



VNIVERSITAT ID VALÈNCIA

Instituto Interuniversitario de Reconocimiento Molecular
y Desarrollo Tecnológico (IDM)

DOCTORADO EN QUÍMICA

**QUIMIOSENSORES Y QUIMIODOSÍMETROS
PARA LA DETECCIÓN DE
NEUROTRANSMISORES**

Tesis Doctoral

Presentada por:

Samuel Adrián Ceballos Fernández

Dirigida por:

Prof. Ana M^a Costero Nieto

Prof. Salvador Gil Grau

Octubre 2019

Dña. Ana María Costero Nieto, Catedrática de Universidad del Departamento de Química de la Universidad de Valencia.

D. Salvador Gil Grau, Catedrático de Universidad del Departamento de Química de la Universidad de Valencia.

CERTIFICAN:

Que el trabajo que presenta D. Samuel Adrián Ceballos Fernández en esta memoria, bajo el título “**Quimiosensores y quimiodosímetros para la detección de neurotransmisores**”, ha sido realizado bajo su dirección en el Instituto Interuniversitario de Investigación en Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico de la Universidad de Valencia.

Y para que así conste, a efectos de su presentación para optar al grado de Doctor, expiden el presente certificado que firman en Valencia, octubre 2019.

Dra. Ana M^a Costero Nieto

Dr. Salvador Gil Grau

A mis padres, a mi hermano y a Ismael

"There is nothing but chemistry here."

Walter White

*"Imagination will often carry us to worlds that never were.
But without it we go nowhere."*

Carl Sagan

Agradecimientos

Para empezar, quiero agradecer a mis directores, Ana M. Costero y Salvador Gil, todo el esfuerzo que han realizado para que esta Tesis sea posible y el apoyo que me han ofrecido tanto a nivel académico como personal. También quiero dar las gracias a Margarita Parra y a Pablo Gaviña por sus consejos e ideas.

En segundo lugar, agradecer a mis compañeros de laboratorio por estar ahí siempre que os he necesitado, por su cariño y por las risas que nos hemos echado juntos. Sobre todo, quiero dar las gracias a Silvia Rodríguez por su gran contribución al desarrollo de esta Tesis, por sus sabios consejos y por ser de esas personas que hacen del mundo un lugar mejor. También, agradecer a Elena la paciencia que ha tenido para aguantarme tantos años y por ser tan buena compañía y hacer más amenas los largos días de columna. Agradecer a mis compañeros más recientes, Alejandro y Borja por el buen rollo y las ideas que aportan al laboratorio. También quiero agradecer a mis compañeros del laboratorio 4.34 (Raúl, Kathe, Almudena, Dani, Estefanía, Carlos y Tania) por lo que me han enseñado y por los buenos momentos que hemos pasado juntos. No quiero olvidarme de dar las gracias a Mar por las interesantes conversaciones que hemos tenido a lo largo de los años y a mi antiguo compañero de clase Toni, por hacer aún mejores aquellos años. También agradecer a mi amigo Adrián sus consejos y ayuda en la escritura de esta Tesis.

Finalmente, y no por ello menos importante, gracias a mi familia. A mis padres, Lola y Jesús, por todo lo que me han dado en la vida. A mi hermano Mario, por todo lo que hemos pasado juntos. A mi tía María, por haberme cuidado y querido como a un hijo. Gracias a mis amigos por estar ahí para lo bueno y para lo malo, y, por último, gracias a Ismael, por su enorme paciencia y por hacer mi vida mucho mejor.

Resumen

La presente Tesis Doctoral titulada “Quimiosensores y quimiodosímetros para la detección de neurotransmisores” está centrada en el desarrollo de nuevos sistemas para la detección cromogénica y fluorogénica de biomoléculas, haciendo especial hincapié en el uso del fenómeno conocido como Emisión Inducida por Agregación (AIE) como mecanismo de transducción. Para ello, se han sintetizado y estudiado una serie de derivados del tetrafeniletano (TPE), compuesto que presenta propiedades AIE que pueden ser modificadas fácilmente gracias a la adecuada funcionalización del mismo.

En el capítulo 1, se realiza una introducción general sobre sensores químicos y el fenómeno de emisión inducida por agregación.

En el capítulo 2, se indican los objetivos de esta Tesis Doctoral.

En el capítulo 3 se describe cómo, en derivados del TPE funcionalizados con anillos de triazol sustituidos con cadenas alifáticas, la intensidad del fenómeno AIE depende tanto de la longitud de la cadena alifática en el heterociclo como de la naturaleza del átomo que está directamente unido a los anillos aromáticos.

En el capítulo 4 se describe el desarrollo de un derivado del TPE capaz de actuar como dosímetro químico para detectar selectivamente NO a través de una reacción de cicloadición de Huisgen inducida por Cu(I) generado a partir de Cu(II) usando NO como

agente reductor, usando el fenómeno AIE como mecanismo de transducción.

En el capítulo 5 se describe cómo el derivado del TPE que contiene el grupo dimetilamino en las posiciones 4,4',4'' y 4''' (TDAPE) puede actuar como un sensor químico capaz de detectar la presencia de NO₂ a través de una reacción de oxidación. Esta detección se puede realizar a simple vista gracias al drástico cambio de color que experimenta el compuesto. El mismo compuesto demostró ser capaz de reaccionar con SO₂, pero solo en presencia de hidropéroxido de *tert*-butilo. Estudios electroquímicos realizados nos llevan a concluir que el hidropéroxido de *tert*-butilo oxida lentamente al TDAPE bajo la asistencia regenerativa del SO₂ gas.

En el capítulo 6, se describe el proceso de síntesis realizado para obtener derivados del TPE para la detección de bioaminas, usando el mecanismo de la Restricción de la Rotación Intramolecular (RIR) para producir cambios en la emisión de los mismos. Para la detección de dopamina, se diseñó un derivado del TPE con un éster de *N*-hidroxisuccinimida y un ácido borónico, mientras que para la detección de bioaminas alifáticas se utilizó un derivado del TPE con dos grupos ácido carboxílico, que demostró una cierta selectividad que se relaciona con la longitud de la cadena de la amina.

En el capítulo 7, se exponen las conclusiones generales de este trabajo.

Finalmente, en el capítulo 8, se recogen en detalle las síntesis químicas y demás procedimientos experimentales.

Resum

La present Tesi Doctoral titulada "Quimiosensors i Quimiodosímetres per a la Detecció de Neurotransmissors" està centrada en el desenvolupament de nous sistemes per a la detecció cromogènica i fluorogènica de biomolècules, fent ús especialment del fenomen conegut com a Emissió Induïda per Agregació (AIE) com a mecanisme de transducció. Per això, s'han sintetitzat i estudiat una sèrie de derivats del tetrafenileté (TPE), compost que presenta propietats AIE modificables fàcilment mitjançant una funcionalització adient del nucli.

Al capítol 1, es realitza una introducció general sobre sensors químics i el fenomen d'emissió induïda per agregació.

Al capítol 2, s'indiquen els objectius d'aquesta Tesi Doctoral.

Al capítol 3 es descriu com, als derivats del TPE funcionalitzats amb anells de triazole substituïts amb cadenes alifàtiques, la intensitat del fenomen AIE depèn, tant de la longitud de la cadena alifàtica de l'heterocicle com de la natura de l'àtom directament unit als anells aromàtics.

Al capítol 4 es descriu el desenvolupament d'un derivat del TPE capaç d'actuar com a dosímetre químic per a la detecció selectiva de NO mitjançant una reacció de cicloadició de Huisgen induïda pel Cu(I) generat per reducció de Cu(II) en presència de NO i fent ús del fenomen AIE com mecanisme de transducció.

Al capítol 5 es descriu com el derivat del TPE amb grups dimetilamina a les posicions 4,4',4'' y 4''' (TDAPE) pot actuar com a sensor químic per a detectar la presència de NO₂ mitjançant una reacció d'oxidació. Aquesta detecció s'observa a simple vista gràcies al canvi dràstic de color que experimenta el compost. Aquest mateix compost també reacciona amb SO₂, però sols combinat amb hidroperòxid de *terc*-butil. Estudis electroquímics ens permeteren concloure que l'hidroperòxid de *terc*-butil oxida lentament al TDAPE baix l'assistència regenerativa del SO₂ gas.

Finalment, al capítol 6 es descriu la sèrie de síntesis desenvolupada per tal d'obtindre derivats del TPE amb la finalitat de detectar bioamines mitjançant el mecanisme de Restricció de la Rotació Intramolecular (RIR) per provocar canvis en la emissió fluorescent. Per la detecció de dopamina, es va dissenyar un derivat del TPE amb un èster de *N*-hidroxisuccinimida i un àcid borònic, mentre que per detectar bioamines alifàtiques es va emprar un derivat del TPE amb dos grups àcid carboxílic, que va mostrar certa selectivitat que es relaciona amb la longitud de cadena de l'amina.

Al capítol 7, s'exposen les conclusions generals d'aquest treball.

Finalment, al capítol 8 es recullen detalladament les síntesis químiques i altres procediments experimentals.

Abstract

The present Ph.D. Thesis, entitled "Chemosensors and chemodosimeters for the detection of neurotransmitters" is focused on the development of new systems for the chromo- and fluoro-genic detection of biomolecules. Aggregation Induced Emission (AIE) will be used as the main transduction mechanism and, accordingly, a series of tetraphenylethene (TPE) derivatives have been synthesized and studied due to the known AIE properties of TPE derivatives that can be easily regulated by an adequate functionalization of the TPE.

