, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  muestra las señales correspondientes al carbono imínico en 165.7 ppm, las señales aromáticas entre 110 y 155 ppm y la señal del carbono metílico en 40.3 ppm, Figura 2.1.

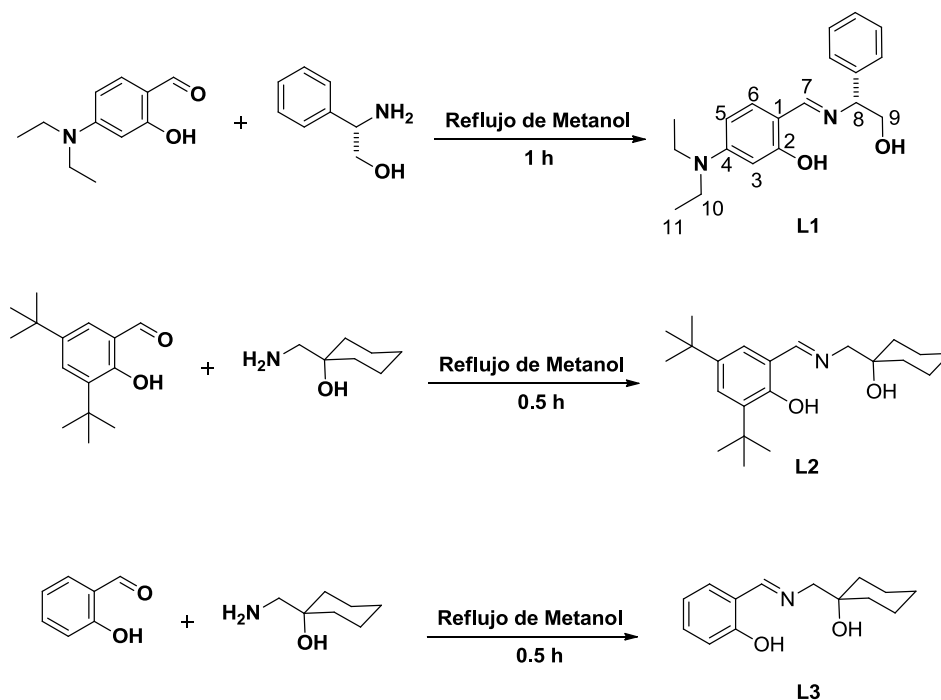


**Figura 2.1.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de **2a**.

Finalmente, los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de **2b** y **2c** muestran las señales correspondientes al hidrógeno imínico en 7.95 y 7.93 ppm, respectivamente; los hidrógenos aromáticos se observan entre 6.60 y 7.50 ppm para ambos compuestos y la señal del grupo metilo proveniente del dimetilamino en 2.99 ppm ambos compuestos. En los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  se observan las señales correspondientes al carbono imínico para **2b** y **2c** en 163.2 y 164.5 ppm, respectivamente; las señales aromáticas entre 110.0 y 155.0 ppm en ambos casos y la señal del carbono metílico en 40.3 ppm en ambos casos.

### 2.1.2 Síntesis y caracterización de derivados de 4-*N,N*-dietilamino-salicilaldehído

Las bases de Schiff **L1-L3** (Esquema 2.2) se prepararon de acuerdo al procedimiento descrito en la literatura,<sup>56</sup> para estudiar sus propiedades como sensores ópticos mediante la reacción de condensación entre los aminoalcoholes respectivos (Esquema 2.2) y el 4-*N,N*-dietilamino-salicilaldehído (**L1**), 3,5-diterbutilsalicilaldehído (**L2**) y salicilaldehído (**L3**) a reflujo de metanol durante 1.5 h. Los compuestos **L1** a **L3** presentan en común el típico arreglo de enlace intramolecular de hidrógeno de seis miembros característico de las bases de Schiff de salicilaldehído, donde factores como la temperatura, la luz y el medio influyen en el equilibrio *ceto-enólico*. Una característica fundamental de estos compuestos es que no presentan fluorescencia, lo cual los hace candidatos idóneos para utilizarlos como sensores ópticos con respuesta de encendido de la fluorescencia al interactuar con un ion metálico específico. Particularmente, el compuesto **L1** presenta un grupo dietilamino como electrodonador formal unido mediante un puente  $\pi$ -conjugado al grupo imino, dando lugar a un sistema electrónico donador-puente- $\pi$ -aceptor o D- $\pi$ -A, cuyas propiedades se estudiarán en este trabajo. A diferencia de **L1**, los compuestos **L2** y **L3** no presentan un grupo electrodonador formal, y aunque la consecuencia más relevante en cuanto a su dinámica de fluorescencia es que no se tiene un cambio fuerte en el momento dipolar al excitar la molécula, el hecho de tener un sistema  $\pi$ -conjugado conectado al grupo imino es suficiente para generar una transferencia intramolecular de electrones. Dicho mecanismo, así como el efecto del grupo *t*-butilo en las propiedades ópticas de la molécula, se estudiarán en este trabajo.



**Esquema 2.2.** Metodología seguida para obtener L1, L2 y L3.

## 2.2 Propiedades fotofísicas de los derivados de cinamaldehído y evaluación de las propiedades multifuncionales del compuesto *(R)*-2-[3-(4-Dimetilaminofenil)alilidenamino]-fenilglicinol (2a).

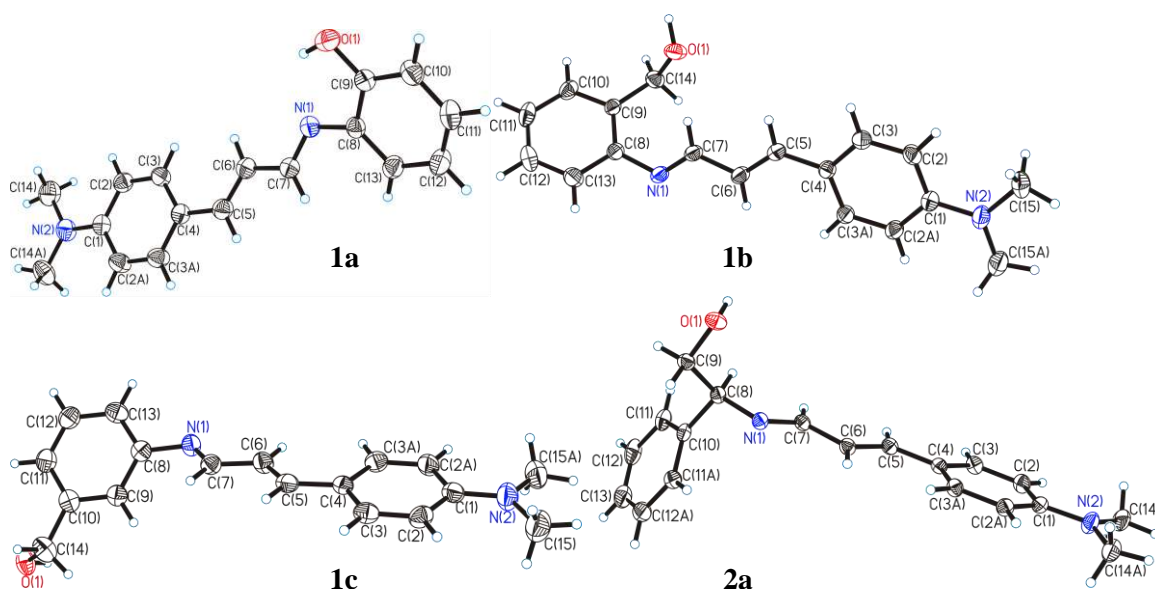
### 2.2.1 Análisis de la estructura cristalina y propiedades en el estado sólido

El desarrollo de materiales fluorescentes multifuncionales es un área de gran interés actual debido a su variedad de aplicaciones prácticas.<sup>57</sup> En general, la estrategia para diseñar nuevos fluoróforos multifuncionales debe considerar dos aspectos electrónicos en las moléculas: su conjugación- $\pi$  y sus características de transferencia de carga; y aspectos estructurales como la presencia de grupos afines a un analito en particular. Una de las contribuciones más importantes del presente trabajo fue el estudio de bases de Schiff que logren unir distintas propiedades en un compuesto.



El análisis de la estructura cristalina fue de gran relevancia para inferir las propiedades de las iminas derivadas de cinamaldehído y comenzar a realizar el estudio fotofísico. En el caso del compuesto **2a** el cual forma un enlace de hidrógeno intermolecular en contraste con el arreglo de algunas bases de Schiff que conduce a la formación de un anillo de seis miembros. En la Figura 2.2 se muestra la estructura de las bases de Schiff cristalizadas.

Los compuestos **1a**, **1b** y **1c** cristalizaron en los grupos espaciales  $P2_1/c$ ,  $P2_12_12_1$  y  $Pca2_1$  los cuales contienen cuatro moléculas por celda unitaria, respectivamente. El compuesto **2a** cristalizó en el grupo espacial monoclinico  $P2_1$  que contiene dos moléculas por celda unitaria. Las estructuras moleculares de los compuestos **1a-1d** y **2a-2c** consisten en un sistema  $\pi$ -electrónico derivado del fragmento de cinamaldehído conectado a un anillo aromático o a un fragmento alifático, que tiene un grupo hidroxilo en diferentes posiciones.

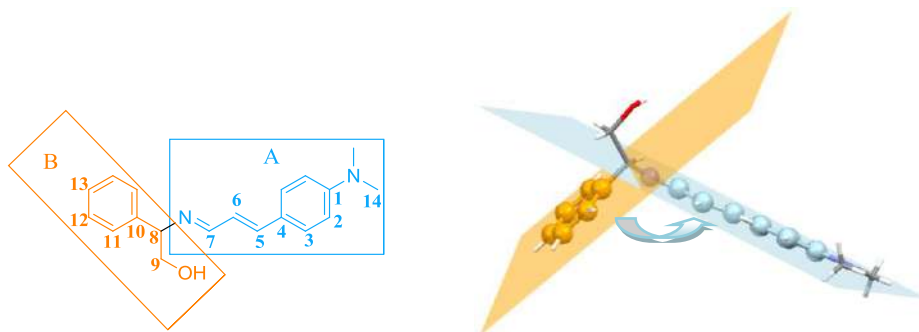


**Figura 2.2** Diagrama ORTEP de los compuestos **1a**, **1b**, **1c** y **2a**. Las elipsoides térmicas están dibujadas con 30 % para todos los átomos excepto hidrógeno.

Las distancias de enlace de N1 a C7 (enlace imina, C=N) para los compuestos preparados a partir de las aminas aromáticas **1b** y **1c** son de 1.2892(3) Å y 1.2881(4) Å, respectivamente, que se encuentran dentro del intervalo descrito para otras bases de Schiff derivadas de cinamaldehído (de 1.2610(3) a 1.2864(3) Å).<sup>58</sup> Para el compuesto **2a**, preparado a partir de

fenilglicinol, la distancia del enlace C=N es de 1.2774(18) Å, la cual está en acuerdo con las distancias C=N descritas para compuestos similares.<sup>59</sup>

El análisis de difracción de rayos-X de **1b**, **1c** y **2a** mostró que el fragmento- $\pi$  tiene una conformación semi-plana, en la que el anillo proveniente del aminoalcohol (para **1b** y **1c**) o del fragmento alifático (en **2a**) está fuera del plano de la molécula (plano A, Figura 2.3). El plano A en los compuestos **1b**, **1c** y **2a** se define por el fragmento dimetilamino-cinnamaldimina y el plano B se define por el fragmento proveniente del aminoalcohol. El análisis del ángulo de torsión para el fragmento de C7-N1-C8-C9 muestra que la imina **1b** tiene el valor más grande de las dos bases de Schiff con sustituyentes aromáticos ( $-52.81(4)^\circ$ ), este compuesto tiene un grupo  $-\text{CH}_2\text{OH}$  en la posición *orto*, el cual es responsable del ángulo de torsión relativamente grande. En el caso de **1c** el ángulo de torsión para el mismo fragmento es  $-42.49(2)^\circ$ . Para el compuesto **2a** el ángulo de torsión de  $98.5(2)^\circ$  se debe a la falta de conjugación electrónica con el fragmento de aminoalcohol. Las distancias de enlace y los valores de ángulo de torsión para **1a** se tomaron de resultados anteriormente publicados<sup>59c</sup> y los de **1b**, **1c** y **2a** se dan en el apéndice.

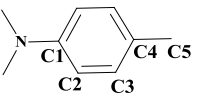


**Figura 2.3** Representación de los planos A y B en la molécula **2a**.

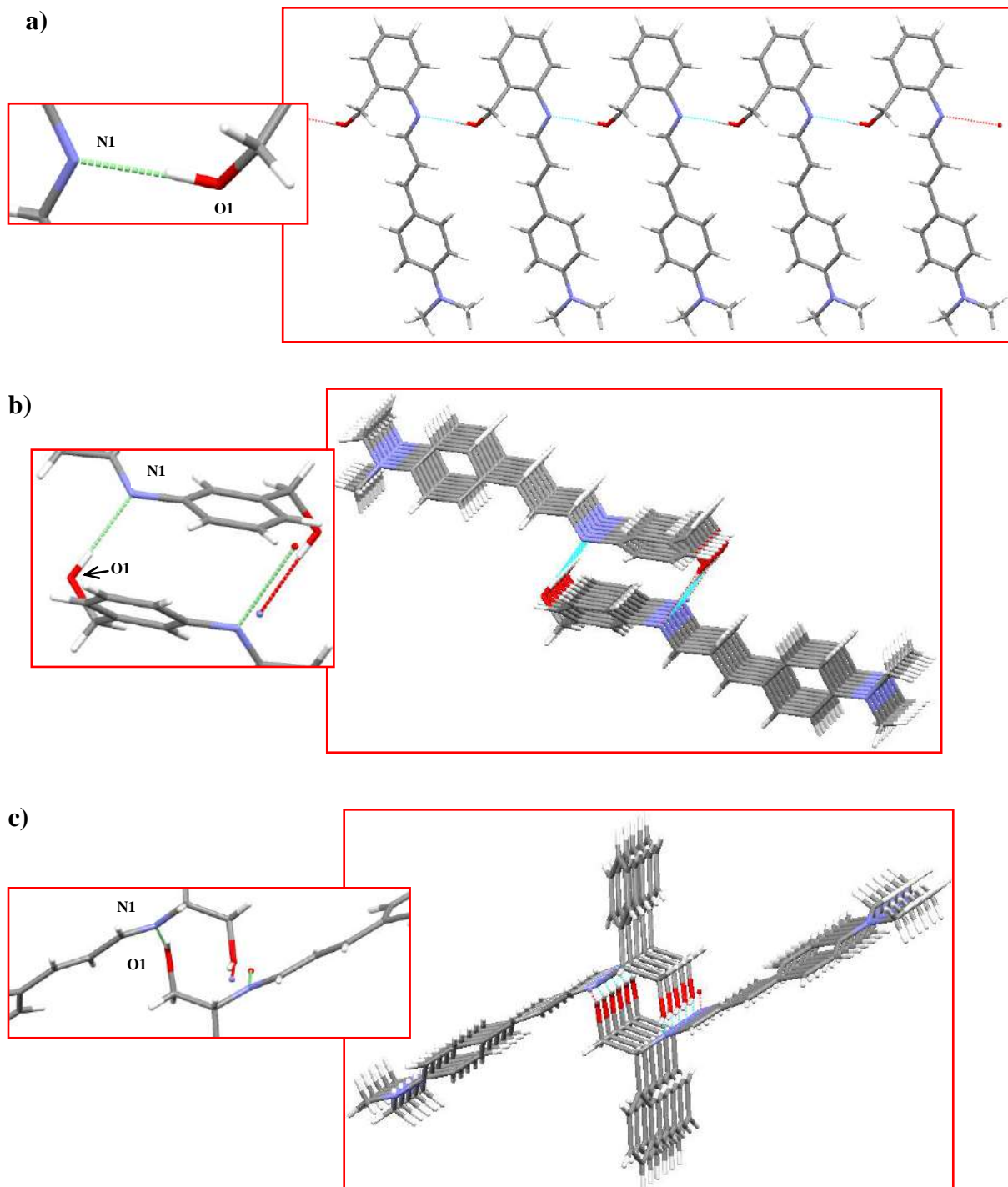
La conformación típica en los fragmentos de cinnaldehído suele no ser plana, mostrando una desviación de  $27^\circ$  fuera del plano del grupo fenilo. En contraste, las bases de Schiff **1a**, **1b**, **1c** y **2a** mostraron desviaciones de  $12.4^\circ$ ,  $4.0^\circ$ ,  $4.3^\circ$  y  $7.6^\circ$ , respectivamente. La disminución de este ángulo se atribuye a la presencia de un grupo donador fuerte, el cual

promueve una conformación más plana dando lugar a un carácter de tipo *quinoide* a través de un proceso de transferencia de carga intramolecular inducido por el grupo NMe<sub>2</sub>. Como se mencionó, el carácter quinoide también está presente en los compuestos **1b**, **1c** y **2a**, Tabla 2.1.

**Tabla 2.1** Distancias de enlace en el fragmento N-C1-C2-C3-C4-C5 para **1a-1c** y **2a**.

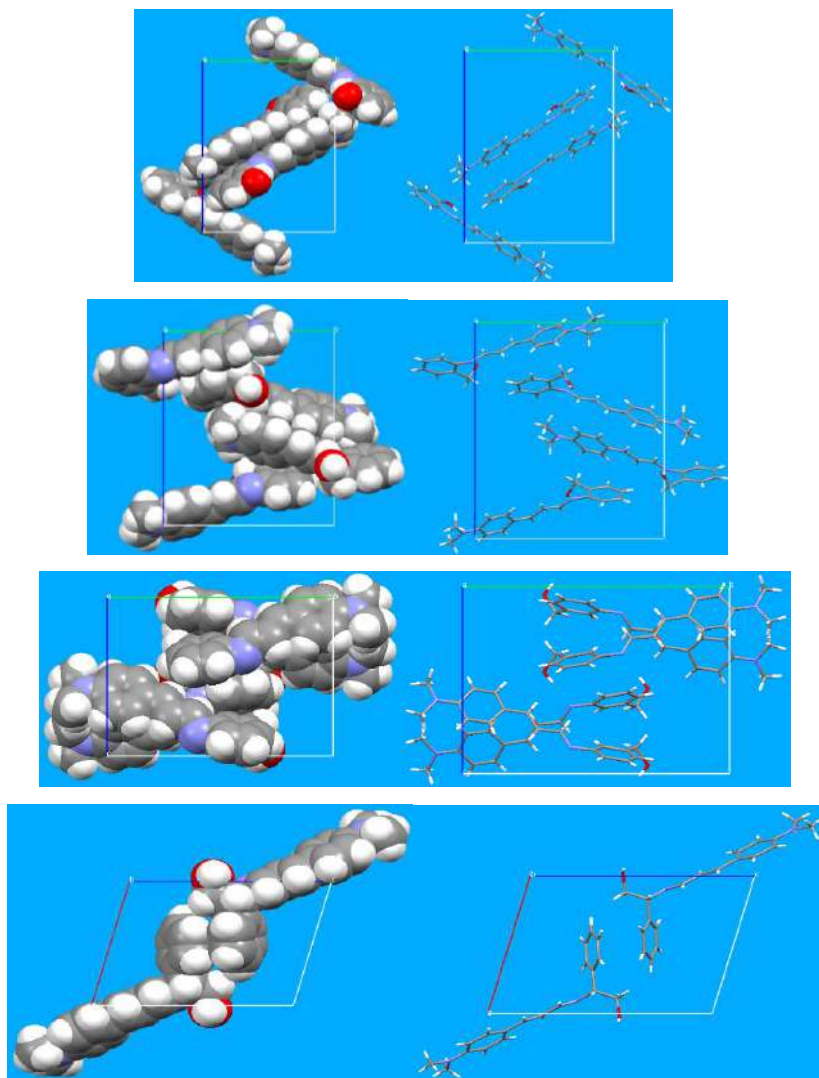
Enlace en 	Distancias de enlace para los compuestos[Å]			
	<b>1a</b>	<b>1b</b>	<b>1c</b>	<b>2a</b>
N-C1	1.368(2)	1.377(3)	1.376(5)	1.378(2)
C1-C2 [C1-C2A]	1.404(2) [1.404(2)]	1.395(3) [1.399(3)]	1.397(5) [1.391(5)]	1.396(2) [1.407(2)]
C2-C3 [C2A-C3A]	1.372(2) [1.371(3)]	1.370(3) [1.374(3)]	1.367(5) [1.368(5)]	1.381(2) [1.379(2)]
C3-C4 [C3A-C4]	1.395(2) [1.395(2)]	1.396(3) [1.395(3)]	1.394(5) [1.383(5)]	1.397(2) [1.398(2)]
C4-C5	1.449(2)	1.448(3)	1.455(5)	1.450(2)

Es importante señalar que el empaquetamiento cristalino para **1b** y **1c** se rige por interacciones de tipo enlace de hidrógeno CH ··· π (**1c** muestra 4 contactos y **1b** tiene 3); mientras que en **1a** se observó solamente un enlace de hidrógeno no-clásico (CH ··· O) y en el compuesto **2a** no se presenta ningún contacto cercano. Las interacciones por enlace de hidrógeno se muestran en la Figura 2.4. El empaquetamiento cristalino para el compuesto **2a** está regido por una interacción de enlace de hidrógeno C=N ··· HO, que da lugar a un empaquetamiento con amplio espacio vacío o empaquetamiento *abierto*.<sup>60</sup> Cabe señalar que en ninguna molécula se presentaron interacciones π-π.



**Figura 2.4** Interacciones de enlace de hidrógeno encontradas en la estructura cristalina. a) interacción  $O-H \cdots N(C)=C$  a lo largo del eje  $c$  en **1b**. b) interacción  $O-H \cdots N(C)=C$  a lo largo del eje  $a$  en **1c**. c) interacción  $O-H \cdots N(C)=C$  a lo largo del eje  $b$  en **2a**.

Los parámetros de enlace de hidrógeno  $\text{OH} \cdots \text{N}=\text{C}$  en **1b**, **1c** y **2a** dan distancias  $\text{O} \cdots \text{N}$  de 2.7737(2), 2.8466(4) y 2.7598(19) Å, respectivamente. Claramente, el compuesto **2a** tiene la longitud de enlace  $\text{O} \cdots \text{N}$  más corta probablemente debido a la flexibilidad del fragmento alifático.



**Figura 2.5** (a) Representaciones tipo *Spacefill* y *capped sticks* del empaquetamiento cristalino de (de arriba hacia abajo) **1a**, **1b** y **1c** a lo largo del eje *a* y **2a** a lo largo del eje *b*, donde se puede apreciar un empaquetamiento cristalino “abierto” para **2a**.

Aquí cabe resaltar que las interacciones intermoleculares se han considerado como un factor fundamental para fotocromismo en el estado sólido, ya que las propiedades están

relacionadas con el empaquetamiento cristalino.<sup>61</sup> Es importante mencionar que los compuestos **1a**, **1b** y **1c** muestran estructuras con empaquetamiento compacto que impiden cambios incluso ligeros en la estructura provocados por la absorción de luz. Esto se puede apreciar en la representación tipo *spacefill* del empaquetamiento cristalino en la Figura 2.5.

En contraste, el fragmento fenilglicinol en el compuesto **2a** previene el contacto cercano entre las moléculas que conducen a un empaquetamiento “abierto” que puede ser importante en la activación de algún proceso fotocromico. Por otra parte, el anillo del fenilglicinol está claramente fuera del plano con respecto al mismo anillo de la otra molécula en la celda unitaria (dímero centrosimétrico) debido al impedimento estérico. Por esta razón, el tamaño y la forma de este fragmento es adecuado para crear espacios para el movimiento estructural fotoinducido, una condición favorable en el fotocromismo.

En resumen, la presencia del enlace de hidrógeno intermolecular en **2a** contribuye al empaquetamiento cristalino y desde luego a su arreglo supramolecular. Además se puede inferir que dicha interacción de hidrógeno podría promover a su vez la transferencia de protón al excitar la molécula con luz y al mismo tiempo, modular la rigidez de la molécula para efectuar cambios en la fluorescencia en el estado cristalino. Con estos antecedentes, en el caso de **2a** se decidió estudiar si esa interacción de hidrógeno pudiera dar lugar a una reacción de transferencia acoplada de electrón-protón (PCET, proton coupled electron transfer),<sup>62</sup> ya sea sincrónica (concertada) o asincrónica (no-concertada). Esta reacción no es trivial y ha merecido numerosos esfuerzos tanto teóricos como experimentales durante las últimas décadas,<sup>63</sup> debido al papel que juega en muchos sistemas de relevancia biológica, incluyendo por ejemplo los responsables de la fijación de nitrógeno y oxígeno.<sup>64</sup>

### **2.2.2 Propiedades fotofísicas en disolución**

Los esfuerzos realizados hasta la fecha en el estudio de las reacciones PCET han puesto de manifiesto las dificultades para establecer un mecanismo preciso de dicha transferencia doble. Recientemente se han descrito estudios de las reacciones PCET de tipo fotofísico, es decir, que ocurren en el estado excitado y en las cuales la transferencia acoplada de protón y de electrón es inducida mediante la irradiación de luz, lo que da lugar a la clase de

reacciones denominadas transferencia de protón en el estado excitado (ESPT, por sus siglas en inglés).<sup>65</sup> La fuerza motriz de estas reacciones es el cambio en la acidez (usualmente el incremento en ella) de una molécula inducido por irradiación (fotoacidez).<sup>66</sup>

De esta manera, se procedió a hacer un análisis fotofísico de los derivados de cinamaldehído con la finalidad de estudiar el proceso de transferencia de protón fotoinducido en el estado sólido cristalino y sus interacciones específicas con el medio en disolución.

La Tabla 2.2 resume los datos de absorción UV-Vis y emisión (de fluorescencia) con los coeficientes de absorción molar correspondientes de los compuestos **1a-1d** y **2a-2c** en tolueno y acetonitrilo. En estos disolventes se observó sólo un máximo de absorción para cada compuesto. El análisis de desplazamientos de Stokes reveló que **2a** tiene el valor más grande ( $6060\text{ cm}^{-1}$ ), lo que implica la probabilidad más baja de tener el proceso de reabsorción de luz, seguido de los compuestos **2c**, **2b** y **1c** con  $5775$ ,  $5620$  y  $4945\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

**Tabla 2.2.** Datos de absorción UV-Vis y emisión para **1a-1d** y **2a-2c**.<sup>a</sup>

Compuesto	$\lambda_{\text{max}}$ (Abs)		$\lambda_{\text{max}}$ (Em)		$\epsilon_{\text{max}}$		Desplazamiento de Stokes	
	[nm]		[nm]		[M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]		[cm <sup>-1</sup> ]	
	Tolueno	ACN	Tolueno	ACN	Tolueno	ACN	Tolueno	ACN
<b>1a</b>	408	404	-----	-----	27,580	24,724	-----	-----
<b>1b</b>	393	384	-----	-----	33,528	50,183	-----	-----
<b>1c</b>	382	382	430	471	17,216	47,002	2920	4945
<b>1d</b>	382	384	-----	-----	53,748	59,897	-----	-----
<b>2a</b>	359	356	416	454	49,023	45,792	3815	6060
<b>2b</b>	358	356	415	445	45,183	46,634	3835	5620
<b>2c</b>	357	354	412	445	99,637	69,681	3740	5775

<sup>a</sup> Concentración  $3.0 \times 10^{-5}$  M. ACN: Acetonitrilo.

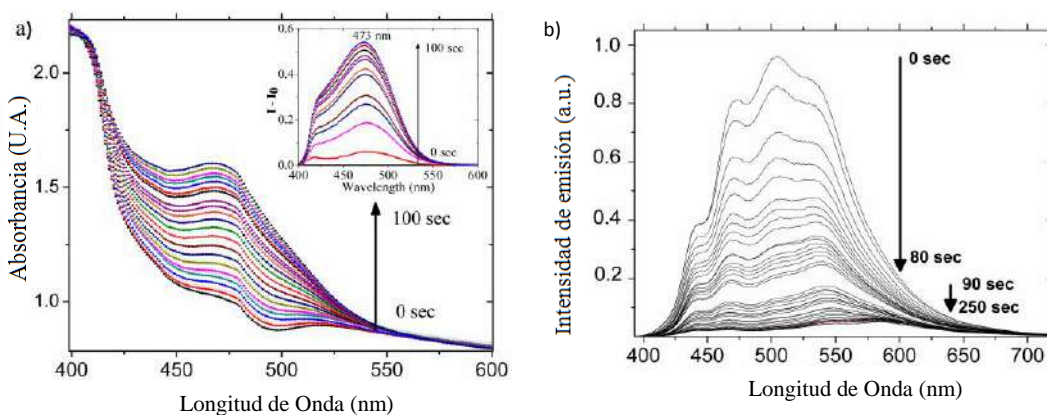
Este resultado fue de gran relevancia ya que indica que la excitación electrónica induce cambios geométricos significativos cuando el compuesto **2a** es excitado. Tal comportamiento se puede atribuir a la presencia del fragmento de fenilglicinol con alta libertad conformacional. Por otra parte, **1a**, **1b** y **1d** no presentaron propiedades de fotoluminiscencia.

Para el análisis en el estado sólido, se determinaron los espectros de absorción y emisión para **2a**. Las películas cristalinas se fabricaron por deposición al vacío colocándolas en vidrios delgados previamente lavados, la temperatura se controló para evitar la descomposición térmica del compuesto.<sup>67</sup> Las propiedades fotocromicas en el estado sólido se determinaron bajo irradiación UV continua proporcionada por una lámpara de Hg/Xe (Hamamatsu, LC6 Lightningcure, 200 W) equipado con un filtro de interferencias de banda estrecha de 365 nm (Semrock HG01).

Los resultados de los análisis en estado sólido muestran que las películas de **2a** exhiben un comportamiento fotocromico (con un cambio de color de blanco a rojo en película delgada y de amarillo a rojo en polvo cristalino). La técnica de espectroscopía de absorción fue empleada para corroborar el cambio de color. En la Figura 2.6 se muestran los espectros en película irradiada, observándose la formación de una nueva banda desplazada al rojo después de 5 segundos de irradiación a una  $\lambda_{ex} = 365$  nm; la intensidad de esta banda se incrementó con el tiempo de irradiación (medido hasta 80 segundos).

Hasta este momento, como hipótesis, la nueva banda desplazada al rojo se puede atribuir a la transición electrónica de tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  del sistema  $\pi$ -conjugado correspondiente al sistema protonado, debido a la transferencia de hidrógeno intermolecular efectuada del hidrógeno hidroxílico al átomo de nitrógeno imínico, observada en el arreglo cristalino. Los espectros de fluorescencia obtenidos bajo el mismo procedimiento mostraron una disminución total de la fluorescencia al irradiar, lo que conlleva a clasificar dos especies: la imina no protonada-fluorescente y la imina protonada-no fluorescente. Por otra parte, la interacción con el grupo  $-N(Me)_2$  se descartó como se discutirá más adelante en el análisis de las propiedades ionocromicas y el análisis computacional.

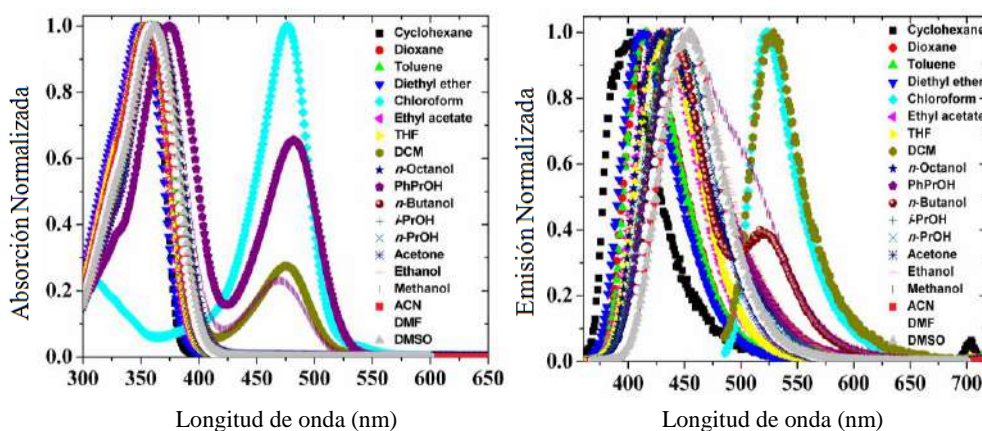




**Figura 2.6** a) Espectros de absorción UV-Vis y b) Espectros de fluorescencia, de películas cristalinas delgadas de **2a** bajo irradiación UV (365 nm) a temperatura ambiente. Recuadro: Diferencia de la intensidad de absorción con la irradiación.

### 2.2.3 Propiedades solvatocrómicas de **2a**.

Para estudiar el efecto del medio sobre las propiedades fotofísicas de **2a**, se llevó a cabo un análisis solvatocrómico. Los espectros experimentales de absorción y emisión de **2a** en diferentes disolventes se muestran en la Figura. 2.7 y los valores obtenidos en esas mediciones se resumen en la Tabla 2.3.



**Figura 2.7** (a) Espectros de absorción UV-Vis y (b) de fluorescencia de **2a** en distintos disolventes.

El análisis de los datos muestra que la posición de la banda de absorción presenta un comportamiento no monótonico con respecto a la polaridad del disolvente. Sin embargo, en disolventes como cloroformo, DCM, metanol y fenil-propanol, el compuesto **2a** mostró una banda de absorción adicional en 477, 475, 469 y 479 nm, respectivamente. La nueva banda desplazada al rojo puede ser atribuida a otras interacciones soluto-disolvente debido a que cloroformo, diclorometano (DCM), fenilpropanol y metanol tienen una acidez considerable con respecto a los otros disolventes empleados en este análisis.

**Tabla 2.3** Propiedades fotofísicas de **2a** en distintos disolventes.<sup>a</sup>

Disolvente	$\epsilon$	$n$	$\Delta f$	$\lambda_a$ (nm)	$\bar{\nu}_a$ (cm <sup>-1</sup> )	$\lambda_e$ (nm)	$\bar{\nu}_e$ (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{\nu}_a - \bar{\nu}_e$
Ciclohexano	2.02	1.4235	0	352	28409	402	24876	3533
Dioxano	2.22	1.4224	0.021	354	28249	416	24038	4211
Tolueno	2.38	1.4961	0.013	359	27855	416	24038	3817
Éter etílico	4.27	1.3526	0.165	350	28571	413	24213	4358
Cloroformo	4.81	1.4459	0.148	311	32154	529	18903	13251
Acetato de etilo	6.08	1.3723	0.201	356	28090	428	23364	4726
THF	7.52	1.4050	0.210	354	28249	427	23419	4830
DCM	8.93	1.4242	0.217	362	27624	521	19193	8431
<i>n</i> -Octanol	10.30	1.4295	0.225	363	27548	429	23310	4238
Ph-PrOH	11.97	1.5357	0.202	375	26667	436	22936	3731
<i>n</i> -Butanol	17.50	1.3988	0.264	361	27700	444	22522	5178
<i>i</i> -PrOH	20.18	1.3776	0.277	361	27701	440	22727	4974
<i>n</i> -PrOH	20.80	1.385	0.275	361	27701	444	22523	5178
Acetona	21.01	1.3588	0.285	354	28249	447	22371	5878
EtOH	25.30	1.3611	0.289	364	27473	451	22173	5300
MeOH	33.01	1.3288	0.308	365	27397	453	22075	5322
ACN	36.64	1.3442	0.305	356	28090	454	22026	6064
DMF	36.70	1.4305	0.274	358	27933	451	22172	5761
DMSO	46.68	1.4793	0.263	357	28011	455	21965	6046

*a*: Constante dieléctrica, ( $\epsilon$ ), índice de refracción, ( $n$ ); Parámetro de orientación de la polarizabilidad, ( $\Delta f$ ); longitud de onda de absorción, ( $\lambda_a$ ); número de onda de absorción, ( $\bar{\nu}_a$ ); longitud de onda de emisión, ( $\lambda_e$ ); número de onda de emisión, ( $\bar{\nu}_e$ ). Notación de disolventes: THF (tetrahidrofurano), DCM (diclorometano), Ph-PrOH (3-fenil-1-propanol), *i*-PrOH (*iso*-propanol), *n*-PrOH (*n*-propanol), EtOH (etanol), MeOH (metanol), ACN (acetonitrilo), DMF (Dimetilformamida), DMSO (Dimetil sulfóxido).

El efecto de las interacciones de disolvente sobre la absorción y fotoluminiscencia del compuesto **2a** se investigó en términos de la aproximación de Lippert-Mataga, (ecuación 11, Capítulo 1).

Se puede apreciar en la Figura 2.7a que la banda de absorción no muestra cambios significativos debido a las variaciones en la polaridad del disolvente. En contraste, los espectros de fotoluminiscencia evidencian un desplazamiento hacia el rojo (batocrómico) en las bandas de emisión a medida que aumenta la polaridad del disolvente, lo que sugiere que el momento dipolar es más grande en el estado excitado que en el estado basal.

Con el fin de tener evidencia experimental del proceso de transferencia de carga intramolecular que tiene lugar en **2a**, se determinó el valor de  $\Delta\mu$  (entre el estado excitado de menor energía y el basal) a partir de la relación de Lippert-Mataga. El gráfico de Lippert, que relaciona el desplazamiento de Stokes con una función de la polaridad del disolvente (dirección de la polarizabilidad), para **2a** muestra tres regiones: la no polar (constante dieléctrica de 0.0 a 0.15), la polar aprótica (de 0.2 a 0.3) y la polar prótica (de 0.2 a 0.31). Cada región de la gráfica muestra un comportamiento lineal si se consideran por separado (Figura 2.8). Así, de la pendiente en la región polar se calculó un  $\Delta\mu$  de 15.1 D (pendiente =  $13,752 \pm 1,975$ ,  $R^2 = 0.87$ ) utilizando un radio de Onsager<sup>32</sup> de 5.5 Å para **2a** estimado por Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT). El valor de  $\Delta\mu$  calculado para **2a** es comparable a los valores reportados en la literatura (3-20 D) para otros fluoróforos solvatocrómicos.

Además, la región no polar del gráfico de Lippert exhibe una tendencia no lineal clara. Este resultado es debido al hecho de que en la región no polar, la solvatación es menos eficaz y no hay una buena reorientación de los dipolos en las moléculas de disolvente alrededor del fluoróforo. En la región polar prótica el valor estimado de  $\Delta\mu$  fue de 16.2 D (pendiente =  $15,895 \pm 2,150$ ,  $R^2 = 0.90$ ). El comportamiento bi-lineal (ya que en general es no-lineal) sugiere que la polaridad del disolvente no es el único factor que ejerce efecto en los desplazamientos de Stokes, de tal manera que los efectos específicos de disolvente que incluyen enlace de hidrógeno, transferencia de carga intramolecular, solvatación preferencial y/o efectos ácido-base, están presentes.

Por ello, se llevó a cabo un análisis solvatocrómico de acuerdo a la escala empírica de Catalán propuesta recientemente<sup>40</sup> (ecuación 12, Capítulo 1) con el fin de entender los

parámetros del disolvente que afectan a las propiedades fotofísicas ( $\bar{\nu}_{\text{ABS}}$ ,  $\bar{\nu}_{\text{EM}}$  y  $\Delta\bar{\nu}$ ) del compuesto **2a**.

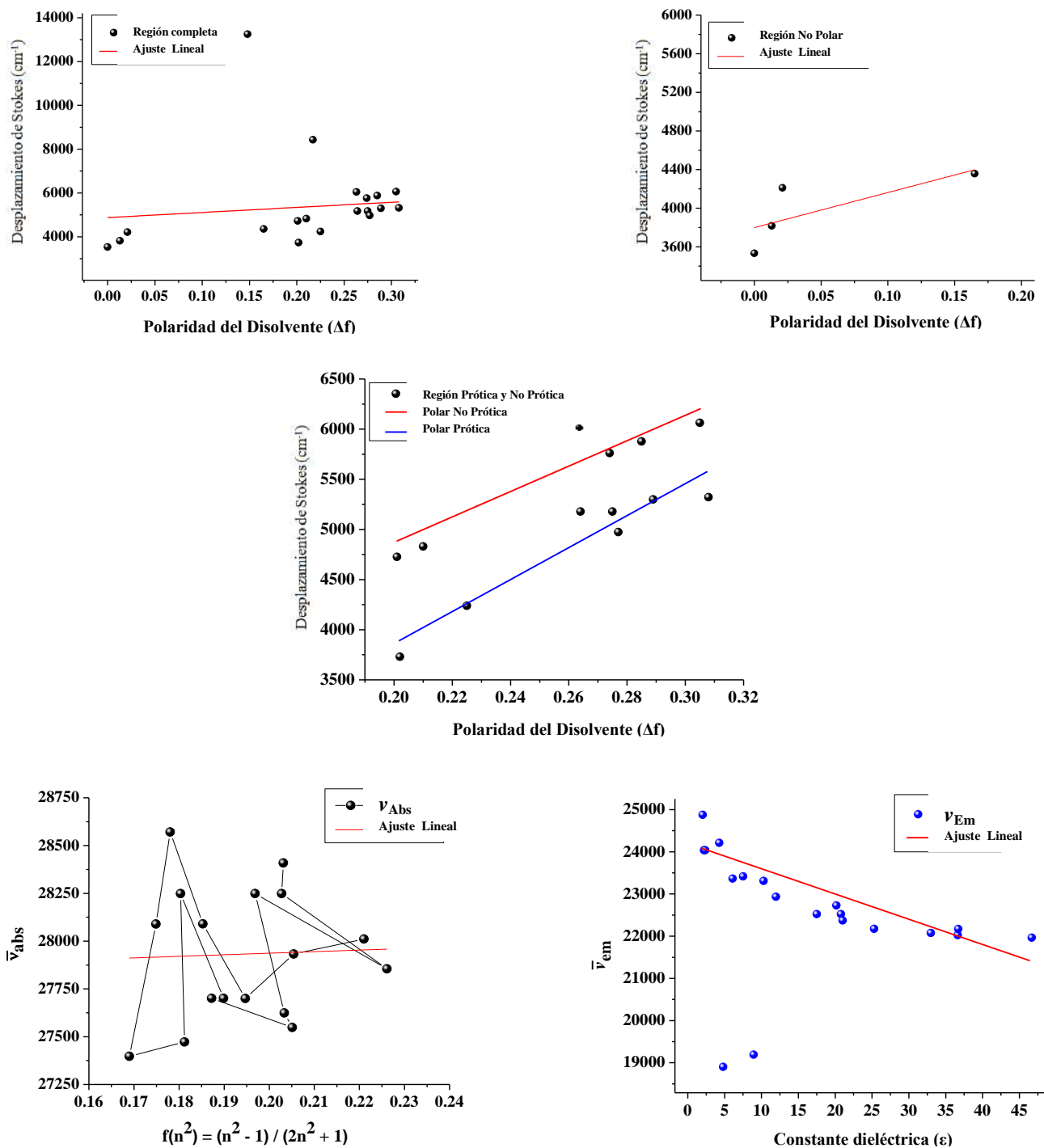


Figura 2.8 Gráficos de Lippert-Mataga para el compuesto **2a**.

Los parámetros {SA, SB, SP, SdP}, definidos en el capítulo 1, para cada disolvente se tomaron de la referencia 40. Los coeficientes de regresión  $y_0$ ,  $a_{SA}$ ,  $b_{SB}$ ,  $c_{SP}$  y  $d_{SdP}$ , así como los errores estándar y el coeficiente de correlación multilínea,  $r$ , obtenidos para **2a** se presentan en la Tabla 2.4 mientras que los valores con los que se realizaron las regresiones se listan en la Tabla 2.5. En el caso de  $\bar{\nu}_{ABS}$  se obtuvo un buen ajuste *multilínea* de 0.919. Debido a la fuerte dependencia de la fluorescencia (particularmente la energía de emisión) con la transferencia de protones promovida por el cloroformo y diclorometano, estos dos disolventes se excluyeron sólo para el análisis de regresión multilínea.

**Tabla 2.4** Coeficientes  $y_0$ ,  $a_{SA}$ ,  $b_{SB}$ ,  $c_{SP}$  y  $d_{SdP}$  for  $\bar{\nu}_{abs}$ ,  $\bar{\nu}_{em}$ , estimados y  $\Delta\bar{\nu}$  (en  $\text{cm}^{-1}$ ) así como coeficientes de correlación múltiple ( $r$ ) obtenidos para **2a** en 16 disolventes de acuerdo a los parámetros empíricos de Catalán {SA, SB, SP, SdP} listados en la **Tabla 2.4**.