In the first chapter, a general introduction of the chemical sensors and the aggregation induced emission phenomenon is presented.

In the second chapter, the targets of the thesis are outlined.

In the third chapter, the AIE behaviour of a series of TPE functionalized with different aliphatic chains including triazole moieties are described. The intensity of the AIE phenomenon depends both on the length of the aliphatic chain bonded to the heterocycle and on the nature of the atom directly bonded to the aromatic rings.

In the fourth chapter, a TPE derivative able to act as chemodosimeter for the selective sensing of NO is described. A cycload-

dition of Huisgen, catalysed by the Cu(I) generated from the reduction of Cu(II) promoted by NO, is used to modify the TPE derivative and AIE is used as transduction mechanism.

In the fifth chapter, the capability of a TPE derivative with dimethylamine substituents in the 4,4',4'',4''' positions (TDAPE) of acting as a NO₂ sensor through oxidation is described. The change can be detected by the naked eye thanks to the drastic change in colour. The same compound is also able to detect SO₂, provided *t*-butyl hydroperoxide is present. An electrochemical study was performed that lead us to the conclusion that the TDAPE is slowly oxidized by the *t*-butyl hydroperoxide under the regenerative assistance of the SO₂ gas.

In the sixth chapter, the process of synthesis of different TPE derivatives, intended to detect bioamines through a Restriction of the Intramolecular Rotation (RIR) mechanism is described. RIR is expected to induce changes in the fluorescence intensity. Thus, for the sensing of dopamine, a TPE derivative with a *N*-hydroxy-succimide ester and a boronic acid was designed; whereas for the detection of aliphatic bioamines a TPE derivative with two carboxylic acids was obtained. This latter derivative exhibits some selectivity related to the length of the chain of the amine.

In the seventh chapter, the general conclusions of this work are laid out.

Finally, in the eight chapter, the chemical syntheses and other experimental procedures are explained in detail.

Publicaciones

Las siguientes publicaciones son fruto del trabajo de investigación relacionado con esta Tesis Doctoral:

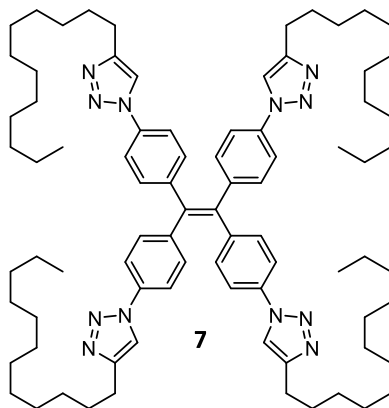
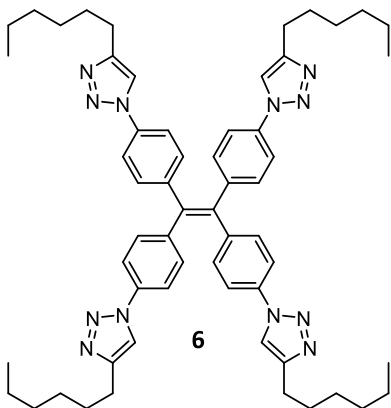
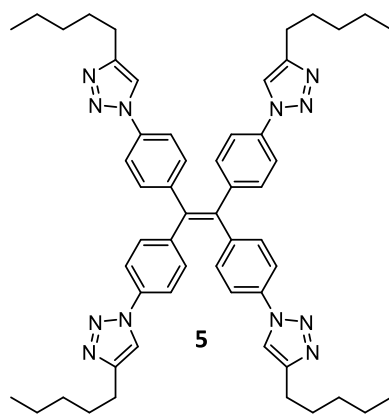
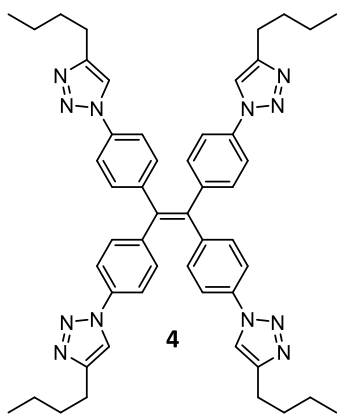
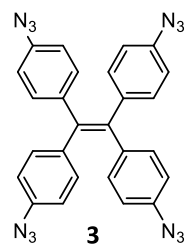
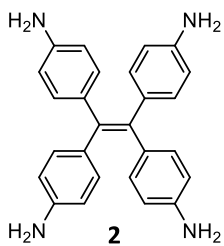
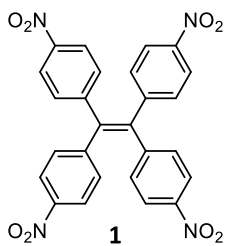
- Samuel A. Ceballos, Salvador Gil, Ana M. Costero. Influence of side chain characteristics on the aggregation-induced emission (AIE) properties of tetrasubstituted tetraphenylethylene. *RSC Adv.*, 2017, 7, 14279.
- Silvia Rodríguez-Nuévalos, Margarita Parra, Samuel A. Ceballos, Salvador Gil, Ana M. Costero. A nitric oxide induced “click” reaction to trigger the Aggregation Induced Emission (AIE) phenomena of a tetraphenyl ethylene derivative: A new fluorescent probe for NO. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, 2019, 112132.
- Samuel A. Ceballos, Andrés Sala, Salvador Gil, Silvia Rodríguez-Nuévalos, Ana M. Costero, Antonio Doménech. Chemical and electrochemical behaviour of 4,4',4'',4'''-tetrakis(dimethylamino)-tetraphenylethylene in an oxidant environment: Toward a new sensor for NO₂ and SO₂ in gas phase. *Sensors Actuators B Chem.* **Enviado.**

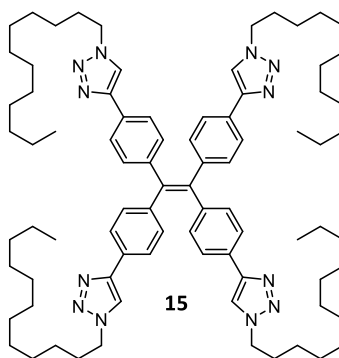
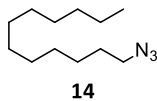
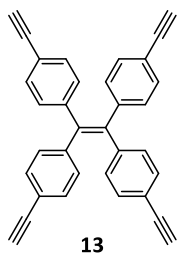
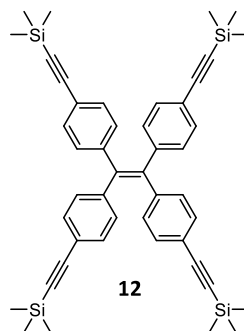
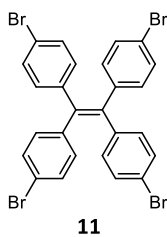
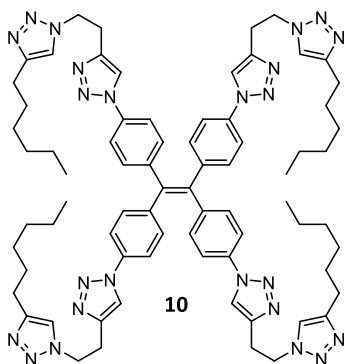
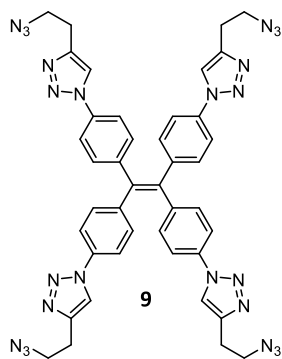
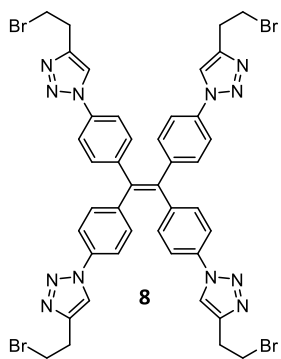
Abreviaturas

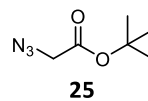
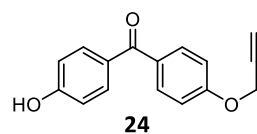
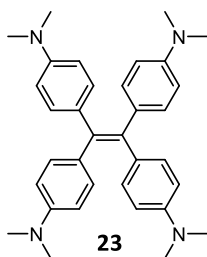
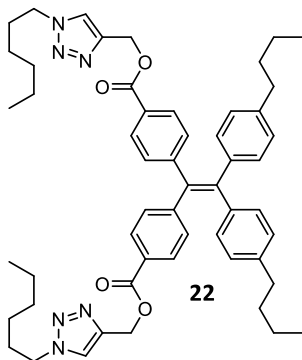
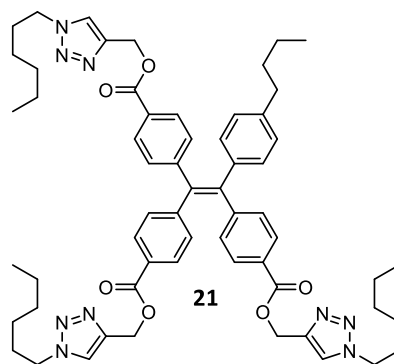
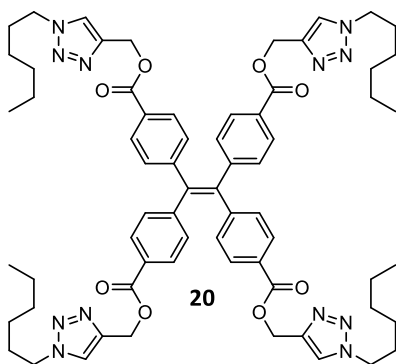
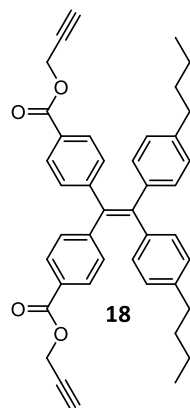
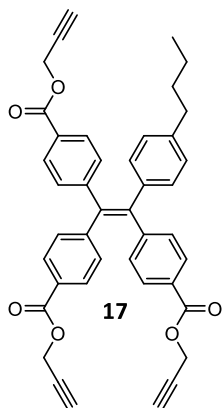
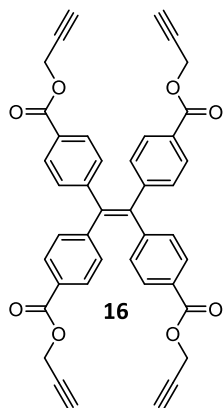
^{13}C -RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
^1H -RMN	Resonancia magnética nuclear de protón
A1	Onda anódica 1 del TDAPE
A2	Onda anódica 2 del TDAPE
A3	Onda anódica 3 del TDAPE
ACQ	Apagado por agregación
AIE	Emisión inducida por agregación
A _{oo}	Onda anódica del hidroperóxido de <i>t</i> -butilo
A _{ox}	Onda anódica del oxígeno
BDAB	4,4'-bis(<i>N,N</i> -dimetilamino)bifenilo
BHT	<i>t</i> -Butil hidroxitolueno
BODIPY	Borodipirrometeno
BPYC	Catión bipyridilio incoloro
C1	Onda catódica 1 del TDAPE
C _{oo}	Onda catódica del hidroperóxido de <i>t</i> -butilo
C _{ox}	Onda catódica del oxígeno
CT	Transferencia de carga
CuAAC	Cicloaddición de azida-alquino catalizada por cobre
d	Doblete
DA	Dopamina
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DFT	Teoría del funcional de la densidad
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
DMSO- <i>d</i> ₆	Sulfóxido de dimetilo deuterado
EET	Transferencia electrónica de energía
EPR	Resonancia electrónica paramagnética
ESI	Ionización por electrospray
ESIPT	Transferencia protónica intramolecular de estado excitado

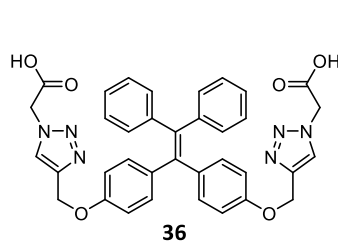
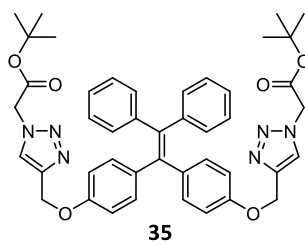
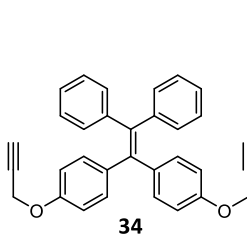
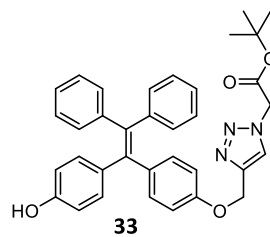
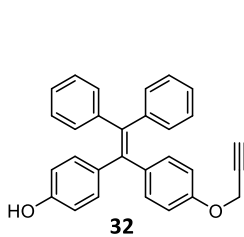
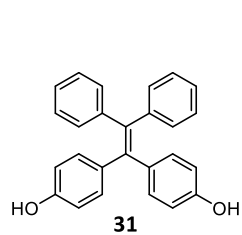
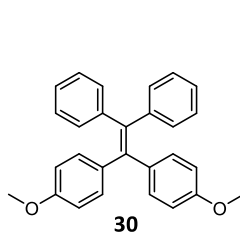
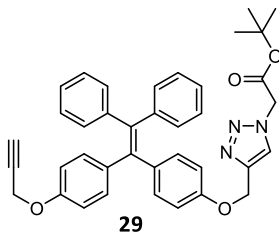
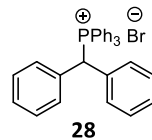
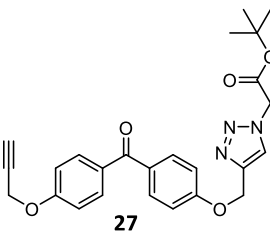
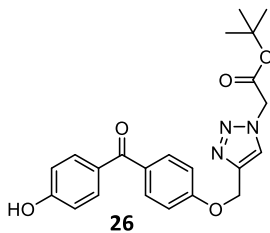
FRET	Transferencia de energía de resonancia de Förster
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GCE	Electrodo de carbono vitrificado
h	Hora/sextuplete
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
ICT	Transferencia interna de carga
iNO	Monóxido de nitrógeno inhalado
IUPAC	Unión internacional de química pura y aplicada
m	Multiplete
MCM	Composición de materia de Mobil
NaAsc	Ascorbato de sodio
NOS	Óxido nítrico sintasa
OLED	Diodo emisor de luz orgánico
PET	Transferencia electrónica fotoinducida
q	Quintuplete
RIR	Restricción de la rotación intramolecular
s	Singlete
SBTPE	TPE con éster de succinimida y ácido borónico
SEM	Microscopio electrónico de barrido
t	Triplete/tiempo
TATP	Triperóxido de triacetona
TDAPE	Tetrakis(4-(<i>N,N</i> -dimetilamino)fenil)eteno
THF	Tetrahidrofurano
THF- <i>ds</i>	Tetrahidrofurano deuterado
TICT	Transferencia interna de carga por giro
TLC	Cromatografías en capa fina
TPE	Tetrafenileteno
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UV-vis	Ultravioleta-visible

Índice de compuestos









Índice de contenido

1 Introducción general	1
1.1 Quimiosensores	3
1.2 Emisión inducida por agregación (AIE)	9
1.2.1 Fenómeno	9
1.2.2 Mecanismo	11
1.2.3 Aplicaciones	14
2 Objetivos	17
3 Influencia de las características de las cadenas laterales en las propiedades AIE de tetrafeniletenos sustituidos	21
3.1 Introducción.....	23
3.2 Resultados y discusión	25
3.2.1 Síntesis de los derivados de TPE	25
3.2.2 Influencia de la posición del átomo de nitrógeno	27
3.2.3 Influencia de la longitud de las cadenas periféricas.	36
3.3 Conclusiones	39
4 Detección de fluorimétrica de monóxido de nitrógeno (NO)	41
4.1 Introducción.....	43
4.2 Resultados y discusión	47
4.2.1 Síntesis de los derivados de TPE	47
4.2.2 Optimización de las condiciones de medida.....	50

4.2.3 Estudio de la capacidad para detectar NO.....	58
4.3 Conclusiones.....	65
5 Detección colorimétrica de dióxidos de nitrógeno (NO₂) y azufre (SO₂).....	67
5.1 Introducción.....	69
5.2 Resultados y discusión.....	74
5.2.1 Síntesis del TDAPE.....	74
5.2.2 Reacción del TDAPE con dióxido de nitrógeno.....	75
5.2.3 Reacción del TDAPE con dióxido de azufre.....	78
5.2.4 Estudio electroquímico de la oxidación del TDAPE por el par SO ₂ /hidroperóxido de <i>terc</i> -butilo.....	82
5.3 Conclusiones.....	89
6 Detección fluorimétrica de bioaminas.....	91
6.1 Introducción.....	93
6.2 Resultados y discusión.....	96
6.2.1 Diseño y síntesis de receptores de bioaminas.....	96
6.2.2 Estudios preliminares de detección de bioaminas alifáticas.....	107
6.3 Conclusiones.....	110
7 Conclusiones.....	113
8 Procedimiento experimental.....	117
8.1 Métodos generales.....	119

8.2 Procedimientos de síntesis.....	121
8.2.1 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-nitrofenil)eteno (1)	121
8.2.2 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-aminofenil)eteno (2) ..	122
8.2.3 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-azidofenil)eteno (3) ...	123
8.2.4 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (4).....	124
8.2.5 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (5).....	125
8.2.6 Síntesis de 1,1,2,2 tetrakis(4-(4-hexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (6).....	127
8.2.7 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-dodecil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (7)	128
8.2.8 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-(2-bromoetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (8)	129
8.2.9 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-(2-azidoetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (9)	130
8.2.10 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-(2-(4-hexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-ilo)fenil)eteno (10)	131
8.2.11 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-bromofenil)eteno (11)	132
8.2.12 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-((trimetilsilil)etinizil)fenil)eteno (12)	134
8.2.13 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-etinizilfenil)eteno (13)	135
8.2.14 Síntesis de 1 azidododecano (14)	136
8.2.15 Síntesis de 1,1,2,2 tetrakis(4-(1-dodecil-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)eteno (15)	137