Observable	$y_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$a_{SA}$	$b_{SB}$	$c_{SP}$	$d_{SdP}$	$r$
$\bar{\nu}_{abs}$	$29464 \pm 513$	$-1728 \pm 277$	$39 \pm 218$	$-1723 \pm 723$	$-133 \pm 155$	0.919
$\bar{\nu}_{em}$	$25892 \pm 613$	$-1292 \pm 331$	$235 \pm 260$	$-1438 \pm 864$	$-2837 \pm 186$	0.984
$\Delta\bar{\nu}$	$3571 \pm 679$	$-435 \pm 367$	$-195 \pm 289$	$-285 \pm 958$	$2704 \pm 206$	0.973

**Tabla 2.5** Parámetros empíricos de disolvente de Catalán, {SA, SB, SP, SdP}.<sup>40</sup>

	SP	SdP	SA	SB	Absorción	Emisión	D. Stokes ( $\text{cm}^{-1}$ )
<b>Ciclohexano</b>	0.683	0.0	0.0	0.073	28409.091	24875.622	3533.469
<b>Dioxano</b>	0.737	0.312	0.0	0.444	28248.587	24038.461	4210.126
<b>Tolueno</b>	0.782	0.284	0.0	0.128	27855.153	24038.461	3816.692
<b>Éter etílico</b>	0.617	0.385	0.0	0.562	28571.133	24213.013	4358.164
<b>Acetato de etilo</b>	0.656	0.603	0.0	0.542	28089.972	23264.201	4725.984
<b>THF</b>	0.714	0.634	0.0	0.591	28248.587	23419.203	4829.383
<b>n-Octanol</b>	0.713	0.454	0.299	0.923	27548.209	23310.023	4238.186
<b>n-Butanol</b>	0.674	0.655	0.341	0.809	27700.115	22521.980	5178.154
<b>2-Propanol</b>	0.633	0.808	0.283	0.830	27700.831	22727.272	4973.558
<b>1-Propanol</b>	0.658	0.748	0.367	0.782	27700.831	22522.522	5178.308
<b>Acetona</b>	0.651	0.907	0.0	0.475	28248.587	22371.364	5877.223
<b>EtOH</b>	0.633	0.783	0.4	0.658	27472.527	22172.949	5299.578
<b>MeOH</b>	0.608	0.904	0.605	0.545	27397.260	22075.055	5322.205
<b>ACN</b>	0.645	0.974	0.044	0.286	28089.887	22026.431	6063.456
<b>DMF</b>	0.759	0.977	0.031	0.613	27932.979	22172.048	5760.996
<b>DMSO</b>	0.830	1.0	0.072	0.647	28011.018	21965.110	6046.078

El análisis de Catalán indica que los principales factores que contribuyen a los cambios solvatocrómicos en  $\bar{\nu}_{\text{ABS}}$  son la acidez y la polarizabilidad del disolvente, ya que los valores de los coeficientes  $a_{\text{SA}}$  y  $c_{\text{SP}}$  son relativamente grandes y tienen los errores estándar menores. En particular, el análisis de los datos indica que la acidez del disolvente es el efecto dominante, lo que demuestra tener un efecto acidocrómico-fluorescente. Sin embargo, el parámetro SP (polarizabilidad) es de hecho un factor que también influye debido a que la regresión multilineal obtenida cuando no se considera SP da un valor de  $r$  más bajo de 0.874 con las variables {SA, SB, SDP}. Por otro lado, el valor  $r$  aumenta cuando el factor SP se considera ( $r = 0.913$ ), indicando que el factor de la polarizabilidad del disolvente no debe ser despreciado. Por otro lado, también se observó una pobre correlación *lineal* de 0.78 entre la constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) y  $\bar{\nu}_{\text{em}}$ , comprobando que existen efectos específicos del medio (Figura 2.8), lo cual también está de acuerdo con el carácter “*push-pull*” de la molécula.

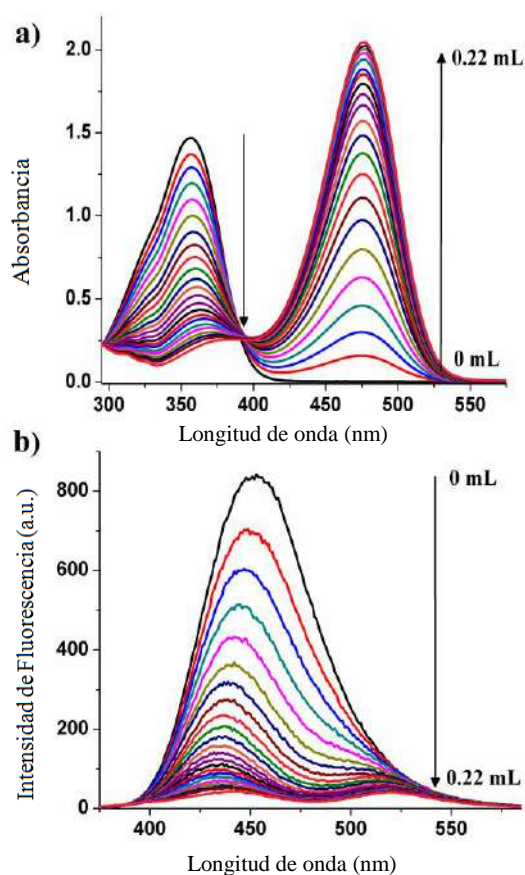
Además, la relación de  $\bar{\nu}_{\text{abs}}$  contra la función de polarizabilidad de alta frecuencia al cuadrado,  $f(n^2) = (n^2 - 1) / (2n^2 + 1)$  en **2a** es una prueba más (Figura 2.8) de una tendencia no lineal ( $r = 0.064$ ) que indica una gran diferencia entre los momentos dipolares entre los estados excitado y basal ( $\Delta\mu$ ).

En el caso de  $\bar{\nu}_{\text{em}}$  y  $\Delta\bar{\nu}$  los valores más grandes también resultaron ser  $a_{\text{SA}}$ ,  $c_{\text{SP}}$  y  $d_{\text{SDP}}$  acompañados con los errores estándar más pequeños como en el caso de  $\bar{\nu}_{\text{abs}}$ , lo que indica que el factor predominante que influye en el efecto solvatocrómico para  $\bar{\nu}_{\text{em}}$  y  $\Delta\bar{\nu}$  es la acidez del disolvente, aunque la polarizabilidad y dipolaridad nuevamente no se pueden despreciar. Además, la relación entre  $\bar{\nu}_{\text{em}}$  vs  $f(n^2) = (n^2 - 1) / (2n^2 + 1)$ , también muestra una clara tendencia no lineal ( $r = 0.029$ ) que corrobora la existencia de un valor de  $\Delta\mu$  grande.

#### **2.2.4 Propiedades acidocrómicas de 2a**

Puesto que el análisis de Catalán para **2a** reveló que la acidez del disolvente es el parámetro más importante que influye en las propiedades espectroscópicas en disolución, la sensibilidad de esta base de Schiff a la acidez del medio se evaluó mediante una titulación en disolución de acetonitrilo, con una disolución de ácido acético : acetonitrilo (99 : 1, v/v).

Los espectros de absorción obtenidos mediante dicha titulación (Figura 2.9a) muestran que a medida que la acidez aumenta, la curva exhibe un punto isobéptico donde por un lado se forma una banda desplazada al rojo a 475 nm mientras que la intensidad de la banda de absorción en 356 nm disminuye. Esta nueva banda corresponde con la observada en cloroformo, DCM, MeOH y Ph-PrOH y de manera importante, también corresponde con la banda formada con el experimento de irradiación UV-Vis en película delgada. Además, al igual que para los experimentos de fotocromismo y solvotocromismo, este experimento de titulación también se investigó mediante el uso de espectroscopía de fluorescencia.



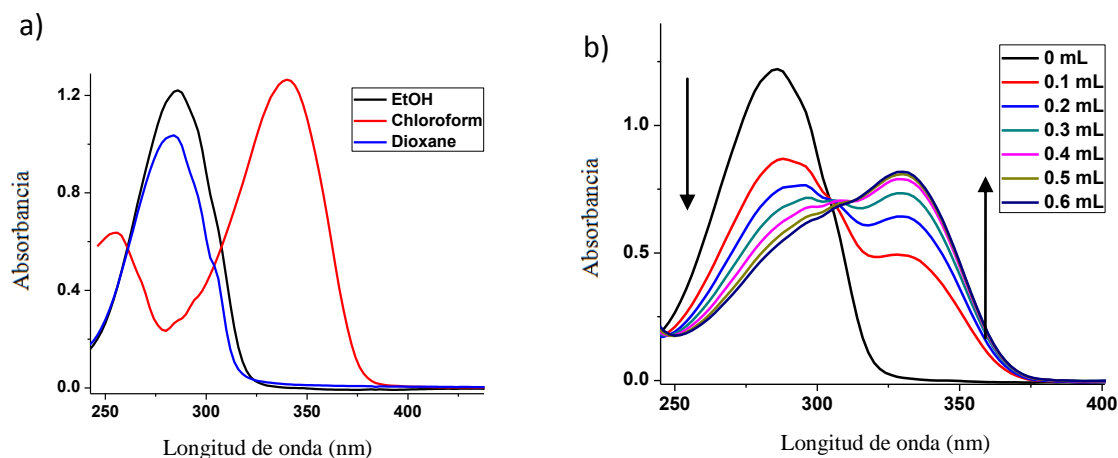
**Figura 2.9** Espectros de absorción y fluorescencia obtenidos por titulación con ácido acético:ACN (1:99, v/v)

El espectro de emisión de fluorescencia (Figura 2.9b) muestra que un aumento gradual en la acidez promueve la extinción de la fluorescencia de **2a**. De esta manera, una explicación razonable de estos resultados (interacciones supramoleculares y empaquetamiento en el

estado cristalino, fotocromismo en el estado sólido, solvatochromismo y acidocromismo) es evidentemente la protonación del átomo de nitrógeno de la imina. (*Nota:* La protonación del grupo  $N(Me)_2$  a bajas concentraciones de ácido se descarta debido a la menor basicidad y el carácter *quinoide* de este fragmento).

### 2.2.5 Efecto del grupo $N(Me)_2$ en **2a**

Para confirmar la existencia del nitrógeno imínico protonado y el efecto del grupo  $N(Me)_2$ , se sintetizó el compuesto **3** que es el análogo al compuesto **2a** pero sin el grupo  $N(Me)_2$ . Los resultados obtenidos al llevar a cabo la misma serie de experimentos realizados para **2a** muestran que **3** no tiene un comportamiento solvatoacrómico cuando los espectros se determinaron en dioxano (284 nm) y etanol (285 nm). En contraste, en cloroformo la imina protonada muestra una nueva banda desplazada al rojo en 341 nm, similar a la observada en **2a** (Figura 2.10a). Asimismo, se realizó el experimento de titulación en ácido acético para **3** en etanol mediante la adición de la misma disolución de ácido acético mencionada anteriormente observándose de nuevo un punto isobéptico debido a las especies protonada y no protonada, Figura 2.10b.



**Figura 2.10** Espectros de absorción UV-Vis de la molécula **3** en a) Etanol, cloroformo y dioxano; b) en ácido acético : ACN (1 : 99, v/v).



Este resultado apoya la idea de que la transferencia de protón está acoplada a la transferencia intramolecular de carga puesto que cuando se remueve el grupo dimetilamino y por lo tanto la transferencia de carga es considerablemente menor, la basicidad del nitrógeno imínico se ve disminuida fuertemente, con lo que el proceso fotocromico también está altamente desfavorecido. Así, la banda desplazada al rojo para **2a** es debida a la especie conteniendo el grupo imino protonado y no es posible observarla en medios ácidos relativamente débiles.

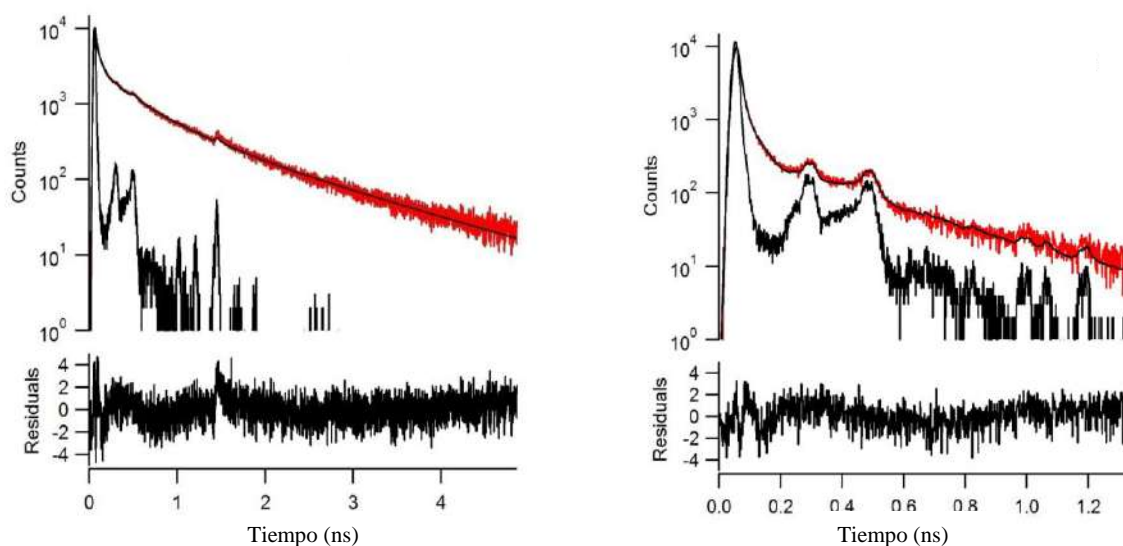
### **2.2.6 Medición del proceso ESIPT por fluorescencia resuelta en tiempo**

Los tiempos de vida de fluorescencia ( $\tau_F$ ) para el compuesto **2a** fueron medidos en metanol, acetonitrilo, nanopartículas en agua/triton-X tratadas por ablación láser y películas delgadas, con la finalidad de conocer el comportamiento en el estado excitado de dicha molécula. Para las muestras en disolución los espectros de absorción fueron tomados con la finalidad de confirmar una absorbancia en 0.15, concentración a la cual se trabajó. Por otro lado, con la excepción de las películas delgadas irradiadas previamente a 365 nm donde no se observó fluorescencia, en los demás experimentos las cuentas fotónicas disminuyeron en un 20% en un lapso de un minuto durante el experimento.

Las curvas de decaimiento fueron ajustadas a un patrón de decaimiento multiexponencial con buenos factores de corrección local ( $\chi^2$ ) en el caso de las películas delgadas y factores relativamente pobres para las mediciones en disolución, lo cual se debe a que en el decaimiento multiexponencial la componente rápida (picosegundos) contribuyó en un 99 %, comparado con un 1 % de la componente lenta (ns). Sin embargo, este resultado apoya la hipótesis de que en el estado excitado existe un proceso de transferencia de protón, ya que conforme aumenta la capacidad de protonación del disolvente, el valor de  $\tau_F$  disminuye. Los valores de tiempo resuelto obtenidos se presentan en la Tabla 2.6, mientras que las curvas de decaimiento en películas delgadas se presentan en la Figura 2.11.

**Tabla 2.6** Datos de fluorescencia de tiempo resuelto para **2a**.

Compuesto <b>2a</b> en:	Condiciones	$\tau_F$ ( $\chi^2$ )
Metanol	Pulso 02; slit de 1.2 mm; sin filtro; hasta una ventana espectral de 3.75 ns; excitando a 375 nm.	0.013 ns (3.78163)
Acetonitrilo	Pulso 01; slit de 1.2 mm; sin filtro; hasta una ventana espectral de 3.75 ns; excitando a 450 nm.	0.042 ns (2.7856)
Nanopartículas H <sub>2</sub> O/Triton-X	Pulso 03; slit de 1.2 mm; sin filtro; hasta una ventana espectral de 3.75 ns; excitando a 450 nm.	0.089 ns (3.79395)
Película no-irradiada	Pulso 04; slit de 0.15 mm; con un filtro de 385 nm; hasta una ventana espectral de 6.25 ns; excitando a 450 nm.	0.18 ns (1.18203)
Película irradiada	Pulso 5; slit de 0.30 mm; con un filtro de 385 nm; hasta una ventana espectral de 5 ns; excitando a 450 nm.	-----



**Figura 2.11** Decaimientos de fluorescencia con ajuste multiexponencial y señales residuales de **2a** en película delgada,  $\lambda_{ex} = 450$  nm.

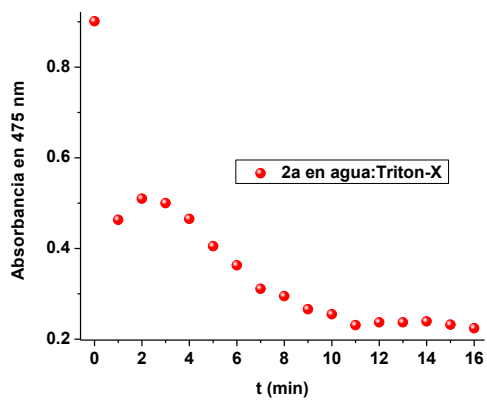
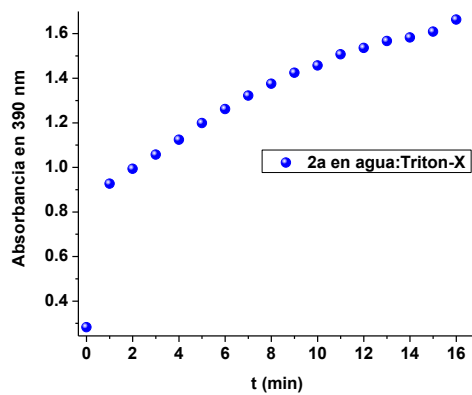
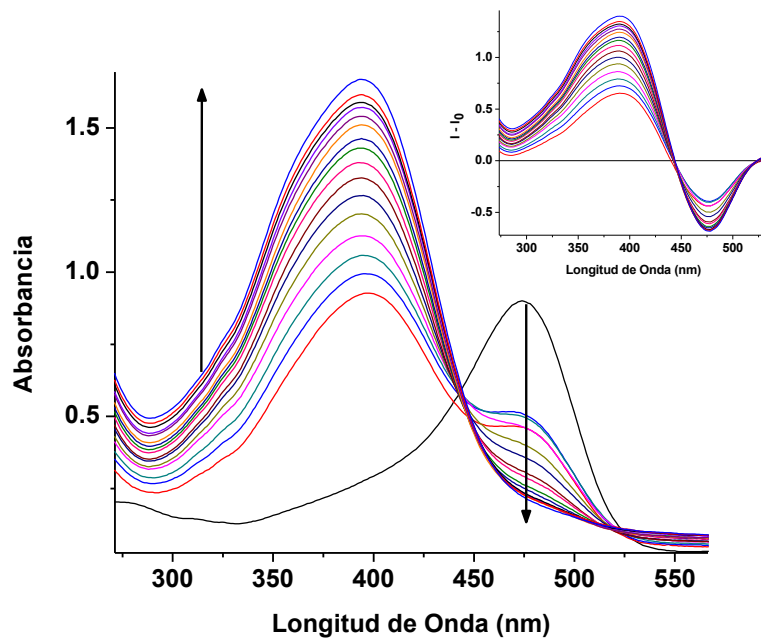
Como se puede apreciar en las mediciones obtenidas en película delgada no irradiada (forma no protonada) se obtuvo un buen perfil de decaimiento que revela una rápida desactivación del orden de 0.18 ns. Cabe mencionar que los experimentos fueron realizados

en ausencia de toda fuente de luz (en un cuarto láser aislado de luz) debido a que las películas delgadas presentaban cambios de coloración en presencia de medios luminosos, lo que generaba una disminución en las cuentas fotónicas al ir perdiendo fluorescencia.

Por otro lado, comparando los valores obtenidos, se observa que en disolución el valor de  $\tau_F$  cambia de 0.013 ns en metanol a 0.042 ns en acetonitrilo, lo cual comprueba que la habilidad donadora de enlaces de hidrógeno del disolvente tiene un efecto marcado en las propiedades fotofísicas de **2a**. Sin embargo, cuando se llevó a cabo la medición en nanopartículas preparadas en agua/triton-X, se obtuvo un valor de  $\tau_F$  de 0.089 ns, lo cual implica que la capacidad de protonación de la molécula **2a** en este medio se reduce considerablemente.

Como es de suponer, la formación de nanopartículas (NPs) genera una modificación en el arreglo molecular que podría impedir la protonación del nitrógeno imínico, sin embargo, resulta interesante estudiar el grado de modificación de la protonación de **2a** cuando se forman las NPs. Por lo tanto, se continuó con el estudio de las propiedades fotofísicas de **2a** en NPs con la finalidad de obtener información experimental que de evidencia de la pérdida de protonabilidad de la molécula durante la formación de las NPs, para ello se obtuvieron los espectros de absorción antes y durante 18 intervalos de ablación láser de 50 segundos.

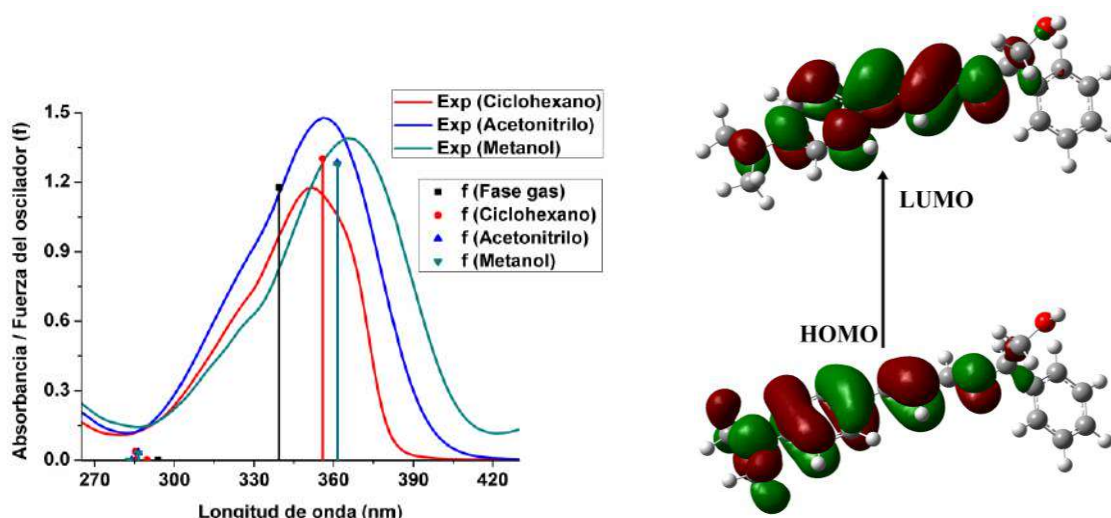
De manera interesante, se observó un proceso opuesto al fotocromico, donde la banda en 475 nm proveniente de la imina protonada fue disminuyendo conforme aumentaba el periodo de ablación, asimismo se observó la formación de la banda alrededor de 390 nm, Figura 2.12. Lo anterior confirma que la formación de NPs no sólo dificulta las interacciones de hidrógeno sino que inhibe drásticamente la capacidad de protonación de **2a**, como se logró establecer mediante los datos obtenidos por fluorescencia resuelta en tiempo.



**Figura 2.12** Espectros de absorción UV-Vis de NPs de **2a** tomados después de 50 s de ablación láser por 18 periodos (Arriba). Perfiles de cambio de absorbancia obtenidos a 390 nm (Abajo-Izquierda) y a 475 nm (Abajo-Derecha).

## 2.2.7 Cálculos Computacionales

Las estructuras optimizadas y los orbitales moleculares frontera (FMOs) para el compuesto **2a** obtenidos por un análisis teórico se ilustran en la Figura 2.13. El análisis de la geometría optimizada con un nivel de teoría B3LYP/6-31G(d), usando el modelo continuo polarizable (PCM),<sup>68</sup> implementado en el código Gaussian03,<sup>69</sup> indica que la geometría es similar a la obtenida por análisis de difracción de rayos X. Asimismo, la Figura 2.13 muestra un comparativo entre los espectros de absorción electrónica experimentales y la fuerza del oscilador calculado para **2a**. La Tabla 2.7 presenta la contribución de las transiciones electrónicas principales en los espectros de absorción teóricos para este compuesto en fase gas, ciclohexano, acetonitrilo y metanol obtenido por TD-DFT/PCM. La banda principal de absorción se puede atribuir a una transición electrónica  $\pi \rightarrow \pi^*$  con una contribución principal de los niveles HOMO-LUMO donde el nivel HOMO se encuentra predominantemente en la fracción dimetilamino-cinamaldimina, mientras que el nivel LUMO está localizado en el grupo cinamaldimina, dando un carácter de transferencia intramolecular de carga (ICT) a la molécula.



**Figura 2.13** Espectro de absorción y su correspondiente fuerza del oscilador para **2a** en diferentes disolventes.

Otra prueba de la ICT proviene del comportamiento solvatocrómico observado en los espectros de emisión de **2a**, que presenta un fuerte desplazamiento batocrómico cuando se incrementa la polaridad del disolvente. Teniendo en cuenta la interacción de enlace de

hidrógeno observado en el arreglo cristalino y los experimentos en disolución, también se calculó teóricamente el compuesto **2a** protonado en el nitrógeno imínico (C=N<sup>+</sup>-H) observando un desplazamiento hacia el rojo de aproximadamente 67 nm sin un cambio significativo en el valor de fuerza del oscilador, por lo que se propone que el comportamiento fotocromico se podría atribuir a la formación de una especie de carácter *quinoide* ocasionado por la protonación que permite una conjugación- $\pi$  totalmente extendida a través del sistema cromofórico.

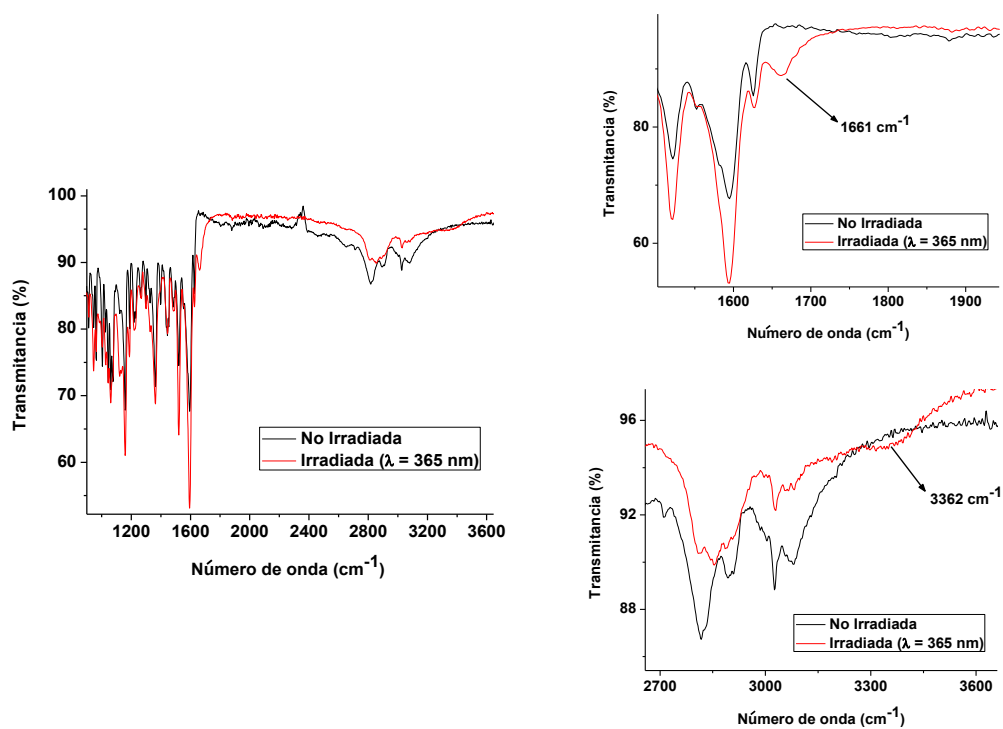
**Tabla 2.7** Longitudes de onda calculadas para **2a** y contribución HOMO-LUMO en la transición electrónica.

Longitud de onda teórica (nm)	Medio	Fuerza del Oscilador	Contribución (%)
339	Fase gas	1.1805	40
355	Ciclohexano	1.3053	41
361	Metanol	1.2811	41
361	Acetonitrilo	1.2869	41

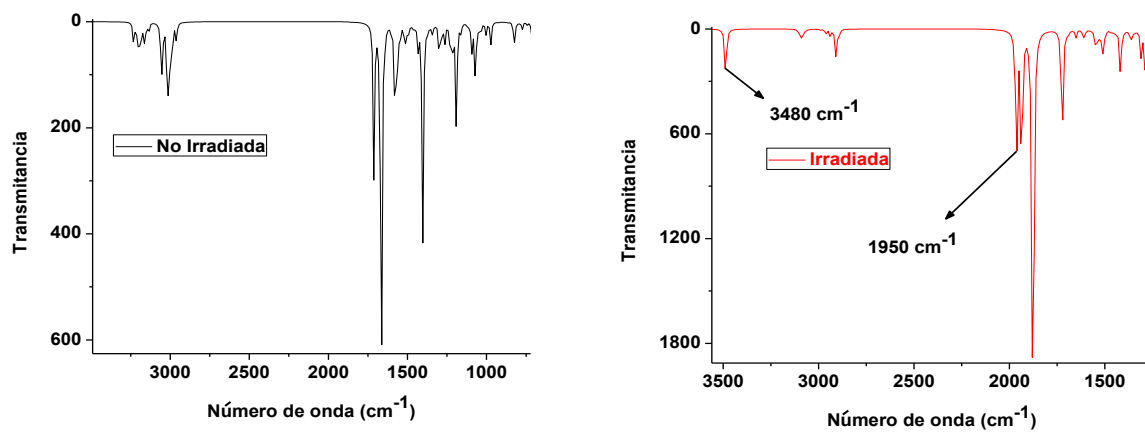
Adicionalmente, se calcularon los espectros de IR para las especies protonada y no protonada basado en un análisis de frecuencias de vibración con el mismo nivel de teoría (B3LYP/6-31G(d)). El espectro de la especie irradiada (protonada) muestra dos nuevas bandas en 3360 y 1660 cm<sup>-1</sup> que corresponden con el cambio experimental observado tras la irradiación ( $\lambda = 365$  nm), Figura 2.14. Estas bandas fueron asignadas al fragmento de la imina protonada (C=N<sup>+</sup>-H).

Finalmente, el estudio computacional permitió analizar y evaluar las propiedades de transferencia intramolecular de carga promovidas por excitación electrónica, el cual se presenta en el apartado de propiedades ionocromicas, discutido a continuación.

a)



b)



**Figura 2.14** Espectros infrarrojo de **2a**: a) no-irradiado e irradiado a 365 nm por 5 min; b) frecuencias vibracionales calculadas con DFT (B3LYP/6-31G(d)). *Nota:* El número de onda no fue ajustado por algún factor de corrección.

### 2.2.8 Propiedades ionocrómicas de **2a**

En general las bases de Schiff se han utilizado en muchas áreas de investigación tales como la optoelectrónica molecular, fotocromismo, en medicina y en detección óptica, por nombrar algunos ejemplos.<sup>70</sup> Como se mencionó en el capítulo 1, dentro de las bases de Schiff más utilizadas, las saliciliden-anilinas (SA) son las más estudiadas en casi todos los campos mencionados arriba.<sup>71</sup> No obstante, una base de Schiff que no presente esta interacción de enlace de hidrógeno intramolecular sigue teniendo la posibilidad de mostrar preferencia como ligante de cationes.

Así, se decidió estudiar la actividad ionocrómica del compuesto **2a** como sensor fluorescente y colorimétrico de  $\text{Hg}^{2+}$ . En cuanto al  $\text{Hg}^{2+}$ , se sabe que es un metal altamente tóxico y podría ser liberado en el aire, agua, alimentos y así ser introducido en los animales y el cuerpo humano. El mercurio no es vital en algún equilibrio homeostático en los seres humanos y es uno de los metales pesados más peligrosos cuando se acumula con el tiempo en el cuerpo humano, causando daños irreversibles, principalmente en el hígado, riñones y también en el sistema nervioso.<sup>72</sup> Además, la detección de iones metálicos espectroscópicamente “silenciosos” es deseable, ya que estos metales no suelen mostrar respuestas espectroscópicas ni magnéticas dada su configuración electrónica  $5d^{10}6s^0$ .<sup>73</sup> En efecto, se demostró que **2a** presenta una alta selectividad hacia este ion metálico, como lo demuestran los experimentos de competencia con otros iones metálicos.

El compuesto **2a** contiene el grupo 4-dimetilamino-cinamaldimina como cromóforo-fluoróforo y el fragmento de fenilglicinol como sitio de coordinación. La respuesta de absorción y fluorescencia de **2a** con las sales de acetato de  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  y  $\text{Ba}^{2+}$  se llevaron a cabo en metanol y agua : metanol (50 : 50, v/v) para  $\text{Hg}^{2+}$ . La Figura 2.15a muestra los espectros de absorción y de fluorescencia obtenidos con la adición de una disolución de  $\text{Hg}^{2+}$  agua : metanol (50: 50, v/v, 6  $\mu\text{L}$ , 10 mM) al compuesto **2a** en agua : metanol (50: 50, v/v, 3 mL, 10 mM).

Las disoluciones Stock ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) de los iones metálicos y ( $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) de **2a** se prepararon en una disolución metanol : agua (50 : 50, v/v). Las respuestas de absorción y



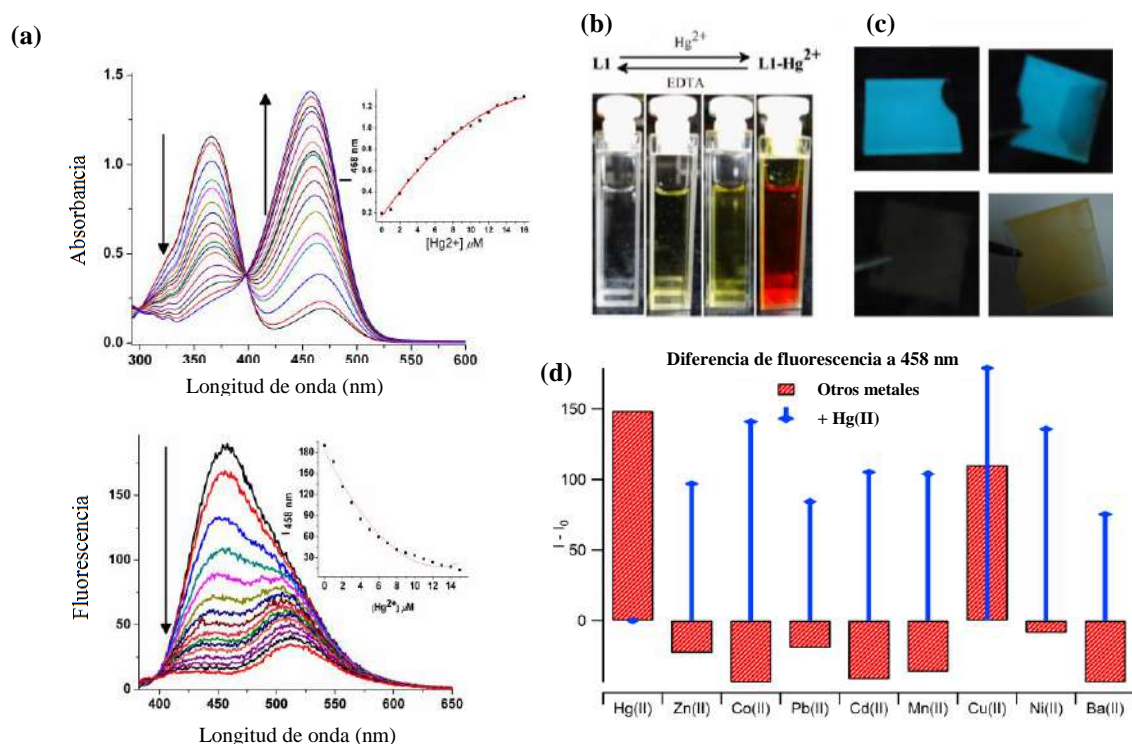
de fluorescencia se estudiaron mediante el aumento de la concentración de las sales metálicas en presencia de **2a**. Curiosamente, el compuesto **2a** exhibe un punto isobéptico (a 398 nm) en los espectros de absorción con la adición de  $\text{Hg}^{2+}$  que indica un equilibrio entre dos estructuras, las especies no coordinada y la coordinada, ya que la banda desplazada al azul alrededor de 365 nm disminuyó su intensidad mientras que la banda desplazada al rojo alrededor de 455 nm fue aumentando en intensidad. Por ello se propone que la banda desplazada al azul corresponde al receptor libre y la banda desplazada al rojo, que inicialmente se encuentra presente en metanol pero no en acetonitrilo (ver Fig. 2.12a), corresponde a la especie unida a  $\text{Hg}^{2+}$ .

El comportamiento de fluorescencia se estudió mediante el aumento de la cantidad de los iones metálicos. Los espectros de fluorescencia registrados en metanol excitando a 365 nm se muestran en la Figura 2.15a. Una vez más, cuando se tituló **2a** con  $\text{Hg}^{2+}$  se observó que la fluorescencia se redujo hasta extinguirse prácticamente, revelando una alta selectividad hacia este metal, de acuerdo a los experimentos de competencia mencionados. La respuesta de fluorescencia vs la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$  dio un ajuste de  $r = 0.994$ . Por otra parte, la adición de  $\text{Hg}^{2+}$  produjo un cambio de color en la disolución diluida que pasa desde una disolución incolora (0 eq) a amarilla (1-5 eq) y finalmente a una roja (10 eq) fácilmente detectable por simple inspección visual, Figura 2.15b.

Además, se utilizaron películas cristalinas delgadas de **2a**.<sup>74</sup> Con estas películas se observó que la luminiscencia fue cambiando de azul turquesa a un compuesto no-luminiscente cuando la película se sumergió en una disolución 100% acuosa de  $\text{Hg}^{2+}$  a una concentración de  $1 \times 10^{-5}$  M. Al mismo tiempo, en el visible se observó un cambio de color de blanco, antes de sumergir la película a amarillo después de sumergirla. Por otro lado, no se observó ningún cambio significativo para las disoluciones acuosas de los otros metales, la Figura 2.15c muestra los experimentos para  $\text{Hg}^{2+}$ .

Para el resto de las sales de metales (excepto para  $\text{Cu}^{2+}$ , ver más abajo) los espectros de fluorescencia mostraron sólo un ligero aumento. Con el fin de confirmar la selectividad hacia  $\text{Hg}^{2+}$ , se realizaron experimentos de competencia para todos los metales. Estos experimentos se llevaron a cabo adicionando 8 equivalentes de la disolución agua : metanol

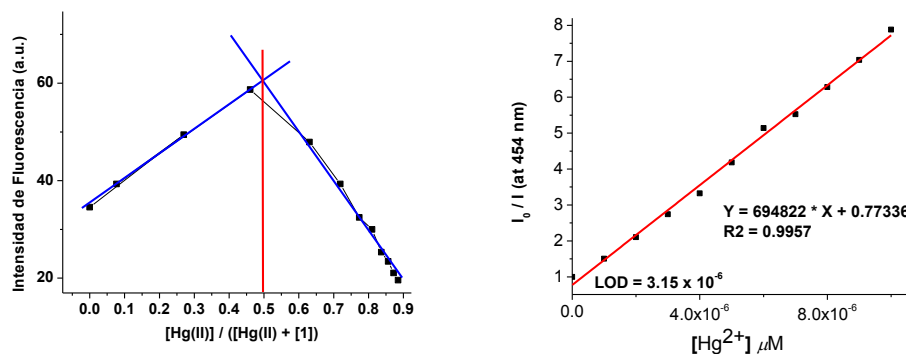
de  $\text{Hg}^{2+}$  después de saturar previamente con un exceso de 100% en moles de cada uno de los otros metales en disoluciones separadas. La variación resultante de la intensidad de fluorescencia se ilustra en la Figura 2.15d, observándose ligeras variaciones comparando con el obtenido titulando sólo  $\text{Hg}^{2+}$ .



**Figura 2.15** (a) Espectros de Absorción y Fluorescencia de **2a** ( $1 \times 10^{-5}$  M) obtenidos por incremento de la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$ . (b) Cambio de color con la adición de 0, 1, 3 y 10 equivalentes de  $\text{Hg}^{2+}$ . (c) Películas delgadas de **2a** antes (izquierda) y después (derecha) de sumergirla parcialmente en una disolución acuosa de  $\text{Hg}^{2+}$  ( $1 \times 10^{-5}$  M), las fotografías muestran las películas bajo la lámpara UV-Vis (arriba) y bajo luz visible (abajo). (d) Diagrama de barras obtenido con los experimentos de competencia con otros iones metálicos.

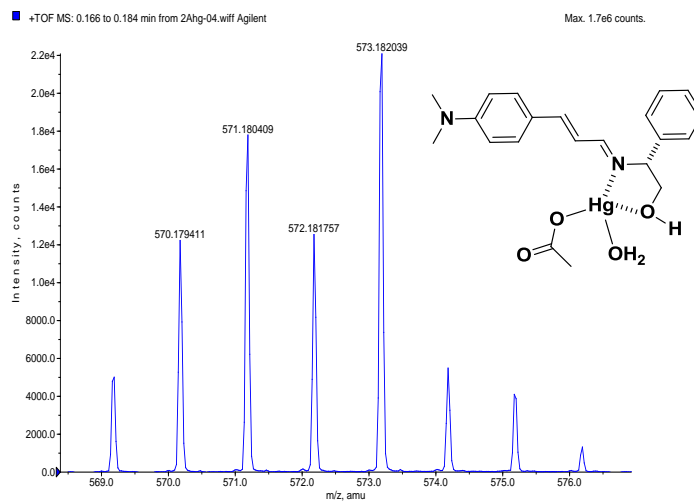
La estequiometría de la asociación **2a**- $\text{Hg}^{2+}$  se investigó mediante el método de variación continua (Figura 2.16), donde el punto de inflexión en el gráfico de Job localizado en 0.5 indicó un complejo 1:1. Más aún, a partir de los perfiles de fluorescencia obtenidos en agua : metanol (50 : 50, v/v), se determinó una constante de enlace para el complejo **2a**- $\text{Hg}^{2+}$  de  $6.94 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  por medio de un gráfico de Stern-Volmer, (Figura 2.16). El límite de detección de **2a** obtenido fue de  $3.15 \times 10^{-6}$  M basado en la desviación estándar relativa y el

ajuste lineal para el cambio de intensidad de fluorescencia frente a la concentración de  $\text{Hg}^{2+}$ .



**Figura 2.16** Gráfico de Job (izquierda) y de Stern-Volmer (derecha) para **2a** en agua : metanol (50 : 50 , v/v).

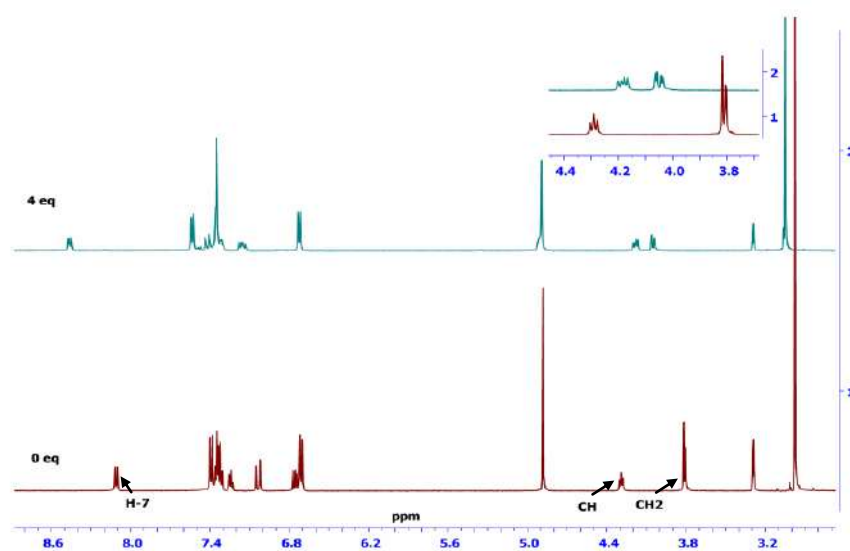
Además, para confirmar la estequiometría 1:1 se utilizó espectrometría de masas de alta resolución por tiempo de vuelo utilizando electrospray como método de ionización, Figura 2.17. Cuando se añadió un equivalente de  $\text{Hg}^{2+}$  a la disolución de **2a**, se observó un nuevo pico en 573.1820 el cual corresponde al ion  $[\mathbf{2a}\text{-Hg}^{2+}\text{-CH}_3\text{COO}\text{-H}_2\text{O}\text{-H}]^+$ .



**Figura 2.17** Espectro de masas que muestra el ion  $[\mathbf{2a}\text{-Hg}^{2+}\text{-CH}_3\text{CO}_2\text{-H}_2\text{O}\text{-H}]^+$ .