8.2.16 Síntesis de 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail)tetrabenzoato de tetra(prop-2-in-1-ilo) (16); 4,4',4''-(2-(4-butilfenil)eteno-1,1,2-triil)tribenzoato de tri(prop-2-in-1-ilo) (17) y 4,4'-(1,2-bis(4-butilfenil)eteno-1,2-diil)dibenzoato de di(prop-2-in-1-ilo) (18)	138
8.2.17 Síntesis de 1-azidohexano (19).....	142
8.2.18 Síntesis de 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail)tetrabenzoato de tetrakis((1-hexil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilo) (20).....	142
8.2.19 Síntesis de 4,4',4''-(2-(4-butilfenil)eteno-1,1,2-triil)tribenzoato de tris((1-hexil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilo) (21).....	144
8.2.20 Síntesis de 4,4'-(1,2-bis(4-butilfenil)eteno-1,2-diilo)dibenzoato de bis((1-hexil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilo) (22).....	145
8.2.21 Síntesis de 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail)-tetrakis(<i>N,N</i> -dimetilánilina) (23).....	146
8.2.22 Síntesis de (4-hidroxifenil)(4-(prop-2-in-1-ilo)fenil)metanona (24).....	148
8.2.23 Síntesis de 2-azidoacetato de <i>terc</i> -butilo (25)	150
8.2.24 Síntesis de 2-(4-((4-(4-hidroxibenzoil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de <i>terc</i> -butilo (26)	151
8.2.25 Síntesis de 2-(4-((4-(4-(prop-2-in-1-ilo)fenoxi)benzoil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de <i>terc</i> -butilo (27) .	152
8.2.26 Síntesis de bromuro de benzhidriltrifenilfosfonio (28).....	153
8.2.27 Síntesis de 4,4'-(2,2-difenileteno-1,1-diil)bis(metoxibenceno) (30)	154
8.2.28 Síntesis de 4,4'-(2,2-difenileteno-1,1-diil)difenol (31)	155

8.2.29 Síntesis de 4-(2,2-difenil-1-(4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil)vinil)fenol (32)	156
8.2.30 Síntesis de 2-(4-((4-(1-(4-hidroxifenil)-2,2-difenilvinil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de <i>terc</i> -butilo (33)	159
8.2.31 Síntesis de 4,4'-(2,2-difeniletano-1,1-diil)bis((prop-2-in-1-iloxi)benceno) (34)	161
8.2.32 Síntesis de 2,2'-((((2,2-difeniletano-1,1-diil)bis(4,1-fenileno))bis(oxi))bis(metileno))bis(1H-1,2,3-triazol-4,1-diil)diacetato de di- <i>terc</i> -butilo (35)	162
8.2.33 Síntesis de ácido 2,2'-((((2,2-difeniletano-1,1-diil)bis(4,1-fenileno))bis(oxi))bis(metileno))bis(1H-1,2,3-triazol-4,1-diil)diacético (36)	164
8.3 Medidas de absorción UV-visible	165
8.3.1 Compuestos 4, 5, 6, 7 y 15 en THF y MeOH	165
8.3.2 Compuestos 9, 10, 16-18 y 20-22 en THF y MeOH.	169
8.3.3 TDAPE (23) con NO ₂ en varios disolventes	174
8.3.4 TDAPE (23) con SO ₂ y t-BuOOH en varios disolventes	178
8.4 Medidas de fluorescencia	181
8.4.1 Compuestos 4, 5, 6, 7 y 15 en THF/agua y MeOH/agua	181
8.4.2 Compuestos 9, 10, 16-18 y 20-22 en THF/agua y MeOH/agua	191
8.4.3 Compuesto 36 con bioaminas alifáticas	199
Bibliografía	203

Capítulo 1

Introducción general

1.1 Quimiosensores

La química del desarrollo de quimiosensores y quimiodosímetros ha recorrido un largo camino desde que F. Goppelsröder usó por primera vez la morina, un compuesto natural que se puede aislar de algunas plantas, como sensor fluorescente de iones Al^{3+} en 1867; hasta ejemplos más recientes, como el desarrollo de un sistema ratiométrico en el infrarrojo cercano para la detección in vivo de β -galactosidasa, un conocido biomarcador de senescencia celular y diversos tipos de cáncer.¹

Los quimiosensores se definen como estructuras, que pueden ser orgánicas o inorgánicas, capaces de interactuar con un analito de forma selectiva, dando como resultado un cambio en alguna magnitud física observable del sistema.

En los sensores convencionales se pueden identificar dos unidades: La unidad receptora o de reconocimiento, encargada de interactuar con el analito de forma selectiva; y la subunidad señalizadora o indicadora, que transduce esta interacción microscópica en una señal macroscópica observable.

Se han desarrollado quimiosensores basados en el cambio de magnitudes eléctricas, como el potencial redox² o la capacidad eléctrica.³ Sin embargo, son mucho más comunes aquellos basados en magnitudes ópticas, como la absorción o emisión de radiación electromagnética.⁴

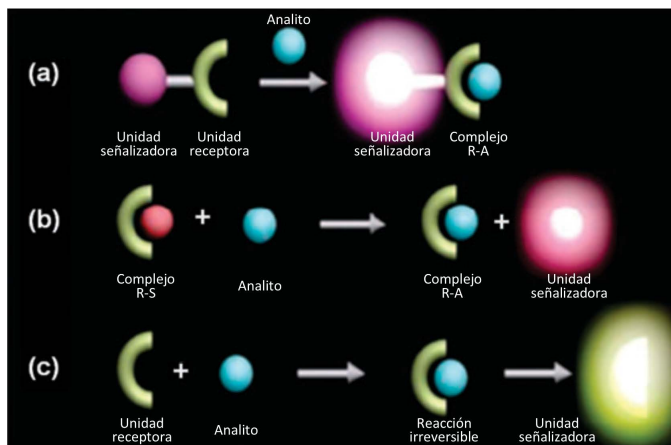


Figura 1.1. Ejemplos esquemáticos de las tres aproximaciones descritas. (a) Unidades receptora y señalizadora unidas covalentemente. El complejo R-A es el resultado de la interacción del analito con la unidad receptora. (b) Unidades receptora y señalizadora formando un complejo supramolecular (complejo R-S). (c) Unidad receptora que reacciona irreversiblemente con el analito para dar lugar a la unidad señalizadora.⁵

Convencionalmente, se han utilizado tres aproximaciones básicas al diseñar sensores ópticos (figura 1.1):⁵

- a) La unidad receptora y la señalizadora están unidas covalentemente de modo que la interacción del analito con la primera dé lugar a un cambio en el color o en la fluorescencia de la segunda.

Un ejemplo de este tipo de sensor lo encontramos en el desarrollado por D. H. Vance y A. W. Czarnik para la detección de iones pirofosfato (figura 1.2).⁶

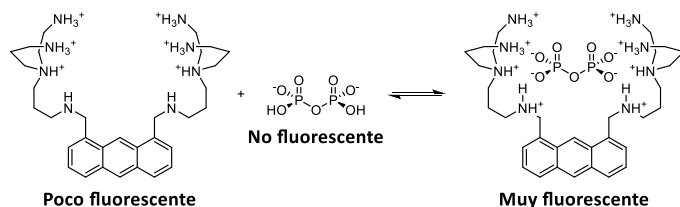


Figura 1.2. Quimiosensor fluorogénico para detección de iones pirofosfato. La interacción del pirofosfato con los residuos amonio provoca un aumento de la fluorescencia de la unidad de antraceno.⁶

- b) La unidad receptora y la señalizadora forman un complejo supramolecular, de forma que la interacción del analito con la primera desplaza la unidad señalizadora del centro de reconocimiento, provocando un cambio en sus propiedades ópticas.

Esta aproximación ha sido utilizada, entre muchos otros, por K. M. Orcutt, W. S. Jones, A. McDonald, D. Schrock y K. J. Wallace para desarrollar unos sensores fluorogénicos para detectar Fe^{3+} biodisponible en el océano. Estos consisten en un complejo derivado de la desferrioxamina con Tb(III) , que el Fe(III) es capaz de desplazar fácilmente, provocando una disminución de la fluorescencia del sistema (figura 1.3).⁷

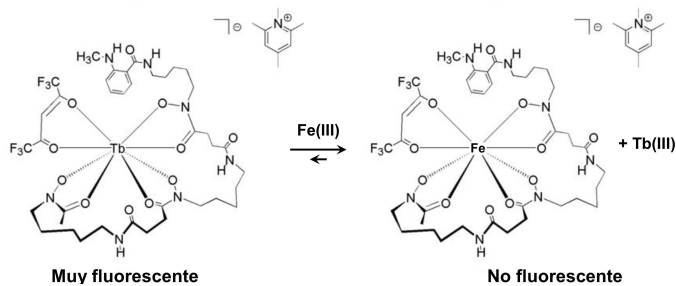


Figura 1.3. Quimiosensor fluorogénico para la detección de Fe(III). La expulsión del Tb(III) del complejo impide que la unidad receptora le transfiera energía que absorbe y, por tanto, su fluorescencia se apaga.⁷

- c) El analito provoca una reacción química irreversible en la unidad receptora de forma que esta se transforma en la unidad señalizadora, que presenta diferentes propiedades ópticas. Este tipo de sensores se conocen como quimiodosímetros.

Una muestra de este tipo de sistemas es el quimiodosímetro cromogénico para iones cianuro en agua o plasma sanguíneo desarrollado por C. R. Nicoletti, L. G. Nandi, and V. G. Machado (figura 1.4).⁸

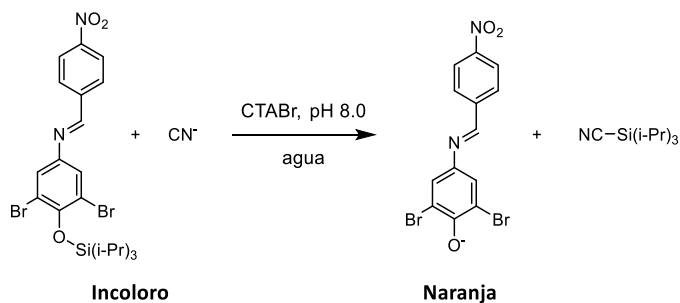


Figura 1.4. Quimiodosímetro cromogénico para la detección de iones cianuro. El cianuro es capaz de reaccionar irreversiblemente con grupo silano del dosímetro en el entorno micelar creado por el CTABr, dando lugar a un compuesto naranja.⁸

Sin embargo, gracias al desarrollo de la química supramolecular en los últimos años, se han obtenido nuevos sistemas basados en la agregación o la disgregación molecular. En estos, la interacción con el analito provoca o bien la formación de agregados moleculares o la disgregación de los mismos, originando un cambio en la fluorescencia del sistema (figura 1.5).⁹

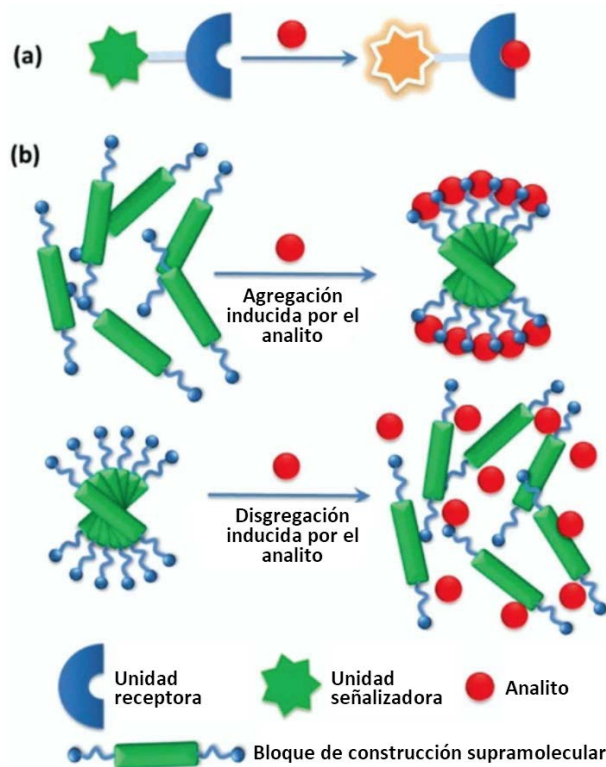


Figura 1.5. Comparativa de (a) un tipo de sensor convencional con (b) sensores supramoleculares basados en la agregación o disgregación inducida por el analito.⁹

Los quimiosensores cromogénicos se basan en cambios en la absorción de luz ultravioleta, visible y, en ocasiones, infrarroja del

sistema. Para ello, se suelen diseñar moléculas orgánicas altamente conjugadas con unidades electrón-dadoras y electrón-aceptoras, que inducen en las mismas la aparición de bandas de Transferencia Interna de Carga (ICT) en la zona del espectro visible. La interacción del analito con alguna de las unidades produce cambios en la banda CT que son fácilmente observables a simple vista.

Por otro lado, los quimiosensores fluorogénicos también se pueden desarrollar de igual forma para que presenten ICT, si bien este efecto puede provocar cambios tanto en la intensidad como longitud de onda de las bandas de emisión. Otros mecanismos de modulación de la fluorescencia utilizados en este tipo de sensores son la Transferencia Electrónica Fotoinducida (PET), la Transferencia de Energía de Resonancia de Förster (FRET), la Transferencia Electrónica de Energía (EET), la transferencia de carga metal-ligando, la Transferencia Protónica Intramolecular de Estado Excitado (ESIPT) y la formación de excímeros. En los últimos años se han empezado a aprovechar mecanismos que dependen de cambios conformacionales, como la Transferencia Interna de Carga por Giro (TICT), la isomerización de enlaces dobles carbono-nitrógeno y finalmente, la Emisión Inducida por Agregación (AIE).^{10,11}

Cabe destacar que los quimiosensores ópticos presentan importantes ventajas frente a otro tipo de sensores, ya que permiten una detección rápida y a simple vista; no precisan de instrumen-

tación compleja y costosa; requieren cantidades de muestra reducidas y permiten obtener resultados en pocos segundos. A estas ventajas se le añade la alta sensibilidad y la facilidad de crear sistemas *ON-OFF* que presentan los sensores fluorogénicos.¹²

1.2 Emisión inducida por agregación (AIE)

Es bien sabido que la fluorescencia de un gran número de compuestos se debilita, o incluso desaparece, cuando se preparan disoluciones concentradas de los mismos o cuando se encuentran en estado sólido. Esto se debe a un conocido efecto fotofísico llamado Apagado por Agregación (ACQ) de la emisión de luz.

En la mayoría de las ocasiones, este efecto es perjudicial, dado que los luminógenos se suelen utilizar en películas sólidas o agregados en multitud de aplicaciones prácticas, impidiendo que se aproveche todo su potencial.

1.2.1 Fenómeno

Esto cambió con el descubrimiento un nuevo fenómeno fotofísico por parte de B. Z. Tang *et al.* en 2001. Tang y su equipo estaban sintetizando una serie de siloles cuando observaron algo extraño en las cromatografías en capa fina (TLC) del hexafenilsilol: Al sacarlas del eluyente no presentaron fluorescencia bajo la luz UV, pero en cuánto este se empezó a evaporar, apareció una intensa fluorescencia. Tras volver a humedecerla y evaporarla varias ve-

ces, se siguió observando el mismo comportamiento. El compuesto presentaba el mismo fenómeno cuando se disolvía en acetonitrilo y se iba añadiendo agua a la mezcla, por lo que concluyeron que la molécula no era fluorescente en disolución, pero se volvía altamente fluorescente al agregarse (figura 1.6). Estamos hablando de la Emisión Inducida por Agregación.¹³

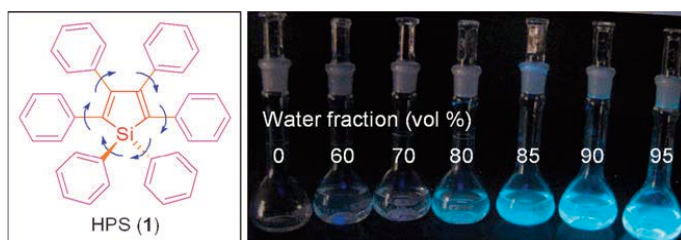


Figura 1.6. Molécula de hexafenilsilol (HPS; izquierda) y fotografía de soluciones de HPS en mezclas acetonitrilo-agua con diferentes fracciones volumétricas de agua, bajo una lámpara de luz ultravioleta (derecha).¹⁴

Tras realizar varios experimentos con diferentes siloles con forma de hélice propulsora, encontraron que todos mostraban un comportamiento similar: En buenos disolventes o mezclas acuosas con bajo contenido en agua ($\leq 50\%$) apenas emitían luz, con rendimientos cuánticos en torno al 0,1%; en mezclas con contenido medio de agua (50-80%), su fluorescencia se iba incrementando progresivamente junto al porcentaje de agua y en mezclas con alto contenido de agua ($>80\%$), los espectros de fluorescencia se desplazaban batocrómicamente, alcanzando rendimientos cuánticos en torno al 60%. Si se depositaban en forma de películas sólidas, alcanzaban rendimientos cuánticos incluso mayores, en torno al 80%.

El análisis de las mezclas determinó la presencia de nanopartículas del orden de 190 nm en las mezclas con contenido medio de agua y del orden de 130 nm en las de alto contenido en agua. Esto concuerda con las largas colas que aparecen en los espectros de absorción de las mismas, debido al conocido efecto Mie. En las de menos del 50% de agua no se encontraron nanopartículas ni los espectros presentaban colas.¹⁴

Desde entonces, se han sintetizado una gran variedad de moléculas que presentan AIE, utilizando como elemento común la presencia de anillos aromáticos conjugados no coplanares,¹⁵ aunque algunos fluoróforos AIE carecen de ellos.¹⁶

1.2.2 Mecanismo

Se ha demostrado que el mecanismo en el que se basa la AIE es la Restricción de la Rotación Intramolecular (RIR). En disolución, la rotación de los anillos aromáticos en los fluoróforos AIE permite una ruta no radiativa para la relajación de los estados excitados. Sin embargo, en el estado agregado, la rotación intramolecular está restringida debido al impedimento físico presente, lo que bloquea la ruta no radiativa y permite la relajación radiativa. Dado que estos compuestos no pueden adoptar conformaciones planas, no se producen interacciones de apilamiento π - π , por lo que esta vía de relajación no radiativa también está bloqueada.¹⁷ Se puede descartar que la Transferencia Interna de Carga por Giro (TICT) contribuya a la AIE en los siloles estudiados dado

que la polaridad del disolvente apenas modifica sus espectros de absorción y emisión.¹⁸

Este mecanismo se sustenta en las siguientes observaciones experimentales en fluoróforos AIE:¹⁷

- a) Viscocromismo. La viscosidad del disolvente afecta a la rotación intramolecular, de modo que la emisión se incrementa con la viscosidad del medio. Este incremento de la fluorescencia se produce sin formación de agregados (figura 1.7a).