Asimismo, se utilizó resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$  para estudiar el sitio de reconocimiento de **2a** con  $\text{Hg}^{2+}$ . La Figura 2.18 muestra los desplazamientos espectrales observados por la adición de 4 equivalentes de  $\text{Hg}^{2+}$ . Se puede observar que el protón del

carbono imínico se desplazó 0.35 ppm a frecuencias altas, lo que sugiere que el nitrógeno de la imina está implicado en la coordinación mediante el uso de su par de electrones disponibles. Además, después de la adición de  $\text{Hg}^{2+}$ , se observó claramente que el sistema *ABX* para los hidrógenos del grupo metileno ( $\text{CH}_2$ ) y el protón del carbono estereogénico se desplazaron a frecuencias altas y bajas respectivamente, debido a la rigidez conferida por la coordinación con  $\text{Hg}^{2+}$ .

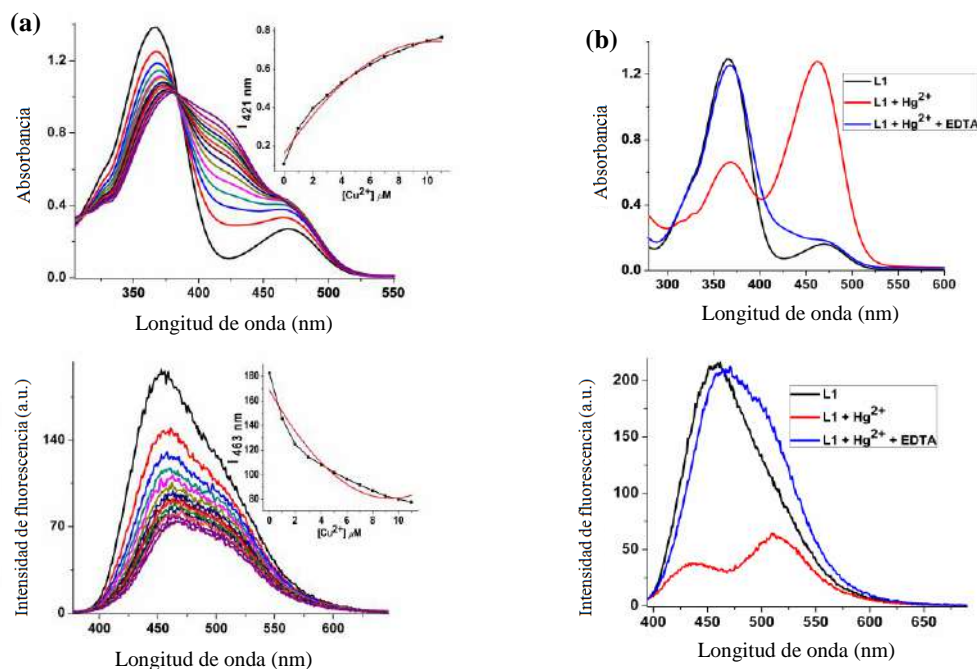


**Figura 2.18** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a** libre (abajo, 1) y con la adición de 4 equivalentes de  $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$  (arriba, 2) en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

El resultado obtenido mediante RMN demuestra que el ión  $\text{Hg}^{2+}$  se enlaza tanto al átomo de oxígeno como al de nitrógeno de **2a**. Asimismo, se puede resaltar la importancia del centro estereogénico en **2a**, el cual permite que la molécula tenga disponible al grupo hidroxílico fuera del plano conjugado, para que este ión metálico relativamente grande pueda unirse.

Como se mencionó anteriormente, en el caso de  $\text{Cu}^{2+}$  se observó un comportamiento diferente a los otros iones metálicos. La Figura 2.19 muestra la adición gradual de  $\text{Cu}^{2+}$  ( $3 \times 10^{-4}$  M) en metanol : agua (50 : 50, v/v) a **2a** ( $3 \times 10^{-5}$  M), que resulta en un punto isobéptico diferente (a 382 nm) y un ligero cambio de color a un color amarillo pálido indicando especies diferentes en equilibrio. La banda a 365 nm disminuyó gradualmente exhibiendo un ligero desplazamiento batocrómico, mientras que la banda a 455 nm presentó un ligero desplazamiento hipsocrómico. Aquí, es interesante observar la formación

de una nueva banda alrededor de 420 nm, lo que puede indicar la interacción de  $\text{Cu}^{2+}$  con el nitrógeno del grupo dimetilamino (DMA), que podría dar lugar a una transferencia de carga inducida por el metal (Metal Induced Charge Transfer, MICT).<sup>75</sup>



**Figura 2.19** Espectros de absorción y de fluorescencia de **2a** en presencia de (a) 0 – 11 equivalentes de  $\text{Cu}^{2+}$  y (b) 8 equivalentes de  $\text{Hg}^{2+}$  y posteriormente una cantidad equimolar de EDTA en MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  (50 : 50, v/v).

La Figura 2.19a muestra también que la fluorescencia disminuyó en menor medida que en la titulación con mercurio. Asimismo, se observó un desplazamiento hacia el rojo pasando de 453 nm a 467 nm, lo cual se puede atribuir a la formación de un complejo de cobre de transferencia de carga (CT).

Por otra parte, la reversibilidad en el proceso de detección óptica es un punto clave en el diseño de nuevos sensores moleculares, ya que ayuda a mejorar su aplicabilidad. Por ello, se examinó la reversibilidad del sensor a través de un experimento de titulación con EDTA, Figura 2.19b. La adición de la sal disódica de EDTA a una disolución del receptor **2a** y  $\text{Hg}^{2+}$  resultó en la recuperación de la señal de fluorescencia. Esto se debe a que la constante de enlace entre el  $\text{Hg}^{2+}$  y EDTA es  $6.3 \times 10^{21} \text{ M}^{-1}$ , mientras que la constante de enlace entre  $\text{Hg}^{2+}$  y **2a** es de  $6.94 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ . Además, también se observó el cambio de color de rojo a amarillo con el correspondiente retorno simultáneo en las bandas desplazadas al azul y al

rojo después de la adición de EDTA. Este hecho comprobó la factibilidad de reutilizar el sensor, lo cual lo hace interesante en aplicaciones para detectar  $\text{Hg}^{2+}$  en tiempo real, donde si existiese  $\text{Cu}^{2+}$  como ión de competencia, no generaría respuesta colorimétrica alguna.

Para analizar las transiciones electrónicas que dan lugar a las bandas de absorción UV-Vis y de fluorescencia se llevaron a cabo cálculos computacionales. Además de los cálculos previamente descritos, se calcularon los parámetros de excitaciones electrónicas utilizando TD-DFT. Primeramente, la Tabla 2.8 muestra la fuerza del oscilador de las transiciones verticales y sus correspondientes longitudes de onda para el proceso de absorción  $S_0 \rightarrow S_1$  y de fluorescencia  $S_1 \rightarrow S_0$  así como los valores de desplazamiento de Stokes para **2a**, obtenidos en metanol utilizando el Modelo Continuo Polarizable (PCM), implementado en Gaussian 03.

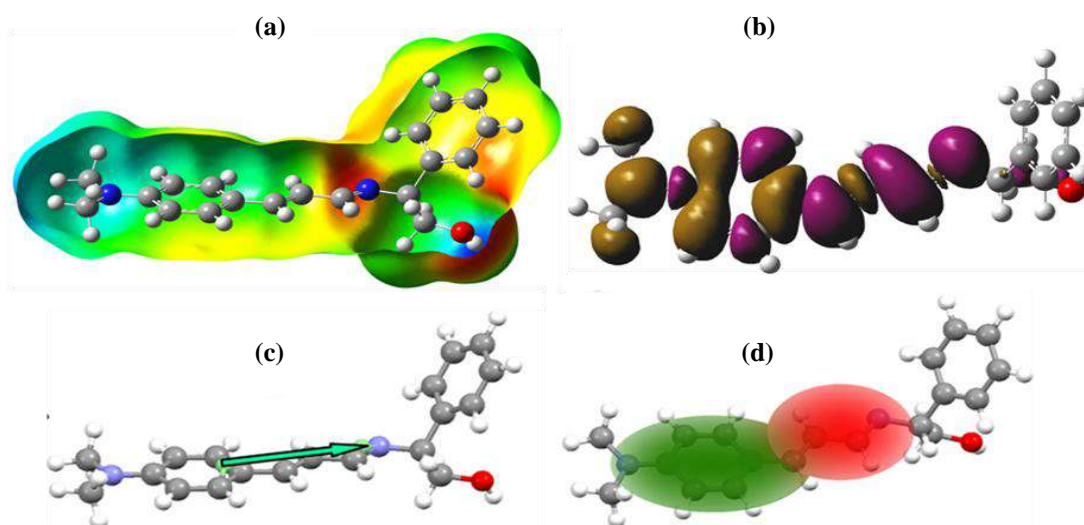
**Tabla 2.8** Valores de la transición electrónica para la absorción  $S_0 \rightarrow S_1$  y la fluorescencia  $S_1 \rightarrow S_0$  verticales, fuerza del oscilador (f) y desplazamiento de Stokes.<sup>a</sup>

	<i>Absorción</i>	<i>Fluorescencia</i>	<i>Desplazamiento de Stokes (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</i>
Experimental	366 nm	447 nm	5322
Calculado (f)	362 nm (1.2834)	389 nm (1.4951)	1920

<sup>a</sup> Los valores experimentales se obtuvieron en metanol:agua (50:50 v/v) y los valores calculados se obtuvieron en agua.

Los valores calculados para el proceso absorción reproducen bien la tendencia experimental, por lo tanto se puede concluir que en efecto el fragmento dimetilamino-cinamaldimina juega el papel más importante en las propiedades de absorción por medio de la transferencia de carga intramolecular debida a la presencia de un sistema D- $\pi$ -A, como se puede ver por la localización de los orbitales HOMO – LUMO, Figura 2.13. Para el cálculo de la fluorescencia, se obtuvo un valor desplazado al azul, algo relativamente común para este tipo de cálculo TD-DFT, cuando se utilizan funcionales híbridos y GGA.<sup>76</sup> Sin embargo, es importante subrayar que también es una consecuencia del fuerte cambio de la geometría en el estado excitado. Asimismo, como se puede apreciar en el mapa de potencial electrostático (Figura 2.20a), la distribución tridimensional de carga de la molécula muestra una variación considerable en las regiones donde existe una mayor distribución de carga en el nitrógeno del grupo imino, comparada con el nitrógeno del grupo dimetilamino (debido a

su carácter quinoide), resaltando una transferencia intramolecular de carga potencial y también una zona de reactividad localizada entre los grupos imina e hidroxilo. Así, dado que el papel del proceso de transferencia de carga intramolecular es de gran relevancia en el diseño de sensores ópticos, se analizó la naturaleza de la transferencia de carga en **2a**. Para ello se utilizó el funcional PBE0 para el cálculo de la geometría del estado fundamental y del primer estado excitado manteniendo el conjunto de bases en 6-31+G(d) y PCM-MeOH para las dos geometrías. Los parámetros de excitación de transferencia de carga se estudiaron mediante un índice de extensión espacial recientemente propuesto.<sup>77</sup> La fracción de electrones transferidos a partir de la des-excitación del estado excitado local (LE) fue de  $Q_{CT} = 0.56$  a una distancia espacial de  $D_{CT} = 4.72 \text{ \AA}$  del centroide donador al centroide aceptor. La Figura 2.20 muestra la representación gráfica de la  $D_{CT}$ , y los centroides de exceso de densidad electrónica  $C+(r)/C-(R)$  tal como se define en la referencia 77. El índice  $H$  definido como la media del eje entre los dos centroides de densidad electrónica es de  $3.94 \text{ \AA}$ , lo que resultó ser  $0.78 \text{ \AA}$  menor que la longitud de excitación CT. Esto significa que casi no hay traslape entre el centroide donador y el aceptor, lo que hace que el proceso de transferencia de carga sea eficiente.



**Figura 2.20** a) Cálculo (PBE0/6-31G(d)/PCM) del mapa de potencial electrostático de **2a**, b) Diferencia de densidad electrónica entre el primer estado excitado y el estado basal, c) Representación gráfica del parámetro  $D_{CT}$ , y d) centroides de densidad ( $C+(r)/C-(r)$ ), representando el exceso de densidad electrónica en el estado basal (verde) y el excitado (rojo).

## 2.3 Sensores moleculares fluorescentes de bases de Schiff derivados de salicilaldehído.

### 2.3.1 Base de Schiff derivada de dietilamino-salicilaldehído y (*R*)-fenilglicinol (**L1**).

Actualmente existe una problemática interesante en relación a que la mayoría de los sensores moleculares fluorescentes para  $Zn^{2+}$  no son realmente específicos a dicho metal debido al problema de interferencia con  $Cu^{2+}$  y/o  $Cd^{2+}$ . Este problema resulta de importancia dado que en muestras reales de naturaleza biológica estos metales suelen estar presentes. A la fecha se han descrito una gran variedad de trabajos donde se establece dicha problemática, estudiándose además el mecanismo por el cual el  $Cu^{2+}$  apaga la señal de fluorescencia desactivando el reconocimiento de  $Zn^{2+}$ , e incluso se ha cuestionado si verdaderamente se han logrado avances prácticos en el campo de los sensores moleculares.<sup>78</sup> El  $Zn^{2+}$ , es el segundo ión metálico más abundante en el cuerpo humano,<sup>79</sup> y uno de las más comunes en ambientes naturales.<sup>80</sup> En los seres humanos, las plantas y los animales está implicado en muchos procesos fisiológicos para el crecimiento celular normal y la reproducción; también, se sabe que el zinc tiene propiedades antioxidantes y es esencial para el funcionamiento adecuado de más de 300 enzimas.<sup>81</sup>

Por ello, en este apartado del trabajo de tesis se encaminaron los esfuerzos al diseño de sensores de  $Zn^{2+}$  que no presenten interferencia con  $Cu^{2+}$  y con respuesta dual hacia aniones orgánicos y/o inorgánicos de interés. La síntesis de este sensor es relativamente sencilla y su costo económico es bajo lo cual representa una variable de diseño importante para sensores fluorescentes, Figura 2.26, compuesto **L1**. Es importante destacar que la selectividad de **L1** hacia  $Zn^{2+}$  en presencia de iones  $Cd^{2+}$ , un metal de transición con propiedades químicas muy similares, fue completamente superior. Por lo tanto, **L1** puede discriminar  $Cd^{2+}$  de  $Zn^{2+}$ , lo cual como se mencionó constituye una característica crucial para los sensores fluorescentes de  $Zn^{2+}$ .<sup>82</sup>

Otros experimentos mostraron que el complejo **L1**•**Zn** formado puede detectar tanto la presencia de iones  $Cu^{2+}$  que apagan la fluorescencia mediante la formación de un aducto



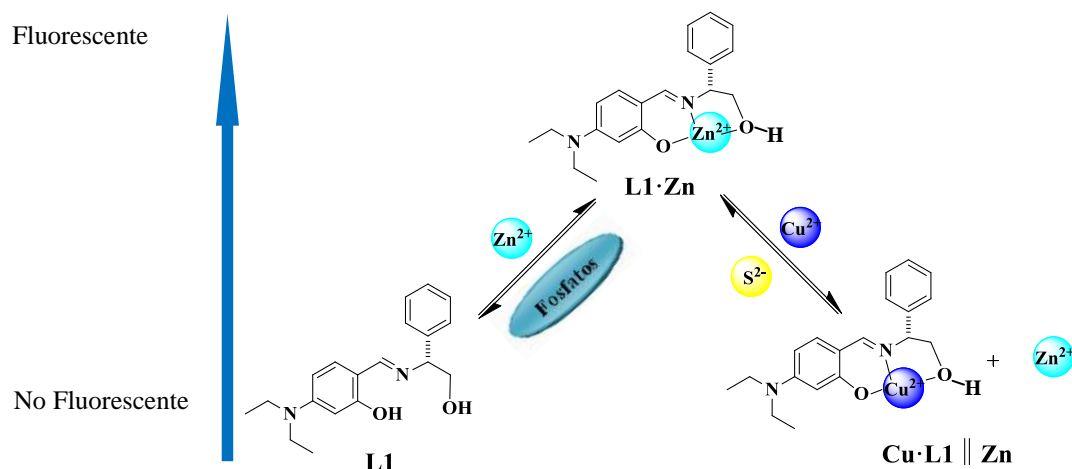


Figura 2.26. Esquematización de las propiedades del compuesto **L1**.

(**L1**·**Cu** || **Zn**), como el efecto del disolvente que muestra una fuerte variación del rendimiento cuántico de fluorescencia al cambiar la polaridad del medio. Además, las propiedades de reversibilidad y reciclabilidad de **L1** como sensor se exploraron mediante pruebas frente a diversos aniones midiendo la respuesta de fluorescencia. Curiosamente, la respuesta de **L1**·**Zn** se logra restaurar partiendo del complejo-aducto **L1**·**Cu** || **Zn** "apagado" con la adición de aniones  $S^{2-}$  mediante el mecanismo de *desplazamiento del metal* ( $Cu^{2+}$ ).<sup>83</sup> Además, **L1** puede ser restaurado partiendo de **L1**·**Zn** posterior a la adición de aniones fosfato ( $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  y ATP), con la pérdida correspondiente en la señal de fluorescencia (Figura 2.27).

Por otro lado, la reversibilidad en el proceso de reconocimiento de **L1** se estudió mediante la adición de diferentes aniones en disolución acuosa a una mezcla de metanol: agua (95 : 5, v/v) primeramente para el **L1**·**Cu** || **Zn** "apagado" y por otro lado para **L1**·**Zn** ("encendido"). En primer lugar, se estudió la influencia de  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $N_3^-$ ,  $HSO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $S^{2-}$ ,  $S_2O_3^{2-}$ ,  $SO_3^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$ , tartrato ( $C_4H_4O_6^{2-}$ ),  $HPO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$  y ATP. Resulta interesante que las propiedades de fluorescencia de **L1**·**Cu** || **Zn** solamente fueron restauradas mediante la adición de aniones  $S^{2-}$ , donde se evidenció un efecto de "apagado-encendido" ya que la intensidad de emisión se incrementó con la adición de  $S^{2-}$  hasta ser completamente restaurada, dando lugar a la formación de la única especie fluorescente **L1**·**Zn**.

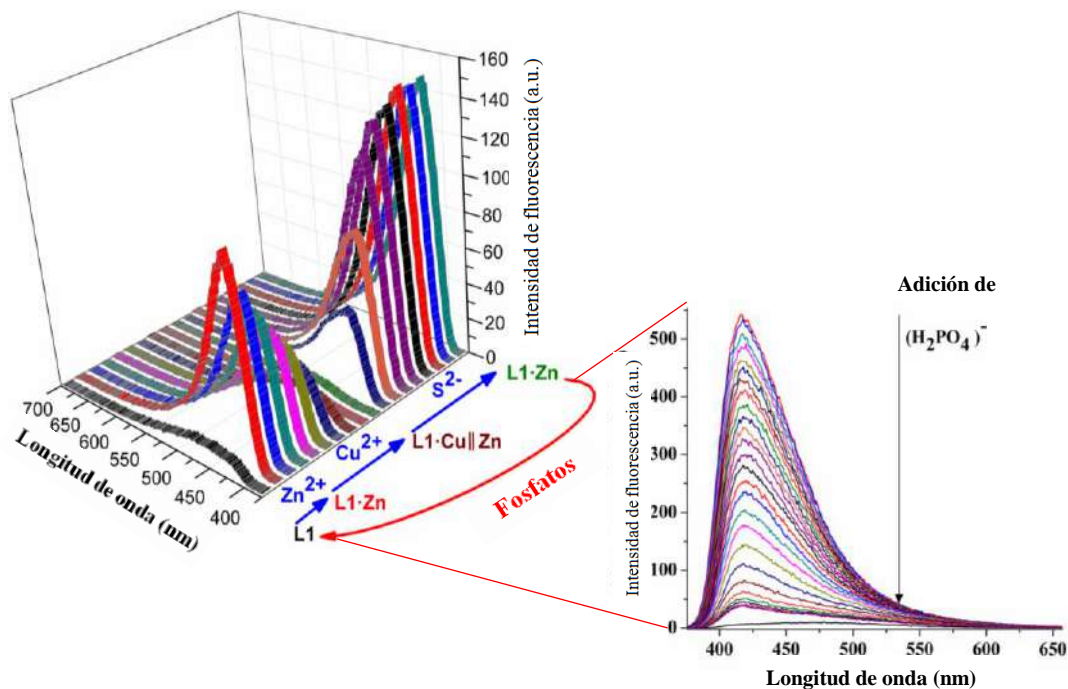
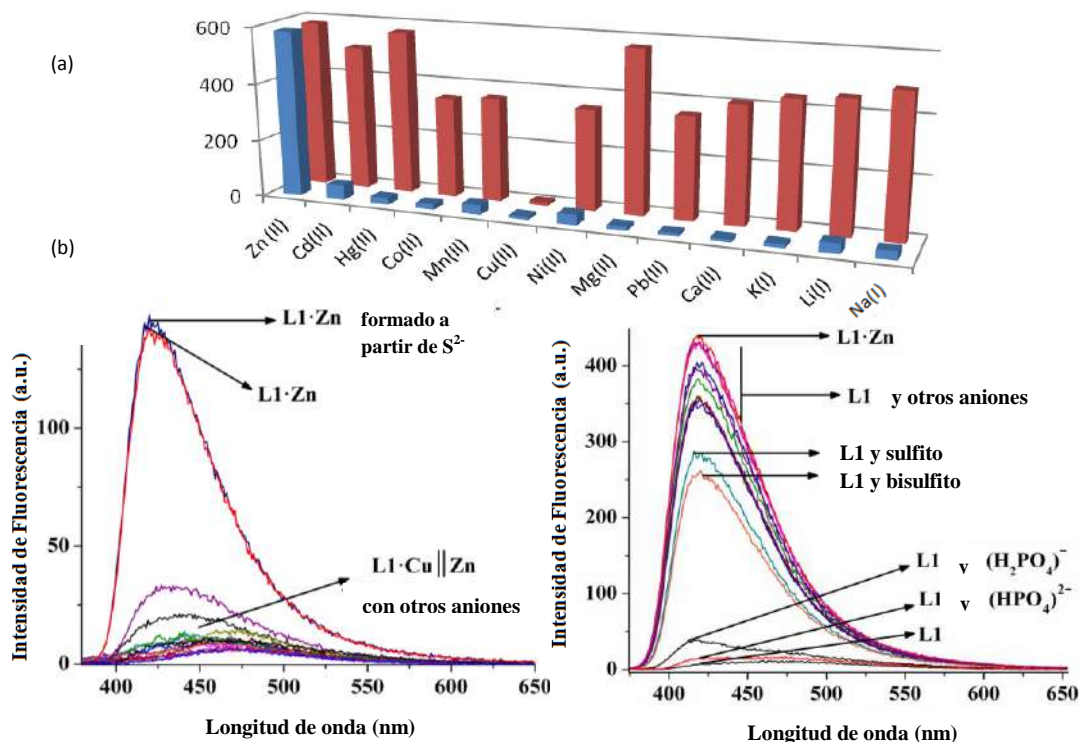


Figura 2.27. Propiedades de detección continua de **L1**.

Se encontró que el compuesto **L1** puede reconocer iones  $\text{Zn}^{2+}$  con una constante de asociación ( $\log K_a$ ) de  $12.2 \pm 0.6$  y un límite de detección de  $4.98 \times 10^{-7}$  M; los experimentos de competencia con iones metálicos como  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$  y  $\text{Na}^+$  mostraron una alta selectividad hacia  $\text{Zn}^{2+}$  (Figura 2.28a).

Cabe mencionar que los otros aniones utilizados no produjeron un cambio apreciable en fluorescencia (Figura 4.28b, a la izquierda). Hasta aquí, el proceso de reversibilidad resultó eficiente en la regeneración de la especie **L1•Zn**. Con el fin de regenerar el receptor **L1** a partir de **L1•Zn**, se llevó a cabo una nueva prueba de reversibilidad usando el mismo conjunto de aniones. En este caso se observó el proceso de reversibilidad con la adición de los fosfatos probados  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y ATP (Figura 4.28b, a la derecha), ya que como se ha descrito en la literatura, los complejos de zinc son altamente selectivos hacia aniones fosfato, es decir, forman fácilmente las sales de zinc. Estos experimentos ponen en evidencia que el sensor **L1** puede ser completamente regenerado después de detectar selectivamente  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{S}^{2-}$  y los aniones fosfato probados (Figura 2.27).

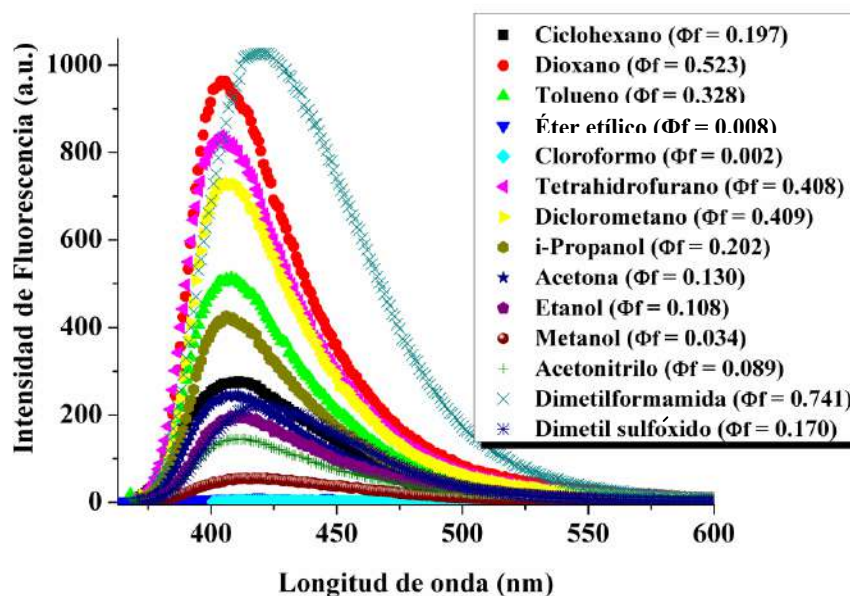


**Figura 2.28.** (a) Diferencia de fluorescencia a 420 nm para **L1** (1 equiv) en la presencia de 10 equiv de distintos metales (barras azules) y competencia con 2 equiv de  $Zn^{2+}$  (barras rojas). (b) Competencia con distintos aniones para regenerar **L1·Zn** (izquierda) y **L1** (derecha) metanol:agua, 95:5 v/v, a  $\lambda_{ex} = 365$  nm.

Resulta interesante mencionar que en la literatura se han descrito varios sensores reversibles (recuperables), donde se utilizan agentes enmascarantes como EDTA que evidentemente desactivarían la respuesta dual del sensor al unirse con todos los metales presentes en los experimentos de competencia. En el presente trabajo se comprobó la posibilidad de utilizar aniones que reconozcan específicamente al ión  $Cu^{2+}$ , sin unirse a zinc. Por ello, se exploró la selectividad frente a  $Zn^{2+}$  en muestras problema conteniendo diversos iones metálicos, entre ellos  $Cu^{2+}$ , concluyéndose que en principio se pueden detectar *vía* dos canales de respuesta:  $Zn^{2+}$  con encendido de la fluorescencia y por otra parte  $Cu^{2+}$  con extinción de la fluorescencia. Asimismo, se logró detectar selectivamente  $S^{2-}$  *vía* desplazamiento de  $Cu^{2+}$  observando señal fluorescente nuevamente. Finalmente se estudió la reversibilidad global de este sensor para obtener **L1** y comprobar su uso práctico o continuo. El resultado reveló que es posible obtener **L1** partiendo de **L1·Zn** en un 90 %

(basado en la relación de absorptividad molar) al adicionar distintos fosfatos. Es importante aclarar que el complejo **L1•Zn** no presentó selectividad frente a algún tipo específico de fosfato.

Sin embargo, el receptor **L1** presentó dos problemas significativos, en primer lugar el compuesto exhibió interferencia frente a  $\text{Cu}^{2+}$  ( $\log K_a = 16.1 \pm 0.1$  y un límite de detección de  $7.08 \times 10^{-7}$  M), limitando su uso en muestras donde ambos metales estén presentes, además su aplicación se vio limitada debido a que no es 100% soluble en agua. En cuanto al problema de interferencia, el uso de  $\text{S}^{2-}$  puede ayudar a desplazar al  $\text{Cu}^{2+}$  sin unirse a  $\text{Zn}^{2+}$  y así evitar la interferencia. Para resolver el problema de la solubilidad en agua se realizó un análisis solvatocrómico para **L1•Zn** en donde se comprobó que el rendimiento cuántico de fluorescencia aumenta de 0.034 en metanol a 0.741 en *N,N'*-dimetilformamida (DMF) con lo que la cantidad de agua utilizada para la determinación de  $\text{Zn}^{2+}$  se logró modificar de agua:metanol (5:95, v/v) a agua:DMF (65:35, v/v) manteniendo el límite de detección submicromolar, Figura 2.29. Cabe aclarar que la detección de  $\text{Zn}^{2+}$  fue posible incluso en una mezcla metanol : agua (10 : 90, v/v), sin embargo, la intensidad de fluorescencia disminuyó en un 30 %.

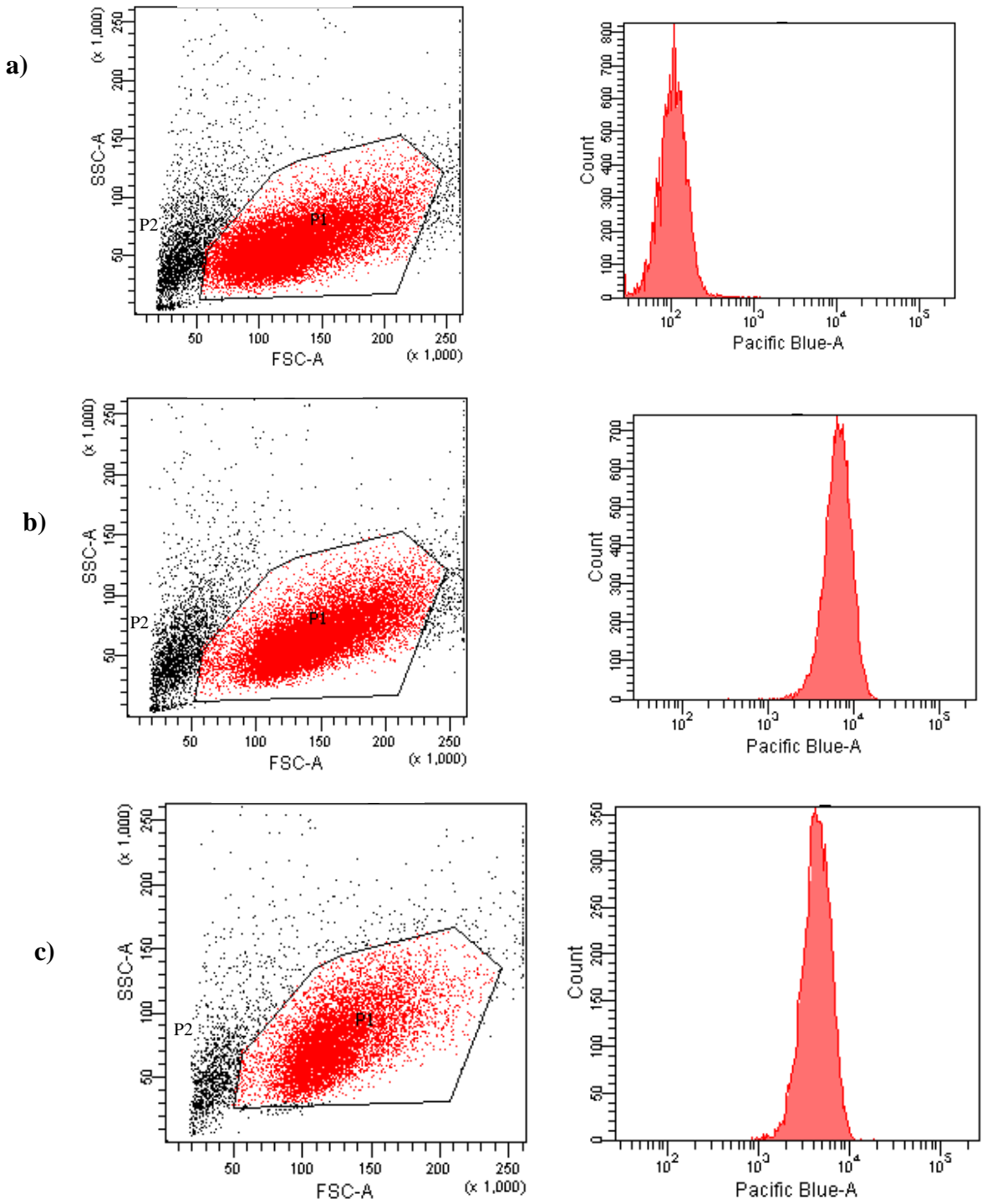


**Figura 2.29.** Espectros de fluorescencia de **L1•Zn** obtenidos en diferentes disolventes y su correspondiente rendimiento cuántico.

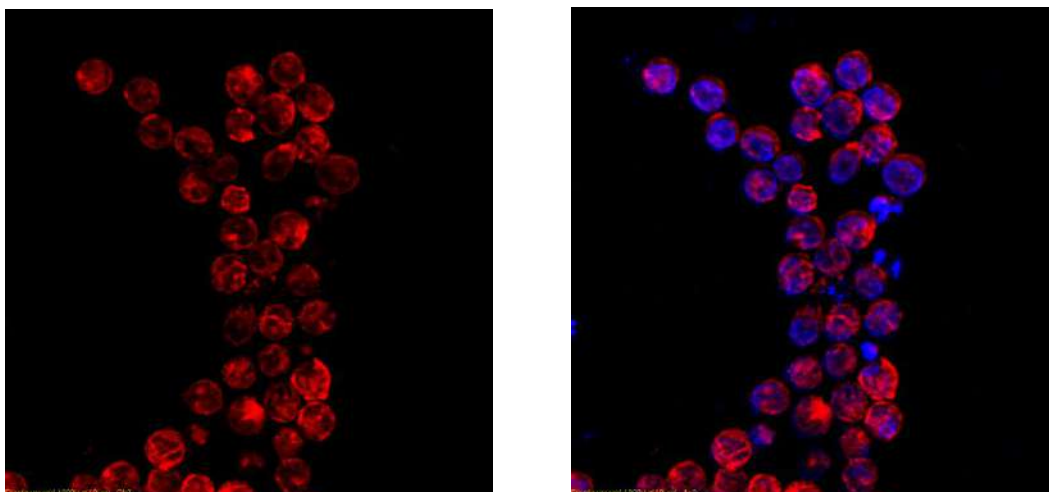
Finalmente, se examinó la función del sensor **L1** en una línea celular, utilizando células Jurkat que fueron aisladas de la sangre periférica de un niño de 14 años con leucemia linfocítica aguda (LLA) la cual fue establecida a finales de los años 70. Para determinar si **L1** detecta el flujo celular de  $Zn^{2+}$ , las células Jurkat fueron incubadas primeramente con  $Zn^{2+}$  ( $20 \mu M$ ) en presencia de medio de cultivo celular enriquecido con suero bovino, durante 4 horas en una incubadora a  $37 \text{ }^\circ C$  con un 5% de  $CO_2$ . Posteriormente se centrifugó la suspensión celular con la finalidad de remover el  $Zn^{2+}$  remanente y se agregó nuevamente medio de cultivo conteniendo esta vez **L1** ( $20 \mu M$ ). Las células se introdujeron a la incubadora por 30 minutos y se tomaron las medidas de citometría de flujo en presencia de ioduro de propidio, un pigmento que permea sólo las células muertas y fluoresce en  $695 \pm 40 \text{ nm}$ , excitando en  $488 \text{ nm}$ . Los análisis de citometría de flujo son útiles cuando se conoce la toxicidad de un agente químico que es introducido en la célula, a partir de su respuesta fluorescente, en este caso la fluorescencia inherente del sensor unido a  $Zn^{2+}$ .

Los datos obtenidos por citometría de flujo para las células Jurkat con **L1**,  $Zn^{2+}$  y ioduro de propidio indican que en este régimen de tinción se puede discriminar las células vivas (región P1, Figura 2.30-Izquierda) de las células muertas (región P2, Figura 2.30-Derecha), así como la detección simultánea de fluorescencia de **L1** al detectar  $Zn^{2+}$  intracelularmente en  $450 \pm 50 \text{ nm}$  excitando a  $350 \text{ nm}$ , debido a que en presencia únicamente de  $Zn^{2+}$  no se observa señal alguna de fluorescencia, pero si se observa después de incubarse **L1**. Estos datos sugieren que el sensor puede en efecto detectar  $Zn^{2+}$  en células vivas.

La Figura 2.31 muestra las imágenes obtenidas mediante microscopía de fluorescencia para las células Jurkat incubadas con **L1** y  $Zn^{2+}$ , de tal manera que fue posible visualizar la respuesta fluorescente en un ambiente intracelular.



**Figura 2.30.** (Izquierda) diagramas de dispersión frontal (FSC) vs lateral (SSC) y gráfico de fluorescencia (relativa a Pacific Blue-A) vs número de células fluorescentes, para a) células incubadas únicamente con  $Zn^{2+}$ , b) células incubadas con  $Zn^{2+}$  y **L1** medidas de inmediato y c) células incubadas con  $Zn^{2+}$  y **L1** medidas 24 horas después.



**Figura 2.31.** Imágenes de fluorescencia de células Jurkat incubadas con Zn<sup>2+</sup> y L1. Izquierda: células conteniendo Zn<sup>2+</sup> a una concentración de 20 μM, utilizando 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) como agente de tinción (rojo). Derecha: imagen obtenida después de agregar L1 (20 μM), fluorescencia en azul.

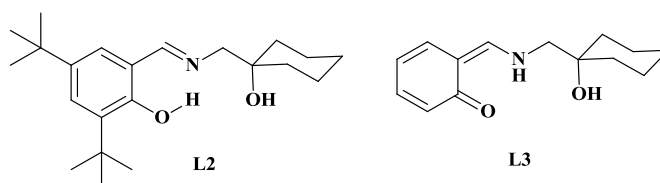
### 2.3.2 Interferencia Zn<sup>2+</sup>/Cu<sup>2+</sup>: Compuestos L2 y L3

Los resultados anteriormente expuestos ponen en manifiesto que la detección óptica de Zn<sup>2+</sup> requiere un alto grado de selectividad y sensibilidad en su detección, particularmente frente a Cu<sup>2+</sup>, el tercer metal más abundante en el ser humano.<sup>84</sup> Sin embargo, la gran mayoría de los sensores de Zn<sup>2+</sup> sufren de esta interferencia con Cu<sup>2+</sup>,<sup>85</sup> y en varios casos también con Cd<sup>2+</sup>,<sup>86</sup> haciendo que el sensor no sea muy útil para aplicaciones de corto o largo tiempo en muestras reales. Más aún, este problema se intensifica debido a que en células cancerígenas la concentración de Fe<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Cu<sup>2+</sup> cambia considerablemente, de tal manera que la concentración de Cu<sup>2+</sup> puede pasar de ser la tercera en abundancia a estar presente en un considerable exceso. Por ejemplo, la concentración de Fe<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Cu<sup>2+</sup> en el *suero* de sangre de un niño sano y en un niño con leucemia linfocítica aguda cambia de 68, 103 y 114 μg/dL a 96, 136 y 328 μg/dL, respectivamente.<sup>87</sup> Por lo anterior, la necesidad de desarrollar sensores para detectar Zn<sup>2+</sup> en muestras biológicas deben considerar un exceso grande de Cu<sup>2+</sup> y además debe tener la habilidad de no detectar la presencia de Cd<sup>2+</sup>.

En cuanto a la interferencia de iones Zn<sup>2+</sup>/Cu<sup>2+</sup>, Canary y colaboradores describieron un enfoque para mejorar la selectividad de Zn<sup>2+</sup> mediante el control de la estereoquímica y el aumento de la rigidez de la estructura de una serie de compuestos tripodales de piperidina.<sup>88</sup>

A la fecha, sin embargo, se han reportado muy pocos ejemplos de sensores fluorescentes de  $\text{Zn}^{2+}$  que presenten mejoras en la selectividad hacia  $\text{Zn}^{2+}$  sobre  $\text{Cu}^{2+}$ .<sup>88-89</sup>

Por lo anterior, en este trabajo se exploraron nuevos sistemas con la finalidad de mejorar las propiedades de reconocimiento hacia  $\text{Zn}^{2+}$  con alta solubilidad en agua, que presenten propiedades reversibles y con tiempos de respuesta del orden de días. Lo anterior constituye una necesidad crucial en aplicaciones biológicas, donde es indispensable que el sensor pueda detectar  $\text{Zn}^{2+}$  durante largos periodos de tiempo (por ejemplo en cirugías prolongadas, o en estudios de evolución de enfermedades, etc.). Con este objetivo, se desarrollaron dos nuevos sensores de  $\text{Zn}^{2+}$ , Figura 2.32. Dentro de los sistemas probados, el derivado con grupos *t*-butilo (**L2**) presentó características muy similares al compuesto **L1** y permite evidenciar que un cambio en el carácter *quinoide* de la estructura del proligante (sensor) y su nivel de preorganización conllevan a incrementar su constante de asociación con  $\text{Zn}^{2+}$  y contribuyen a discriminar totalmente a los iones  $\text{Cu}^{2+}$ . Para ello se sintetizó el compuesto sin grupos *t*-butilo (**L3**) y se estudiaron en detalle los parámetros de transferencia de carga intramolecular, que están directamente involucrados en el mecanismo de encendido y apagado de la fluorescencia.

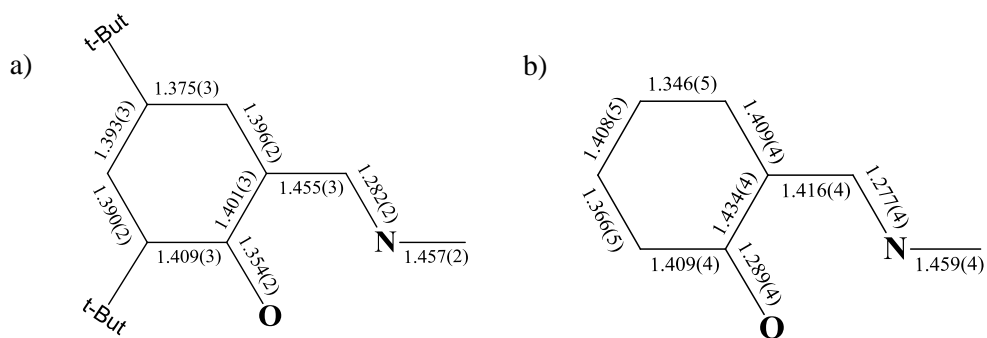


**Figura 2.32.** Estructura de los sensores **L2** y **L3**.

Datos obtenidos por difracción de rayos X demuestran que **L3** presenta un mayor carácter quinoide que **L2**, e incluso **L3** se encuentra en la forma de *ceto-enamina*, mientras que **L2** en la forma *enol-imina*, Figura 2.33.

La preparación de las disoluciones, las mediciones y la determinación de los rendimientos cuánticos,<sup>90</sup> se presentan en la parte experimental.

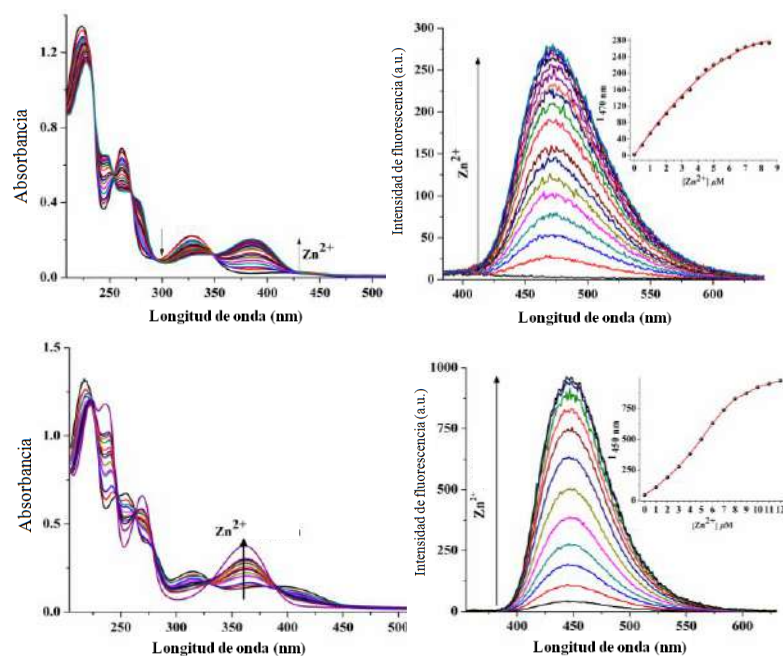




**Figura 2.33** Distancias de enlace para el fragmento de salicilideno en: a) **L2** y b) **L3**.

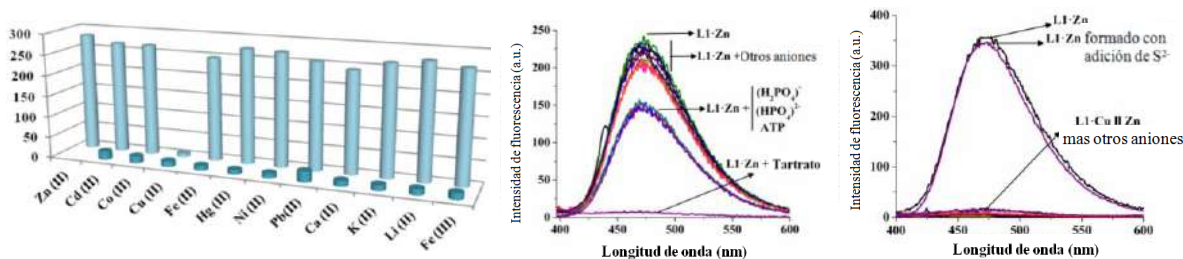
El aumento de fluorescencia observado para **L3** fue superior a **L2**, lo que en principio sugiere una mayor rigidez para **L3**, Figura 2.34. Los espectros de absorción de **L2** muestran una banda principal en 330 nm (para **L3** en 315 y 400 nm) donde la adición de la mayoría de las sales metálicas no produjo un cambio significativo en la longitud de onda de absorción y en la absorbancia; sin embargo, cuando se añadió  $\text{Zn}^{2+}$  se observó una nueva banda de absorción en 385 nm para **L2** y en 360 nm para **L3**.