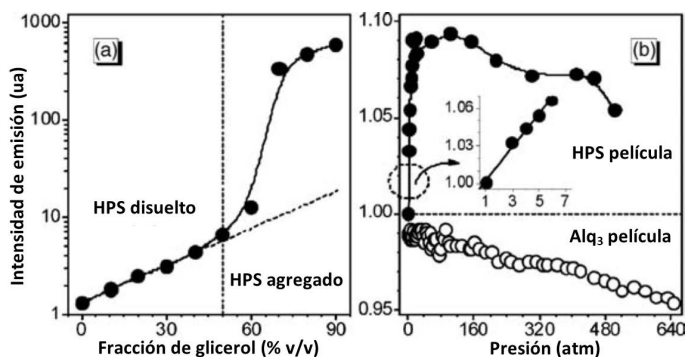


Figura 1.7. Efectos de (a) la composición de mezclas glicerol/metanol y (b) la aplicación de presión externa a la fluorescencia del hexafenilsilol (HPS). Se muestran las medidas con [tris(8-hidroxiquinolinato)aluminio] (Alq_3) en (b) como comparación.¹⁷

- b) Piezocromismo. El aumento de la presión hasta 150 atm provoca un rápido incremento de la emisión en películas sólidas de estos fluoróforos. Mayores incrementos en la presión producen un paulatino descenso de la fluorescencia (figura 1.7b).

- c) Termocromismo. Un descenso de la temperatura provoca un aumento de la fluorescencia de los fluoróforos, tanto en disolución como en estado sólido, sin cambios en la posición del pico de emisión. Los experimentos se realizaron a viscosidad baja y constante para evitar el viscocromismo (figura 1.8).

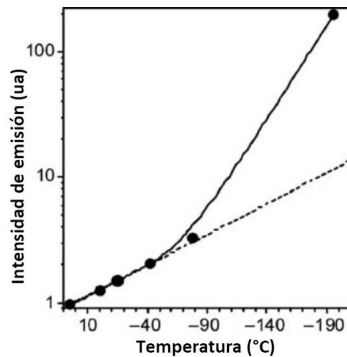


Figura 1.8. Efecto de la temperatura en la intensidad de emisión de una disolución de HPS en THF.¹⁷

- d) Vapocromismo. La presencia de vapores de buenos disolventes desactiva la emisión casi instantáneamente de los fluoróforos depositados en una lámina TLC. Cuando se eliminan los vapores, la fluorescencia se recupera instantáneamente (figura 1.9).

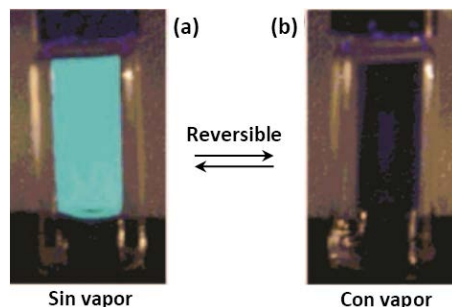


Figura 1.9. Encendido y apagado de la fluorescencia de 1-metilpentafenilsilol (MPS) depositado en una lámina TLC sin vapores (a) y en vapores de DCM (b), bajo una lámpara UV (365 nm) a temperatura ambiente.¹⁷

- e) Modificación de fluoróforos AIE con grupos voluminosos en los rotores aromáticos. Esto provoca que estos compuestos emitan siempre, tanto en solución como en estado agregado, confirmando de nuevo el mecanismo.

1.2.3 Aplicaciones

Los compuestos AIE están abriéndose camino en aplicaciones de alta tecnología que requieren de emisores en estado sólido, como es el caso del desarrollo de OLEDs, en particular los de luz blanca. Se han conseguido desarrollar OLEDs blancos con mejor cromaticidad que las soluciones que hay actualmente en el mercado, aunque su todavía baja eficiencia electroluminiscente los descarta para su uso en iluminación.¹⁹

También se están desarrollando cristales líquidos AIE fosforescentes para su uso en aplicaciones optoelectrónicas;²⁰ compuestos mecanofluorocrómicos AIE como candidatos para sistemas de almacenamiento de datos ópticos o sensores de presión.²¹

Por otro lado, se han desarrollado gran variedad de quimiosensores AIE, que van desde compuestos para el reconocimiento quiral de enantiómeros iónicos²² hasta aplicaciones en biotecnología, como el uso de biosondas AIE para seguimiento celular o nanopartículas AIE para tinción celular.²³

Capítulo 2

Objetivos

1. El objetivo general del presente trabajo es el diseño, síntesis y evaluación de quimiosensores y dosímetros químicos para la detección de neurotransmisores.
2. De entre todos los posibles mecanismos de transducción que se pueden emplear en el diseño, se propuso como objetivo en la presente investigación, hacer uso del fenómeno del incremento de fluorescencia por agregación (fenómeno AIE), el cual permite diseñar moléculas que presenten elevados rendimientos cuánticos en medios acuosos.

Para alcanzar los objetivos generales propuestos se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar el efecto de las modificaciones en la sustitución del tetrafeniletano en las propiedades fluorescente de distintos derivados, con la finalidad de realizar un diseño más racional de los sensores a sintetizar.
- Diseñar, sintetizar y estudiar un sistema fluorescente basado en el fenómeno AIE para la detección de NO en medios biológicos.
- Diseño, síntesis y estudio de un derivado del TPE para la detección de SO₂ en medios biológicos.
- Diseño de receptores basados en TPE para el reconocimiento de aminas biológicas.

Capítulo 3

Influencia de las características de las cadenas laterales en las propiedades AIE de tetrafeniletenos sustituidos

3.1 Introducción

Entre todas las diferentes estructuras con capacidad para presentar AIE, el tetrafeniletano (TPE) ha demostrado ser de las más interesantes. Sus propiedades fluorogénicas dependen en gran medida de los sustituyentes presentes en su estructura, como ya reportaron K. Han y B.-K. Cho con su estudio de dos derivados de TPE con el mismo núcleo aromático, pero con cadenas laterales de diferente hidrofilia (figura 3.1).²⁴

Por esta razón y la facilidad de funcionalización que presenta, se decidió utilizarlo como base para el desarrollo de sensores fluorogénicos en la presente Tesis Doctoral.

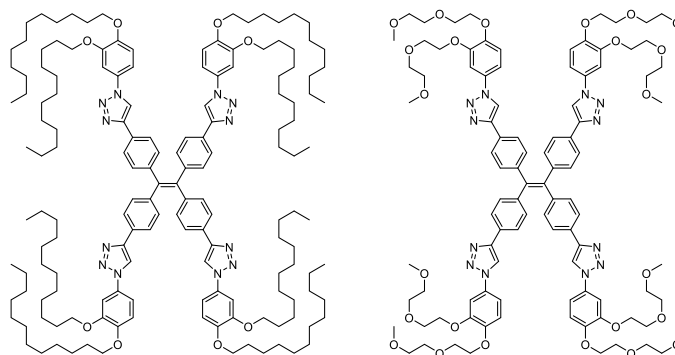


Figura 3.1. TPEs con el mismo núcleo, pero con cadenas hidrófobas (izquierda) e hidrófilas (derecha), estudiados por K. Han y B.-K. Cho.²⁴

Con el objetivo de obtener información para desarrollar los sensores de monóxido de nitrógeno que se discutirán en el capítulo 4, se decidió estudiar las propiedades fluorescentes de derivados de TPE con diferentes sustituyentes en diversos medios.

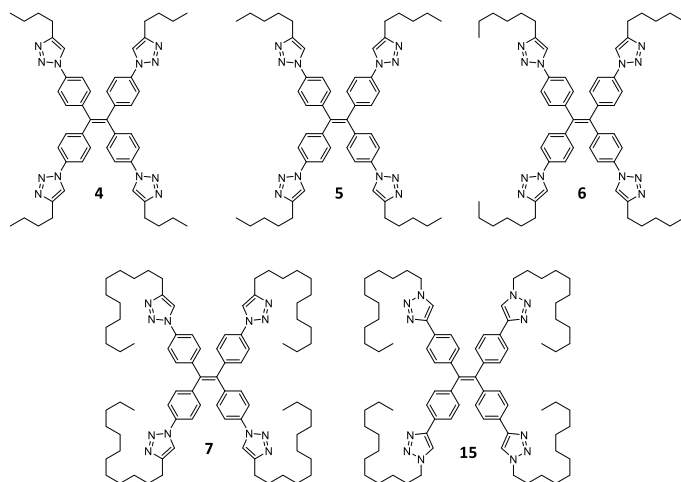


Figura 3.2. Derivados de TPE sintetizados y estudiados.

Para ello, se sintetizaron los compuestos **4**, **5**, **6**, **7** y **15** (figura 3.2) para determinar la influencia que la posición del átomo de nitrógeno y la longitud de las cadenas laterales tienen en las propiedades AIE. Los resultados que se obtengan arrojarán luz al desarrollo racional de quimiosensores, u otros dispositivos, cuando una reacción “clic” de cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen está involucrada en la ruta sintética para unir una unidad receptora al núcleo de TPE, que actúa como unidad señalizadora.