Las respuestas de fluorescencia también se estudiaron mediante el aumento de la concentración de las sales metálicas en presencia de **L2** y **L3**, Figura 2.34. El espectro de emisión de cada receptor puro no mostró fluorescencia y su máximo fue difícil de encontrar con excitación en un intervalo de 220 nm a 400 nm. Como se ha mencionado antes, entre todos los metales examinados sólo la adición de  $\text{Zn}^{2+}$  produjo un aumento de fluorescencia ( $I - I_0 = 381.5$  con  $\lambda_{\text{ex}} = 327$  nm para **L2**, y  $I - I_0 = 921.5$  en  $\lambda_{\text{ex}} = 330$  nm para **L3**), con un rendimiento cuántico de fluorescencia de  $\Phi_F = 0.095$  para **L2**•**Zn** y  $\Phi_F = 0.265$  para **L3**•**Zn**, sin observar cambios en la longitud de onda de emisión con las adiciones posteriores. Los experimentos de competencia no mostraron cambios apreciables con la adición de los otros iones metálicos, Figura 2.35. Es importante destacar que la selectividad de los sensores para  $\text{Zn}^{2+}$  en presencia de iones  $\text{Cd}^{2+}$  fue completamente superior, esto es importante debido a que como se ha comentado, el  $\text{Cd}^{2+}$  es un metal de transición con propiedades químicas muy similares a  $\text{Zn}^{2+}$  ya que ambos son elementos del grupo XII con una configuración electrónica de capa-cerrada  $d^{10}$ , y por un lado el  $\text{Zn}^{2+}$  es esencial para muchos procesos biológicos mientras que por otro lado el  $\text{Cd}^{2+}$  es altamente tóxico en bajas concentraciones.<sup>91</sup>

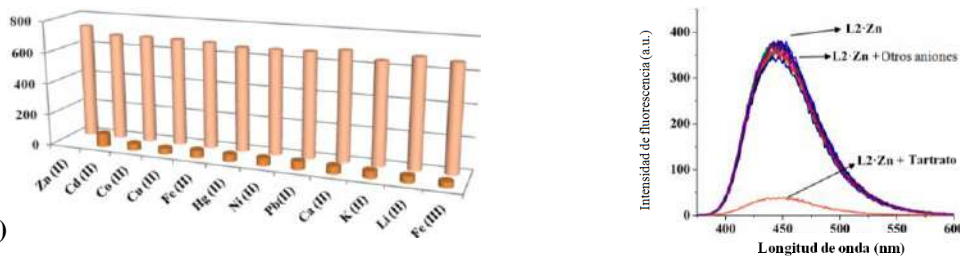


**Figura 2.34.** Espectros UV-Vis (izquierda) y de fluorescencia (derecha) con la adición de 50 μM de Zn<sup>2+</sup> a: a) **L2** (10 μM, λ<sub>ex</sub> = 327 nm) y b) **L3** (10 μM, λ<sub>ex</sub> = 330 nm) en agua:metanol (65:35, v/v, HEPES 10 mM).

(a)



(b)



**Figura 2.35** (a) De izquierda a derecha: diferencia de fluorescencia a 470 nm para la **L2** (1 equiv) en presencia de 4 equivalentes de diferentes metales (barras al frente) y la competencia con 2 equivalentes de Zn<sup>2+</sup> (barras traseras). Experimentos de competencia con diferentes aniones para regenerar **L2** (izquierda) y **L2•Zn** (derecha). (b) De izquierda a derecha: diferencia de fluorescencia a 445 nm para **L3** (1 equiv) en presencia de 4 equivalentes de diferentes metales (barras al frente) y la competencia con 1 equivalente de Zn<sup>2+</sup> (barras traseras). Experimentos de competencia con diferentes aniones para regenerar **L3**.

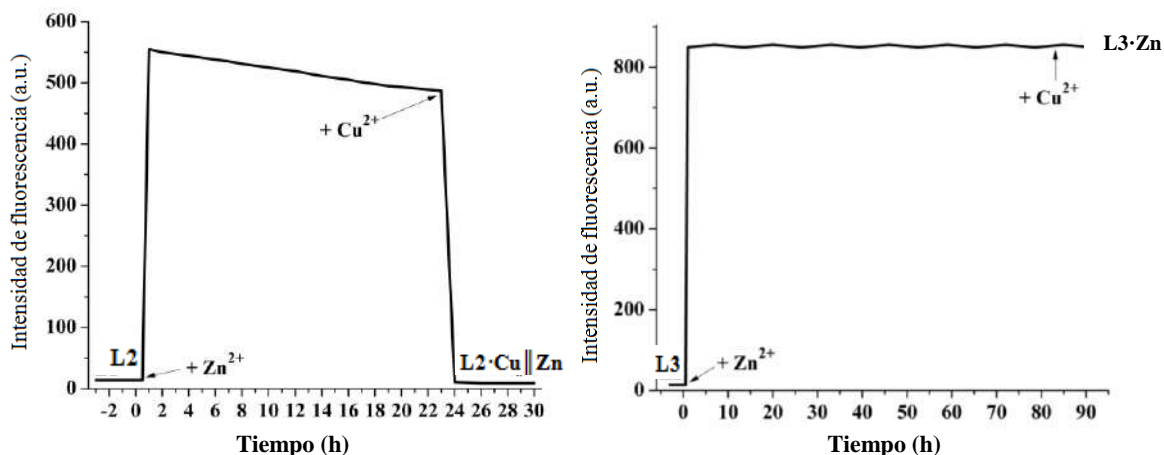
Primeramente, en el caso de **L2** los espectros de fluorescencia muestran que la presencia de  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  en la misma disolución da lugar a una interferencia entre estos iones de tal manera que no se observó ninguna señal de fluorescencia. Este comportamiento puede atribuirse a la capacidad del  $\text{Cu}^{2+}$  de apagar la fluorescencia por medio de un proceso de transferencia de electrón y/o energía dadas sus propiedades paramagnéticas y su configuración electrónica (subcapa *d* parcialmente llena), Figura 2.35a. Este resultado indica una mayor afinidad de unión para  $\text{Cu}^{2+}$  en comparación con  $\text{Zn}^{2+}$ . Sin embargo, los experimentos muestran que el complejo **L2•Zn** formado, al igual que **L1•Zn**, puede detectar selectivamente tanto la presencia de iones  $\text{Cu}^{2+}$  que apagan la fluorescencia mediante la formación de un nuevo aducto (**L2•Cu** || **Zn**) como de aniones  $\text{S}^{2-}$  que recupera la respuesta de fluorescencia por el retorno de  $\text{Zn}^{2+}$  al sitio receptor formando nuevamente **L2•Zn**.

Esta respuesta “*encendido-apagado-encendido*” no es muy común para los sensores de iones metálicos descritos en la literatura y es de particular interés, ya que en principio no se requieren agentes quelantes tipo EDTA para recuperar el sensor, lo cual permite utilizar **L2•Zn** para detectar aniones tartrato (en este caso específico). Además, las propiedades de reversibilidad y reciclabilidad de **L2** como sensor se estudiaron mediante pruebas con una variedad de aniones midiendo la respuesta de fluorescencia, lo que corroboró que la señal de respuesta de **L2•Zn** “encendido” se puede restaurar partiendo de **L2•Cu** || **Zn** “apagado” posterior a la adición de aniones  $\text{S}^{2-}$  *vía* desplazamiento de  $\text{Cu}^{2+}$ . En el mecanismo de desplazamiento el complejo **L2•Cu** no tiene fluorescencia, sin embargo, el anión  $\text{S}^{2-}$  desplaza al  $\text{Cu}^{2+}$  de la esfera de coordinación liberando a **L2** en la disolución y restaurando la fluorescencia mediante el retorno o re-coordinación de  $\text{Zn}^{2+}$ . Finalmente, la respuesta de la señal original del **L2** se puede restaurar desde **L2•Zn** tras la adición del anión tartrato ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$ ), Figura 2.35a.

En contraste, para **L3** no se observó interferencia con  $\text{Cu}^{2+}$  en los espectros de UV-Vis y fluorescencia cuando se llevó a cabo el experimento de competencia, Figura 2.35b. Por lo tanto, la no interferencia con  $\text{Cu}^{2+}$  se puede atribuir al aumento de la rigidez del ligante dando lugar a un alto grado de preorganización hacia  $\text{Zn}^{2+}$ , ya que además una

configuración de capa cerrada ( $\text{Zn}^{2+}$ ) es altamente estable y está menos influenciada por la rigidez del ligante.

También, se realizaron mediciones de cinética de fluorescencia en estado estacionario para ambos sensores con el fin de estudiar la interacción  $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$  y el tiempo de vida útil de los sensores. El efecto del tiempo de reacción en la respuesta de fluorescencia en una disolución de **L2** o de **L3** (3 mL, 10  $\mu\text{M}$ ) se estudió primeramente con la adición de una disolución de  $\text{Zn}^{2+}$  (6  $\mu\text{L}$ , 20 mM) y después con la adición de una disolución de  $\text{Cu}^{2+}$  (12  $\mu\text{L}$ , 40 mM para **L2** y 12  $\mu\text{L}$ , 0.1 M para **L3**), con barridos de máximo 80 puntos por segundo durante 1500 min para **L2** y 5000 min para **L3** a una  $\lambda_{\text{ex}} = 327$  nm, Figura 2.36. Para **L2** el perfil de intensidad de fluorescencia mostró un rápido incremento cuando se añadió  $\text{Zn}^{2+}$ , seguido de una lenta disminución de fluorescencia con el tiempo, de tal manera que después de 1500 min la intensidad de fluorescencia disminuyó en un 18%. A continuación se añadió  $\text{Cu}^{2+}$  a la disolución (a las 25 horas) observando inmediatamente el apagamiento de la fluorescencia (Figura 2.36a). En el caso de **L3** el perfil de intensidad de fluorescencia mostró un fuerte y rápido incremento con la adición de  $\text{Zn}^{2+}$  formando **L3•Zn** el cual no mostró ningún patrón de apagamiento de fluorescencia durante 5000 min (83.3 h) aún cuando se adicionó un exceso grande de  $\text{Cu}^{2+}$  a la disolución (Figura 2.36b).

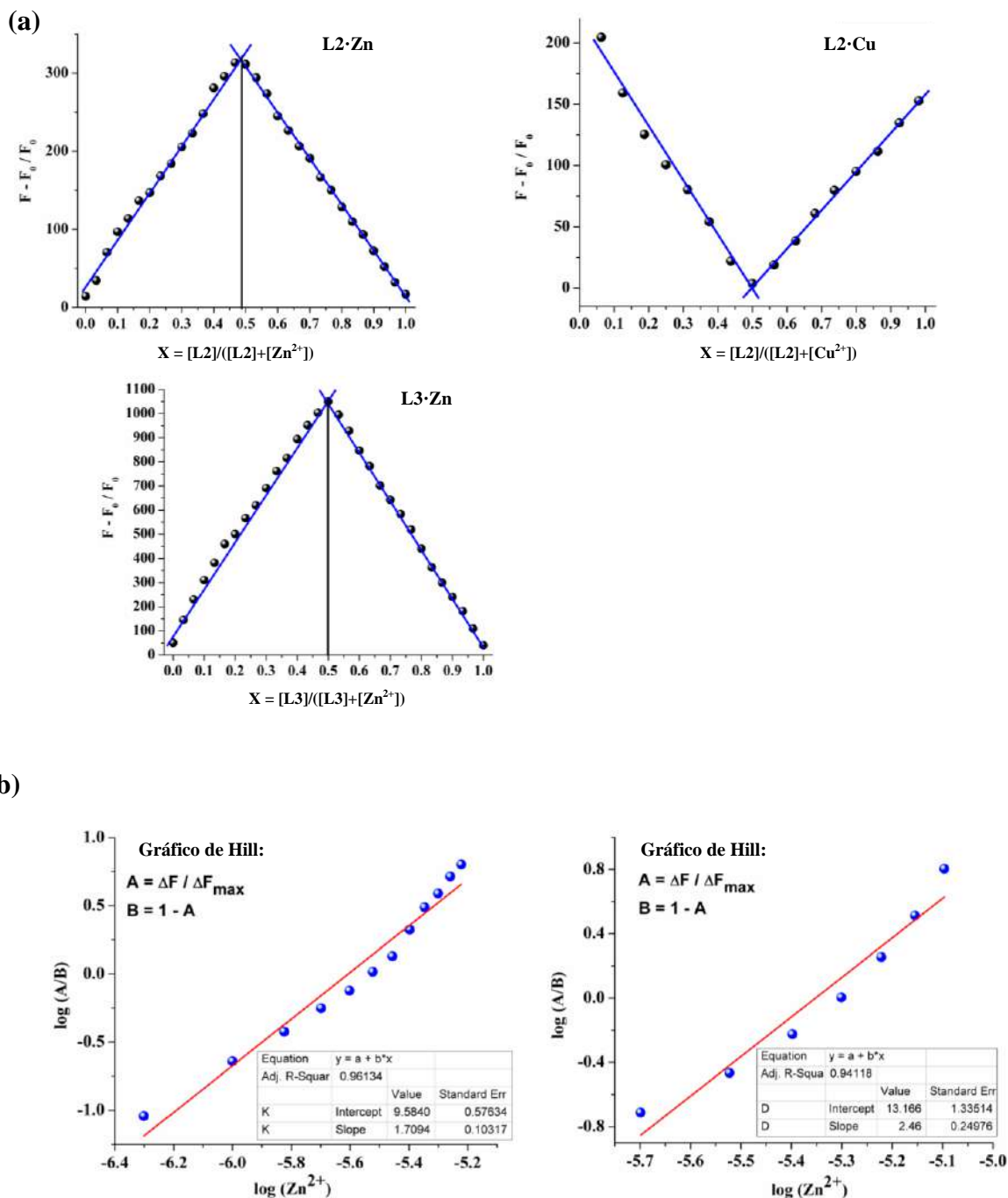


**Figura 2.36** Cinética de fluorescencia seguida para: **L2** (2 mM) con la adición de  $\text{Zn}^{2+}$  ( $t = 120$  s) para formar **L2•Zn** y  $\text{Cu}^{2+}$  ( $t = 23$  h) para formar **L2•Cu||Zn** (Izquierda); y **L3** (2 mM) con la adición de  $\text{Zn}^{2+}$  ( $t = 120$  s) para formar **L3•Zn** y  $\text{Cu}^{2+}$  ( $t = 83$  h) permaneciendo el complejo **L3•Zn** (Derecha).

Por otra parte, la estequiometría de enlace fue investigada por medio de un gráfico de Job, cambiando la fracción molar de 0.0 a 1.0, donde la concentración de **L2**, **L3**,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  en agua:metanol (65:35, v/v, 10 mM de HEPES) se mantuvo en  $1 \times 10^{-5}$  M. La relación  $F_0/F_0$  exhibió un valor máximo a una fracción molar de 0.5, este punto de inflexión se observó en todos los casos, lo cual indica una estequiometría 1:1 entre **L2** vs  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  y **L3** vs  $\text{Zn}^{2+}$  (Figura 2.37a). Por otro lado, también se utilizó espectrometría de masas-ESI para estudiar la estequiometría de unión, observándose el ion a 380.1164 m/z (calc. 380.1484) para **L2** que corresponde a la formación del complejo 1:1 [**L2**-Zn- ( $\text{CH}_3\text{OO}^-$ )- $\text{H}_2\text{O}$ ] $^+$ . Del mismo modo, el ion a 492.2381 m/z (calc. 492.2874) para **L3** corresponde a la formación del complejo 1:1 [**L3**-Zn ( $\text{CH}_3\text{OO}^-$ )- $\text{H}_2\text{O}$ ] $^+$ . Los límites de detección determinados con base en la respuesta de fluorescencia de **L2** y **L3** frente a  $\text{Zn}^{2+}$  fueron  $7.25 \times 10^{-7}$  M y  $3.08 \times 10^{-7}$  M basándose en el factor de desviación estándar  $3\sigma/K$ , respectivamente. Las constantes de asociación ( $\log K_a$ ) obtenidas mediante un gráfico de Hill (Figura 2.37b) se estimaron en  $9.6 \pm 0.5$  para **L2**•**Zn** y  $13.2 \pm 0.1$  para **L3**•**Zn**.

Asimismo, se llevaron a cabo experimentos de titulación mediante RMN de  $^1\text{H}$  en  $\text{DMSO-}d_6$  para estudiar la interacción entre el sensor **L2** con  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ , y el sensor **L3** con  $\text{Zn}^{2+}$  y ambos con  $\text{Fe}^{2+}$ , ya que como se describió, **L2** y **L3** fueron capaces de reconocer  $\text{Fe}^{2+}$  a través de un segundo canal de respuesta (colorimétrico). Para **L2**, tras la adición de 1 equivalente de  $\text{Zn}^{2+}$  sólo el protón hidroxílico en 4.29 ppm correspondiente al fragmento fenólico desapareció, mientras que el protón hidroxílico en 14.33 ppm correspondiente al fragmento de ciclohexilo no mostró ningún cambio. Por otro lado, se observó un ligero desplazamiento del protón imínico hacia frecuencias bajas, Figura 2.38a. Este resultado sugiere que la coordinación con  $\text{Zn}^{2+}$  se lleva a cabo con el átomo de oxígeno fenólico y el átomo de nitrógeno de la imina. Cabe mencionar que las adiciones de  $\text{Cu}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{2+}$  (por separado) a **L2** producen el mismo tipo de interacción, apoyando la idea de que no hay una diferenciación entre  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ , dado el bajo nivel de preorganización para un ion metálico específico. Por otro lado, para **L3** se encontró que ambos protones hidroxílicos (en 13.85 y 4.31 ppm) desaparecieron después de la adición de 1 equivalente de  $\text{Zn}^{2+}$ . Una vez más, se observó un ligero desplazamiento del protón de imina a frecuencias bajas, lo que

sugiere la coordinación de  $Zn^{2+}$  con los dos átomos de oxígeno y el átomo de nitrógeno de la imina (Figura 2.38a).



**Figura 2.37** (a) Gráficos de Job obtenidos para la determinación de la estequiometría de **L2·Zn**, **L2·Cu** y **L3·Zn**. Las concentraciones finales para cada disolución fueron 10  $\mu$ M en 65:35, v/v, 10 mM HEPES. (b) Gráficos de Hill para **L2·Zn** (izquierda) y **L3·Zn** (derecha).

Finalmente, la adición de  $\text{Fe}^{2+}$  a **L3** hizo que solamente desapareciera la señal del protón fenólico, al igual que **L2** con  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ .

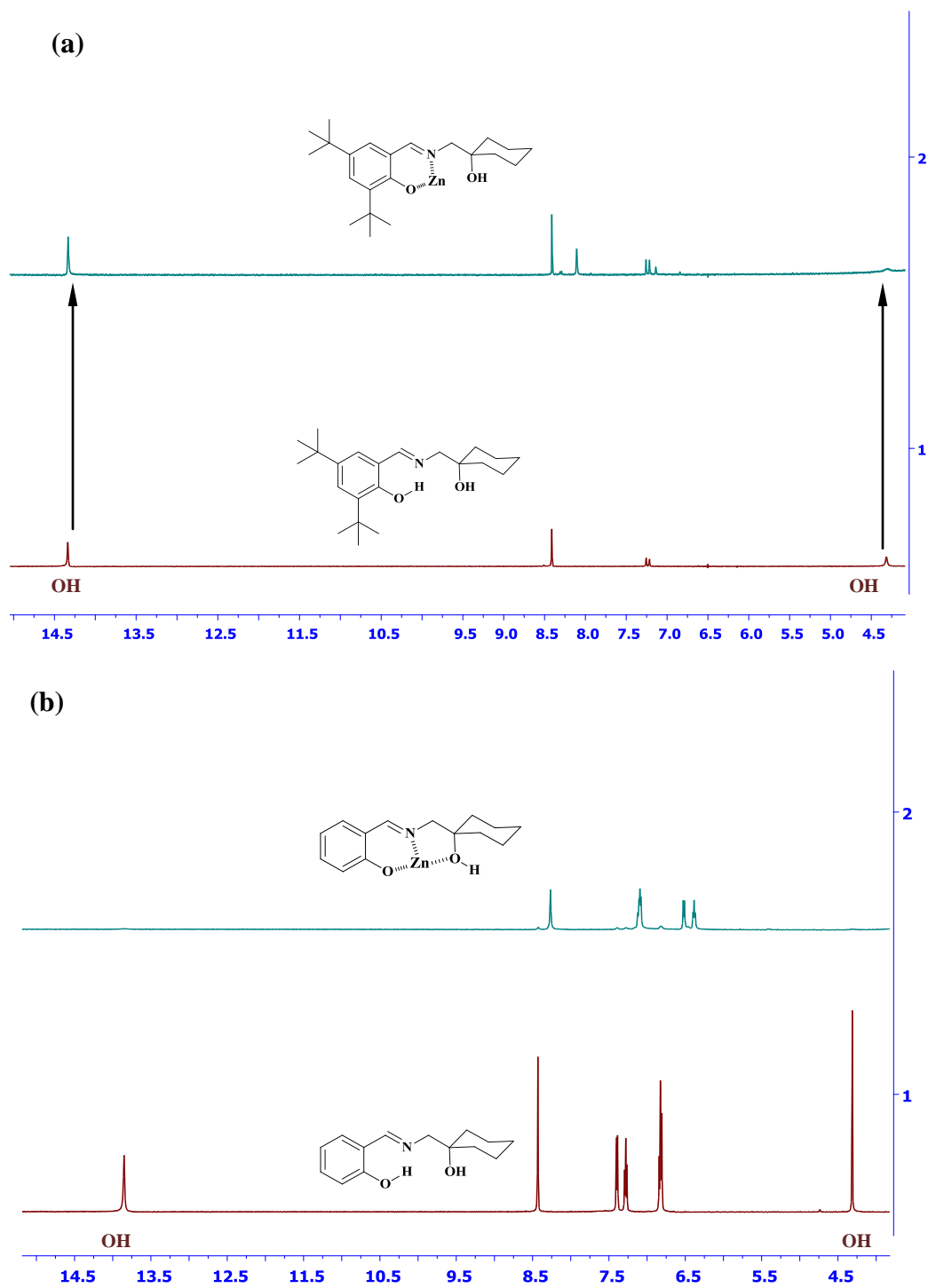


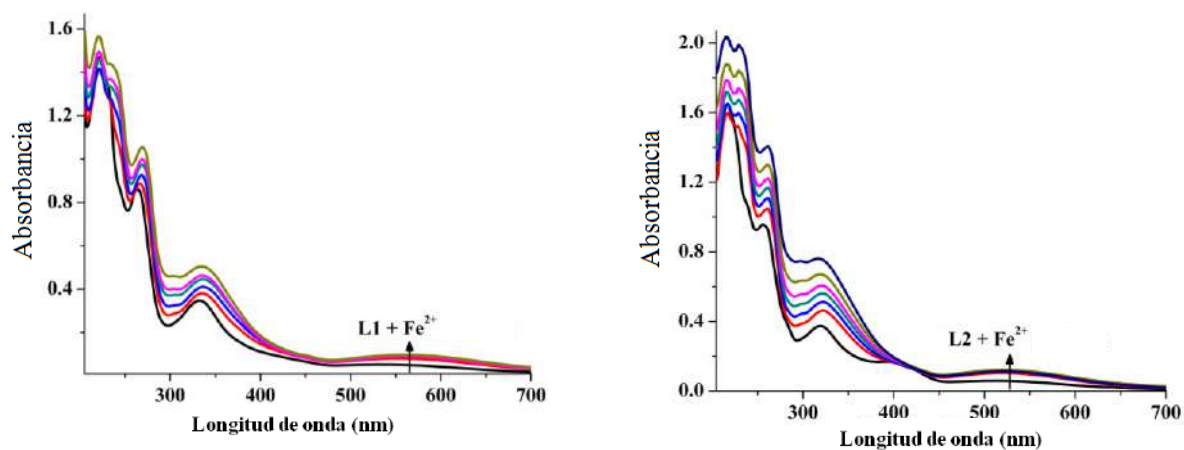
Figura 2.38 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de (a) **L2** y (b) **L3** con la adición de 1 equivalente de  $\text{Zn}^{2+}$ .

Posteriormente, se hicieron pruebas de reversibilidad para **L2** mediante la adición en disolución acuosa de diferentes aniones a una disolución de **L2•Cu** o **L2•Zn**, agua : metanol (65:35, v/v, 10  $\mu$ M HEPES). En primer lugar, se estudió la influencia de  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $N_3^-$ ,  $HSO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $S^{2-}$ ,  $S_2O_3^{2-}$ ,  $SO_3^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$ , tartrato ( $C_4H_4O_6^{2-}$ ),  $HPO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$  y ATP. Al igual que **L1•Cu**, las propiedades de fluorescencia de **L2•Cu** fueron restauradas únicamente mediante la adición de aniones  $S^{2-}$ , donde se evidenció el efecto "apagado-encendido" ya que la intensidad de emisión se incrementó con la adición subsecuente de  $S^{2-}$  hasta que la señal se regeneró completamente. Este reconocimiento de  $S^{2-}$  hacia los complejos de  $Cu^{2+}$  ha sido documentado previamente.<sup>92</sup> Además, los otros aniones no produjeron ningún cambio espectral apreciable (Figura 2.35a, a la derecha).

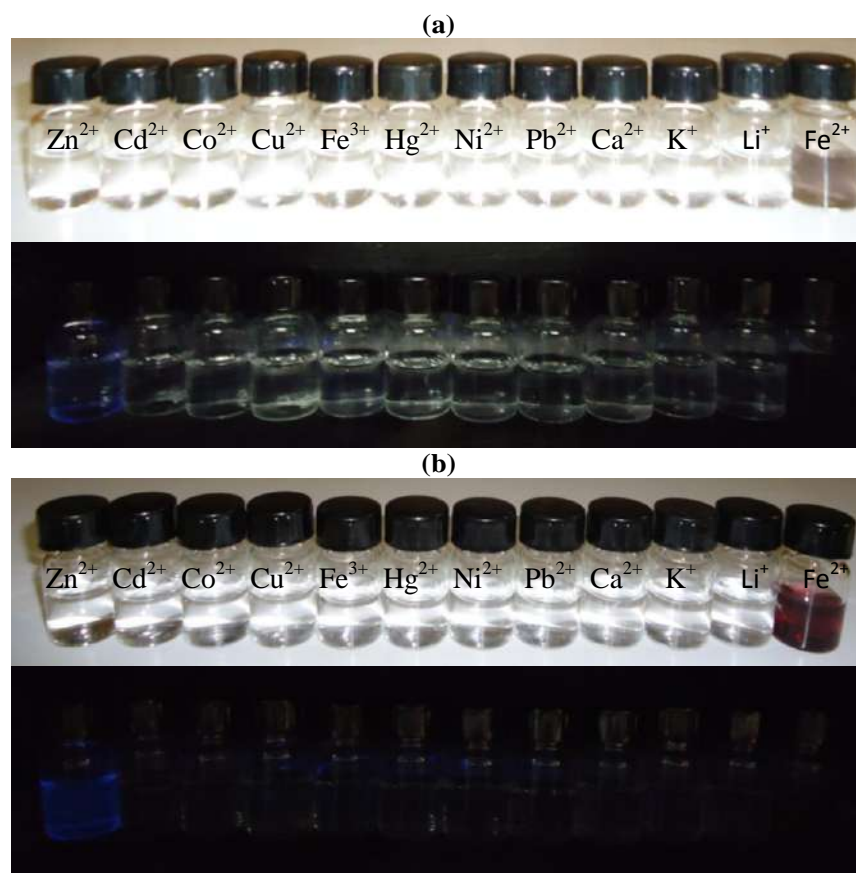
En este punto, el proceso de reversibilidad resultó eficiente para regenerar las propiedades de fluorescencia mediante la formación **L2•Zn**. Se realizó otra prueba de reversibilidad para **L2•Zn** y **L3•Zn** con el fin de regenerar los receptores **L2** y **L3** utilizando el mismo conjunto de aniones mencionados anteriormente y se observó una disminución abrupta en la señal de fluorescencia en ambos casos (intensidad final de fluorescencia = 8 au para **L2** y 42 au para **L3**) con la adición de aniones tartrato. Además, dado que la gran afinidad entre los complejos de  $Zn^{2+}$  hacia aniones fosfato también está bien establecida, se estudiaron  $HPO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$  y ATP. Sin embargo, en este caso se observó sólo una disminución parcial de la fluorescencia, lo que indica una interacción poco efectiva entre los fosfatos y  $Zn^{2+}$  en estas disoluciones (espectros de fluorescencia de la Figura 2.35).

Finalmente, como se comentó antes durante los experimentos de competencia, también se observó un marcado cambio de color (en la región del visible) en el caso de los iones  $Fe^{2+}$ . En particular, se observó un efecto cromogénico para **L2** y **L3** cambiando a un color gris y rosa al agregar  $Fe^{2+}$ , respectivamente. La Figura 2.39 muestra los espectros de absorción obtenidos con la adición de  $Fe^{2+}$  a los sensores, mientras que la Figura 2.40 muestra fotografías de los cambios correspondientes observados en el visible y en el UV.





**Figura 2.39** Espectros UV-Vis para L2 (izquierda) y L3 (derecha) al adicionar  $\text{Fe}^{2+}$  en agua:metanol (65:35, v/v, 10 mM HEPES).

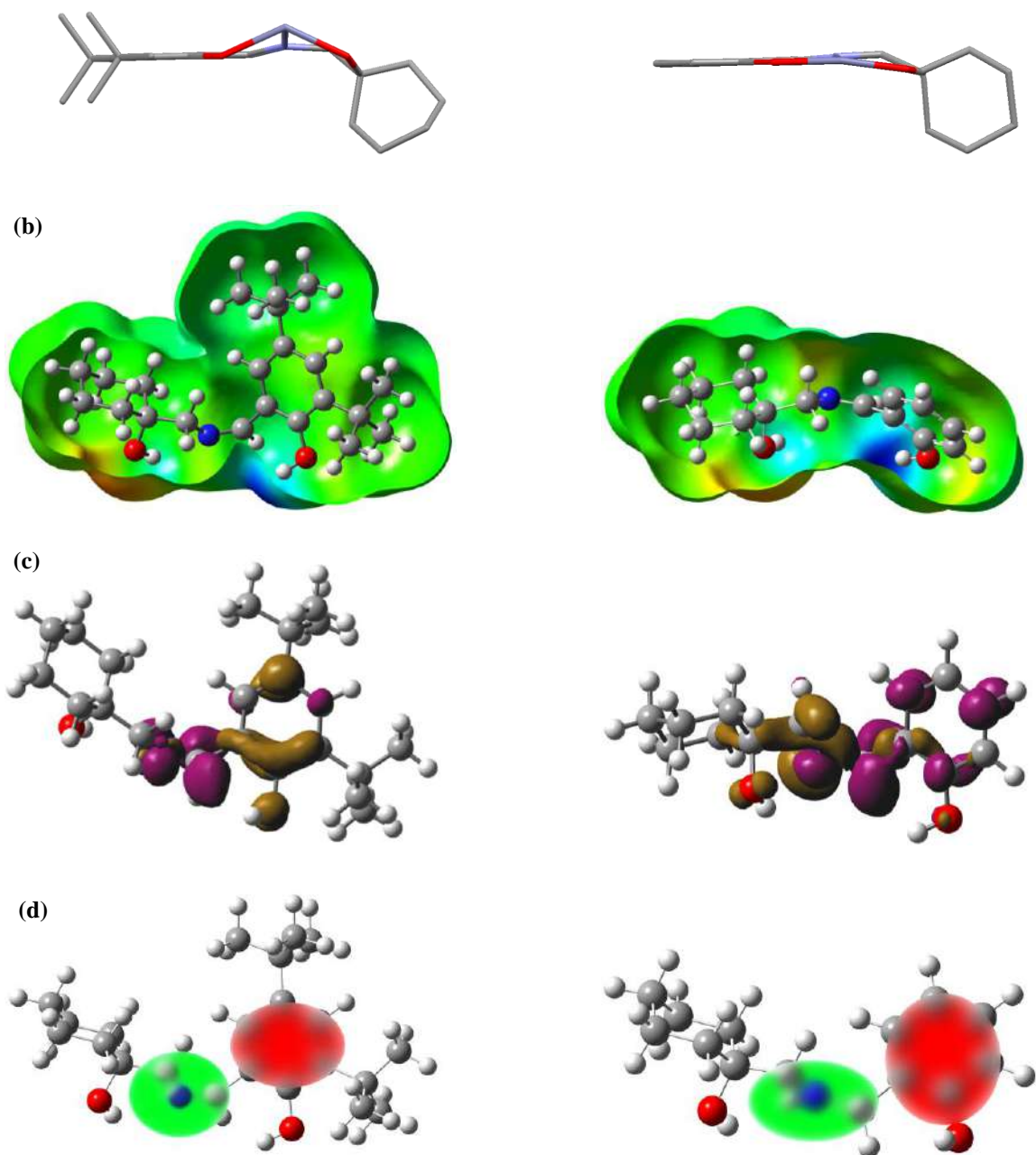


**Figura 2.40** Fotografías de los sensores (a) L2 y (b) L3 donde se aprecia el cambio de color en el Visible con la adición de  $\text{Fe}^{2+}$  (arriba) y en el UV a 254 nm con la adición de  $\text{Zn}^{2+}$  (abajo).

Por último, se implementaron cálculos teóricos TD-DFT/PCM (MeOH) con el fin de entender las propiedades de transferencia de carga intramolecular (ICT) presentes en los receptores **L2** y **L3**. Dado que las propiedades ICT del receptor son uno de los principales elementos de diseño para lograr la selectividad en el sitio de unión, nos centramos en el análisis de las características de densidad electrónica con la excitación del receptor de **L2** o **L3**.

Primeramente, se estudió la geometría de coordinación de los ligantes con  $Zn^{2+}$  utilizando el funcional B3LYP. Para describir el  $Zn^{2+}$  se utilizó el potencial efectivo de electrones del *core* (ECP) asociado al conjunto de bases LANL2DZ por un lado y por el otro lado se utilizó LANL2DZ sin considerar ECP, observándose prácticamente las mismas distancias de enlace (variación de 0.003 Å); esto se debe a que el  $Zn^{2+}$  no es realmente un metal pesado. Los átomos de C, H, N y O se representaron mediante el conjunto de bases 6-31G(d). Las geometrías obtenidas se muestran en la Figura 2.41. Como se puede observar, la molécula **L3** presenta una geometría prácticamente plana, a diferencia de **L2** donde la geometría impide una inclusión completa del Zinc, dando lugar a una coordinación fuera del plano del ligante. Este resultado también puede ayudar a comprender el porqué en DMSO-*d*<sub>6</sub> el  $Zn^{2+}$  sólo muestra interacción con el oxígeno fenólico de **L2** de acuerdo con los espectros de RMN de <sup>1</sup>H, ya que el nivel de preorganización de la molécula podría estar impidiendo la formación del enlace con el oxígeno del fragmento de ciclohexilo. Es decir, la energía de preorganización necesaria para la interacción de **L2** con  $Zn^{2+}$  es mayor que en el caso de **L3** debido a que se requieren menos cambios conformacionales para que **L3** (como proligante) interactúe con  $Zn^{2+}$ .

Asimismo, el mapa de potencial electrostático para el estado basal de **L2** y **L3** (Figura 2.41b, donde el color verde representa zonas neutras, el color amarillo y rojo representan ganancia de densidad electrónica y el azul representan disminución de la misma) muestra que **L2** tiene un marcado exceso de carga en la región del oxígeno del fragmento de ciclohexilo (y una deficiencia de carga en su respectivo átomo de hidrógeno). Asimismo se aprecia una región neutra en el átomo de oxígeno fenólico (y una fuerte deficiencia en su respectivo



**Figura 2.41** Cálculo de estructura electrónica para **L2** (Izquierda) y **L3** (Derecha). (a) Vista lateral donde se muestra geometría de coordinación (B3LYP/LANL2DZ (Zn) 6-31G\*(C, H, O, N)/PCM) para **L2•Zn** y **L3•Zn**, los átomos de hidrógeno no se muestran para mayor claridad. (b) Cálculo (PBE0/6-31G\*/PCM) del mapa de potencial electrostático de **L2** y **L3** (isosuperficie +0.004 a -0.004). (c) Diferencia de densidad electrónica entre el primer estado excitado y el estado basal de **L2** y **L3**. (d) Centroides  $[C_+(r)/C_-(r)]$  de densidad, representando el exceso de densidad electrónica en el estado basal (verde) y el excitado (rojo).

hidrógeno). Por otro lado, **L3** muestra un marcado exceso de carga en la región del oxígeno del fragmento de ciclohexilo con una deficiencia de carga en su respectivo átomo de hidrógeno. Sin embargo, el oxígeno fenólico si muestra un exceso de carga, lo cual puede dar lugar a que al interactuar con un metal afín, **L3** se una a través de los dos oxígenos mientras que **L2** lo haga sólo con uno.

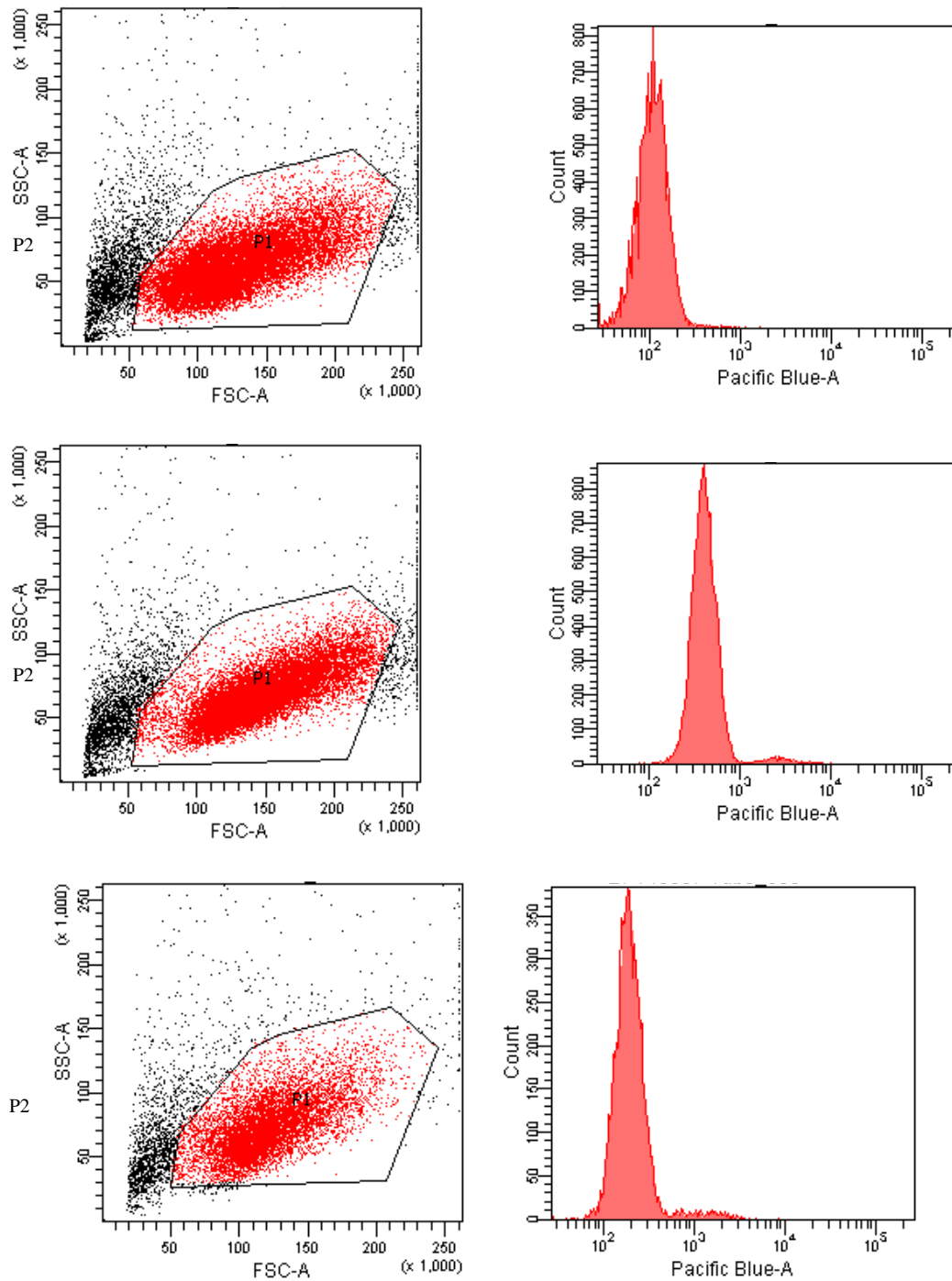
Por otro lado, en relación a las propiedades de transferencia de carga intramolecular conferidas al foto-excitar la molécula, la Figura 2.41c muestra la diferencia entre la distribución de densidad electrónica entre el primer estado excitado ( $S_1$ ) y el estado basal ( $S_0$ ), el color café indica de dónde parten los electrones y el color violeta indica hacia dónde se desplazan después de la excitación. Como se puede apreciar, para **L2** cuando ocurre la excitación electrónica los electrones tienden a localizarse de manera más definida en torno al grupo imino, mientras que en el caso de **L3** se observa una distribución de la densidad en un área mayor de la molécula. Este resultado indica que **L3** tiene una mayor superficie de reactividad, lo cual aumenta su efectividad como ligante.

Así pues, este tipo de análisis por inspección cualitativa de la diferencia de densidad puede ayudar a estudiar la extensión y la magnitud de la transferencia electrónica. La ausencia de regiones que presenten un cambio neto en la densidad total no excluye la posibilidad de mostrar exceso o deficiencia de densidad dada una transición electrónica, lo cual hace difícil usar directamente los mapas de diferencia de densidad, para cuantificar el fenómeno de transferencia de electrones. Por ello, se llevó a cabo un análisis mediante el índice de extensión espacial en excitaciones de transferencia de carga.<sup>77</sup> Así, para **L2** la fracción de carga de transferencia electrónica obtenida con la de-excitación del estado excitado local (LE) fue  $Q_{CT} = 0.51$  a una distancia espacial  $D_{CT} = 2.75 \text{ \AA}$  desde el centroide donador hasta el aceptor. La Figura 2.39c muestra la representación gráfica de la  $D_{CT}$ , y los centroides de exceso de densidad ( $C^+(r)/C^-(R)$ ), tal como se define en la referencia 22. El índice H fue de  $1.18 \text{ \AA}$ , que resultó ser de  $1.58 \text{ \AA}$  menor que la longitud de excitación CT; esto significa que casi no hay traslape entre la región donadora y aceptora, lo que hace que el proceso de CT sea altamente eficiente. Sin embargo, en el caso de **L3**, la comunicación electrónica obtenida por medio de este índice extensión espacial reveló una  $Q_{CT} = 0.44$  a una distancia

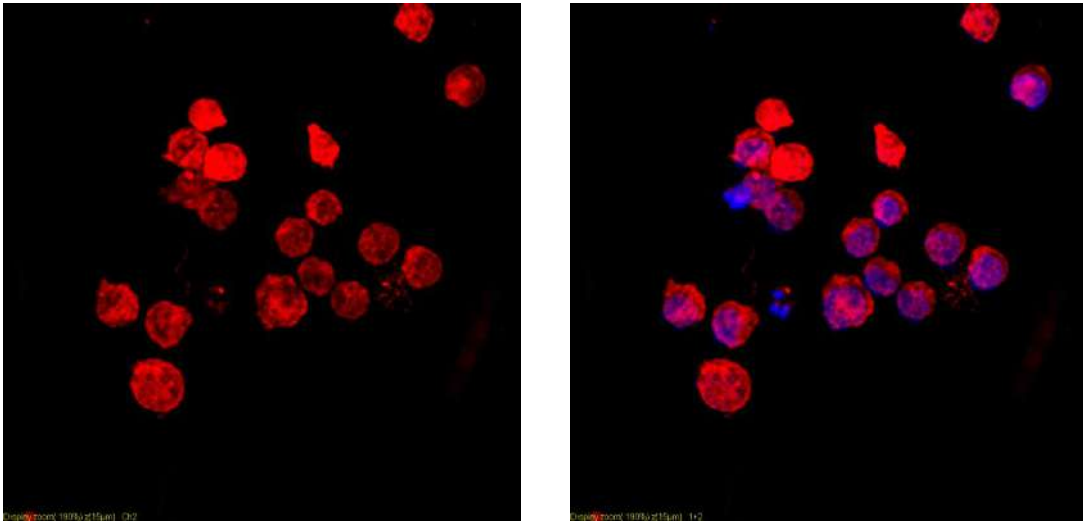
espacial  $D_{CT} = 2.93 \text{ \AA}$  desde el centroide donador hasta el aceptor, con una diferencia en el momento dipolar de 6.22 D. Aunque la presencia de los grupos *t*-butilo en **L2** resultó en una mayor fracción de carga de transferencia electrónica, la distancia espacial obtenida para **L3** es mayor, por lo que el índice de  $H = 1.33 \text{ \AA}$  representando un menor traslape entre los centroides donador y aceptor.

Finalmente, se realizaron pruebas de reconocimiento de  $\text{Zn}^{2+}$  con **L3** en células Jurkat, utilizando el mismo procedimiento (los estudios se realizaron a la par con **L1**). Los datos obtenidos por citometría de flujo introduciendo **L3**,  $\text{Zn}^{2+}$ , yoduro de propidio además de  $\text{Cu}^{2+}$  ( $20 \mu\text{M}$ ) en las células, indican que en este régimen de tinción también es posible discriminar las células vivas (región P1, Figura 2.42-Izquierda) de las células muertas (región P2, Figura 2.42-Derecha), así como la detección simultánea de fluorescencia de **L3** al detectar  $\text{Zn}^{2+}$  en presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  intracelularmente en  $450 \pm 50 \text{ nm}$  excitando a  $330 \text{ nm}$ . En este caso, la detección es ciertamente menor, pero debe considerarse también que se agregó una cantidad equivalente de  $\text{Cu}^{2+}$  que aunque no interfiere, la respuesta del sensor se mantiene, permitiendo determinar  $\text{Zn}^{2+}$  aún cuando existe un exceso de  $\text{Cu}^{2+}$  en la célula.

De igual manera, la Figura 2.42 muestra las imágenes obtenidas mediante microscopía de fluorescencia para las células Jurkat incubadas con  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y **L3**, logrando visualizarse la respuesta fluorescente en un ambiente intracelular conteniendo cobre (II).



**Figura 2.42.** (Izquierda) diagramas de dispersión frontal (FSC) vs lateral (SSC) y gráfico de fluorescencia (relativa a Pacific Blue-A) vs número de células fluorescentes, para a) células incubadas únicamente con  $Zn^{2+}$  y  $Cu^{2+}$ , b) células incubadas con  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  y **L3** medidas de inmediato y c) células incubadas con  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  y **L3** medidas 24 horas después.



**Figura 2.43.** Imágenes de fluorescencia de células Jurkat incubadas con  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  y **L3**. Izquierda: células conteniendo  $Zn^{2+}$  y  $Cu^{2+}$  a una concentración equimolar de  $20 \mu M$ , utilizando 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) como agente de tinción (rojo). Derecha: imagen obtenida después de agregar **L3** ( $20 \mu M$ ), fluorescencia en azul.

## 2.4 Propiedades fotofísicas de los derivados 9,9'-dioctil-2-(4-etinil-1-benzonitrilo)-9H-fluoreno (1NSD) y 2,4,6-tris[9,9'-dioctil-2-(etinil-1-fenil)-9H-fluoren]-1,3,5-triazina (3NSO).

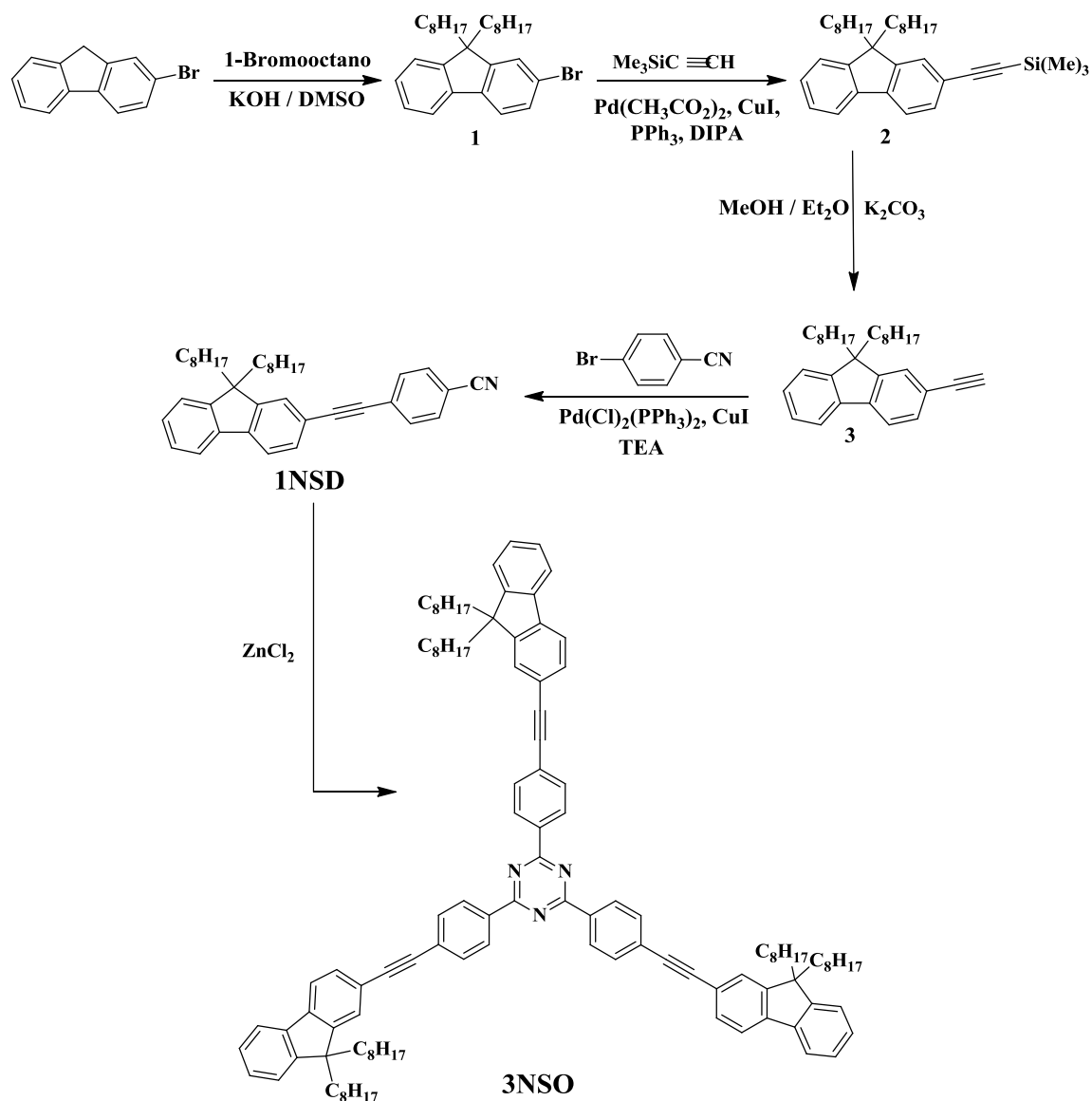
### 2.4.1 Síntesis y caracterización de derivados 1NSD y 3NSO.

Los derivados **1NSD** y **3NSO** se prepararon de acuerdo a la metodología mostrada en el Esquema 2.3. El compuesto **1NSD** se obtuvo mediante acoplamiento cruzado de Sonogashira entre el compuesto **3** y el 4-bromo-benzonitrilo utilizando  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$  y  $\text{CuI}$  como catalizadores, en presencia de trietilamina. La síntesis del compuesto **3NSO** se realizó mediante la reacción de ciclotrimerización del compuesto **1NSD** utilizando  $\text{ZnCl}_2$  como catalizador en estado sólido para formar el núcleo de 1,3,5-triazina.

Es importante mencionar que para la síntesis del derivado octupolar se probaron dos metodologías de síntesis que no resultaron en la formación del producto deseado, Esquema 2.4. Una de las metodologías consistió en la reacción de ciclotrimerización de **1NSD** utilizando ácido tríflico como catalizador en un caso, o anhídrido tríflico en otro caso. Sin embargo, todos los intentos realizados llevaron a la descomposición del enlace triple.

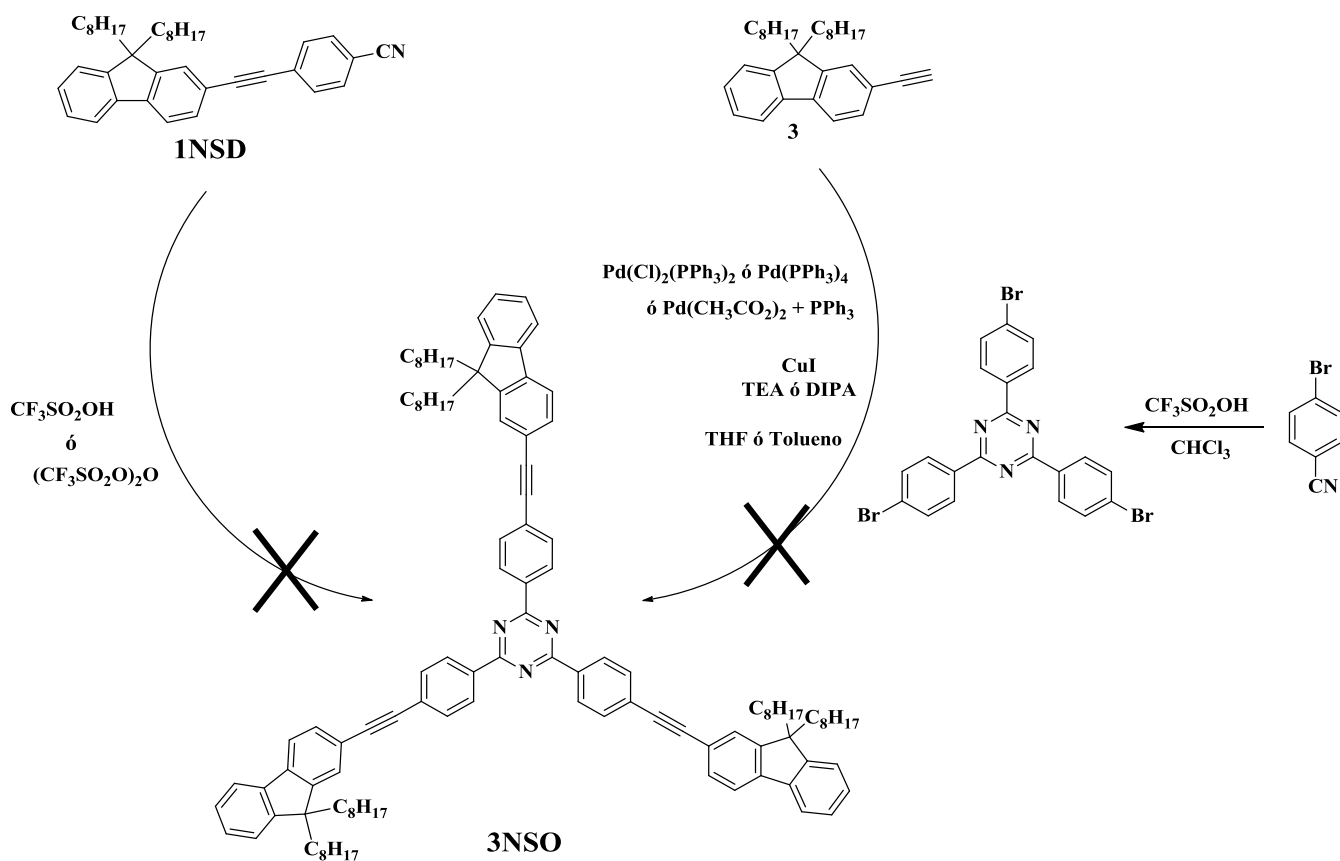
La segunda metodología consistió en efectuar la ruta sintética a través de una reacción de Sonogashira entre etinil-fluoreno (**3**) y el *tris*[2,4,6-(4-bromofenil)]-1,3,5-triazina previamente obtenido a partir de la ciclotrimerización de 4-bromo-benzonitrilo con ácido tríflico en cantidad catalítica. En este caso se intentó variar tanto los catalizadores, como los disolventes, bases y relaciones estequiométricas, sin tener éxito en la obtención del producto deseado. Uno de los principales problemas de esta metodología fue que el derivado de triazina (*tris*[2,4,6-(4-bromofenil)]-1,3,5-triazina) no es soluble en una gama amplia de disolventes, presentando baja solubilidad en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y  $\text{CHCl}_3$ . Por este motivo, el compuesto **1NSD** no se logró disolver de manera adecuada para su reacción, y en repetidas ocasiones sólo se logró obtener el producto de monoacoplamiento entre uno de los bromos de la triazina y un equivalente del compuesto **3**.





**Esquema 2.3** Metodología empleada para la síntesis de **1NSD** y **3NSO**.

Por otro lado, el interés en la síntesis de este tipo de compuestos monopolar (**1NSD**) y multipolar (**3NSO**) se derivó básicamente de la combinación de tres características deseables: 1) una estructura tipo D- $\pi$ -A para la transferencia de carga intramolecular, 2) una longitud de la cadena  $\pi$ -conjugada relativamente larga, para lograr una polarización eficiente de la densidad electrónica, y 3) en el caso particular de **3NSO** una geometría centrosimétrica que permita obtener un valor de  $\delta$  (sección cruzada para la absorción de dos fotones) grande. Sin embargo, el objetivo primordial detrás de la síntesis del compuesto de naturaleza dipolar o monopolar (**1NSD**) se centra en poder estudiar a detalle la naturaleza



Esquema 2.4 Metodología empleada para la síntesis de 1NSD y 3NSO.

de los estados de transferencia de carga comparativamente con la molécula de naturaleza octopolar o multipolar (3NSO).

Como se puede apreciar en el Esquema 2.3, los compuestos presentan en común al fluoreno como donador debido a su “gap” energético relativamente grande, como espaciador  $\pi$  al fragmento fenilacetileno el cual se encuentra directamente unido a 1,3,5-triazina en el caso de 3NSO o a un grupo nitrilo para 1NSD. Por otro lado, aunque los sustituyentes *n*-octilo no intervienen directamente en las propiedades fotofísicas de tales fluoróforos, tienen la función principal de aumentar la solubilidad en disolventes poco polares y no polares. Sin embargo, como se verá más adelante las cadenas de *n*-octilo juegan un papel importante en la geometría del estado sólido cristalino.

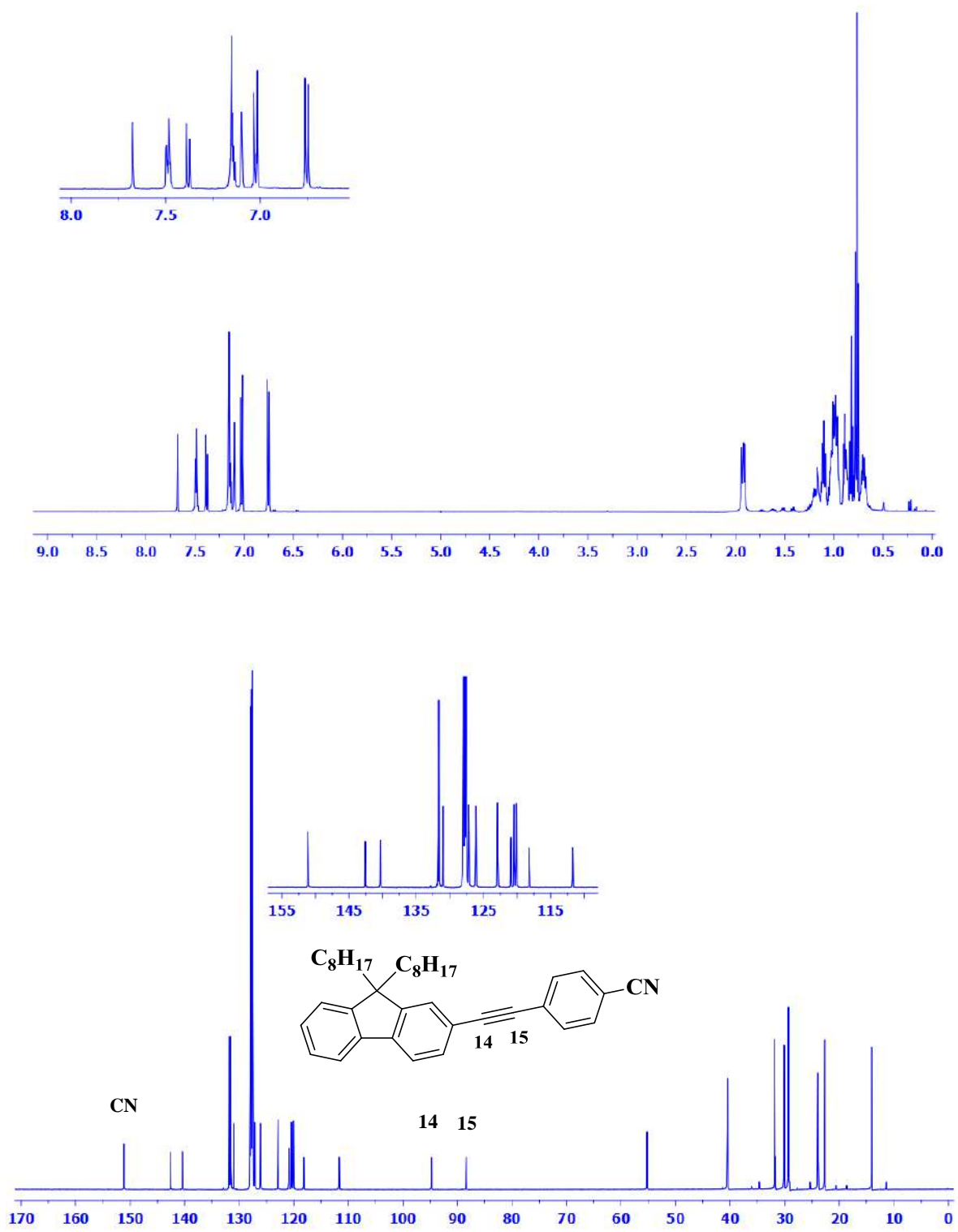
La caracterización mediante RMN en disolución confirmó la obtención los dos compuestos. Para **1NSD** en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtenido en  $\text{CDCl}_3$ , se observan las señales en 94.9 y 87.7 ppm provenientes del enlace triple desplazadas con respecto al mismo grupo proveniente del etinilfluoreno (84.7 y 77.3 ppm). Asimismo se observa una señal en 150.9 ppm correspondiente al carbono cuaternario del grupo nitrilo (Figura 2.44).

Para el compuesto **3NSO** el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtenido en  $\text{CDCl}_3$ , se observan las señales en 93.8 y 89.5 ppm correspondiente al grupo alquino y la señal de los carbonos cuaternarios del anillo de triazina en 171.1 ppm. Como se puede observar ocurrió un desplazamiento considerable hacia frecuencias altas comparado con el carbono del grupo nitrilo en **1NSD** desplazándose a 150.9 ppm, (Figura 2.45).

#### **2.4.2 Análisis de la estructura cristalina y cálculos TD-DFT, aspectos geométricos y frecuencias vibracionales del equivalente dipolar (1NSD).**

En términos generales y desde el punto de vista estructural, las propiedades de transferencia de carga de una molécula están en función del grado de planaridad y rigidez de su sistema  $\pi$ -conjugado, de su longitud, de la fuerza de los grupos donador y aceptor y de la distancia en la que se lleva a cabo la transferencia de carga. En consecuencia, es de gran importancia conocer y analizar detalladamente las características geométricas de la molécula en cuestión. En este sentido, el análisis de la geometría ya sea mediante la estructura de rayos-X o incluso mediante la geometría optimizada con cálculos de estructura electrónica, son herramientas valiosas.

En el caso de la molécula **1NSD** todos sus componentes juegan un papel importante en sus propiedades fotofísicas. Por ejemplo, en el proceso de disolución (para cristalización) las cadenas de *n*-octilo ortogonales al plano de la molécula (Figura 2.46) tienden a aumentar la solubilidad de la molécula por el incremento de las interacciones atractivas con las moléculas de disolvente. Así, la estructura resultante está esencialmente controlada por interacciones intermoleculares débiles (cadena-cadena) e intramoleculares fuertes (cadena-disolvente) a lo largo de la cadena de *n*-octilo.



**Figura 2.44** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de 1NSD.

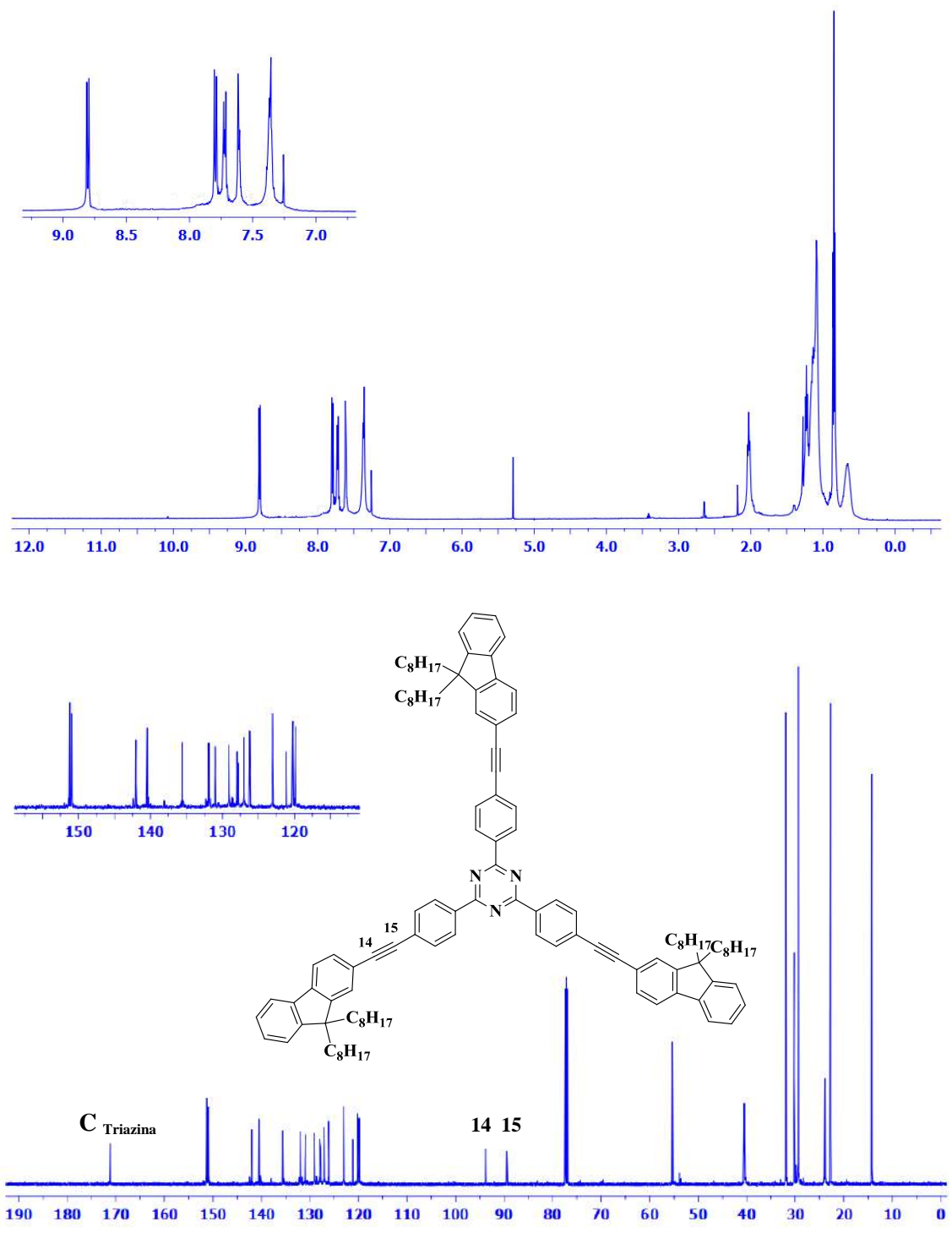
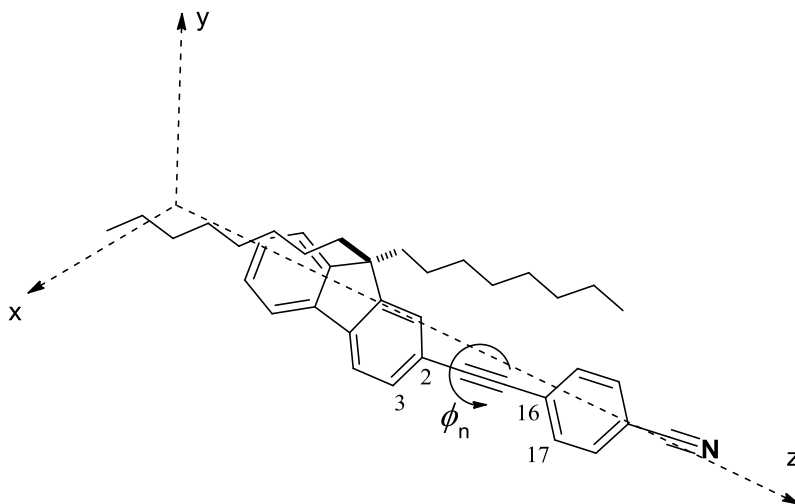


Figura 2.45 Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CDCl}_3$  (500 MHz) de 3NSO.

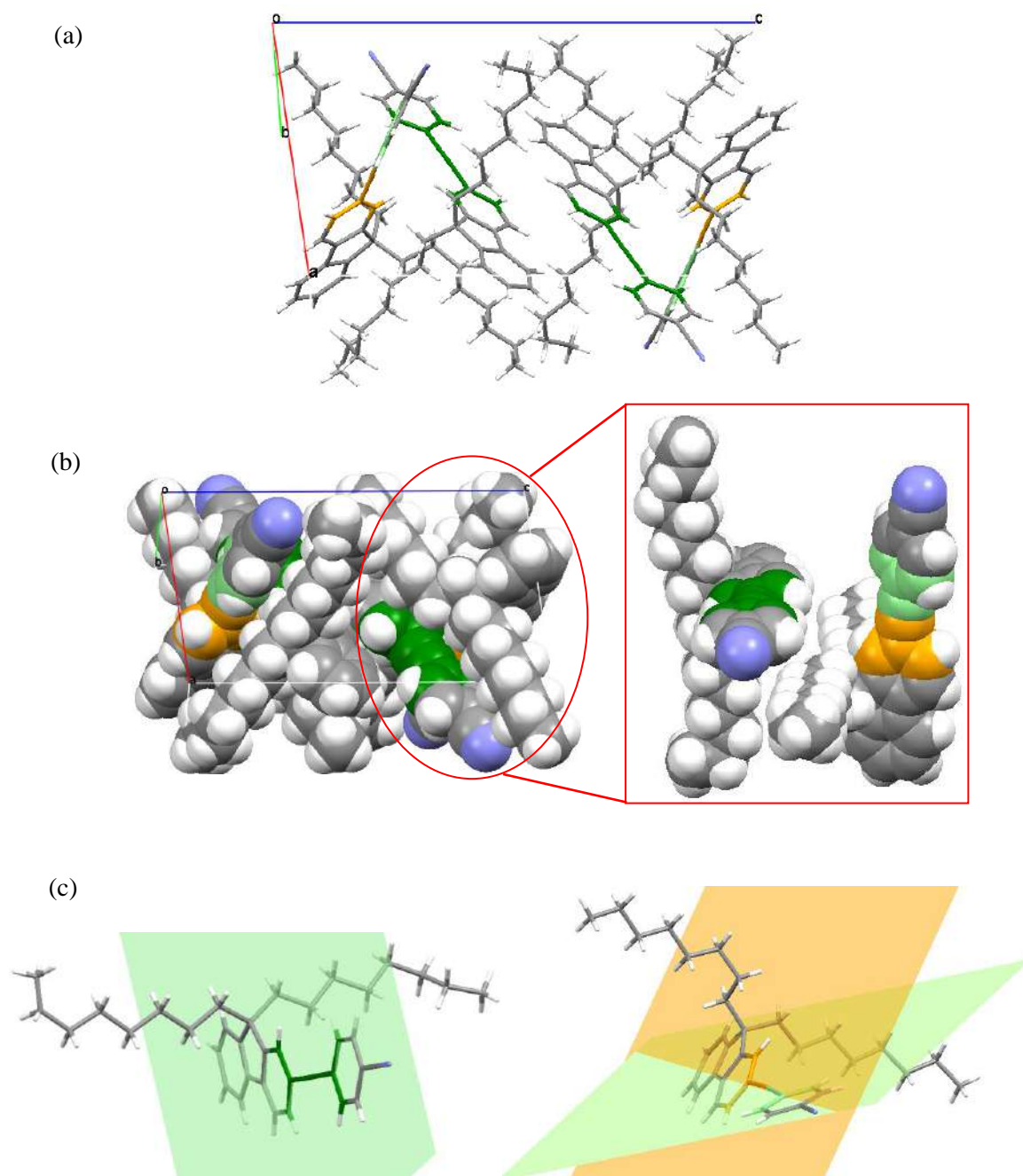
Adicionalmente, el fragmento  $\pi$ -conjugado principal o eje principal también juega un papel importante en la solubilidad. En este contexto, la morfología de las cadenas afecta directamente el empaquetamiento cristalino de la molécula.



**Figura 2.46** Definición del eje principal de **1NSD** a lo largo del eje z y del ángulo diedro  $\Phi_n(3,2,16,17)$  donde el subíndice n (A,B) indica las moléculas A y B en la celda unitaria mencionadas adelante.

La molécula **1NSD** cristalizó en el grupo espacial triclínico *P-1* conteniendo cuatro moléculas por celda unitaria. El eje principal de la molécula presenta un sistema  $\pi$ -electrónico comenzando del fluoreno hasta el grupo nitrilo. Asimismo, **1NSD** mostró un empaquetamiento cristalino compacto o cerrado, Figura 2.47. En esta figura también se resalta el ángulo diedro  $\Phi_n(3,2,16,17)$  para las dos moléculas de la celda unitaria (que se pueden diferenciar con los subíndices A y B) definido en la Figura 2.46. Como se puede observar, se tienen dos moléculas geoméricamente distintas, la molécula **1NSD-A** presenta un ángulo diedro  $\Phi_A(3,2,16,17)$  de  $6.76^\circ$  mientras que una segunda molécula **1NSD-B** dicho ángulo  $\Phi_B(3,2,16,17)$  tiene un valor de  $38.51^\circ$ , Figura 2.47c. Esta diferencia en la geometría es lo suficientemente fuerte como para cambiar en cierta magnitud las propiedades fotofísicas de **1NSD-B** con respecto a **1NSD-A** al cambiar directamente el nivel energético de la molécula. De hecho, el gap energético calculado mediante TD-DFT [B3LYP/6-31G(d,p)] para la transición HOMO – LUMO cambia de 2.51 eV en **1NSD-A** a 3.50 eV para **1NSD-B**. Sin embargo, para **1NSD-A** la transición HOMO-1 – LUMO es la

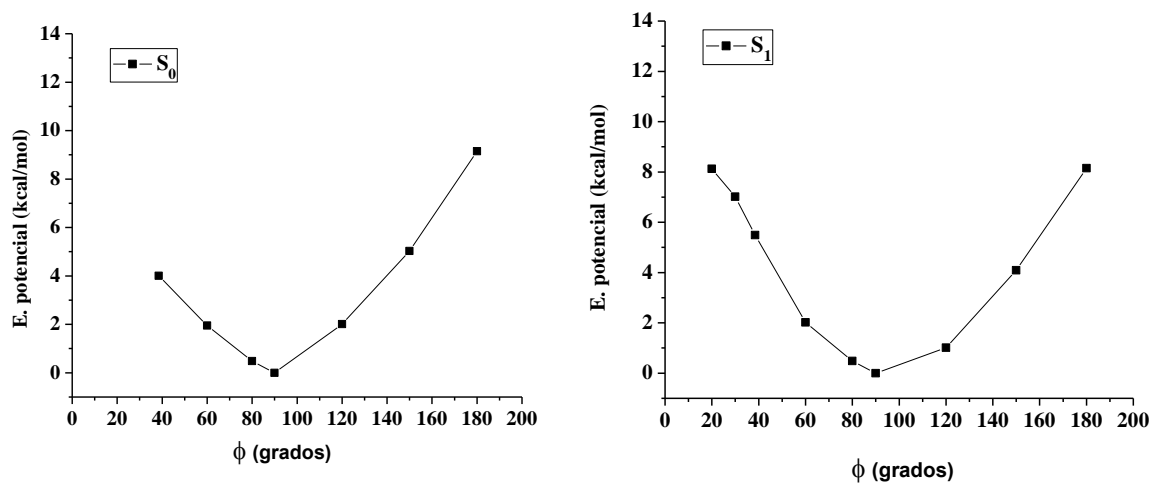
que representa la mayor probabilidad de transición y no la HOMO – LUMO como en el caso de **1NSD-B**.



**Figura 2.47** Diagrama tipo (a) *capped sticks* y (b) *spacefill* del empaquetamiento cristalino de **1NSD** a lo largo del eje  $b^*$ . (c) representación con planos del ángulo diedro  $\Phi_A(3,2,16,17)$  para la molécula **1NSD-A** a la izquierda y  $\Phi_B(3,2,16,17)$  para la molécula **1NSD-B** a la derecha.

Estas diferencias tan marcadas en ambas geometrías muestran que las propiedades optoelectrónicas de la molécula dependen directamente de la rotación del grupo acetileno puente, denotado por  $\Phi_n$ .

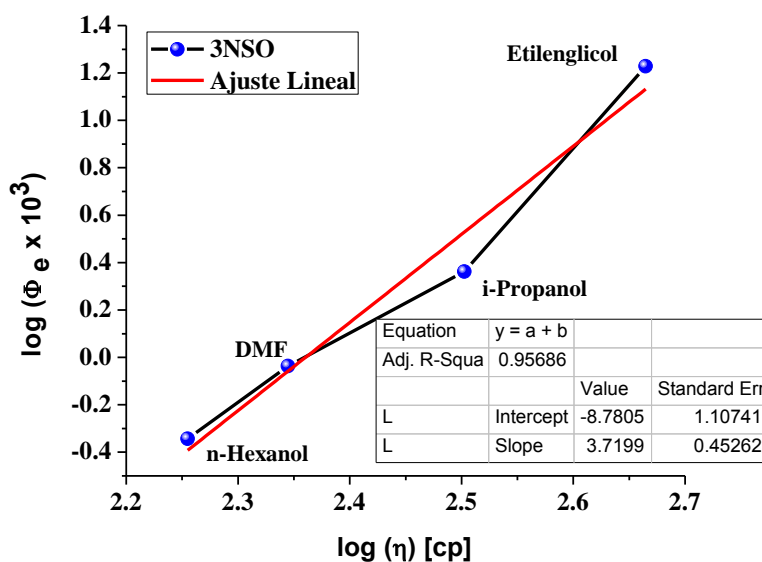
Por lo anterior se decidió hacer un análisis de la dinámica de rotación del grupo acetileno, en el estado basal y en el primer estado excitado mediante TD-DFT. Comenzando con la estructura de mínima energía de **1NSD** se estudiaron los cambios energéticos que resultan de las variaciones del ángulo diedro  $\Phi$  (3,2,16,17). Así, la rotación del fragmento de acetileno se estudió evaluando la energía potencial vs el ángulo diedro  $\Phi$ , en  $S_0$  y  $S_1$  utilizando un nivel de teoría B3LYP/6-31G(d,p)/CAM = acetonitrilo. A temperatura ambiente y en un disolvente no viscoso, los extremos entorno al grupo acetileno probablemente están rotando en al menos un intervalo amplio de  $\Phi$ . La Figura 2.48 muestra el perfil de energía potencial del estado basal en acetonitrilo en función de  $\Phi$  correspondiente a la optimización completa de los otros grados de libertad de la molécula pero manteniendo fijos los valores de  $\Phi$ . Como se puede observar, la barrera energética para la rotación completa de  $\Phi$  es de 12.1 kcal/mol, considerando como 0 kcal/mol al mínimo de energía el cual corresponde a  $\Phi = 90^\circ$ . Por su parte, en el estado  $S_1$  en principio se observa un ligero aumento de la rigidez de la molécula alrededor del mínimo (corresponde a  $\Phi = 90^\circ$ ) y una barrera alrededor de 10 kcal/mol.



**Figura 2.48** Diagrama de energía potencial vs  $\Phi$  (3,2,16,17) para **1NSD** en el (a) estado basal ( $S_0$ ) y en el (b) estado excitado ( $S_1$ ).

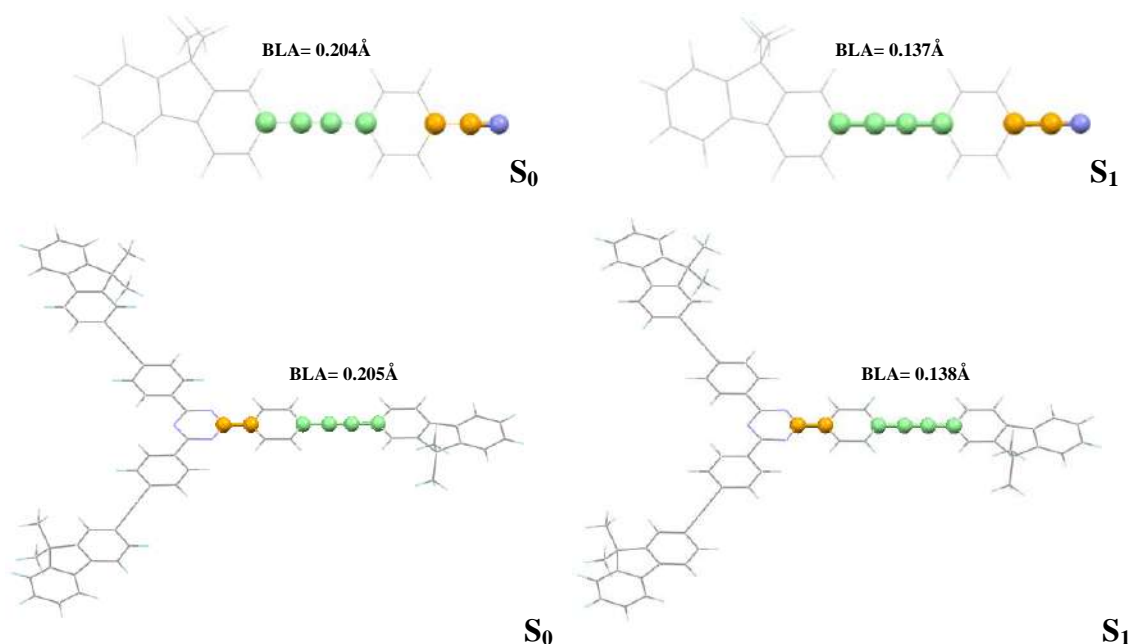


En el caso de la molécula **3NSO** la rotación del grupo acetileno se estudió en términos de la relación de Förster-Hoffmann,<sup>93</sup> ya que un rotor molecular fluorescente debe cumplir con ciertas propiedades como un desplazamiento de Stocks grande, una alta modulación de la longitud máxima de emisión en función del medio y una alta sensibilidad del rendimiento cuántico en función de la viscosidad del medio. En este caso se observó que la molécula **3NSO** cumple con todas estas características, haciendo que la rotación del grupo acetileno sea altamente modulable y sensible al entorno químico. Para los rotores moleculares fluorescentes existen dos vías de des-activación del estado excitado, la rotación intramolecular no-radiativa y la emisión de fluorescencia. Así, la viscosidad del disolvente interfiere en la velocidad de desactivación por la rotación intramolecular no-radiativa que subsecuentemente influencia el rendimiento cuántico. Förster y Hoffmann encontraron una relación entre el rendimiento cuántico de fluorescencia  $\Phi_F$  y la viscosidad  $\eta$  dada por la relación:  $\log(\Phi_F) = x \log \eta + C$ , donde el coeficiente  $x$  representa una constante dependiente de la molécula. La Figura 2.49 muestra una gráfica doble logarítmica entre  $\Phi_F$  y  $\eta$ . La linealidad observada en la gráfica doble logarítmica para este compuesto indica una respuesta del movimiento conformacional de **3NSO** con respecto a la viscosidad.



**Figura 2.49** Gráfica doble logarítmica de Förster-Hoffmann para **3NSO** en *n*-Hexanol ( $\Phi_F = 0.1799$ ,  $\eta = 0.453$  cP), DMF ( $\Phi_F = 0.2211$ ,  $\eta = 0.920$  cP), *i*-Propanol ( $\Phi_F = 0.3181$ ,  $\eta = 2.303$  cP) y Etilenglicol ( $\Phi_F = 0.4620$ ,  $\eta = 16.901$  cP).

Por otro lado, en relación a las propiedades fotofísicas relacionadas a los cambios geométricos, es bien sabido que la diferencia entre la geometría del estado electrónico basal ( $S_0$ ) y el excitado ( $S_1$ ) está asociada al desplazamiento de Stokes. En la Figura 2.50 se muestra una comparación entre las geometrías  $S_0$  y  $S_1$  para **1NSD** (plano) y **3NSO**. Aunque las geometrías son cualitativamente similares, se determinó que las longitudes de enlace son significativamente diferentes. En el estado basal, el análisis de la alternancia de longitud de enlace (BLA, Bond Length Alternation) que se refiere a la diferencia entre las longitudes del enlace triple y sencillo, tiene un valor de 0.204 y 0.205 Å para **1NSD** y **3NSO** respectivamente, mientras que después de la transición electrónica al estado  $S_1$  los valores son de 0.137 y 0.138 Å, respectivamente. Este resultado sugiere una mejora considerable en la deslocalización de electrones  $\pi$  tras la excitación electrónica a lo largo del puente localizado entre el donador y el aceptor.



**Figura 2.50** Comparación de la geometría entre el estado basal  $S_0$  y el primer estado excitado  $S_1$ , para **1NSD** (arriba) y **3NSO** (abajo). Las distancias comparadas se ilustran en color verde. El nivel de teoría utilizado fue B3LYP/6-31G(d,p).

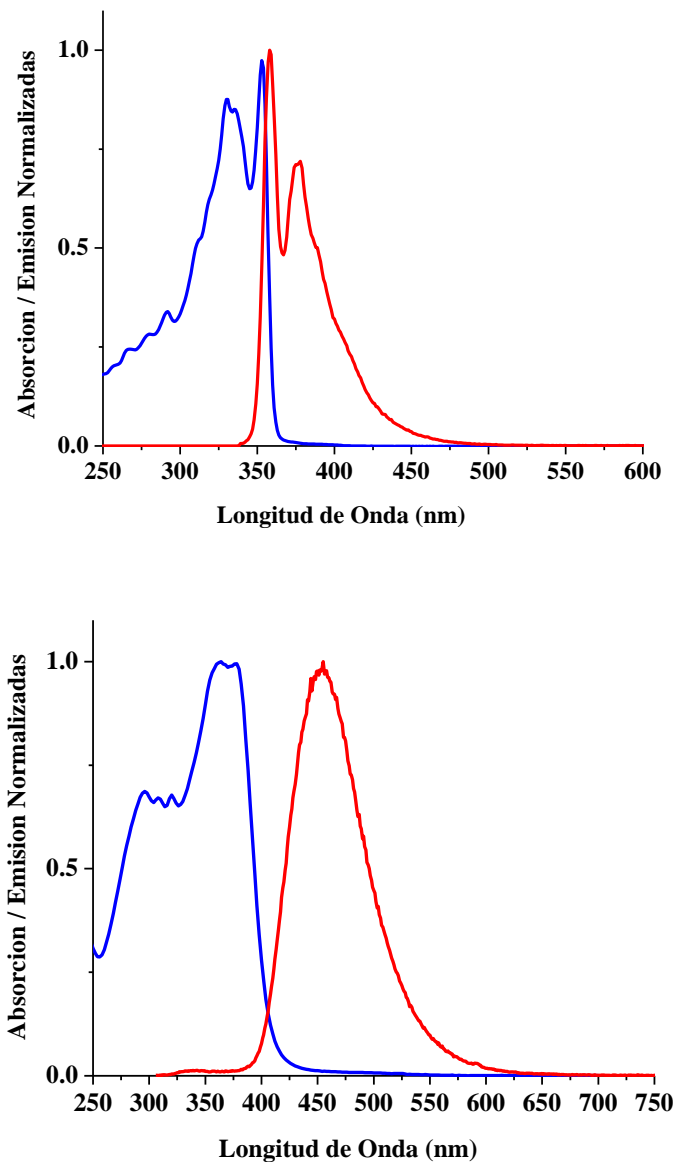
Por otro lado, se determinó el parámetro de Coordenadas de Conjugación Efectiva (ECC, Effective Conjugation Coordinate), el cual está directamente involucrado en el cambio de geometría del estado  $S_0$  al  $S_1$ . El análisis ECC ofrece información para los modos vibracionales característicos correspondientes a la simultánea elongación/contracción entre el enlace triple/sencillo. Así, para el estado  $S_0$  el ECC se encuentra en  $2304\text{ cm}^{-1}$  y  $2303\text{ cm}^{-1}$  para **1NSD** y **3NSO**, respectivamente; en contraste, para el estado  $S_1$  el ECC está situado en  $2247\text{ cm}^{-1}$  y  $2239\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Además, las frecuencias vibracionales correspondientes al estiramiento simétrico y simultáneo de los enlaces C-H en los dos sistemas moleculares varían ligeramente, entre  $0.2$  y  $0.6\text{ cm}^{-1}$  con la transición electrónica. De esta manera se puede corroborar que tanto el compuesto de naturaleza dipolar como el octupolar presentan valores similares en los parámetros geométricos de BLA y ECC, lo cual es consistente con los desplazamientos de Stokes observados (ver la siguiente sección).