También se estudiaron los cambios en las propiedades AIE inducidos por el cambio en la longitud de las cadenas periféricas para adquirir información sobre cómo las características hidrófobas influyen en sus propiedades ópticas.

3.2 Resultados y discusión

3.2.1 Síntesis de los derivados de TPE

Todos los compuestos se obtuvieron mediante una reacción “clic” CuAAC entre las azidas y los alquinos adecuados, utilizando acetato de cobre (II) y ascorbato sódico en una mezcla 1:1 de THF y agua.²⁵

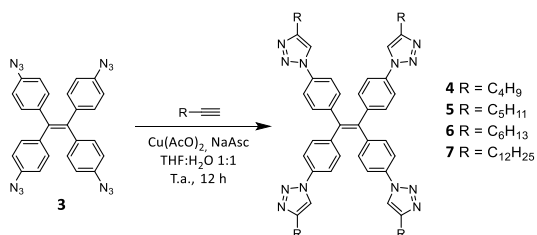


Figura 3.3. Síntesis de los compuestos **4**, **5**, **6** y **7**.

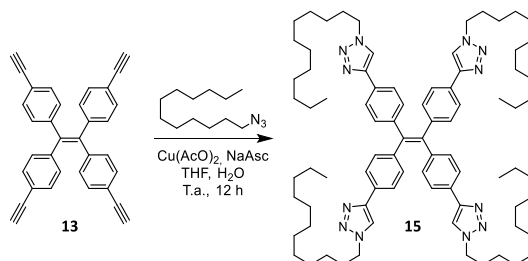


Figura 3.4. Síntesis del compuesto **15**.

De este modo, los compuestos **4-7** se sintetizaron a partir de la azida **3** y 1-hexino, 1-heptino, 1-octino y 1-tetradecino respectivamente, con rendimientos en torno al 85% (figura 3.3). Por otro lado, el compuesto **15** se sintetizó a partir del alquino **13** y 1-azidododecano (**14**), con un rendimiento del 73% (figura 3.4).

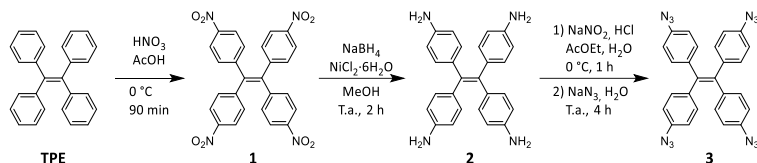


Figura 3.5. Ruta sintética del compuesto 3.

La azida **3** se obtuvo mediante una ruta sintética de tres pasos. Se comenzó con una reacción de nitración del TPE con ácido nítrico en ácido acético,²⁶ seguida de una reacción de reducción de los grupos nitro a amino con borohidruro sódico y cloruro de níquel (II) en metanol.²⁷ Para finalizar, la amina se hizo reaccionar con nitrito sódico en un sistema bifásico de ácido clorhídrico y acetato de etilo para obtener la correspondiente sal de diazonio *in situ*, que se hizo reaccionar con azida sódica para dar lugar al compuesto **3**,²⁸ con un rendimiento global del 88% (figura 3.5).

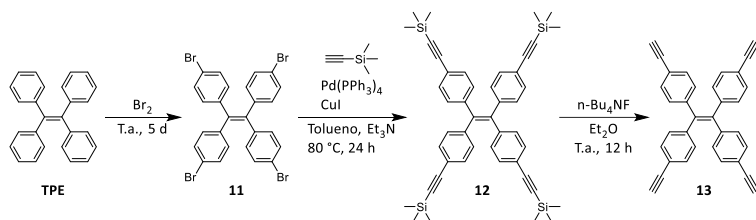


Figura 3.6. Ruta sintética del compuesto 13.

El alquino **13** se sintetizó mediante una ruta de tres etapas. Se inició con una reacción de bromación por reacción directa de vapores de bromo sobre TPE;²⁹ seguida de una reacción de Sonogashira con etiniltrimetilsilano en una mezcla de tolueno y trietilamina, utilizando tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) y yoduro de cobre (I) como catalizadores.³⁰ Finalmente, se realizó la elimina-

ción de los grupos trimetilsilano utilizando fluoruro de tetrabutylamonio en dietiléter para obtener el compuesto **13**,³¹ con un rendimiento global del 40% (figura 3.6).

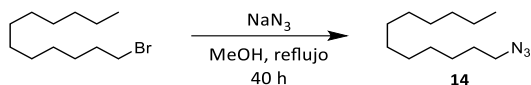


Figura 3.7. Síntesis de 1-azidododecano.

Finalmente, el 1-azidododecano (**14**) se sintetizó a partir de 1-bromododecano por medio de una reacción de sustitución nucleofílica con azida sódica en metanol, con un rendimiento del 58% (figura 3.7).³²

3.2.2 Influencia de la posición del átomo de nitrógeno

3.2.2.1 Absorción ultravioleta-visible y espectros de emisión

Para determinar cómo afecta la posición del átomo de nitrógeno en el anillo de triazol de los derivados de TPE objeto de estudio, se comenzó registrando sus espectros de absorción ultravioleta-visible y sus espectros de emisión.

En THF, los espectros UV-visible de los compuestos **4-6** muestran una banda a 280 nm y una segunda banda alrededor de los 340 nm. El espectro del compuesto **7**, es similar a los anteriores, pero con un hombro adicional alrededor de 300 nm. Por otro lado, el espectro del compuesto **15** presenta la banda principal a 280 nm, pero la segunda banda está desplazada batocrómicamente 10 nm respecto a las del resto de compuestos (figura 3.8).

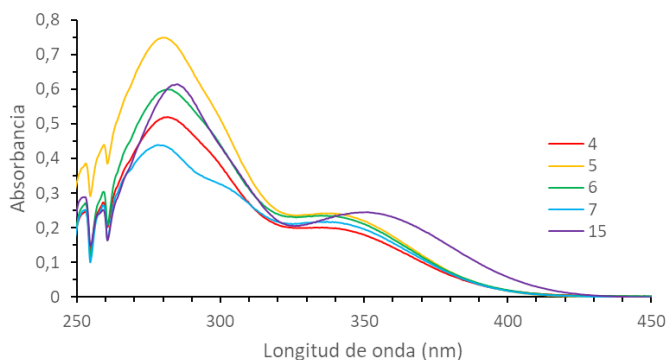


Figura 3.8. Espectros UV-vis de los compuestos **4-7** y **15** en THF (10 μM).

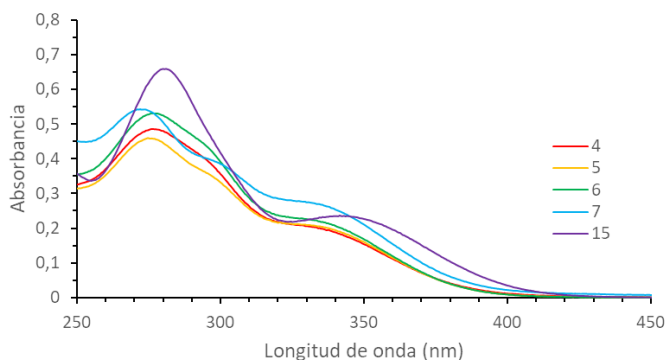


Figura 3.9. Espectros UV-vis de los compuestos **4-7** y **15** en MeOH (10 μM).

Al registrar los espectros UV-vis en MeOH, los espectros son similares a los registrados en THF, pero cabe destacar un ligero desplazamiento hipsocrómico (alrededor de 5 nm) de las dos bandas principales. Esto parece dejar al descubierto el hombro sobre 300 nm en los compuestos **4-6**, así como una mayor separación del mismo de la banda principal en el compuesto **7** (figura 3.9).

Tras determinar la escasa fluorescencia de los compuestos sintetizados en estado sólido, se comenzó midiendo sus propiedades fluorescentes tanto en THF como en MeOH. Los compuestos **4-7**

resultaron no ser fluorescentes en ninguno de los dos disolventes. Sin embargo, el compuesto **15** mostró una ligera fluorescencia en MeOH, pero no en THF.

Tras incorporar agua en las soluciones, la fluorescencia de los cinco compuestos aumentó, y el incremento observado dependió tanto de la posición del átomo de nitrógeno como de la longitud de las cadenas periféricas. Esta tendencia se mantuvo hasta que las mezclas alcanzaron una concentración del 80-90% de agua. Concentraciones superiores dieron lugar a una drástica disminución de la fluorescencia, tal como ha sido reportado en la literatura,^{24,33} salvo en el caso del compuesto **15** en mezclas THF/agua (figuras 3.12).