### 2.4.3 Propiedades fotofísicas en disolución de **1NSD** y **3NSO**

La Figura 2.51 muestra los espectros de absorción y de fluorescencia de **1NSD** y **3NSO** determinados en acetonitrilo, donde resalta además del desplazamiento batocrómico observado en ambos espectros al pasar de **1NSD** a **3NSO**, una marcada diferencia en el desplazamiento de Stokes de  $2 \times 10^6\text{ cm}^{-1}$  (5 nm) en **1NSD** y de  $5570.19\text{ cm}^{-1}$  (92 nm) en **3NSO**. Resulta interesante que debido a la alta rigidez de **1NSD** el desplazamiento de Stokes es demasiado pequeño y de hecho se logró observar en este disolvente una resolución vibracional de ambos espectros dando lugar a las bandas vibracionales 0 – 0 en 353 nm y 0 – 1 en 330 nm. Dicha banda en general fue asignada a la transición electrónica del  $\pi \rightarrow \pi^*$  proveniente del fluoreno (mayoritariamente). Asimismo este compuesto sigue la regla del espejo, de tal manera que la forma de la banda en el espectro de fluorescencia es la imagen especular de la banda de absorción.

En el caso de **3NSO** se tiene un desplazamiento de Stokes bastante amplio, que sugiere la existencia de cambios conformacionales importantes en el estado excitado de la molécula,

probablemente debidos a su tamaño y la competencia energética de las tres ramificaciones por alcanzar una geometría de mínima energía en  $S_1$ .



**Figura 2.51** Espectros de absorción (azul) y de fluorescencia (rojo) obtenidos en acetonitrilo para **1NSD**,  $\lambda_{(\max)\text{Abs}} = 353 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{(\max)\text{Em}} = 358 \text{ nm}$ , (arriba) y **3NSO**,  $\lambda_{(\max)\text{Abs}} = 363 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{(\max)\text{Em}} = 455 \text{ nm}$ , (abajo).

Con la finalidad de estudiar las propiedades ópticas no-lineales de ambas moléculas, primeramente se decidió hacer un estudio detallado de sus propiedades de transferencia de

carga intramolecular (ICT), lo cual es de fundamental importancia para entender la naturaleza de los estados de transferencia de carga (estados CT) y con ello el mecanismo de absorción de dos fotones y su correspondiente fluorescencia. Las propiedades ICT se estudiaron mediante un análisis solvatocrómico combinado de Lippert-Mataga y Catalán-Kamlet-Taft para tener evidencia cuantitativa del cambio en el momento dipolar (estático) entre  $S_1$  y  $S_0$  y del efecto de los parámetros de disolvente como acidez, basicidad, polarizabilidad y polaridad en las propiedades fotofísicas. Asimismo, las propiedades estudiadas se correlacionaron con cálculos TD-DFT/PCM para analizar los parámetros de transferencia de carga con la excitación electrónica, y en este caso en particular se realizó un análisis de orbitales naturales de transición (NTO, Natural Transition Orbitals)<sup>94</sup> ya que este análisis ofrece una descripción más aproximada y compacta de la naturaleza de la transición electrónica de interés (en este caso  $S_0 \rightarrow S_1$ ) en términos de configuraciones de hueco y electrón.

*Análisis Solvatocrómico.* Nuevamente, el efecto de las interacciones de disolvente sobre la absorción y fotoluminiscencia de los compuestos **1NSD** y **3NSO** se investigaron en términos de la aproximación de Lippert-Mataga, Tabla 2.9 y Figura 2.52 para **1NSD**, y Tabla 2.10 y Figura 2.53 para **3NSO**. Como se observa en estas figuras, las bandas de absorción de ambas moléculas no muestran cambios significativos en función de la polaridad del disolvente. Por el contrario, los espectros de fluorescencia sufren un fuerte desplazamiento batocrómico a medida que aumenta la polaridad del disolvente, lo que sugiere que el momento dipolar es más grande en el estado excitado con respecto al estado basal.

Con los datos obtenidos de los espectros de absorción y fluorescencia se obtuvo el gráfico de Lippert, donde se observó una tendencia no-lineal en general para ambas moléculas, Figura 2.54. Sin embargo, es factible obtener información de la región comprendida entre 0.05 y 0.3 donde las tendencias mantienen cierta linealidad y así obtener un valor aproximado de la diferencia del momento dipolar entre el estado excitado y el basal ( $\Delta\mu$ ).

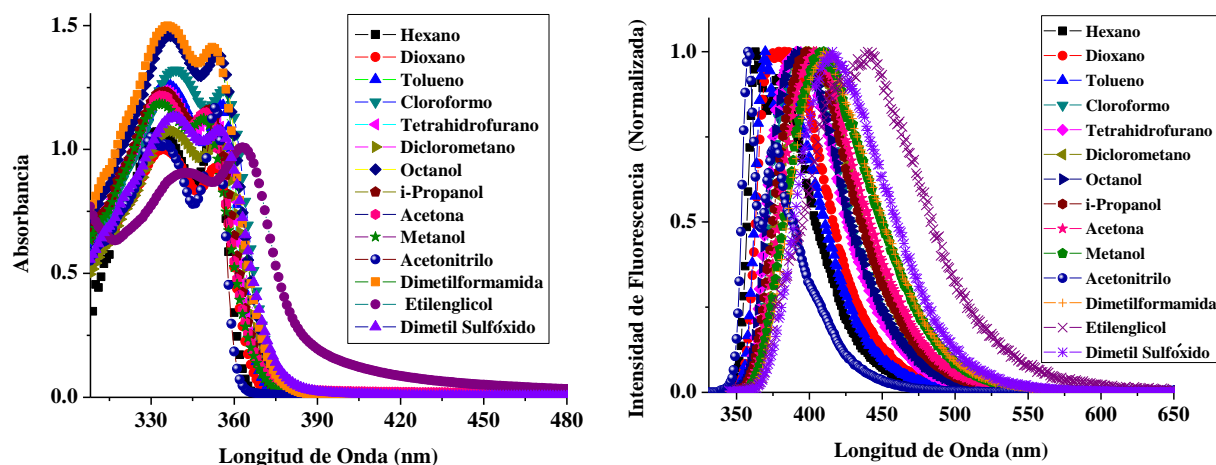


Figura 2.52 (a) Espectros de absorción y (b) de fluorescencia de **INSD** en distintos disolventes.

Tabla 2.9 Propiedades fotofísicas de **INSD** en distintos disolventes (para las bandas  $\nu_{0-1}$ ).<sup>a</sup>

Disolvente	$\epsilon$	$n$	$\Delta f$	$\lambda_a$ (nm)	$\bar{\nu}_a$ (cm <sup>-1</sup> )	$\lambda_e$ (nm)	$\bar{\nu}_e$ (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{\nu}_a - \bar{\nu}_e$
<i>n</i> -Hexano	2.02	1.4235	0	332	30120.48	363	27548.209	2572.271
Dioxano	2.22	1.4224	0.021	334	29940.119	383	26109.66	3830.459
Tolueno	2.38	1.4961	0.013	335	29850.746	369	27100.27	2750.476
Cloroformo	4.81	1.4459	0.148	338	29585.799	391	25575.447	4010.352
THF	7.52	1.4050	0.210	335	29850.746	392	25510.20	4340.546
DCM	8.93	1.4242	0.217	337	29673.59	395	25316.455	4357.135
<i>n</i> -Octanol	10.30	1.4295	0.225	336	29761.90	394	25380.71	4381.19
<i>i</i> -Propanol	20.18	1.3776	0.277	334	29940.119	399	25062.656	4877.463
Acetona	21.01	1.3588	0.285	333	30030.03	403	24813.896	5216.134
Metanol	33.00	1.3288	0.308	333	30030.03	410	24390.24	5639.79
ACN	36.64	1.3442	0.305	331	30211.48	358	27932.96	2278.52
DMF	36.70	1.4305	0.274	335	29850.746	409	24449.878	5400.868
Etilenglicol	41.40	1.4320	0.276	336	29761.90	440	22727.27	7034.63
DMSO	46.68	1.4793	0.263	337	29673.59	416	24038.46	5635.13

<sup>a</sup>: Constante dieléctrica, ( $\epsilon$ ), índice de refracción, ( $n$ ); Parámetro de orientación de la polarizabilidad, ( $\Delta f$ ); longitud de onda de absorción, ( $\lambda_a$ ); número de onda de absorción, ( $\bar{\nu}_a$ ); longitud de onda de emisión, ( $\lambda_e$ ); número de onda de emisión, ( $\bar{\nu}_e$ ). Notación de disolventes: THF (tetrahidrofurano), DCM (diclorometano), ACN (acetonitrilo), DMF (Dimetilformamida), DMSO (Dimetil sulfóxido).

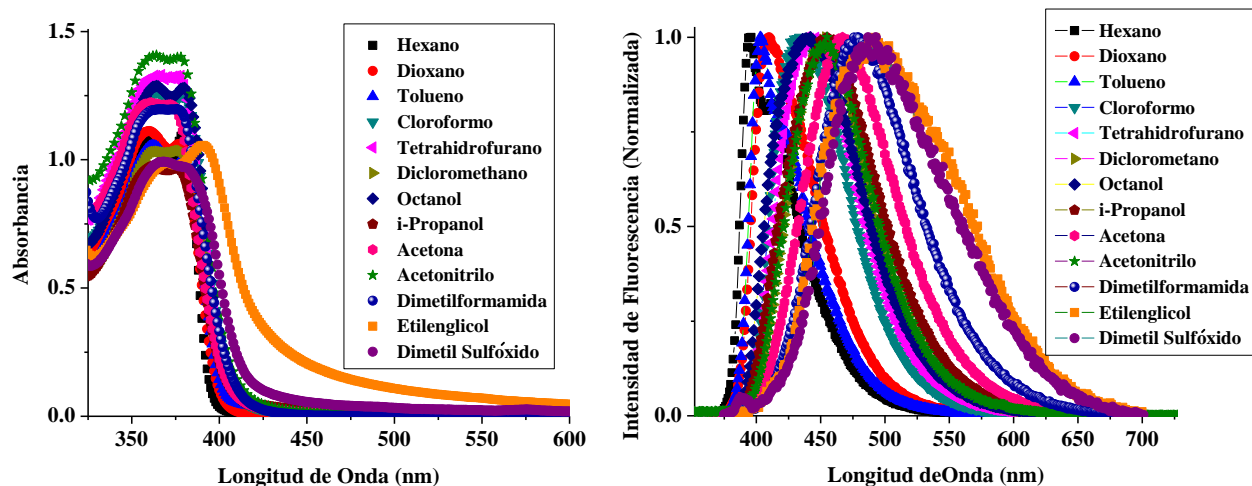


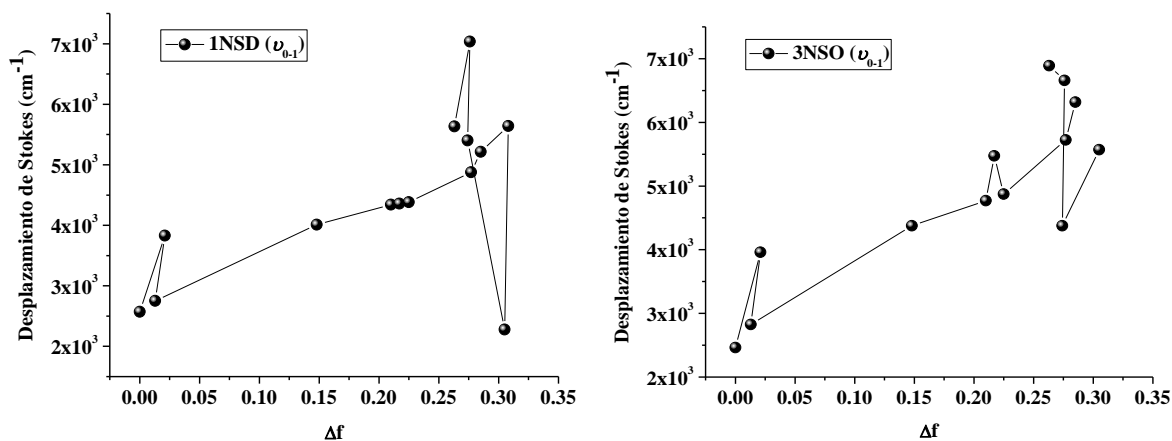
Figura 2.53 (a) Espectros de absorción y (b) de fluorescencia de 3NSO en distintos disolventes.

Tabla 2.10 Propiedades fotofísicas de 3NSO en distintos disolventes (para las bandas  $\nu_{0-1}$ ).<sup>a</sup>

Disolvente	$\epsilon$	$n$	$\Delta f$	$\lambda_a$ (nm)	$\bar{\nu}_a$ (cm <sup>-1</sup> )	$\lambda_e$ (nm)	$\bar{\nu}_e$ (cm <sup>-1</sup> )	$\bar{\nu}_a - \bar{\nu}_e$
<i>n</i> -Hexano	2.02	1.4235	0	360	27777.778	395	25316.456	2461.32
Dioxano	2.22	1.4224	0.021	352	28409.09	409	24449.878	3959.21
Tolueno	2.38	1.4961	0.013	361	27700.83	402	24875.62	2825.21
Cloroformo	4.81	1.4459	0.148	364	27472.527	433	23094.688	4377.84
THF	7.52	1.4050	0.210	363	27548.209	439	22779.043	4769.17
DCM	8.93	1.4242	0.217	363	27548.209	453	22075.055	5473.15
<i>n</i> -Octanol	10.30	1.4295	0.225	363	27548.209	441	22675.737	4872.47
<i>i</i> -Propanol	20.18	1.3776	0.277	361	27700.83	455	21978.02	5722.81
Acetona	21.01	1.3588	0.285	360	27777.778	466	21459.227	6318.55
Metanol	33.00	1.3288	0.308	---	---	---	---	---
ACN	36.64	1.3442	0.305	363	27548.209	455	21978.02	5570.19
DMF	36.70	1.4305	0.274	364	27472.527	433	23094.688	4377.84
Etilenglicol	41.40	1.4320	0.276	370	27027.027	491	20366.60	6660.43
DMSO	46.68	1.4793	0.263	368	27173.91	493	20283.976	6889.93

<sup>a</sup>: Constante dieléctrica, ( $\epsilon$ ), índice de refracción, ( $n$ ); Parámetro de orientación de la polarizabilidad, ( $\Delta f$ ); longitud de onda de absorción, ( $\lambda_a$ ); número de onda de absorción, ( $\bar{\nu}_a$ ); longitud de onda de emisión, ( $\lambda_e$ ); número de onda de emisión, ( $\bar{\nu}_e$ ). Notación de disolventes: THF (tetrahidrofurano), DCM (diclorometano), ACN (acetonitrilo), DMF (Dimetilformamida), DMSO (Dimetil sulfóxido).

De la pendiente en la región polar se calculó un  $\Delta\mu$  de 12.53 D (pendiente =  $8,988 \pm 783$ ,  $R^2 = 0.95$ ) utilizando un radio de Onsager de 5.59 Å para **1NSD** estimado por Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT). De manera análoga, el valor de  $\Delta\mu$  calculado para **3NSO** fue de 23.15 D (pendiente =  $10,829 \pm 1320$ ,  $R^2 = 0.94$ ) utilizando un radio de Onsager de 7.91 Å. Como se puede notar, el valor obtenido en la componente dipolar para el arreglo octupolar (de **3NSO**) es sumamente elevado, lo cual puede indicar que las interacciones de transferencia de carga obedecen a un comportamiento no-simétrico acumulativo del sistema molecular completo (las tres subunidades de fluoreno) debido a la posible existencia de un estado dipolar ICT con rompimiento de la simetría de las subunidades de fluoreno.<sup>95</sup> Este comportamiento es factible, ya que los estados CT formados pueden presentar diferente estabilidad debido a que los grupos donador-aceptor que no forman parte de un estado transferencia de carga pueden desestabilizar el sistema molecular al entrar en competencia por formar parte de dicho estado.



**Figura 2.54** Gráficos de Lippert-Mataga para el compuesto **1NSD** (Izquierda) y **3NSO** (Derecha).

El comportamiento no-lineal global da evidencia de que el efecto general de la polaridad del disolvente no es el único factor importante en el desplazamiento solvatocrómico observado, de tal manera que los efectos específicos de disolvente en conjunto con la transferencia de carga intramolecular, pueden estar presentes.



Por ello, se llevó a cabo nuevamente un análisis solvatoacrómico en términos de la escala empírica de Catalán, con el fin de entender los parámetros del disolvente que afectan a las propiedades fotofísicas ( $\bar{\nu}_{\text{ABS}}$ ,  $\bar{\nu}_{\text{EM}}$  y  $\Delta\bar{\nu}$ ) en **1NSD** y **3NSO**.

Como se mencionó anteriormente, los parámetros {SA, SB, SP, SDP}, definidos en el capítulo 1, para cada disolvente se tomaron de la referencia 40. Los coeficientes de regresión  $y_0$ ,  $a_{\text{SA}}$ ,  $b_{\text{SB}}$ ,  $c_{\text{SP}}$  y  $d_{\text{SDP}}$ , así como los errores estándar y el coeficiente de correlación multilínea,  $r$ , obtenidos para ambas moléculas se presentan en la Tabla 2.11 y los valores con los que se realizaron las regresiones se listan en la Tabla 2.12. En el caso de  $\bar{\nu}_{\text{ABS}}$  se obtuvo un ajuste multilínea de 0.86, resultando interesante que el efecto de la polarizabilidad del disolvente ejerció mayor influencia en la absorción y *no la polaridad*. Esto es importante puesto que la escala empírica de Catalán resulta ser más efectiva para diferenciar efectos de polaridad y polarizabilidad por separado (a diferencia de la escala de Kamlet-Taft).<sup>41</sup> Más aún, la respuesta selectiva a la polarizabilidad vs polaridad es una propiedad muy deseable y con mucho interés en el desarrollo de nuevos sensores moleculares de micro-/macro-ambiente químico.<sup>96</sup>

Asimismo, para el proceso de fluorescencia ( $\bar{\nu}_{\text{EM}}$ ) se determinó un comportamiento similar, aunque en el caso del desplazamiento de Stokes no se observó una tendencia clara.

**Tabla 2.11** Coeficientes  $y_0$ ,  $a_{\text{SA}}$ ,  $b_{\text{SB}}$ ,  $c_{\text{SP}}$  y  $d_{\text{SDP}}$  for  $\bar{\nu}_{\text{abs}}$ ,  $\bar{\nu}_{\text{em}}$ , estimados y  $\Delta\bar{\nu}$  (en  $\text{cm}^{-1}$ ), coeficientes de correlación múltiple ( $r$ ) obtenidos para **1NSD** y **3NSO** en 14 disolventes de acuerdo a los parámetros empíricos de Catalán {SA, SB, SP, SdP} listados en la **Tabla 2.12**.

Observable	$y_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$a_{\text{SA}}$	$b_{\text{SB}}$	$c_{\text{SP}}$	$d_{\text{SDP}}$	$r$
<b>1NSD</b> $\bar{\nu}_{\text{abs}}$	31440 ± 326	-122 ± 150	-64 ± 133	<b>-2158 ± 448</b>	40 ± 114	0.860
<b>1NSD</b> $\bar{\nu}_{\text{em}}$	32892 ± 2444	-2794 ± 1127	-1340 ± 1001	<b>-7696 ± 3365</b>	-1367 ± 854	0.863
<b>1NSD</b> $\Delta\bar{\nu}$	-1452 ± 2330	-2671 ± 1075	-1277 ± 954	-5539 ± 3209	1407 ± 814	0.860
<b>3NSO</b> $\bar{\nu}_{\text{abs}}$	28942 ± 376	-584 ± 184	100 ± 142	<b>-1655 ± 521</b>	-266 ± 120	0.910
<b>3NSO</b> $\bar{\nu}_{\text{em}}$	26153 ± 2385	-2220 ± 1172	-299 ± 904	-871 ± 3306	<b>-3730 ± 762</b>	0.921
<b>3NSO</b> $\Delta\bar{\nu}$	2789 ± 2291	1636 ± 1125	399 ± 867	-784 ± 3175	<b>3464 ± 732</b>	0.910

**Tabla 2.12** Parámetros empíricos de disolvente de Catalán, {SA, SB, SP, SdP}.<sup>a</sup>

Disolvente	SP	SdP	SA	SB
Hexano	0.616	0	0	0.056
Dioxano	0.737	0.312	0	0.444
Tolueno	0.782	0.284	0	0.128
Cloroformo	0.783	0.614	0.047	0.071
Tetrahidrofurano	0.714	0.634	0	0.591
Diclorometano	0.761	0.769	0.04	0.178
Octanol	0.713	0.454	0.299	0.923
i-Propanol	0.633	0.808	0.283	0.83
Acetona	0.651	0.907	0	0.475
Metanol	0.608	0.904	0.605	0.545
Acetonitrilo	0.645	0.974	0.044	0.286
Dimetilformamida	0.759	0.977	0.031	0.613
Etilenglicol	0.777	0.91	0.717	0.534
Dimetil sulfóxido	0.83	1	0.072	0.647

<sup>a</sup> Los datos experimentales de máximos de absorción, emisión y desplazamiento de Stokes para **1NSD** y **3NSO** se tomaron de las Tablas 2.9 y 2.10, respectivamente.

Por otro lado, en el caso del compuesto **3NSO** se encontró que la polarizabilidad en el proceso de absorción ( $\bar{\nu}_{\text{ABS}}$ ), la polaridad en el de fluorescencia ( $\bar{\nu}_{\text{EM}}$ ) y desplazamiento de Stokes ( $\Delta\bar{\nu}$ ) ejercen mayor influencia. Esto permitió establecer que en el caso de esta molécula los procesos de relajación por disolvente y de emisión de fluorescencia están dirigidos por la polaridad del medio (y no la polarizabilidad). Por otro lado, el proceso de absorción resulta fuertemente dependiente de la polarizabilidad del medio. Este comportamiento es ideal para que un fluoróforo presente desplazamientos batocrómicos fuertes y por lo tanto un efecto solvatocrómico elevado, ya que la molécula puede diferenciar estos dos parámetros en cada proceso fotofísico, haciéndola interesante en aplicaciones como sensor de microambiente químico.

#### 2.4.4 Propiedades de absorción de dos fotones (TPA) y emisión promovida por la absorción de dos fotones (TFEF).

*Cálculos computacionales DFT y TD-DFT.* Los estados de transferencia de carga (CT) son fundamentales para mejorar las propiedades fotofísicas de fluoróforos dipolares y/o

multipolares, ya que su interacción da lugar a una redistribución de carga dada una fotoexcitación. Como se mencionó anteriormente, qué tan eficiente es esa redistribución, depende de factores geométricos de la molécula como el arreglo tipo D- $\pi$ -A y la longitud de la cadena  $\pi$ -conjugada, lo cual promueve una polarización eficiente de la densidad electrónica. Sin embargo, el diseño de este tipo de moléculas requiere escoger adecuadamente a los grupos D y A y además establecer la longitud y naturaleza química del puente  $\pi$ -conjugado, lo anterior se complica aún más cuando se desea diseñar una molécula que también presente propiedades no-lineales como TPA, ya que se requieren satisfacer ciertas condiciones para que el término T de la ecuación 13 sea dominante.

$$\delta_{fg} = \frac{1}{5} \left[ \underbrace{\left( \frac{\Delta\mu_{gf}\mu_{gf}}{h\nu} \right)^2}_{\text{Término D}} + \sum_{i \neq f,g} \underbrace{\left( \frac{\mu_{gi}^2 \mu_{if}^2}{(E_{gi} - h\nu)^2} \right)}_{\text{Término T}} \right] \quad \text{Ec. 13}$$

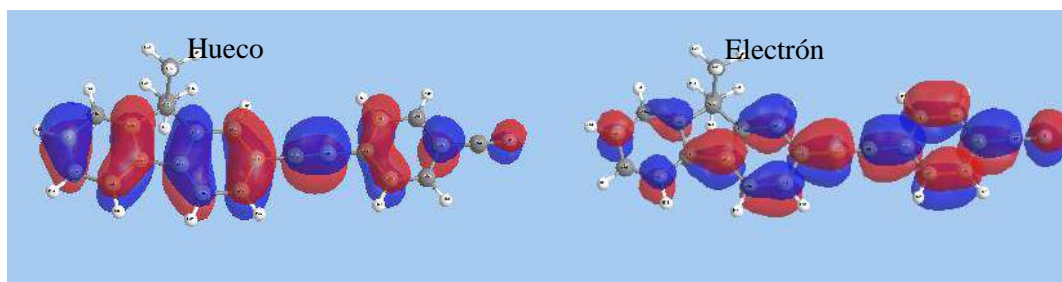
Una de esas condiciones consiste en diseñar una molécula con un momento (dinámico) de transición grande. Por ello, lograr determinar ya sea cualitativamente o incluso cuantitativamente el momento (dinámico) de transición, representado como  $\mu_{gi}$  y  $\mu_{gf}$  según la Figura 1.14, comprende un verdadero reto tanto experimental como teórico.

Afortunadamente, en la actualidad es posible lograr una aproximación bastante adecuada del momento de transición para dos estados dados –ya sea entre un estado basal  $|g\rangle$  y uno excitado  $|e\rangle$  o entre alguno de ellos con un estado intermedio  $|i\rangle$ , de acuerdo al proceso fotofísico a estudiar– que consiste en utilizar descriptores de orbitales moleculares. Estos descriptores son de gran utilidad puesto que ayudan a visualizar la distribución de carga a partir de una excitación electrónica. No obstante, los cálculos precisos de las propiedades TPA como  $\delta$  deben incorporar efectos de correlación electrónica, conocidos como interacción de configuración (CI, Configuration Interaction),<sup>97</sup> y por consiguiente los estados excitados no pueden ser descritos mediante simples cambios en la ocupación de orbitales moleculares. Para resolver esta dificultad de manera significativa es posible hacer uso de los orbitales naturales de transición (NTO), los cuales ofrecen la descripción más

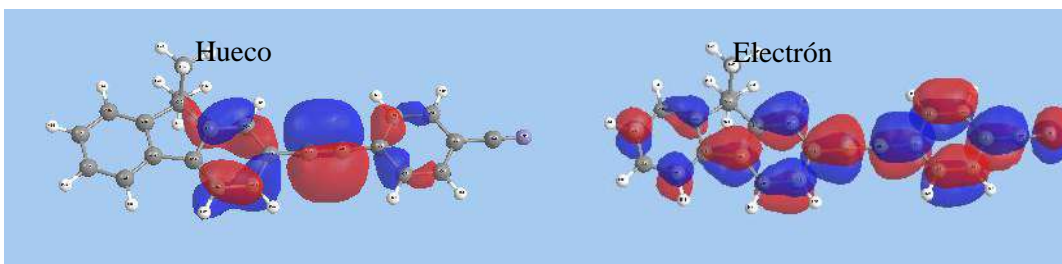
precisa entre los estados excitados y el estado basal en términos de dinámicas o distribuciones de hueco-electrón correspondientes a una excitación.

La Figura 2.55 muestra los desplazamientos de carga obtenidos mediante TD-DFT, asociados a  $\mu_{gf}$  en **1NSD**. Para esta molécula la banda de TPA corresponde a la transición del estado  $1A \rightarrow 2A$  (considerando una simetría  $C_2$ ). Como se puede observar en la Figura 2.55a, el *hueco* está distribuido uniformemente a lo largo del eje mayor de la molécula, mientras que el *electrón* está ligeramente más localizado alrededor del fragmento acetileno-benzonitrilo, esta transición es justamente la correspondiente a los niveles HOMO – LUMO e implica una transferencia de carga muy ligera. Sin embargo, la Figura 2.55b muestra la transición correspondiente a HOMO-1 – LUMO, en la cual el nivel HOMO-1 está bien localizado en el centro de la molécula, por lo que esta transición resulta en un desplazamiento neto de carga.

**a) 1NSD: |1> ; 3.384 eV ; w = 0.7 ; f = 1.403**



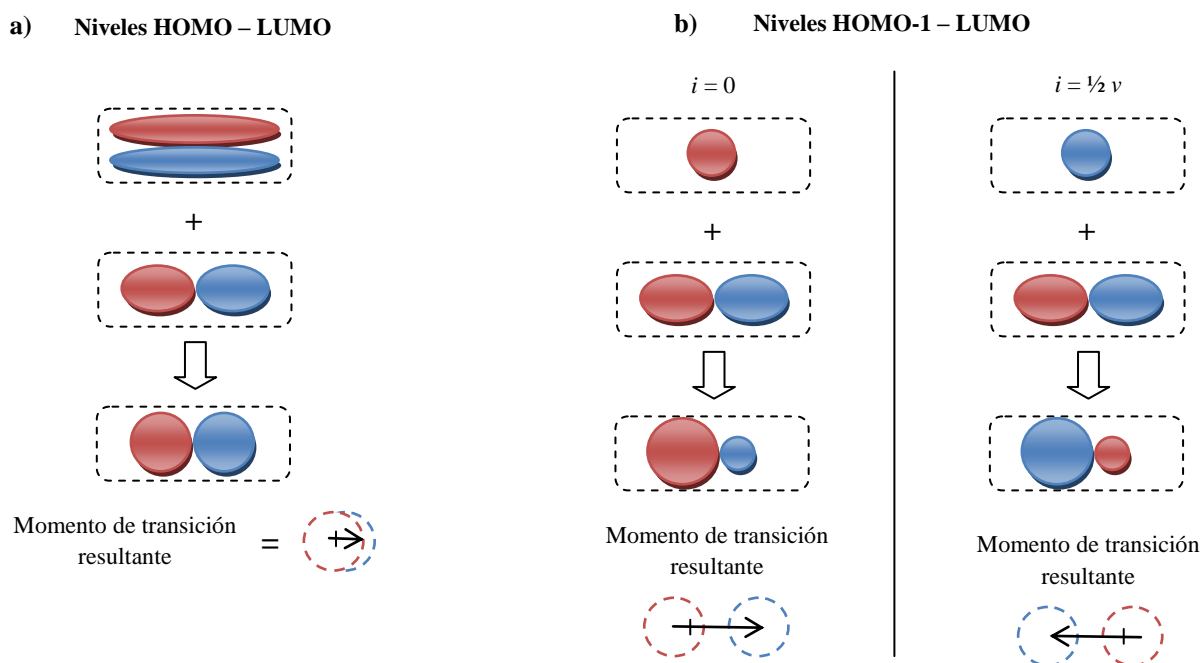
**b) 1NSD: |1> ; 4.270 eV ; w = 0.48 ; f = 0.188**



**Figura 2.55** Orbitales naturales de transición (NTO) de los estados basal  $1A$  y excitado  $2A$  para los niveles (a) HOMO–LUMO y (b) HOMO-1–LUMO. El enunciado en cada inciso indica de izquierda a derecha: nombre de la molécula; el número del estado excitado; su energía de excitación en eV; la fracción de contribución del par NTO en esa excitación electrónica ( $w$ ); y fuerza del oscilador ( $f$ ).

Por lo anterior, se puede establecer que este desplazamiento de carga correspondiente mayoritariamente a los niveles HOMO-1 – LUMO es el responsable de la respuesta TPA observada ( $\delta_{TPA} = 10.91$  GM, Tabla 2.13). La respuesta TPA observada, aunque es relativamente baja, resulta interesante puesto que al tratarse de una molécula de naturaleza dipolar (no-centrosimétrica) es considerablemente grande.

La Figura 2.56 muestra una representación simplificada sin efectos de correlación electrónica para **INSD** (donde los nodos en los orbitales de transición de la Figura 2.55 se despreciaron, considerándose sólo los nodos correspondientes al grupo acetileno). La polarización se puede observar solamente cuando se sobreponen los niveles HOMO-1 y LUMO, donde la amplitud resultante es grande en una región de la molécula y pequeña en otra, dando como resultado un desplazamiento momentáneo de carga o momento de transición,  $\mu_{gf}$ , en ambos intervalos de fase  $\pi$  ( $0 \nu$  y  $\frac{1}{2} \nu$ ).



**Figura 2.56** a) Representación simplificada de las funciones de onda y de los momentos de transición para las transiciones  $|g\rangle \rightarrow |e\rangle$  correspondientes a los niveles HOMO – LUMO en **INSD** y b) correspondientes a HOMO-1 – LUMO en dos intervalos de la función de onda  $\pi$  ( $0 \nu$  y  $\frac{1}{2} \nu$ ). Los colores azul y rojo indican amplitudes negativas y positivas de la función de onda, respectivamente.

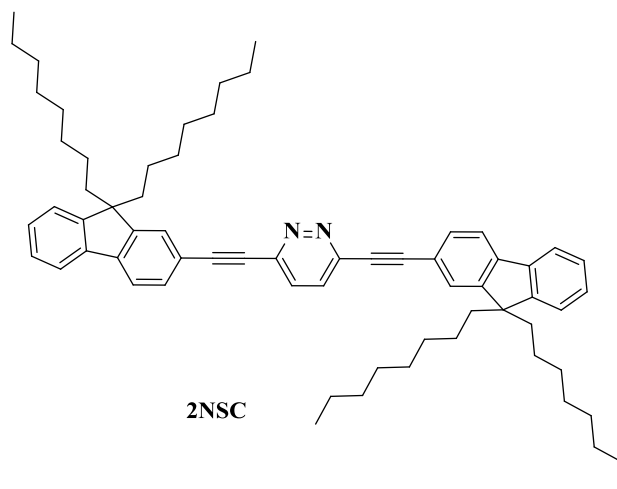
Este momento de transición resultante de la interacción *hueco* – *electrón* suele tener un tiempo de vida demasiado corto, pero esa presencia de un hueco en HOMO-1 y de un electrón en LUMO las cuales están polarizadas, pueden dirigir uno y hasta dos fotones en al menos una pequeña cantidad, dando lugar a que esta molécula de naturaleza dipolar pueda exhibir una respuesta TPA.

De hecho, la probabilidad de exhibir respuesta TPA obedece a la existencia transiente de un *hueco* en HOMO-1 y de un *electrón* en LUMO, que generan momentos de transición los cuales determinan el grado de respuesta. En el caso de moléculas de naturaleza octupolar, el momento de transición generado es el resultado de la interacción específica entre el primer fotón con los niveles HOMO – LUMO y el segundo fotón con los niveles HOMO-1 – LUMO.

La respuesta TPA obtenida experimentalmente para **3NSO** fue de 202.09 GM (Tabla 2.13), un valor suficientemente grande comparándolo con el compuesto dipolar y del mismo orden de magnitud comparándolo con compuestos similares descritos anteriormente.<sup>98-99</sup> Dentro de los compuestos estudiados en la literatura el descrito por Prasad,<sup>100</sup> presentó valores de 199 a 216 GM que obedecen a la presencia de un grupo difenil-amino unido al fluoreno, un sustituyente fuertemente electrodonador, el cual a su vez está unido directamente (a través de un enlace sencillo) a un núcleo de triazina. En el caso del compuesto **3NSO** no se sustituyó ningún grupo electrodonador adicional en el fluoreno, sin embargo la diferencia radica en que los grupos donador-aceptor están unidos a través de un triple enlace, lo que alarga la distancia del puente  $\pi$ -conjugado y favorece la polarización de la densidad de carga.

Como se mencionó, la respuesta TPA obtenida para el derivado octupolar es mucho mayor comparado con el derivado dipolar. Sin embargo, con la finalidad de comprender si el arreglo octupolar es en realidad el óptimo, se decidió compararlo con un derivado cuadrupolar. Para ello se decidió preparar el derivado **2NSC**, mostrado en la Figura 2.57. Como se puede apreciar, el compuesto cuadrupolar presenta dos átomos de nitrógeno en el núcleo central (piridazina) como grupo electroattractor, unido a dos fragmentos de etinil-fluoreno como grupo electrodonador. Sin embargo, este compuesto presentó inestabilidad

química en disolución, lo que dificultó su purificación puesto que descomponía con el tiempo a una especie no fluorescente.

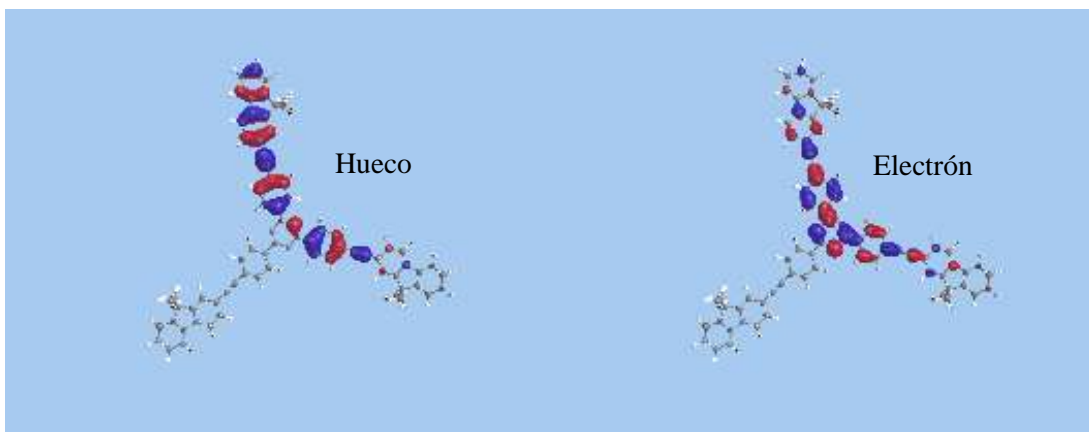


**Figura 2.57** Compuesto **2NSC**.

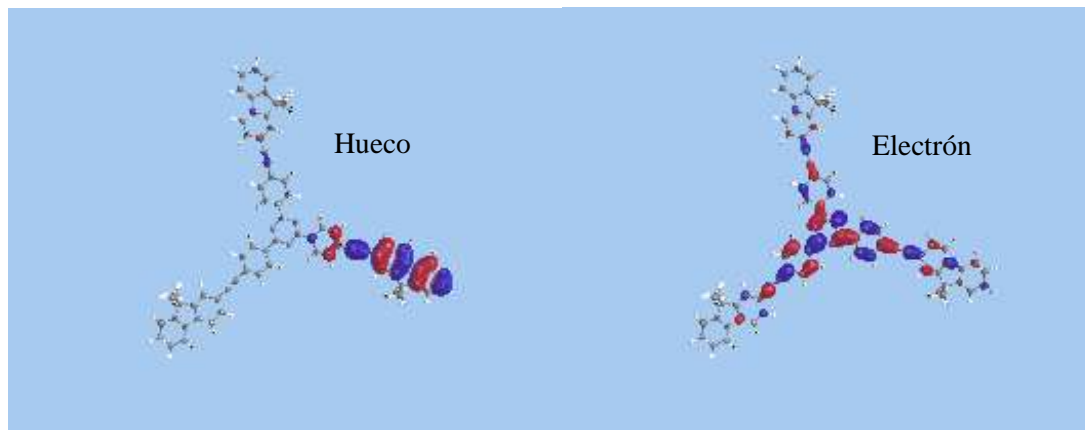
La Figura 2.58 muestra los desplazamientos de carga obtenidos mediante TD-DFT, asociados a  $\mu_{gi}$  y  $\mu_{gf}$  en **3NSO**, donde el primer estado excitado está doblemente degenerado. Además los valores de fuerza del oscilador para esos dos estados son mucho mayores con respecto a los de los demás estados, por lo que la sección cruzada de TPA puede calcularse considerando sólo los tres estados (basal  $|g\rangle$ , y los dos excitados  $|e_1\rangle$  y  $|e_2\rangle$ ) de manera confiable.

En este caso, para el grupo puntual  $C_{3h}$  (o  $C_3$ ) la función del estado basal corresponde a la representación  $A'$  (o  $A$  para  $C_3$ ), mientras que los otros dos estados (isoenergéticos) corresponden a las representaciones  $E'$  (o  $E$  para  $C_3$ ). De esta manera, el estado basal y los dos estados excitados isoenergéticos están permitidos por simetría para el proceso de absorción bi-fotónica, TPA.<sup>98</sup>

a) 3NSO: |1> ; 2.951 eV ; w = 0.5 ; f = 2.124



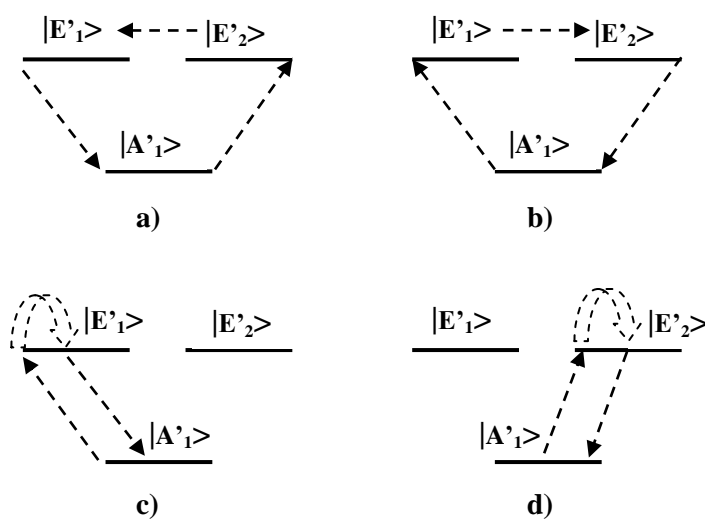
b) 3NSO: |1> ; 2.952 eV ; w = 0.5 ; f = 2.124



**Figura 2.58** Orbitales naturales de transición (NTO) de los estados basal 1A y excitado 2A para los niveles (a) HOMO–LUMO+1 y (b) HOMO-1–LUMO. El enunciado en cada inciso indica de izquierda a derecha: nombre de la molécula; el número del estado excitado; su energía de excitación en eV; la fracción de contribución del par NTO en esa excitación electrónica (w); y fuerza del oscilador (f).

Si se considera el arreglo octupolar compuesto por tres ejes de transferencia de carga (o brazos del fragmento que contiene fluoreno), la posibilidad de que exista un rompimiento de la simetría produce dos posibles contribuciones de carácter dipolar (Figura 2.59c,d).





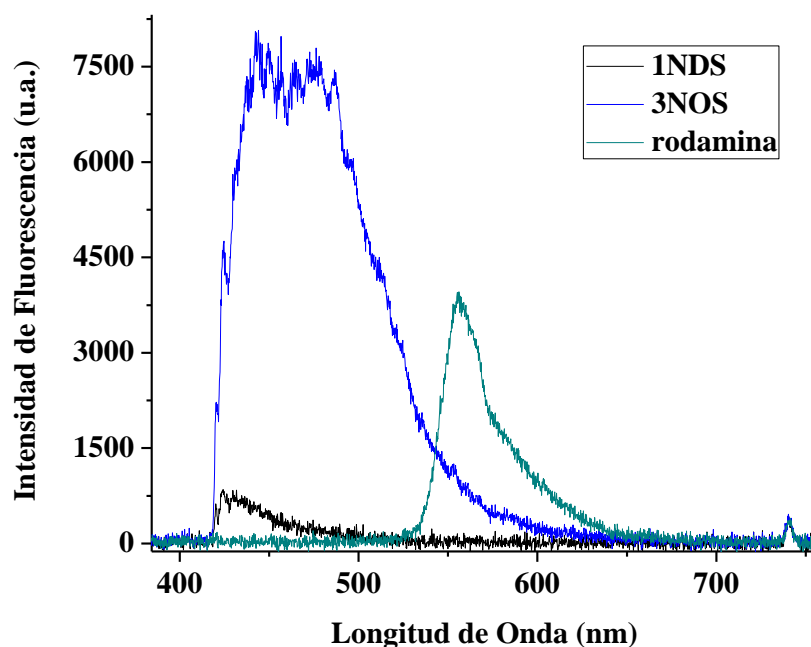
**Figura 2.59** Diagramas de niveles energéticos asociados a 4 transiciones (los estados excitados isoenergéticos se denotan por  $|E'_1\rangle$  y  $|E'_2\rangle$ ). En a) y b) la contribución es puramente octupolar, mientras que en c) y d) la contribución es dipolar.

Como se puede observar en la Figura 2.58a, el *hueco* está esparcido uniformemente sobre dos brazos de fluoreno de la molécula, mientras que el *electrón* tiende a localizarse hacia el núcleo de triazina, poblando los mismos dos brazos de fluoreno (aunque prácticamente sin distribución en el fluoreno). Esta transición corresponde a los niveles HOMO – LUMO e implica ya una transferencia de carga importante. En la Figura 2.58b se muestra la transición correspondiente a los niveles HOMO-1 – LUMO; en ella se observa al *hueco* esparcido uniformemente sobre un solo brazo de fluoreno y al *electrón* fuertemente localizado en el núcleo de trifenil-triazina conteniendo, lo cual confiere a esta transición un carácter de transferencia de carga muy pronunciado que resulta comparativamente mayor al anterior.

En consecuencia, se puede establecer que este desplazamiento de carga donde el anillo de triazina definitivamente actúa como un electroattractor fuerte que rompe la simetría de la transferencia de carga debido a la naturaleza octupolar de la molécula, y donde contribuyen los niveles HOMO-1, HOMO y LUMO, es el responsable de la respuesta TPA medida ( $\delta_{\text{TPA}} = 202.09 \text{ GM}$ , Tabla 2.13), una respuesta significativa comparando con la molécula dipolar, debido al efecto octupolar.

## 2.4.5 Medición de $\delta_{TPA}$ en nanoagregados de 3NSO.

La Figura 2.60 muestra los espectros de emisión promovida por la absorción de dos fotones para 1NSD y 3NSO y la Tabla 2.13 los valores de la sección cruzada de TPA correspondientes. Como se puede notar, la relación de la respuesta TPA entre 3NSO y 1NSD es aproximadamente 20 veces mayor para el compuesto octupolar el cual incluso es 4 veces mayor comparado con la Rodamina.



**Figura 2.60** Espectros de fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones (a 740 nm), para 1NSD, 3NSO y rodamina como referencia.

**Tabla 2.13.** Valores de sección cruzada de TPA obtenidos a diferentes longitudes de onda en THF ( $1 \times 10^{-4}$  M).<sup>a</sup>

Compuesto	740 nm	750 nm	800 nm
1NSD	10.90959	---	---
3NSO	202.09063	258.30652	137.98977

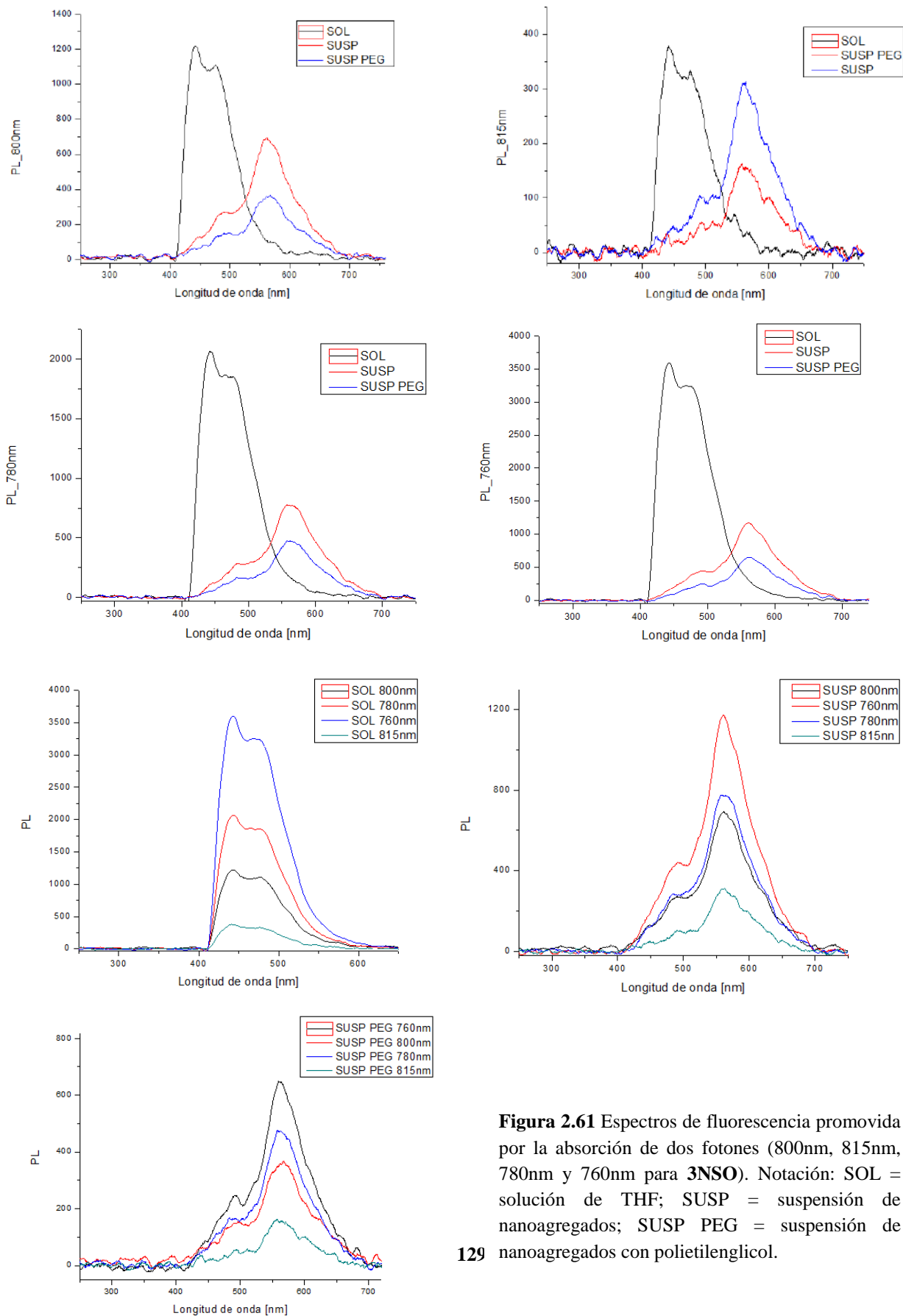
<sup>a</sup> Los valores obtenidos están en unidades de GM. En todos los casos se utilizó Rodamina disuelta en metanol ( $1 \times 10^{-3}$  M) como referencia,  $\Phi_{rod} = 0.95$ .

Como se puede notar, la respuesta de la molécula octupolar es considerablemente mayor. Sin embargo, con la finalidad de aumentar el valor de  $\delta_{\text{TPA}}$  en dicha molécula, se decidió preparar nanoagregados, ya que su formación debe incrementar la superficie activa de absorción de dos fotones al confinar un mayor número de moléculas en un espacio menor.

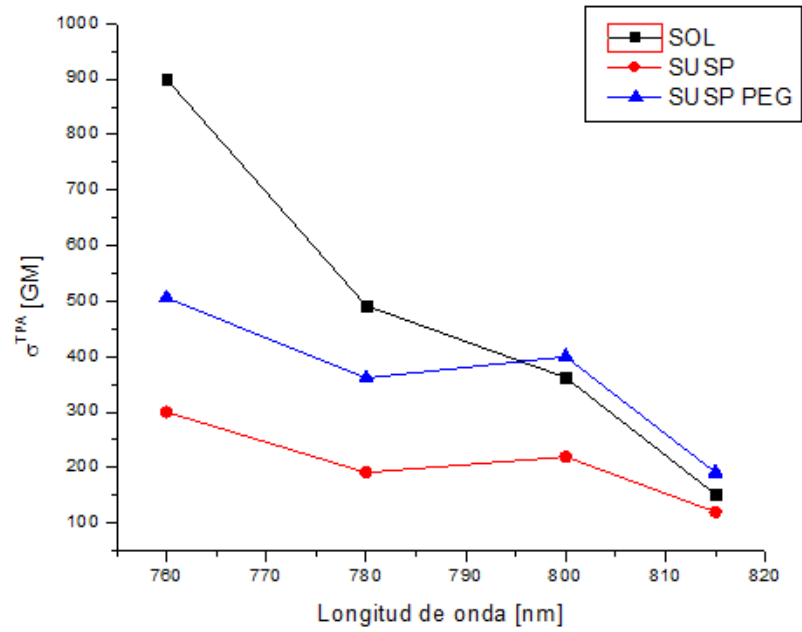
Se realizó un estudio de la respuesta de fluorescencia de **3NSO** promovida por TPA en tres medios distintos: disolución de tetrahidrofurano (THF) y suspensión de nanoagregados con y sin polietilenglicol (PEG), a una concentración de  $6.43 \times 10^{-6} \text{M}$  en un sistema agua : THF, 60 : 40, v/v. Los nanoagregados se formaron por el método de reprecipitación, ya que el carácter hidrofóbico que confieren los 6 sustituyentes *n*-octilo por molécula favorece la formación de nanoaglomerados.

La Figura 2.61 muestra los espectros de fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones a 800, 815, 780 y 760nm para **3NSO**. Como se puede observar, se tiene un desplazamiento fuerte hacia el rojo en las bandas de emisión por TPA en los nanoagregados. Además, cuando se compararon los valores obtenidos mediante dichas mediciones se observó una sección cruzada de TPA muy grande en disolución de THF a 760 nm (910.145 GM), Figura 2.62. Este valor disminuye cuando la longitud de onda del láser va en aumento, de tal manera que a 800 nm se registró un valor mayor para la suspensión con PEG.

Este resultado es importante puesto que la mayoría de las aplicaciones biomédicas de moléculas TPA son realizadas a partir de 800 nm en adelante, por lo que es deseable tener sistemas cuyos valores de  $\delta_{\text{TPA}}$  sean grandes cerca de ahí.



**Figura 2.61** Espectros de fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones (800nm, 815nm, 780nm y 760nm para 3NSO). Notación: SOL = solución de THF; SUSP = suspensión de nanoagregados; SUSP PEG = suspensión de nanoagregados con polietilenglicol.



**Figura 2.62** Valores de la sección cruzada de TPA en GM para diferentes longitudes de onda, obtenidos en disolución y suspensión con y sin PEG.

## CONCLUSIONES

Se sintetizaron once bases de Schiff y dos derivados de fluoreno, y se estudiaron diversas propiedades fotofísicas para estos compuestos. Primeramente, se encontró que dentro de los derivados de cinamaldehído, la base de Schiff **2a** derivada de fenilglicinol presentó un comportamiento fotocromico asistido por un enlace de hidrógeno intermolecular OH $\cdots$ N en el estado sólido. Proponemos que la transferencia intermolecular de protón del átomo O1 a N1 se lleva a cabo a través del canal O1-H $\cdots$ N1 formando el modo O1 $\cdots$ H-N1 que resulta responsable del cambio de color de amarillo a rojo. Por otra parte, la emisión de fluorescencia en estado sólido disminuyó con el tiempo de irradiación debido a la transferencia intermolecular de protón en el estado excitado. El análisis solvatocrómico reveló una fuerte influencia de disolventes en **2a** evidenciando interacciones específicas con el medio. La relación de Lippert-Mataga mostró un comportamiento no lineal que fue atribuido a la interacción de enlace de hidrógeno, interacciones ácido-base y de transferencia de carga intramolecular.

El análisis de Catalán indicó que el principal factor que influye en los cambios solvatocrómicos de **2a** para los observables  $\bar{\nu}_{\text{Abs}}$ ,  $\bar{\nu}_{\text{Em}}$  y  $\Delta\bar{\nu}$  es en mayor medida la acidez del disolvente. La influencia de la acidez en los espectros de absorción confirmó la formación del fragmento de imina protonada (C=N<sup>+</sup>-H) dada la formación de una banda desplazada hacia el rojo, que es muy similar a la observada en el análisis solvatocrómico y también en los espectros de absorción en estado sólido inducida por irradiación UV. Los resultados solvatocrómicos fueron consistentes con los cálculos teóricos, ya que los orbitales moleculares frontera mostraron un carácter de transferencia de carga intramolecular y los valores de fuerza del oscilador reprodujeron en buena medida los espectros de absorción experimental.

Finalmente para esta molécula, se estudió su propiedad ionocrómica y su respuesta de fluorescencia frente a Hg<sup>2+</sup>. Los experimentos de competencia en fluorescencia revelaron una alta selectividad con este metal mediante el apagado de la emisión. El cambio de color de translúcido a rojo logrado al coordinarse a Hg<sup>2+</sup> se analizó por medio de las titulaciones

de absorción UV-Vis, donde se encontró un punto isobéptico similar al de la titulación con ácido acético observándose la formación de la banda desplazada al rojo.

El papel de las propiedades de excitación de transferencia de carga, que constituye la fuerza motriz de diversos sensores fluorescentes, se evaluó por medio de cálculos TD-DFT/PCM. Es importante destacar que **2a** exhibió un límite de detección suficientemente bajo para detectar  $\text{Hg}^{2+}$  en concentraciones micromolares, el cual está en el intervalo de muchos sistemas biológicos. Además, se fabricaron películas delgadas cristalinas de **2a** para probar la aplicabilidad en tiempo real en disoluciones 100% acuosas de los iones metálicos, observando de nuevo el cambio de color y la extinción de la fluorescencia sólo con  $\text{Hg}^{2+}$ .

La reversibilidad y la reutilización del compuesto **2a** también se evaluaron por medio de titulaciones con EDTA donde se recuperó completamente la señal de fluorescencia del receptor, tornándose simultáneamente la disolución translúcida. Por último, creemos que estos resultados proporcionan una estrategia útil y fácil para la síntesis y aplicación de un sensor colorimétrico fluorescente para detectar  $\text{Hg}^{2+}$ , que no sólo pueda reconocer dicho ión metálico sino también el entorno químico donde se encuentra. Asimismo sus propiedades fotocromáticas y acidocrómicas pueden ser fácilmente aplicables a sistemas reales puesto que el cambio de color es perceptible al ojo humano, mientras que el cambio de fluorescente a no-fluorescente ayuda a realizar determinaciones cuantitativas submicromolares.

En el caso de las bases de Schiff de salicilaldehído, para el compuesto derivado de fenilglicinol (**L1**) se exploraron las propiedades como sensor de  $\text{Zn}^{2+}$ , demostrando que fue capaz de detectar  $\text{Zn}^{2+}$  (con encendido de la fluorescencia) y  $\text{Cu}^{2+}$  (con apagado de la fluorescencia) con una selectividad alta, como se muestra en los experimentos de competencia. Además, el aducto **L1**·**Cu** || **Zn** detectó selectivamente aniones sulfuro ( $\text{S}^{2-}$ ) y el complejo formado **L1**·**Zn** detectó fosfatos ( $\text{ATP}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  y  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ). El papel de  $\text{Zn}^{2+}$  como el metal central fue crucial para este mecanismo de detección multifuncional debido a la facilidad para retornar a **L1** una vez desplazado por  $\text{Cu}^{2+}$ , ofreciendo la oportunidad de detectar de forma selectiva, no sólo  $\text{S}^{2-}$ , sino también aniones fosfato, regenerando completamente **L1**. Además, la fuerza de la interacción entre **L1** y  $\text{Zn}^{2+}$  presentó una

dependencia específica entre el rendimiento cuántico de fluorescencia y la polaridad del disolvente, en particular, para DMF y dioxano.

Para las bases de Schiff de salicilaldehído con metilaminociclohexanol (**L2** y **L3**), los experimentos de competencia mostraron que **L2** presenta nuevamente una extinción de la fluorescencia con  $\text{Cu}^{2+}$  dando lugar a la interferencia de iones  $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$  formando el aducto **L2•Cu/Zn**. Se propuso que este problema se podría resolver por la alta selectividad del aducto para identificar aniones  $\text{S}^{2-}$  a través del *mecanismo de desplazamiento* de  $\text{Cu}^{2+}$  para regenerar **L2•Zn**.

Por otro lado, el sensor **L3** no presentó interferencia con  $\text{Cu}^{2+}$ . Este resultado demuestra que los cambios realizados en la estructura del ligante aunque son relativamente ligeros a nivel electrónico, son importantes a nivel geométrico (no precisamente en el centro de coordinación), lo que provoca cambios importantes en el modo de unión hacia  $\text{Zn}^{2+}$ . De esta manera, se logró una interesante discriminación  $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$  con el sensor **L3**.

Por otra parte, los sensores **L2** y **L3** pueden ser regenerados a partir de los complejos **L•Zn** mediante la adición de aniones tartrato. Más aún, **L2** y **L3** presentaron un segundo canal respuesta (colorimétrico) para detectar los iones  $\text{Fe}^{2+}$ , encontrándose una buena diferenciación frente a  $\text{Fe}^{3+}$ .

Finalmente, se realizaron estudios de reconocimiento de  $\text{Zn}^{2+}$  en células humanas Jurkat para los sensores **L1** y **L3**, utilizando como disolvente el medio de cultivo celular, predisolviendo con metanol (5% vol) los sensores. Los datos obtenidos mediante citometría de flujo mostraron que los compuestos no resultaron ser tóxicos en las células Jurkat. Para el sensor **L1** se determinó una respuesta de fluorescencia considerablemente intensa en presencia de  $\text{Zn}^{2+}$  (20  $\mu\text{M}$ ), mientras que para **L3** la respuesta fue menor pero las células fueron incubadas también con  $\text{Cu}^{2+}$ , condición que no resultó en interferencia alguna, al igual que los experimentos llevados a cabo en disolución en el espectrofotómetro convencional. Adicionalmente, se obtuvieron las imágenes de microscopía de fluorescencia correspondientes a cada sensor.



En el caso de los derivados de fluoreno, el análisis de la geometría de **1NSD** y **3NSO**, mostró que el fragmento de fenil-acetileno tiene un papel central en las propiedades de transferencia de carga. Este fragmento presentó una dinámica de rotación que no sólo interviene directamente en las propiedades fotofísicas, sino que en disolución genera una dependencia muy fuerte entre el rendimiento cuántico de fluorescencia y la viscosidad del medio, haciendo esta molécula un candidato interesante como rotor solvatocrómico fluorescente o sonda (*probe*) de micro-viscosidad.

El estudio de las propiedades de transferencia de carga intramolecular en **1NSD** y **3NSO** mediante experimentos de absorción y emisión lineal, permitió establecer que dicha transferencia es efectiva e involucra al fluoreno como grupo electrodonador, al fragmento fenil-acetileno como puente  $\pi$ -conjugado y al nitrilo (**1NSD**) o al anillo de triazina (**3NSO**) como grupo aceptor. La determinación del momento dipolar estático entre el primer estado excitado y el estado basal ( $\Delta\mu$  o  $\mu_{gg} - \mu_{ee}$ ) se realizó mediante un análisis solvatocrómico de Lippert-Mataga, dando un valor de 12.53 D para **1NSD** y un valor bastante grande de 23.15 D para **3NSO**.

El comportamiento de los derivados de fluoreno se describió utilizando el modelo de orbitales naturales de transición (NTO), ya que dicho modelo ofrece la representación más compacta de una transición multielectrónica en términos de la expansión de una partícula (hueco-electrón), por lo que el proceso bi-fotónico fue descrito satisfactoriamente. Así, se encontró que los estados de transferencia de carga (CT) implicados en el proceso TPA fueron los 1A y 2A para **1NSD**, mientras que para **3NSO** fueron los A' y dos estados isoenergéticos E' del primer estado excitado. En ambas moléculas los niveles energéticos corresponden a los orbitales HOMO-1, HOMO y LUMO cuya dinámica hueco-electrón consiste en la formación de un hueco en HOMO-1 que rompe la simetría de la transferencia de carga. Este efecto es muy marcado en el caso de **3NSO**, lo cual hace que los valores de  $\delta_{TPA}$  aumenten fuertemente.

## 4 PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 Instrumentación y equipo

Los disolventes y reactivos se utilizaron directamente como se recibieron del proveedor Sigma-Aldrich.

Los espectros de resonancia magnética nuclear unidimensionales de protón ( $^1\text{H}$ ), carbono ( $^{13}\text{C}$ ), bidimensionales de correlación heteronuclear carbono-hidrógeno (HETCOR y HSQC) y homonuclear hidrógeno-hidrógeno (COSY), se obtuvieron en el equipo Jeol ECLIPSE+500, utilizando como disolventes dimetil sulfóxido deuterado (DMSO- $d_6$ ) y cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Los valores de los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se grafican en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se presentan en Hertz (Hz).

Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) fueron obtenidos en un espectrómetro Agilent G1969A con la técnica de ionización por electrospray (ESI).

Para determinar los puntos de fusión se utilizó el equipo digital Electrothermal 9200, con capilares abiertos.

Los espectros infrarrojo fueron adquiridos en un espectrómetro FT-IR Varian ATR. Las muestras sólidas fueron analizadas directamente, los valores se reportan en números de onda para los principales máximos de absorción.

Los espectros de absorción UV-Vis en disolución se adquirieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 900, y en estado sólido en un equipo Perkin Elmer Lambda 900 UV/VIS/NIR Spectrometer.

Los espectros de Fluorescencia en disolución y en estado sólido se obtuvieron en un equipo Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrometer.

La sección transversal de absorción de dos fotones ( $\sigma_{TPA}$ ) se midió mediante la técnica de TPEF (Two-Photon Excited Fluorescence), adquiriendo los espectros de emisión inducida por absorción de dos fotones. Para ello se utilizó un láser de Titanio: Zafiro con pulsos de 100 fs de duración y frecuencia de repetición de 80 MHz en un rango de 725– 860 nm (modelo *Tsunami-3955* de Spectra-Physics); este láser fue bombeado por un láser de onda continua *Millennia Pro s-Series* a 532 nm con una potencia de 5 Watts. Como muestra de referencia se utilizó Rodamina 6G a una concentración de  $1 \times 10^{-4} M$ . Los espectros de emisión no lineal de los derivados de fluoreno sintetizados y de la referencia, fueron

obtenidos bajo las mismas condiciones con una potencia incidente de 400 mW y para 11 diferentes longitudes de onda de excitación: de 740 a 840 nm cada 10 nm. Además, para cada longitud de onda se guardó la señal detectada por el espectrómetro al bloquear el haz de excitación para restar esta señal de fondo a los espectros de cada muestra, incluida la referencia. El láser de Titanio: Zafiro se sintonizó girando dos tornillos ubicados en la parte superior del láser, los cuales causan el movimiento micrométrico de una rendija y un cristal, ambos dentro del láser. El cambio de posición de la rendija modifica la longitud de onda de salida, mientras que el cristal compensa la dispersión. Para medir la  $\sigma_{TPA}$  en el rango de 650 a 760 nm mediante la técnica TPEF se utilizó un amplificador ultrarrápido (basado en un láser de Titanio: Zafiro) modelo Libra-HE de Coherent, con emisión de pulsos de 50 fs de duración, frecuencia de repetición de 1 kHz y longitud de onda central de 800nm; adicionalmente se utilizó un amplificador óptico paramétrico modelo TOPAS-C de Light Conversion capaz de sintonizar la longitud de onda en un rango continuo de 290 a 2600 nm. Como sistema de detección se utilizó un monocromador/espectrómetro de la serie Acton SP-2500i de Princeton Instruments y un tubo fotomultiplicador (PMT) de la serie R7400U de Hamamatsu.

Las películas delgadas fueron fabricadas por deposición al vacío en placas de vidrio con control de temperatura en un equipo Leybold-Univex 300 con una gama de temperatura de 25 a 300 °C, a una presión de  $1.5 \times 10^{-5}$  mbar.

Los datos de difracción de rayos-X (colección de reflexiones) fueron obtenidos en un difractómetro Enraf-Nonius-Kappa CCD equipado con un monocromador de grafito ( $\lambda_{MoK\alpha} = 0.71073$  Å) a una temperatura de 273 K. La primera disolución fue encontrada con el programa SIR-2004 y el refinamiento de los modelos se llevó a cabo mediante SHELXL-97. Todos los átomos distintos de hidrógeno fueron refinados anisotrópicamente. Los átomos de hidrógeno de los grupos O-H fueron localizados en el mapa de Fourier, mientras que los hidrógenos restantes se colocaron sobre posiciones calculadas con referencia al átomo de carbono al cual se encuentran unidos. Los datos completos de las determinaciones estructurales se encuentran descritos en el apéndice.

Los estudios de citometría de flujo se llevaron a cabo en un equipo LSRFortessa™ Cell Analyser, utilizando un láser UV-350nm. Las células Jurkat se cultivaron con suplemento RPMI, 7% FBS (Suero Fetal Bovino) y 2 mM de L-glutamina, en una cámara de incubación

a 37°C, manteniendo un nivel de CO<sub>2</sub> en 5%. Las imágenes de microscopía de fluorescencia se obtuvieron en un microscopio confocal Leica TCS-SP5-MO.

La geometría molecular y los orbitales moleculares frontera se obtuvieron mediante la Teoría de los Funcional de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés) utilizado el código Gaussian03 a través del funcional híbrido de Becke con el funcional gradiente y correlación de Lee, Yang y Parr (B3LYP) y el conjunto de base 6-31G(d) para considerar moléculas de tamaño medio a grande. Asimismo, se utilizó la Teoría de los Funcionales de la Densidad-Dependiente del Tiempo (TD-DTF). El Modelo Continuo Polarizable (PCM) se utilizó para el cálculo de optimización de geometría, análisis de frecuencias y fuerza de oscilador en el mismo nivel de la teoría.

## 4.2 Método general para la síntesis

A continuación se presenta primeramente la caracterización de las bases de Schiff **1a-1d**, **2a-2c**, de acuerdo a las estructuras presentadas en el esquema 2.1. Los derivados **1a-1d** y **2a-2c** se prepararon mediante condensación de 4-*N,N'*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído con el aminoalcohol correspondiente en cantidades equimolares agitando durante 1.5 h a reflujo de metanol, con excepción del compuesto **1b** donde se empleó tolueno: se utilizó etanol durante 3 h. El disolvente y el agua formada durante la reacción se eliminaron con una trampa de Dean-Stark para obtenerse un sólido, que se lavó con mezclas de *n*-hexano/acetato de etilo (9:1). Método B: una disolución metanólica de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído y el aminoalcohol correspondiente conteniendo ácido acético en cantidad catalítica se agitó durante 30 min, usando un baño ultrasónico. En seguida, el producto se precipitó y separó por filtración y se lavó finalmente con hexano.

*2-[3-(4-Dimetilaminofenil)trans-alilidenamino]fenol (1a)*. Se preparó a partir de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído (1.75 g, 10 mmol) y 2-aminofenol (1.09 g, 10 mmol) a reflujo de metanol durante 1.5 h, para dar 2.35 g (8.8 mmol, 88% de rendimiento) de **1a**. p.f.: 145-146 °C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$ : 3323, 2905, 1601, 1577 (CN), 1528, 1485, 1373, 1247, 1155, 986, 944. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 270 MHz)  $\delta$ : 8.41 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-7), 7.43 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-3), 7.19 (1H, dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, H-13), 7.14 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-11), 7.10 (1H, d, *J* = 15.5 Hz, H-5), 6.97 (1H, dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, H-10), 6.93 (1H, dd, *J* =

15.5, 8.9 Hz, H-6), 6.86 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz, H-12), 6.68 (1H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2), 3.02 (6H, s, N-Me<sub>2</sub>) ppm. RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 67 MHz)  $\delta$ : 159.3 (C-7), 151.9 (C-9), 151.4 (C-1), 145.4 (C-5), 136.1 (C-8), 129.2 (C-3), 127.9 (C-11), 123.4 (C-6), 119.8 (C-12), 115.5 (C-13), 114.7 (C-10), 111.9 (C-2), 40.1 (N-Me<sub>2</sub>). MS (20 eV)  $m/z$  (%): 266 (M<sup>+</sup>, 68), 265 (100), 249 (11), 222 (5), 158 (12), 147 (7), 146 (6), 134 (4). HR-APCI-MS:  $m/z$  para C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O [M<sup>+</sup> +H]<sup>+</sup>: 267.1493; encontrado: 267.1491 (error 0.41 ppm).

*Alcohol 2-[3-(4-Dimetilaminofenil)trans-alilidenamino]bencílico (1b)*. Se preparó a partir de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído (1.00 g, 5.7 mmol) y el alcohol 2-aminobencílico (0.70 g, 5.7 mmol) a reflujo de tolueno:etanol (15 mL:15 mL) por 3 h, para dar 1.54 g (5.5 mmol, 96% de rendimiento) de **1b**. p.f.: 120-123°C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$ : 3154, 2973, 2925, 1596 (CN), 1446, 1358, 1265, 1157, 992, 947. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 8.21 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-7), 7.44 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3), 7.33-7.27 (2H, m, H-10, H-2), 7.19 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-11), 7.11-7.06 (2H, m, H-13, H-5), 6.93 (1H, dd,  $J = 15.7, 9.0$  Hz, H-6), 6.68 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-12), 4.72 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 3.01 (6H, s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm. RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ : 161.9 (C-7), 151.6 (C-1), 150.2 (C-8), 145.9 (C-5), 135.2 (C-9), 129.5 (C-3), 128.6 (C12), 128.1 (C-10), 125.9 (C-11), 123.6 (C-6), 123.4 (C-4), 117.5 (C-13), 112.1 (C-2), 64.3 (CH<sub>2</sub>), 40.3 N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. HR-ESI-MS:  $m/z$  para C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O [M<sup>+</sup> +H]: 281.1648; encontrado: 281.1646 (error = 0.8532 ppm).

*Alcohol 3-[3-(4-Dimetilaminofenil)trans-alilidenamino]bencílico (1c)*. Se preparó a partir de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído (1.75 g, 10 mmol) y el alcohol 3-aminobencílico (1.23 g, 10 mmol) a reflujo de metanol durante 1.5 h, para dar 2.42 g (8.6 mmol, 86% de rendimiento) de **1c**. p.f.: 149-150°C. En disolución este compuesto presentó señales de hidrólisis para formar materia prima y por lo tanto los espectros muestran las señales correspondientes al aldehído y al alcohol aminobencílico. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$ : 3184, 2918, 2857, 1605 (CN), 1563, 1482, 1365, 1230, 1151, 998, 930. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 8.22 (1H, d,  $J = 9.1$  Hz, H-7), 7.44 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3), 7.34 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz, H-12), 7.25 (1H, s, H-9), 7.19 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-13), 7.12 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz, H-11), 7.11 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz, H-5), 6.97 (1H, dd,  $J = 15.6, 9.1$  Hz, H-6), 6.69 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2), 4.72 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 3.03 (6H, s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm. RMN de <sup>13</sup>C

(CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ : 162.6 (C-7), 151.6 (C-1), 146.0 (C-8), 142.2 (C-10), 129.44 (C-12), 129.43 (C-3), 124.5 (C-9), 123.6 (C-4), 123.3 (C-6), 120.4 (C-13), 119.3 (C-11), 112.1 (C-2), 65.3 (CH<sub>2</sub>), 40.3 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). HR-ESI-MS:  $m/z$  para C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O [M<sup>+</sup> + H]: 281.1648; encontrado: 281.1649 (error = 0.2136 ppm).

*Alcohol 4-[4-(4-Dimetilaminofenil)trans-alilidenamino]aminofenético (1d)*. Se preparó a partir de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído (1.00 g, 5.7 mmol) y el alcohol 4-aminofenético (0.78 g, 6.3 mmol) a reflujo de metanol por 1.5 h, para dar 1.65 g (5.6 mmol, 98% de rendimiento) de **1d**. p.f.: 127-130°C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}$ (cm<sup>-1</sup>): 3098, 2904, 2861, 1599 (CN), 1564, 1362, 1227, 1154, 1048, 945, 810. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 8.21 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-7), 7.43 (2H, d,  $J$  = 8.9 Hz, H-3), 7.22 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-10), 7.13 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-9), 7.07 (1H, d,  $J$  = 15.7 Hz, H-5), 6.94 (1H, dd,  $J$  = 15.7, 9.0 Hz, H-6), 6.69 (2H, d,  $J$  = 8.9 Hz, H-2), 3.86 (2H, t,  $J$  = 6.6 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 3.02 (6H, s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.87 (2H, t,  $J$  = 6.6 Hz, CH<sub>2</sub>) ppm. RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ : 162.2 (C-7), 151.5 (C-1), 150.3 (C-8), 145.3 (C-5), 136.1 (C-11), 129.9 (C-10), 129.3 (C-3), 123.7 (C-6), 123.6 (C-4), 121.2 (C-9), 112.1 (C-2), 63.7 (CH<sub>2</sub>OH), 40.3 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 38.8 (CH<sub>2</sub>). HR-ESI<sup>+</sup>-MS:  $m/z$  para C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O [M<sup>+</sup> + H]: 295.1805; encontrado: 295.806 (error = 0.0372 ppm).

*(R)*-2-[3-(4-Dimetilaminofenil)trans-alilidenamino]-fenilglicinol (**2a**). Se preparó a partir de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído (1.75 g, 10 mmol) y el (*R*)-(-)-2-fenilglicinol (1.37 g, 10 mmol) bajo reflujo de metanol por 1.5 h, para dar 2.76 g (9.38 mmol, 94% de rendimiento) de **2a**. p.f.: 174-175°C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}$ (cm<sup>-1</sup>): 3084, 3027, 2816, 1595 (CN), 1483, 1364, 1160, 964, 804. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 8.04 (1H, dd,  $J$  = 6.1, 2.6 Hz, H-7), 7.34 (2H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-11), 7.35-7.33 (4H, m, H-12, H-3), 7.25 (1H, t,  $J$  = 7.3 Hz, H-13), 6.82 (1H, s, H-6), 6.81 (1H, d,  $J$  = 6.1 Hz, H-5), 6.66 (2H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-2), 4.37 (1H, dd,  $J$  = 8.9, 4.2 Hz, H-8), 3.99 (1H, dd,  $J$  = 11.5, 8.9 Hz, H-9A), 3.87 (1H, dd,  $J$  = 11.5, 4.2 Hz, H-9B), 3.00 (6H, s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm. RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ : 165.7 (C-7), 151.4 (C-1), 144.6 (C-5), 140.8 (C-10), 129.2 (C-3), 128.7, 127.4 (C-12, C-11), 127.5 (C-13), 123.6 (C-4), 122.5 (C-6), 112.0 (C-2), 76.3 (C-8), 67.7 (C-9), 40.3 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). HR-ESI-MS:  $m/z$  para C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O [M<sup>+</sup> + H]: 295.1804; encontrado: 295.1805 (error = 0.0338 ppm).

(*1R,2S*)-2-[(4-Dimetilaminofenil)trans-alilidenamino]-1-fenil-1-propanol (**2b**). Se preparó a partir de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído (1.75 g, 10 mmol) y el (*1R,2S*)-2-amino-1-fenil-1-propanol (1.51 g, 10 mmol) a reflujo de metanol por 1.5 h, para dar 2.53 g (8.19 mmol, 82% de rendimiento) de **2b**. p.f.: 125-123°C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$ : 3152, 2981, 2853, 1590 (CN), 1521, 1359, 1266, 1158, 991, 808. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 7.95 (1H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-7), 7.40 (2H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-11), 7.34 (2H, t,  $J = 7.7$  Hz, H-12), 7.27 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3), 7.26 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-13), 6.83 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-5), 6.69 (1H, dd,  $J = 15.8, 8.9$  Hz, H-6), 6.64 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2), 4.81 (1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-9), 3.47 (1H, m, H-8), 2.99 (6H, s,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.11 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz H-14) ppm. RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$ : 163.2 (C-7), 151.1 (C-1), 143.3 (C-5), 141.8 (C-10), 128.9 (C-3), 128.2 (C-12), 127.2 (C-11), 126.7 (C-13), 123.7 (C-4) 123.2 (C-6), 112.1 (C-2), 76.9 (C-9), 71.2 (C-8), 40.3( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 15.9 (C-14). HR-ESI-MS:  $m/z$  para  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}$  [ $\text{M}^+ + \text{H}$ ]: 309.1961; encontrado: 309.1968 (error = 2.13 ppm).

2-((*S*)-3-(4-Dimetilaminofenil)trans-alilidenamino)-1-butanol (**2c**). Se preparó a partir de 4-*N,N*-dimetilamino-*trans*-cinamaldehído (1.75 g, 10 mmol) y el (*S*)-(-)-2-amino-1-butanol (0.89 g, 10 mmol) a reflujo de metanol por 1.5 h, para dar 2.04 g (8.28 mmol, 83% de rendimiento) of **2c**. m.p.: 140-138°C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$ : 3180, 2958, 2848, 1663, 1597 (CN), 1525, 1441, 1368, 1159, 1061, 980, 808. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 7.93 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-7), 7.31 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3), 7.79 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-5), 6.71 (1H, dd,  $J = 8.8, 15.9$  Hz, H-6), 6.64 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2), 3.70 (2H, dd,  $J = 7.9, 7.5$  Hz, H-9), 3.03 (1H, m, H-8), 2.99 (6H, s,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.54 (2H, dq,  $J = 7.75$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 0.83 (3H, t,  $J = 7.5$  Hz,  $\text{CH}_3$ ) ppm. RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$ : 164.5 (C-7), 151.1 (C-1), 143.2 (C-5), 128.9 (C-3), 123.7 (C-4), 122.9 (C-6), 112.1 (C-2), 74.5 (C-8) 66.2 (C-9), 40.3 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 25.3 ( $\text{CH}_2$ ), 10.9 ( $\text{CH}_3$ ) ppm. HR-ESI-MS:  $m/z$  para  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$  [ $\text{M}^+ + \text{H}$ ]: 247.1805; encontrado: 247.1807 (error = 0.8495 ppm).

Para los derivados **L1**, **L2** y **L3** se presenta a continuación la caracterización de acuerdo a las estructuras dibujadas en el esquema 2.2. Tales derivados se prepararon mediante la

reacción de condensación entre los aminoalcoholes respectivos el 4-*N,N*-dietilamino-salicilaldehído (**L1**), 3,5-diterbutilsalicilaldehído (**L2**) y salicilaldehído (**L3**) a reflujo de metanol durante 1.5 h. El disolvente y el agua formada durante la reacción se eliminaron con una trampa de Dean-Stark para obtenerse un sólido, que se lavó con mezclas de *n*-hexano/acetato de etilo (9:1).

El compuesto (*R*)-2-[3-(4-(*Dietilamino*)salicilaldimin]-fenyglicinol (**L1**) se obtuvo a partir del 4-*N,N*-dietilamino-salicilaldehído (0.50 g, 5.17 mmol) y el (*R*)-(-)-2-fenilglicinol (0.35 g, 5.17 mmol) a través de una reacción de condensación. La reacción se llevó a cabo a reflujo de etanol utilizando una trampa Dean-Stark durante 1 h. El producto se obtuvo como un sólido de color naranja, 0.77 g (4,93 mmol), Rendimiento de 95%, p.f.: 111–113 °C. IR  $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$  (KBr): 3226, 2973, 2967, 2916, 1615 (C=N), 1558, 1523, 1423, 1378, 1351, 1300, 1242, 1132, 1067, 1040, 909, 855, 824, 788, 755, 695, 538, 457  $\text{cm}^{-1}$ . RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) [ $\delta$ ]: 1.17 (t, 6H,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ -11), 3.35 (q, 4H,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ -10), 3.83-3.93 (m, 2H, H-9), 4.40 (dd, 1H,  $J = 5.4$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, H-8), 6.11 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz H-3), 6.16 (dd, 1H,  $J = 2.0$  Hz,  $J = 8.5$  Hz, H-5), 6.94 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz, H-6), 7.29–7.36 (m, 5H, H-orto, H-meta, H-para), 8.14 (s, 1H, H-7). RMN de  $^{13}\text{C}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), [ $\delta$ ]: 12.9 ( $\text{CH}_3$ -11), 44.6 ( $\text{CH}_2$ -10), 67.7 (C-9), 73.1 (C-8), 98.4 (C-3), 103.5 (C-5), 108.3 (C-1), 127.1 (C-meta), 127.7 (C-para), 128.8 (C-orto), 133.7 (C-6), 139.7 (C-*ipso*), 152.2 (C-4), 164.0 (C-7), 167.0 (C2). HR- ESI-MS:  $m/z$  para  $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_2$  [ $\text{M}^+ + \text{H}$ ]: 313.1905; encontrado: 313.1911 (error = 0.01367 ppm).

2,4-diterbutil-6-[(1-hidroxiciclohexilmetilimin)metil]fenol (**L2**). Se obtuvo a partir del 3,5-diterbutil-salicilaldehído 0.50 g (2.13 mmol) y el hidrocloreto de 1-aminometil-1-ciclohexanol 0.35 g (2.13 mmol) bajo reflujo de metanol por 30 min, para dar 0.68 g (1.96 mmol, 92% de rendimiento) de **L2**, p.f.: 98-100 °C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}(\text{cm}^{-1})$ : 3438 (OH), 2958, 2935, 2866, 1628 (C=N), 1596, 1474, 1441, 974, 887, 852, 715  $\text{cm}^{-1}$ . RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 13.59 (1H, br, OH), 8.37 (1H, s, H-8), 7.40 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-4), 7.11 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-6), 3.58 (2H, s,  $\text{CH}_2$ -10), 1.72-1.47 [10H, m, ( $-\text{CH}_2-$ )<sub>5</sub>], 1.45 [9H, s,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 1.31 [9H, s,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ]. RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$ : 168.1 (C-8), 158.2 (C-2), 140.3 (C-5), 136.8 (C-3), 127.2 (C-4), 126.2 (C-6), 117.9 (C-7), 71.6 (C-11), 70.4



(C-10), 35.9 (C-12 y C-16), 35.1 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.2 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 31.6 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 29.5 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 26.0 (C-14), 22.0 (C-13 y C-15). HR-APCI-MS: *m/z* para C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup> calculado: 346.2741, encontrado: 346.2745 (error = 0.03115).

*2-[(1-hidroxilciclohexil)metilimino]metil]fenol (L3)*. Se obtuvo a partir de salicilaldehído 0.20 g (1.64 mmol) y el hidrocloreto de 1-aminomethyl-1-cyclohexanol 0.27 g (1.64 mmol) bajo reflujo de metanol por 30 min, para dar 0.36 g (1.55 mmol, 95% de rendimiento) de **L3**, p.f.: 156-158 °C. IR (KBr)  $\bar{\nu}_{\max}$ (cm<sup>-1</sup>): 3221 (NH), 3050, 2925, 2850, 1644 (C=O), 1611 (C=N), 1524, 1288, 1146, 912, 742 cm<sup>-1</sup>. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 13.41 (1H, br, OH), 8.35 (1H, s, H-8), 7.32-7.26 (2H, m, H-4 y H-6), 6.96-6.90 (1H, m, H-3), 6.89-6.86 (1H, m, H-5), 3.58 (2H, s, CH<sub>2</sub>-10), 2.16 (1H, s, br, OH), 1.72-1.53 (8H, m, CH<sub>2</sub>-12, CH<sub>2</sub>-13, CH<sub>2</sub>-15 y CH<sub>2</sub>-16), 1.33-1.28 (2H, m, CH<sub>2</sub>-14). RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 166.9 (C-8), 161.3 (C-2), 132.5 (C-4), 131.5 (C-6), 118.9 (C-7), 118.7 (C-5), 117.2 (C-3), 71.5 (C-11), 70.2 (C-10), 35.8 (C-12 y C-16), 25.8 (C-14), 21.9 (C-13 y C-15). HR-APCI-MS: *m/z* para C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup> calc.: 234.1489, encontrado: 234.1491 (error = 0.0596).

*9,9'-dioctil-2-(4-etinil-1-benzonitrilo)-9H-fluoreno (INSD)*. En un matraz balón se mezcló 2-etinil-9,9-dioctilfluoreno (**3**) (228 mg, 0.55 mmol), 4-bromo-benzonitrilo (100 mg, 0.55 mmol), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (19 mg, 0.027 mmol) y CuI (42 mg, 0.022 mmol), posteriormente se adicionó trietilamina previamente destilada (10 mL) en presencia de N<sub>2</sub>. La mezcla resultante se agitó durante 15 h a 85 °C, para obtener el compuesto **INSD** en un rendimiento de 81%, p.f.: 94-95 °C. IR ( $\nu_{\max}$ /cm<sup>-1</sup>) 2951, 2923, 2850 (estiramientos C-H), 2226 (C≡N), 2205 (C≡C). RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz; C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  7.67 (d, <sup>4</sup>J = 1 Hz, 1H), 7.49-7.48 (m, 2H), 7.38 (d, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1H), 7.16-7.13 (m, 3H), 7.03 (d, 2H), 6.75 (d, 2H), 1.94-1.91 (m, 4H), 0.77 (t, J = 7.5 Hz). RMN de <sup>13</sup>C (125 MHz; C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  151.1, 151.1, 142.5, 140.4, 131.8, 131.6, 131.0, 128.0, 127.6, 127.2, 126.1, 122.9, 120.9, 120.4, 120.1, 118.1, 111.7, 94.8, 88.4, 55.3, 40.5, 31.9, 30.1, 29.3, 29.2, 23.9, 22.7, 14.0. ESI-MS calculado para C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>N 516.3625 [M+H]<sup>+</sup> 516.3624, encontrado 516.3625 [M+H]<sup>+</sup> (error = 0.044 ppm).

2,4,6-tris[9,9'-dioctil-2-(etnil-1-fenil)-9H-fluoren]-1,3,5-triazina (**3NSO**). La síntesis del compuesto **3NSO** se obtuvo mediante la reacción de ciclotrimerización del compuesto **1NSD** (50 mg, 0.097 mmol) utilizando  $\text{ZnCl}_2$  (6.7 mg, 0.048 mmol) en estado sólido, para formar el núcleo de 1,3,5-triazina. Los compuestos **1NSD** y  $\text{ZnCl}_2$  se calentaron a 300 °C en una ampolleta de vidrio purgándola con  $\text{N}_2$  antes de sellarla, la reacción se llevó a cabo durante 3.5 días, obteniéndose un sólido, compuesto **3NSO** en un rendimiento de 23%. p.f.: 357-358 °C. IR ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ) 2954, 2925, 2853 (estiramientos C-H), 2163 ( $\text{C}\equiv\text{C}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.81 (d), 7.80 (d), 7.74-7.70 (m), 7.62-7.60 (m), 7.39-7.34 (m), 2.03 (t), 1.28-1.09 (m), 0.85 (t), 0.74-0.59 (m). RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz;  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  171.2, 151.2, 151.0, 142.0, 140.5, 135.6, 131.9, 131.0, 129.1, 128.0, 127.0, 126.2, 123.0, 121.1, 120.2, 119.9, 93.8, 89.4, 55.3, 40.5, 31.9, 30.2, 29.4, 23.9, 22.7, 14.2. FAB-MS calculado para  $\text{C}_{114}\text{H}_{135}\text{N}_3$  1546.06 [M], encontrado 1546.1.

### 4.3 Preparación de las disoluciones y mediciones

La disolución *Stock* de **L2** se preparó mediante el siguiente procedimiento, 3.4 mg (0.01 mmol) de **L2** se disolvieron en una disolución agua:metanol (65:35 v/v, 10 mL) para dar una concentración de 1 mM, a continuación, 50  $\mu\text{L}$  se tomaron y se diluyeron con 4.95 mL de una disolución tampón HEPES 10 mM para dar una concentración final de 10  $\mu\text{M}$ . Análogamente, 2.3 mg (0.01 mmol) de **L3** se disolvieron en una disolución agua:metanol (65:35 v/v, 10 mL), y siguiendo el mismo procedimiento que **L2** se llegó a una concentración final de 10  $\mu\text{M}$ . Las sales metálicas de acetato  $\text{M}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2$ , donde  $\text{M} = \text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ , y  $\text{Fe}^{3+}$  ( $\text{FeCl}_3$ ), 0.1 mmol se disolvieron en una disolución agua:metanol (65:35 v/v, 10 mL). Para los experimentos de competencia con otros iones metálicos se prepararon las mismas disoluciones mencionadas anteriormente, así para  $\text{Zn}^{2+}$  una disolución con 3 mL de **L2** o **L3** (10  $\mu\text{M}$ ) y 12  $\mu\text{L}$  de cada ion metálico (40 mM), para dar 4 equivalentes, se agitó y después se mezcló con 3  $\mu\text{L}$  de una disolución de  $\text{Zn}^{2+}$  (10  $\mu\text{M}$ , 1 equiv.). Los experimentos de competencia  $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$  se llevaron a cabo con y sin disoluciones tampón HEPES sin encontrarse diferencias significativas en las respuestas UV-Vis y de fluorescencia. Finalmente, las mediciones de

rendimiento cuántico de fluorescencia se obtuvieron utilizando el procedimiento experimental reportado en la referencia 90 usando antraceno como referencia ( $\Phi_F = 0.27 \pm 0.03$  en etanol a 20°C).

Para los estudios de citometría de flujo, las células Jurkat cultivadas en la presencia o ausencia de acetato de Zinc. Las células Jurkat fueron incubadas primeramente con  $Zn^{2+}$  (20  $\mu M$ ) en presencia de suplemento RPMI, 7% de suero fetal bovino y 2 mM de L-glutamina celular, incubándose durante 4 horas a 37 °C con un 5% de  $CO_2$ . Posteriormente se centrifugó la suspensión celular con la finalidad de remover el  $Zn^{2+}$  remanente y se agregó nuevamente medio de cultivo conteniendo esta vez **L1** ó **L3** (20  $\mu M$ ), así, las células se introdujeron a la incubadora por 30 minutos y se tomaron las medidas de citometría de flujo en presencia de yoduro de propidio, un pigmento que permea solo las células muertas y fluoresce en  $695 \pm 40$  nm, excitando en 488 nm. Los análisis de citometría de flujo se realizó en presencia de yoduro de propidio (IP) (7 nM) para determinar la toxicidad de los sensores **L1/L3**. El IP se excitó a 488 nm para observar su fluorescencia alrededor de 620 nm. Debido a estas características de absorción y emisión, fue posible combinar IP con los sensores **L1/L3** sin tener problemas de interferencia.

## Referencias

1. (a) K. T. Kamtekar, A. P. Monkman, M. R. Bryce, *Adv. Mater.*, **2010**, 22, 572; (b) M. Zhu, C. Yang, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 4963; (c) Z. Chi, X. Zhang, B. Xu, X. Zhou, C. Ma, Y. Zhang, S. Liu, J. Xu, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 3878.
2. (a) Y. Pu, W. Wang, R. B. Dorshow, B. B. Das, R. R. Alfano, *Appl. Optics*, **2013**, 52, 917; (b) D. Brinks, R. Hildner, E. M. H. P. van Dijk, F. D. Stefani, J. B. Nieder, J. Hernando, N. F. van Hulst, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, DOI:10.1039/C3CS60269A.
3. T. T. Tidwell, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 1016.
4. (a) P.A. Vigato, S. Tamburini, L. Bertolo, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, 251, 1311; (b) A.D. Garnovskii, A.L. Nivorozhkin, V.I. Minkin, *Coord. Chem. Rev.*, **1993**, 126, 1; (c) F. Faridbod, M. R. Ganjali, R. Dinarvand, P. Norouzi, S. Riahi, *Sensors*, **2008**, 8, 1645; (d) D. A. Safin, M. G. Babashkina, Y. Garcia, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 1969.
5. (a) L. Zang, D. Wei, S. Wang, S. Jiang, *Tetrahedron*, **2012**, 68, 636; (b) A. M. J. Devoille, P. Richardson, N. L. Bill, J. L. Sessler, J. B. Love, *Inorg. Chem.*, **2011**, 50, 3116; (c) S. Suganya, J. S. Park, S. Velmathi, *Sens. Actuators B*, **2014**, 190, 679. (d) G. N. George, R. C. Prince, J. Gailer, G. A. Buttigieg, M. B. Denton, H. H. Harris, I. J. Pickering, *Chem. Res. Toxicol.*, **2004**, 19, 999.
6. (a) V. I. Minkin, A. V. Tsukanov, A. D. Dubonosov, V. A. Bren, *J. Molec. Struct.*, **2011**, 998, 179; (b) Y-Z. Xiea, G-G. Shan, Z-Y. Zhou, Z-M. Su, *Sensor. Actuat. B-Chem*, **2013**, 177, 41.
7. P. Mukherjee, Ultrafast Fluorescence Spectroscopy Used as a Probe to Explore Excited State Photophysics of Biologically and Environmentally Relevant Systems, Tesis de Doctorado, 2008, [http://books.google.com.mx/books?id=7OHd1BHxeBOC&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=7OHd1BHxeBOC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false). Iowa State University
8. B. Valeur, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, 2<sup>nd</sup> Ed., WILEY-VCH, Weinheim, **2002**.
9. J. Grzegorzec, A. Filarowski, Z. Mielke, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, 13, 16596.
10. A. J. Moghadam, R. Omidyan, V. Mirkhani, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, 16, 2417.
11. Q. He, H. Liang, J. Lu, *Polym. Chem.*, **2013**, 4, 1557.
12. Y. M. Issa, H. B. Hassib, H. E. Abdelaal, I. M. Kenawi, *Spectrochim. Acta A*, **2011**, 79, 1364.

13. J. Jayabharathi, V. Thanikachalam, K. Jayamoorthy, M. Perumal, *Spectrochim. Acta A*, **2011**, 79, 6.
14. M. Shellaiah, Y. H. Wu, A. Singh, M. V. R. Raju, H. C. Lin, *J. Mater. Chem. A*, **2013**, 1, 1310.
15. X. Y. Cheng, M. F. Wang, Z. Y. Yang, Y. Li, T. R. Li, C. J. Liu, Q. X. Zhou, *J. Coord. Chem.*, **2012**, 66, 1847.
16. J. Zhang, F. Zhao, X. Zhu, W. K. Wong, D. Ma, W. Y. Wong, *J. Mater. Chem.*, **2012**, 22, 16448.
17. J. Jankowska, M. F. Rode, J. Sadlej, A. L. Sobolewski, *Chem. Phys. Chem.*, **2012**, 13, 4287.
18. <http://goldbook.iupac.org/S05498.html>
19. (a) E. Hadjoudis, A. Rontoyianni, K. Ambroziak, T. Dziembowskac, I. M. Mavridis, *J. Photoch. Photobiol. A.*, **2004**, 162, 521. (b) E. Hadjoudis, S. Chatziefthimiou, I. Mavridis, *Curr. Org. Chem.*, **2009**, 13, 269. (c) K. Amimoto, T. Kawato, *J. Photochem. Photobiol. C*, **2005**, 6, 207. (d) Katarzyna, A. Maciejewski, *Phys. Lett.*, **2008**, 464, 181.
20. (a) A. Perrier, F. Maurel, D. Jacquemin, *Accounts Chem. Res.*, **2012**, 45, 1173; (b) M. Irie, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2010**, 9, 1535. (c) W. R. Browne, M. M. Pollard, B. Lange, A. Meetsma, B. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 12412; (d) M. Sliwa, S. Létard, I. Malfant, M. Nierlich, P. G. Lacroix, T. Asahi, H. Masuhara, P. Yu and K. Nakatani, *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 4727.
21. H. Dürr, H. Bouas-Laurent, *Photochromism: Molecules and Systems*, (1st. ed), Elsevier, Amsterdam, **2006**.
22. G. H. Brown, (1st. ed), *Photochromism*, Wiley-Interscience, New York, **1981**.
23. J. Michl, V. Bonacic-Koutecky, *Electronic Aspects of Organic Photochemistry*, Wiley-Interscience, New York, **1991**.
24. Y. Hirshberg, *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **1950**, 231, 903.
25. R. Dessauer, J. Paris, *Advances in Photochemistry*, W. A. Noyes, G. S. Hammond and J. N. Pitts, eds., Interscience, New York, **1963**.
26. G. Porter, *Angew. Chem.*, **1968**, 80, 882.
27. M. Klessinger, J. Michl, *Excited States and Photochemistry of Organic Molecules*, 1<sup>st</sup> ed; VCH Publishers, New York, **1995**.
28. J. Zhao, S. Ji, Y. Chen, H. Guo, P. Yang, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 8803.

29. J. B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley-Interscience, London, **1970**.
30. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3<sup>rd</sup> Ed., Springer, London, **2006**.
31. (a) E. Lippert, IUPAC Symposium on Hydrogen Bonding, Ljubljana, **1957**; (b) W. E. Acree Jr., D. C. Wilkins, S. A. Tucker, J. M. Griffin, J. R. Powell, *J. Phys. Chem.*, **1994**, 98, 2537; (c) R. Królicki, W. Jarzęba, *J. Phys. Chem. A*, **2002**, 106, 1708.
32. L. Onsager, *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, 58, 1486.
33. W. Ooshika, *J. Phys. Soc. Japan*, **1954**, 9, 594.
34. (a) N. S. Bayliss, *J. Chem. Phys.*, **1950**, 18, 292; (b) N. S. Bayliss, E. G. McRea, *J. Phys. Chem.*, **1954**, 58, 1002. (c) E. G. McRea, *J. Phys. Chem.*, **1957**, 61, 562.
35. N. Mataga, Y. Kaitu, M. Koizumi, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1956**, 29, 465.
36. (a) E. Lippert, *Z. Elektrochem*, **1957**, 61, 962; (b) E. Lippert, W. Lüder, F. Moll, W. Nägele, H. Boos, H. Prigge, I. Seibold, *Z. Angew. Chem.*, **1961**, 71, 965.
37. (a) B.S. Neporent, N.G. Bakhshiev, *Opt. Spektrosk*, **1958**, 5, 634; (b) N.G. Bakhshiev, *Opt. Spectrosc*, **1959**, 7, 29.
38. S. Basu, *Adv. Quantum Chem.*, **1964**, 1, 145.
39. L. J. Bilot, A. Kawski, *Z. Naturforsch*, **1963**, 18a, 256.
40. J. Catalán, *J. Phys. Chem. B*, **2009**, 113, 5951.
41. M. J. Kamlet, J. L. M. Abboud, M.H. Abraham, R. W. Taft, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 2877.
42. G. Ramunni, L. Salem, *Z. Phys. Chem. N. F.*, **1976**, 101, 123.
43. Th. Förster, *Z. Elektrochem*, **1950**, 54, 531.
44. A. Weller, *Z. Elektrochem*, **1952**, 56, 662.
45. M. Göppert-Mayer, *Ann. Phys.*, **1931**, 401, 273.
46. W. Kaiser, C. G. B. Garrett, *Phys. Rev. Lett.*, **1961**, 7, 229.
47. M. Pawlicki, H. A. Collins, R. G. Denning, H. L. Anderson, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48, 3244.
48. G. S. He, L.-S. Tan, Q. Zheng, P. N. Prasad, *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 1245.

49. R. R. Birge, B. M. Pierce, *Int. J. Quantum Chem.*, **1986**, 29, 639.
50. S. Yao, H.-Y. Ahn, X. Wang, J. Fu, E. W. Van Stryland, D. J. Hagan, K. D. Belfield, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, 3965.
51. K. D. Belfield, S. Yao, M. V. Bondar, *Adv. Polym. Sci.*, **2008**, 213, 97.
52. K. D. Belfield, K. J. Schafer, W. Mourad, B. A. Reinhardt, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 4475.
53. (a) M. Albota, D. Beljonne, J. Brédas, J. E. Ehrlich, J. Fu, A. A. Heikal, S. Hess, T. Kogej, M. D. Levin, S. R. Marder, D. McCord-Maughon, J. W. Perry, H. Röckel, M. Rumi, G. Subramaniam, W. Webb, X. Wu, C. Xu, *Science*, **1998**, 281, 1653; (b) B. H. Cumpston, S. P. Ananthavel, S. Barlow, D. L. Dyer, J. E. Ehrlich, L. L. Erskine, A. A. Heikal, S. M. Kuebler, I. L. S. Lee, D. McCord-Maughon, J. Qin, H. Röckel, M. Rumi, X. Wu, S. R. Marder, J. W. Perry, *Nature*, **1999**, 389, 51; (c) M. Pawlicki, H. A. Collins, R. G. Denning, H. L. Anderson, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, 48, 3244.
54. W. Denk, J. H. Strickler, W. W. Webb, *Science*, **1990**, 248, 73.
55. G. Wang, K.-Y. Pu, X. Zhang, K. Li, L. Wang, L. Cai, D. Ding, Y.-H. Lai, B. Liu, *Chem. Mater.*, **2011**, 23, 4428.
56. El compuesto **L1** se describe en H. Reyes, J. M. Rivera, N. Farfán, R. Santillan, P. G. Lacroix, C. Lepetit, K. Nakatani, *J. Organomet. Chem.*, **2005**, 690, 3737. Los compuestos **L2** y **L3** se describen en O. Domínguez, B. Rodríguez-Molina, M. Rodríguez, A. Ariza, N. Farfán, R. Santillan, *New J. Chem.*, **2011**, 35, 156.
57. (a) T. Miura, Y. Urano, K. Tanaka, T. Nagano, K. Ohkubo, S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 8666; (b) Y. Gabe, Y. Urano, K. Kikuchi, H. Kojima, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 3357.
58. (a) Y. Li, X. Yang, S. Zhang, X. Li, *Acta Cryst., Sect. E: Struct. Rep. Online*, 2005, **61**, o3337. (b) V. Nesterov, A. Suina, Y. Antipin, T. Timofeeva, S. Barlow, S. Marder, *Acta Cryst., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, **2003**, 59, o625. (c) M. Rodríguez, R. Castro-Beltrán, G. Ramos-Ortíz, J. L. Maldonado, N. Farfán, O. Domínguez, J. Rodríguez, R. Santillan, M. A. Meneses-Nava, O. Barbosa-García, J. Peon, *Synthetic Met.*, **2009**, 159, 1281.
59. L. Ying, H. Xiao-Lian, Y. Xiao-Yan, *Acta Cryst., Sect. E: Struct. Rep. Online*, **2007**, E63, o4546.
60. A. I. Kitaigorodskii, *Organic Chemical Crystallography*, Consultants Bureau, New York, **1961**, Section 2.
61. E. Hadjoudis, Photochromism, molecules and systems. Studies in organic chemistry, Vol. 40, ed. H. Durr and H. Bouas-Laurent, en *Photochromism. Molecules and Systems*, Elsevier, Amsterdam, **1990**, Capítulo 17.

62. D. R. Weinberg, C. J. Gagliardi, J. F. Hull, C. F. Murphy, C. A. Kent, B. C. Westlake, A. Paul, D. H. Ess, D. G. McCafferty, T. J. Meyer, , *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 4016.
63. (a) C.-C. Hsieh, Y.-M. Cheng, C.-J. Hsu, K.-Y. Chen, P.-T. Chou, *J. Phys. Chem. A*, **2008**, 112, 8323-8332. (b) J. N. Schrauben, M. Cattaneo, T. C. Day, A. L. Tenderholt, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 16635; (c) T. Meyer, M. Huynh, H. Thorp, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, 46, 5284.
64. J. B. Howard, D. C. Rees, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2006**, 103, 17088.
65. (a) C. J. Gagliardi, B. C. Westlake, C. A. Kent, J. J. Paul, J. M. Papanikolas, T. J. Meyer, *Coord. Chem. Rev.*, **2010**, 254, 2459; (b) C.-C. Hsieh, C.-M. Jiang, P.-T. Chou, *Acc. Chem. Res.*, **2010**, 43, 1364.
66. W. Domcke, A. L. Sobolewski, *Science*, **2003**, 302, 1693.
67. A. Spangenberg, A. Brosseau, R. Métivier, M. Sliwa, K. Nakatani, T. Asahi, T. Uwada, *J. Phys. Org. Chem.*, **2007**, 20, 985.
68. (a) C. Amovilli, V. Barone, R. Cammi, E. Cancès, M. Cossi, B. Mennucci, C. S. Pomelli, J. Tomasi, *Adv. Quant. Chem.*, **1998**, 32, 227 ; (b) J. Tomasi, B. Mennucci, R. Cammi, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 2999.
69. Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, Jr. J. A. Montgomery, T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
70. (a) A. Perrier, F. Maurel, D. Jacquemin, *Acc. Chem. Res.*, **2012**, 45, 1173; (b) M. Irie, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2010**, 9, 1535; (c) D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, *Chem. Commun.*, **2006**, 11, 1169; (d) T. Tsuyoshi, O. Itaru, N. Daisuke, *Appl. Optics*, **2010**, 49, 3894; (e) T. He, F. Yanli, *J. Mater. Chem.*, **2008**, 18, 1617; (f) W. R. Browne, M. M. Pollard, B. Lange, A. Meetsma, B. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 12412; (g) M. Sliwa, S. Létard, I. Malfant, M. Nierlich, P. G. Lacroix, T. Asahi, H. Masuhara, P. Yu, K. Nakatani, *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 4727; (h) F. Faridbod, M. R. Ganjali, R. Dinarvand, P. Norouzi, S. Riahi, *Sensors*, **2008**, 8, 1645; (i) D. A. Safin, M. G. Babashkina, Y. Garcia, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 1969.



71. S. D. Chatziefthimiou, Y. G. Lazarou, E. Hadjoudis, T. Dziembowska, I. M. Mavridis, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 23701.
72. (a) D. Joshi, D. K. Mittal, S. Shukla, A. K. Srivastav, *Exp. Toxicol. Pathol.*, **2012**, 64, 103. (b) L. Tamer, G. Yucebilgic, R. Bilgin, K. Tanriverdi, S. S. Tukul, *Biochem. Arch.*, **1998**, 14, 207.
73. Z. Liu, W. He, Z. Guo, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 1568.
74. A. Spangenberg, A. Brosseau, R. Métivier, M. Sliwa, K. Nakatani, T. Asahi, T. Uwada, *J. Phys. Org. Chem.*, **2007**, 20, 985.
75. S. Dalapati, S. Jana, Md. A. Alam, N. Guchhait, *Sensor. Actuat. B-Chem.*, **2011**, 160, 1106.
76. H. Sun, J. Autschbach, *J. Chem. Theory Comput.*, **2014**, 10, 1035.
77. (a) C. Adamo, D. Jacquemin, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 845. (b) T. Le Bahers, C. Adamo, I. Ciofini, *J. Chem. Theory Comput.*, **2011**, 7, 2498.
78. (a) O. S. Wolfbeis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 9864. (b) Y. Tan, J. gao, J. Yu, Z. Wang, Y. Cui, Y. Yang, G. Qian, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 11465. (c) M. C. Aragoni, M. Arca, A. Bencini, C. Caltagirone, A. Garau, F. Isaia, M. E. Light, V. Lippolis, C. Lodeiro, M. Mameli, R. Montis, M. C. Mostallino, A. Pintus, S. Puccioni, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 14516. (d) X. Liu, N. Zhang, J. Zhou, T. Chang, C. Fang, D. Shangguan, *Analyst*, **2013**, 138, 901.
79. C. J. Frederickson, J. Y. Koh, A. I. Bush, *Nat. Rev. Neurosci.*, **2005**, 6, 449.
80. H. Kozłowski, A. Janicka-Klos, J. Brasun, E. Gaggelli, D. Valensin, G. Valensin, *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, 253, 2665.
81. (a) D. S. Auld, *Adv. Chem.*, **1979**, 172, 112. (b) A. I. Bush, W. H. Pettingell, G. Multhaup, M. Paradis, J. P. Vonsattel, J. F. Gusella, K. Beyreuther, C. L. Maeters, R. E. Tanzi, *Science*, **1994**, 265, 1464. (c) A. S. Prasad, *Adv Nutr.*, **2013**, 4, 176.
82. (a) Y. Tan, J. gao, J. Yu, Z. Wang, Y. Cui, Y. Yang, G. Qian, *Dalton Trans.*, 2013, **42**, 11465; (b) M. C. Aragoni, M. Arca, A. Bencini, C. Caltagirone, A. Garau, F. Isaia, M. E. Light, V. Lippolis, C. Lodeiro, M. Mameli, R. Montis, M. C. Mostallino, A. Pintus, S. Puccioni, *Dalton Trans.*, 2013, **42**, 14516.
83. (a) Y. Fu, Q. C. Feng, X. J. Jiang, H. Xu, M. Li, S. Q. Zang, *Dalton Trans.*, **2014**, DOI: 10.1039/C3DT53281J; (b) P. Saluja, N. Kaur, N. Singh, D. O. Jang, *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 3292; (c) L. Tang, M. Cai, *Sens. Actuators, B*, **2012**, 173, 862.
84. (a) R. Uauy, M. Olivares, M. Gonzalez, *Am. J. Clin. Nutr.* **1998**, 67, 952. (b) L. Banci, I. Bertini, K. S. McGreevy, A. Rosato, *Nat. Prod. Rep.*, **2010**, 27, 695. (c) E. Gaggelli, H. Kozłowski, D. Valensin, G. Valensin, *Chem. Rev.*, **2006**, 106, 1995.
85. (a) C. Zhang, Z. Liu, Y. Li, W. He, X. Gao, Z. Guo, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 11430; (b) H. G. Lee, K. B. Kim, G. J. Park, Y. J. Na, H. Y. Jo, S. A. Lee, C. Kim, *Inorg. Chem. Commun.*, **2014**, 39, 61; (c) K. B. Kim, H. Kim, E. J. Song, S. Kim, I. Noh, C. Kim, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 16569; (d) L. Tang, J. Zhao, M. Cai, P. Zhou, K. Zhong, S. Hou, Y. Bian, *Tetrahedron Lett.*, **2013**, 54, 6105; (e) S. Zhu, J. Zhang, J. Janjanam, G. Vegesna, F. T. Luo, A. Tiwari, H. Liu, *J. Mater. Chem. B*, **2013**, 1,

- 1722; (f) N. Narayanaswamy, D. Maity, T. Govindaraju, *Supramol. Chem.*, **2011**, 23, 703; (g) B. K. Paul, S. Kar, N. Guchhait, *J. Photoch. Photobio. A*, **2011**, 220, 153; (h) Y. Liu, Q. Fei, H. Shan, M. Cui, Q. Liu, G. Feng, Y. Huan, *Analyst*, **2014**, DOI: 10.1039/C3AN02230G; (i) Z. Li, L. Zhang, L. Wang, Y. Guo, L. Cai, M. Yu, L. Wei, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 5798 ; (j) S. C. Burdette, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.*, **2002**, 41, 6816; (k) Y. Ikawa, M. Takeda, M. Suzuki, A. Osuka, H. Furuta, *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 5689.
86. Para ejemplos de diferenciación entre  $Zn^{2+}/Cd^{2+}$  ver: (a) Y. Tan, J. gao, J. Yu, Z. Wang, Y. Cui, Y. Yang, G. Qian, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 11465; (b) M. C. Aragoni, M. Arca, A. Bencini, C. Caltagirone, A. Garau, F. Isaia, M. E. Light, V. Lippolis, C. Lodeiro, M. Mameli, R. Montis, M. C. Mostallino, A. Pintus, S. Puccioni, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 14516; (c) X. Liu, N. Zhang, J. Zhou, T. Chang, C. Fang, D. Shangguan, *Analyst*, **2013**, 138, 901.
87. U. Carpentieri, J. Myers, L. Thorpe, C. W. Daeschner III, M. E. Haggard, *Cancer Res.*, **1986**, 46, 981.
88. (a) Z. Dai, X. Xu, J. W. Canary, *Chem. Commun.*, **2002**, 13, 1414. (b) Z. Dai, J. W. Canary, *New J. Chem.*, **2007**, 31, 1708.
89. (a) Y. Ding, Y. Xie, X. Li, J. P. Hill, W. Zhang, W. Zhu, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 5431; (b) Y. Mikata, Y. Nodomi, A. Kizu, H. Konno, *Dalton Trans.*, **2014**, 43, 1684; (c) D. A. Safin, M. G. Babashkina, Y. Garcia, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 1969.
90. S. Fery-Forgues, D. Lavabre, *J. Chem. Educ.*, **1999**, 76, 1260.
91. (a) ATSDR, "Toxicological profile", Agency for Toxic Substances and Disease Registry, **1999**, US Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA; (b) L. Friberg, C.G. Elinger, T. Kjellström "Cadmium", World Health Organization, Genève, **1992**.
92. (a) Y. Fu, Q. C. Feng, X. J. Jiang, H. Xu, M. Li, S. Q. Zang, *Dalton Trans.*, **2014**, DOI: 10.1039/C3DT53281J; (b) Y. Chen, C. Zhu, J. Cen, J. Li, W. He, Y. Jiao, Z. Guo, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 7632; (c) X. Qu, C. Li, H. Chen, J. Mack, Z. Guo, Z. Shen, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 7510; (d) M. Li, Q. Liang, M. Zheng, C. Fang, S. Peng, M. Zhao, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 13509.
93. T. Förster, G. Hoffmann, *Z. Phys. Chem.*, **1971**, 75, 63.
94. R. L. Martin, *J. Chem. Phys.*, **2003**, 118, 4775.
95. S. Easwaramoorthi, P. Thamaraiselvi, K. Duraimurugan, A. J. Beneto, A. Siva, B. U. Nair, *Chem. Commun.*, **2014**, DOI: 10.1039/C3CC47514J
96. Z. Yang, J. Cao, Y. He, J. H. Yang, T. Kim, X. Peng, J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, DOI: 10.1039/c4cs00051j
97. J. R. Heflin, K. Y. Wong, O. Zamani-Khamiri, A. F. Garito, *Phys. Rev. B*, **1988**, 38, 1573.
98. D. Beljonne, W. Wenseleers, E. Zojer, Z. Shuai, H. Vogel, S. J. K. Pond, J. W. Perry, S. R. Marder, J. L. Brédas, *Adv. Funct. Mater.*, **2002**, 12, 631.
99. H.S. Nalwa, A. Kakuta, A. Mukoh, H. Kasai, S. Okada, H. Oikawa, et al., *Adv. Mater.*, **1993**, 5, 758.
100. R. Kannan, G. S. He, T.-C. Lin, P. N. Prasad, R. A. Vaia, L.-S. Tan, *Chem. Mater.*, **2004**, 16, 185.

## APÉNDICE

Datos de la estructura cristalina de los compuestos **1b**, **1c** y **2a**:

<b>Compuesto</b>	<b>1b</b>	<b>1c</b>	<b>2a</b>
Color	Amarillo	Rojo	Amarillo
Fórmula empírica	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O
Peso molecular	280.36	280.36	294.39
Sistema cristalino	Ortorrómbico	Ortorrómbico	Monoclínico
Grupo espacial	<i>P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub></i>	<i>Pca2<sub>1</sub></i>	<i>P2<sub>1</sub></i>
a (Å)	6.1828(2)	7.8065(4)	10.1300(0)
b (Å)	14.6917(8)	16.4260(14)	6.3550(0)
c (Å)	16.9541(5)	12.1222(12)	13.5220(0)
α (°)	90	90	90
β (°)	90	90	90
γ (°)	90	90	105.715(0)
V (Å <sup>3</sup> )	1540.04(1)	1554.40(2)	837.96(0)
Z	4	4	2
ρ <sub>calc.</sub> (g/cm <sup>3</sup> )	1.209	1.198	1.110
Rango Θ(°)	27.485	19.98	27.50
F(000)	599.9	599.9	299.9
Coefficiente de Abs. (mm <sup>-1</sup> )	0.076	0.075	0.069
Número de reflexiones:			
Medidas	11063	3602	5581
Únicas	3393	1418	3286
Observadas	2339	1248	2830
R [I > 2σ(I)]	0.054	0.038	0.046
Parámetros	196	190	203
ρ <sub>min</sub> (e Å <sup>3</sup> )	-0.156	-0.098	-0.147
ρ <sub>max</sub> (e Å <sup>3</sup> )	0.118	0.082	0.121
GOOF	1.039	0.976	1.026

**Compuesto 1b:**

Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°]

C(1)-N(2)	1.377(3)	C(3)-C(2)-C(1)	121.1(2)
C(1)-C(2)	1.395(3)	C(3A)-C(2A)-C(1)	121.6(2)
C(1)-C(2A)	1.399(3)	C(2)-C(3)-C(4)	122.8(2)
C(2)-C(3)	1.370(3)	C(2A)-C(3A)-C(4)	122.0(2)
C(2A)-C(3A)	1.374(3)	C(3A)-C(4)-C(3)	115.8(2)
C(3)-C(4)	1.396(3)	C(3A)-C(4)-C(5)	124.2(2)
C(3A)-C(4)	1.395(3)	C(3)-C(4)-C(5)	119.91(19)
C(4)-C(5)	1.448(3)	C(6)-C(5)-C(4)	128.4(2)
C(5)-C(6)	1.335(3)	C(5)-C(6)-C(7)	121.5(2)
C(6)-C(7)	1.435(3)	N(1)-C(7)-C(6)	122.9(2)
C(7)-N(1)	1.289(3)	C(13)-C(8)-C(9)	119.7(2)
C(8)-C(13)	1.385(3)	C(13)-C(8)-N(1)	116.7(2)
C(8)-C(9)	1.400(3)	C(9)-C(8)-N(1)	123.54(19)
C(8)-N(1)	1.417(3)	C(10)-C(9)-C(8)	117.9(2)
C(9)-C(10)	1.385(3)	C(10)-C(9)-C(14)	118.6(2)
C(9)-C(14)	1.503(3)	C(8)-C(9)-C(14)	123.39(19)
C(10)-C(11)	1.377(4)	C(11)-C(10)-C(9)	122.1(2)
C(11)-C(12)	1.368(4)	C(12)-C(11)-C(10)	119.4(2)
C(12)-C(13)	1.377(4)	C(11)-C(12)-C(13)	120.1(2)
C(14)-O(1)	1.423(3)	C(12)-C(13)-C(8)	120.8(2)
C(15)-N(2)	1.439(3)	O(1)-C(14)-C(9)	113.0(2)
C(15A)-N(2)	1.424(4)	C(7)-N(1)-C(8)	120.54(18)
N(2)-C(1)-C(2)	121.7(2)	C(1)-N(2)-C(15A)	121.4(2)
N(2)-C(1)-C(2A)	121.6(2)	C(1)-N(2)-C(15)	120.8(2)
C(2)-C(1)-C(2A)	116.7(2)	C(15A)-N(2)-C(15)	117.6(2)

Ángulos de torsión [°]

C(13)-C(8)-N(1)-C(7)	-131.5(2)
C(9)-C(8)-N(1)-C(7)	52.9(3)
N(1)-C(7)-C(6)-C(5)	-178.0(2)
C(2A)-C(1)-N(2)-C(15A)	0.8(4)
C(2)-C(1)-N(2)-C(15)	-3.7(4)
C(9)-C(14)-O(1)-H(1)	-109(2)

Enlace de hidrógeno [Å y °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(1)-H(1)...N(1)#1	0.96(4)	1.84(4)	2.774(2)	163(3)

Transformaciones de simetría usadas para generar átomos equivalentes: #1 x-1,y,z

**Compuesto 1c:**

Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°]

C(1)-N(2)	1.375(5)	C(3)-C(2)-C(1)	120.9(3)
C(1)-C(2A)	1.391(5)	C(3A)-C(2A)-C(1)	120.8(3)
C(1)-C(2)	1.397(5)	C(2)-C(3)-C(4)	122.0(3)
C(2)-C(3)	1.367(5)	C(2A)-C(3A)-C(4)	122.6(3)
C(2A)-C(3A)	1.367(5)	C(3A)-C(4)-C(3)	116.3(3)
C(3)-C(4)	1.394(5)	C(3A)-C(4)-C(5)	122.3(3)
C(3A)-C(4)	1.382(5)	C(3)-C(4)-C(5)	121.4(3)
C(4)-C(5)	1.454(5)	C(6)-C(5)-C(4)	127.9(3)
C(5)-C(6)	1.339(5)	C(5)-C(6)-C(7)	123.0(3)
C(6)-C(7)	1.422(5)	N(1)-C(7)-C(6)	122.2(3)
C(7)-N(1)	1.288(4)	C(13)-C(8)-C(9)	118.9(3)
C(8)-C(13)	1.387(5)	C(13)-C(8)-N(1)	118.5(3)
C(8)-C(9)	1.396(5)	C(9)-C(8)-N(1)	122.4(3)
C(8)-N(1)	1.416(5)	C(10)-C(9)-C(8)	121.4(3)
C(9)-C(10)	1.381(5)	C(9)-C(10)-C(11)	118.2(3)
C(10)-C(11)	1.391(5)	C(9)-C(10)-C(14)	120.4(3)
C(10)-C(14)	1.490(5)	C(11)-C(10)-C(14)	121.4(3)
C(11)-C(12)	1.371(5)	C(12)-C(11)-C(10)	121.1(3)
C(12)-C(13)	1.383(5)	C(11)-C(12)-C(13)	120.2(4)
C(14)-O(1)	1.415(4)	C(12)-C(13)-C(8)	120.0(4)
C(15)-N(2)	1.434(6)	O(1)-C(14)-C(10)	113.7(3)
C(15A)-N(2)	1.444(5)	C(7)-N(1)-C(8)	120.5(3)
N(2)-C(1)-C(2A)	120.8(4)	C(1)-N(2)-C(15)	122.5(4)
N(2)-C(1)-C(2)	121.9(4)	C(1)-N(2)-C(15A)	120.2(4)
C(2A)-C(1)-C(2)	117.3(3)	C(15)-N(2)-C(15A)	117.3(4)

Ángulos de torsión [°]

C(8)-C(13)-C(7)-N(1)	98.6(6)
N(1)-C(7)-C(6)-C(5)	179.4(3)
C(2)-C(1)-N(2)-C(15)	-0.4(6)
C(2A)-C(1)-N(2)-C(15A)	-4.3(5)
C(10)-C(14)-O(1)-H(1)	55.5

Enlace de hidrógeno [Å y °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(1)-H(1A)...N(1)#1	0.82	2.04	2.849(4)	167.1

Transformaciones de simetría usadas para generar átomos equivalentes: #1 x-1,y,z

### Compuesto 2a:

Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°].

C(1)-N(2)	1.3785(19)	C(3)-C(2)-C(1)	120.92(14)
C(1)-C(2)	1.397(2)	C(3)-C(2)-H(2)	119.5
C(1)-C(2A)	1.408(2)	C(1)-C(2)-H(2)	119.5
C(2)-C(3)	1.382(2)	C(3A)-C(2A)-C(1)	120.85(14)
C(2)-H(2)	0.9300	C(3A)-C(2A)-H(2A)	119.6
C(2A)-C(3A)	1.380(2)	C(1)-C(2A)-H(2A)	119.6
C(2A)-H(2A)	0.9300	C(2)-C(3)-C(4)	122.38(15)
C(3)-C(4)	1.399(2)	C(2)-C(3)-H(3)	118.8
C(3)-H(3)	0.9300	C(4)-C(3)-H(3)	118.8
C(3A)-C(4)	1.399(2)	C(2A)-C(3A)-C(4)	122.28(13)
C(3A)-H(3A)	0.9300	C(2A)-C(3A)-H(3A)	118.9
C(4)-C(5)	1.4510(19)	C(4)-C(3A)-H(3A)	118.9
C(5)-C(6)	1.345(2)	C(3)-C(4)-C(3A)	116.20(12)
C(5)-H(5)	0.9300	C(3)-C(4)-C(5)	119.41(14)
C(6)-C(7)	1.4396(19)	C(3A)-C(4)-C(5)	124.39(13)
C(6)-H(6)	0.9300	C(6)-C(5)-C(4)	128.17(15)
C(7)-N(1)	1.2774(18)	C(6)-C(5)-H(5)	115.9
C(7)-H(7)	0.9300	C(4)-C(5)-H(5)	115.9
C(8)-N(1)	1.4719(18)	C(5)-C(6)-C(7)	121.69(15)
C(8)-C(10)	1.5186(19)	C(5)-C(6)-H(6)	119.2
C(8)-C(9)	1.5282(19)	C(7)-C(6)-H(6)	119.2
C(8)-H(8)	0.9800	N(1)-C(7)-C(6)	122.81(14)
C(9)-O(1)	1.4133(17)	N(1)-C(7)-H(7)	118.6
C(9)-H(9A)	0.9700	C(6)-C(7)-H(7)	118.6
C(9)-H(9B)	0.9700	N(1)-C(8)-C(10)	110.63(11)
C(10)-C(11)	1.385(2)	N(1)-C(8)-C(9)	109.27(12)
C(10)-C(11A)	1.386(2)	C(10)-C(8)-C(9)	109.13(11)
C(11)-C(12)	1.397(2)	N(1)-C(8)-H(8)	109.3
C(11)-H(11)	0.9300	C(10)-C(8)-H(8)	109.3
C(11A)-C(12A)	1.387(2)	C(9)-C(8)-H(8)	109.3
C(11A)-H(11A)	0.9300	O(1)-C(9)-C(8)	113.53(12)
C(12)-C(13)	1.369(4)	O(1)-C(9)-H(9A)	108.9
C(12)-H(12)	0.9300	C(8)-C(9)-H(9A)	108.9
C(12A)-C(13)	1.370(3)	O(1)-C(9)-H(9B)	108.9
C(12A)-H(12A)	0.9300	C(8)-C(9)-H(9B)	108.9
C(13)-H(13)	0.9300	H(9A)-C(9)-H(9B)	107.7
C(14)-N(2)	1.453(2)	C(11)-C(10)-C(11A)	118.96(14)
C(14)-H(14A)	0.9600	C(11)-C(10)-C(8)	119.04(15)
C(14)-H(14B)	0.9600	C(11A)-C(10)-C(8)	121.98(14)
C(14)-H(14C)	0.9600	C(10)-C(11)-C(12)	119.84(19)
C(14A)-N(2)	1.431(3)	C(10)-C(11)-H(11)	120.1
C(14A)-H(14D)	0.9600	C(12)-C(11)-H(11)	120.1
C(14A)-H(14E)	0.9600	C(10)-C(11A)-C(12A)	120.60(18)
C(14A)-H(14F)	0.9600	C(10)-C(11A)-H(11A)	119.7
O(1)-H(15)	0.85(2)	C(12A)-C(11A)-H(11A)	119.7
N(2)-C(1)-C(2)	121.14(14)	C(13)-C(12)-C(11)	120.41(19)
N(2)-C(1)-C(2A)	121.49(15)	C(13)-C(12)-H(12)	119.8
C(2)-C(1)-C(2A)	117.36(13)	C(11)-C(12)-H(12)	119.8

C(13)-C(12A)-C(11A)	120.1(2)	N(2)-C(14A)-H(14D)	109.5
C(13)-C(12A)-H(12A)	120.0	N(2)-C(14A)-H(14E)	109.5
C(11A)-C(12A)-H(12A)	120.0	H(14D)-C(14A)-H(14E)	109.5
C(12)-C(13)-C(12A)	120.08(17)	N(2)-C(14A)-H(14F)	109.5
C(12)-C(13)-H(13)	120.0	H(14D)-C(14A)-H(14F)	109.5
C(12A)-C(13)-H(13)	120.0	H(14E)-C(14A)-H(14F)	109.5
N(2)-C(14)-H(14A)	109.5	C(7)-N(1)-C(8)	117.23(13)
N(2)-C(14)-H(14B)	109.5	C(1)-N(2)-C(14A)	121.51(15)
H(14A)-C(14)-H(14B)	109.5	C(1)-N(2)-C(14)	119.39(16)
N(2)-C(14)-H(14C)	109.5	C(14A)-N(2)-C(14)	118.71(14)
H(14A)-C(14)-H(14C)	109.5	C(9)-O(1)-H(15)	108.7(13)
H(14B)-C(14)-H(14C)	109.5		

---

Ángulos de torsión [°]

---

C(11A)-C(10)-C(8)-N(1)	34.87(17)
C(11)-C(10)-C(8)-C(9)	93.27(15)
N(1)-C(8)-C(9)-O(1)	60.84(15)
N(1)-C(7)-C(6)-C(5)	-178.12(13)
C(6)-C(5)-C(4)-C(3)	174.49(13)
C(2A)-C(1)-N(2)-C(14A)	5.7(2)

---

Enlace de hidrógeno [Å y °].

---

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(1)-H(15)...N(1)#1	0.85(2)	1.92(2)	2.7598(19)	169.7(18)

---

Transformaciones de simetría usadas para generar átomos equivalentes: #1 x-1,y,z

Datos de la estructura cristalina del compuesto **1NSD**:

<b>Compuesto</b>	<b>1NSD</b>
Color	Amarillo
Fórmula empírica	$C_{38}H_{45}N_1$
Peso molecular	515.75
Sistema cristalino	Triclínica
Grupo espacial	<i>P-1</i>
a (Å)	11.4110
b (Å)	14.4461
c (Å)	21.8552
$\alpha$ (°)	88.943
$\beta$ (°)	80.894
$\gamma$ (°)	67.994
V (Å <sup>3</sup> )	3294.81
Z	4
$\rho_{\text{calc.}}$ (g/cm <sup>3</sup> )	1.042
Rango $\Theta$ (°)	27.101
F(000)	1119.8
Coeficiente de Abs. (mm <sup>-1</sup> )	0.059
Número de reflexiones:	
Medidas	35115
Únicas	13619
Observadas	5702
R [ $I > 2\sigma(I)$ ]	0.126
Parámetros	756
$\rho_{\text{min}}$ (e Å <sup>3</sup> )	-0.197
$\rho_{\text{max}}$ (e Å <sup>3</sup> )	0.282
GOOF	1.047