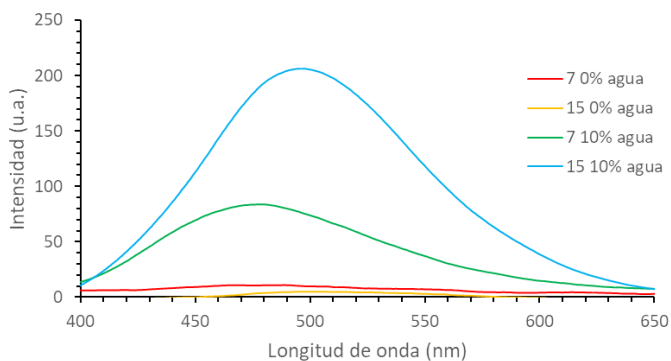


Figura 3.10. Espectro de fluorescencia de estado estacionario de los compuestos **7** y **15** $10 \mu\text{M}$ en MeOH y MeOH/10% agua ($\lambda_{\text{ex}} = 350 \text{ nm}$, rendijas a $2,5 \text{ nm}/5 \text{ nm}$)

La figura 3.10 muestra los espectros de fluorescencia de estado estacionario de los derivados de TPE **7** y **15** en MeOH y en una mezcla MeOH/10% agua. Como se puede observar, el aumento de la fluorescencia en presencia de agua fue mayor en el compuesto **15** que en el compuesto **7**. Con una fracción de agua del

10%, la intensidad máxima de emisión de los compuestos **7** y **15** fue respectivamente 80 y 200 veces mayor que su emisión en MeOH puro. Además, la fluorescencia del compuesto **15** siguió aumentando progresivamente con la proporción de agua hasta que se alcanzó el máximo con un 30% de agua. Sin embargo, la emisión del compuesto **7** no se incrementó con fracciones de agua mayores del 10% (figura 3.11).

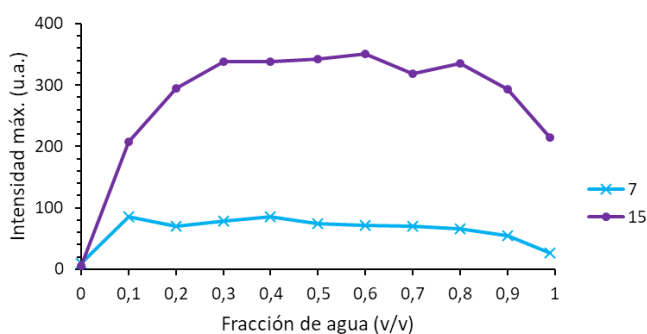


Figura 3.11. Intensidad máxima de las bandas de emisión de los compuestos **7** y **15** en mezclas 10 μ M MeOH/agua ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

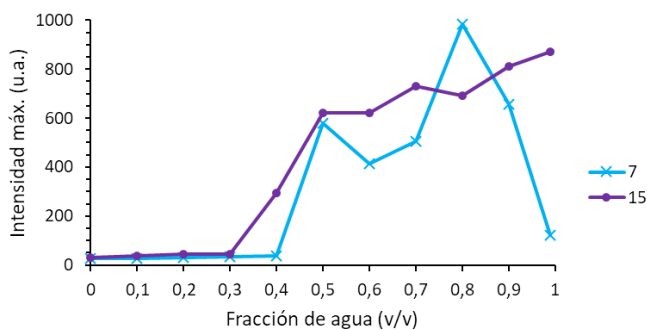


Figura 3.12. Intensidad máxima de las bandas de emisión de los compuestos **7** y **15** en mezclas 10 μ M THF/agua ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm, rendijas a 5 nm/5 nm)

En mezclas THF/agua se observó un comportamiento ligeramente diferente. Por un lado, fue necesaria una mayor concentración de agua (80-99%) para que las disoluciones de los compuestos alcanzasen su máximo de emisión y, por otro lado, el compuesto **15** siguió aumentando su fluorescencia en fracciones superiores al 80% de agua, mientras que en el resto de compuestos disminuyó drásticamente (figura 3.12).

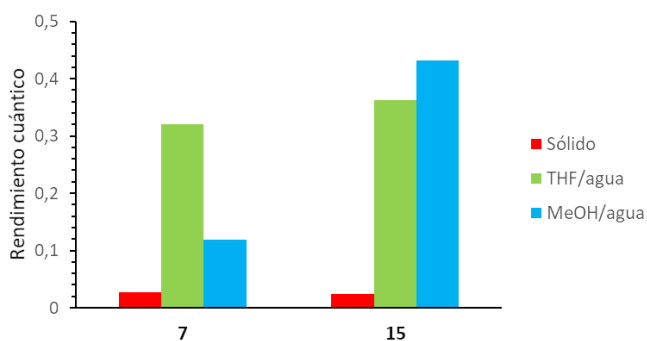


Figura 3.13. Influencia de la estructura del compuesto en el efecto del disolvente. Se utilizó la fracción volumétrica de agua con mayor rendimiento cuántico en cada caso (compuesto **7**: puro, MeOH/40% agua, THF/80% agua; compuesto **15**: puro, MeOH/60% agua, THF/99% agua). Concentración: 10 μ M.

Los estudios comparativos realizados en MeOH indican claramente que la estructura del compuesto afecta drásticamente al efecto del solvente. Aunque el aumento de la fracción volumétrica de agua incrementó fuertemente la emisión del compuesto **15**, el efecto en el compuesto **7** fue claramente menor (figura 3.13).

Aunque en los estudios realizados en THF la fluorescencia máxima de ambos compuestos es similar, el comportamiento observado a fracciones de agua elevadas en la figura 3.12 también nos

indica la importancia de la estructura del compuesto en el efecto del solvente.

3.2.2.2 Estudios teóricos y de solubilidad

Para aclarar si este comportamiento estaba relacionado con su solubilidad in MeOH/agua, se realizó una comparación entre los espectros de ^1H RMN en MeOH deuterado de los cinco compuestos, utilizando como patrón una cantidad conocida de ácido p-toluico. A la vista de los resultados, se estableció un orden de solubilidad que se correlaciona con la longitud de las cadenas periféricas: $4 > 5 > 6 \gg 7 \approx 15$. Dado que la solubilidad de los compuestos **7** y **15** resultó ser similar, podemos desestimar su influencia en la diferencia de propiedades ópticas de estos compuestos.

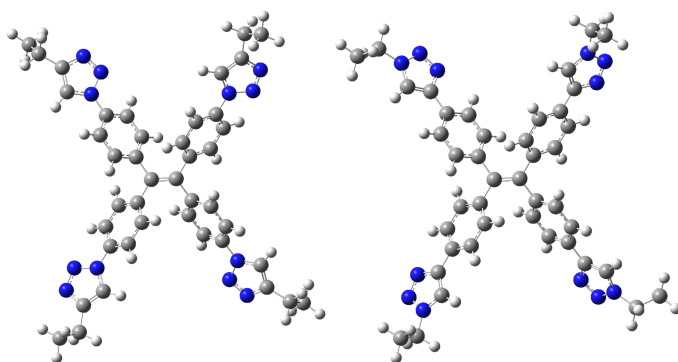


Figura 3.14. Conformación calculada para los compuestos modelo de **7** (izquierda) y para **15** (derecha).

Con el objetivo de determinar la causa de la mayor fluorescencia del compuesto **15**, se realizó un estudio teórico sobre la distribu-

ción de carga y la preferencia conformacional en ambos compuestos (cálculos DFT utilizando B3LYP/6-31G(d)). Debido a limitaciones técnicas, se han utilizado modelos de ambos compuestos con cadenas de etilo en vez de dodecilo.

Como podemos observar en la figura 3.14, los anillos de fenilo y de triazol están prácticamente coplanares (ángulo diedro de 7°) en el modelo de **15** (M15), mientras que en el modelo de **7** (M7) forman un ángulo diedro de alrededor de 25°.

Además, **M15** muestra mayor polaridad en los enlaces entre las cadenas laterales y el anillo de triazol, según el análisis de población natural (figura 3.15).

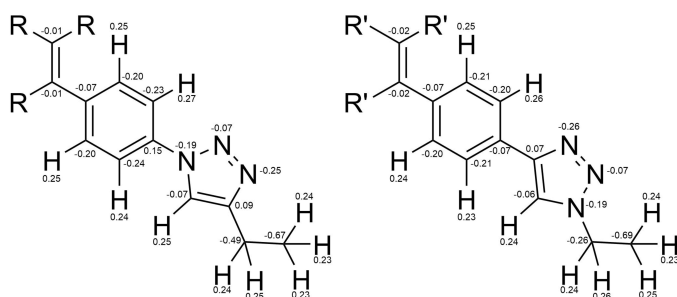


Figura 3.15. Cargas calculadas por medio de análisis de población natural de las estructuras calculadas por DFT de **M7** (izquierda) y **M15** (derecha).

Por tanto, se espera un mejor empaquetamiento de **15** frente a **7** debido a la estructura más plana y mayor distribución de carga de **15**. Esto está en consonancia con las observaciones anteriores: El cambio en la polaridad del medio al añadir agua tuvo mayor impacto en el compuesto **15** que en el compuesto **7**.

Por otro lado, los estudios llevados a cabo en THF/agua demostraron que la solubilidad de estos compuestos es mucho mayor

en este solvente que en MeOH. Por esta razón, fueron necesarias mayores fracciones volumétricas de agua para inducir la agregación y, en consecuencia, para producir la aparición de fluorescencia.

También se observó que sin bien en los estudios en MeOH/agua no se observaron cambios en la longitud de onda de la banda de emisión, en las mezclas THF/agua se produjeron desplazamientos hipsocrómicos de 60 nm y 40 nm para los compuestos **7** y **15** respectivamente, cuando la fracción de agua cambió del 20% al 80%.

3.2.2.3 Estudios por microscopía

Tras realizar los experimentos de fluorescencia, se decidió estudiar la morfología de los agregados de los compuestos **7** y **15** para comprobar si esta se ve modificada por la posición del átomo de nitrógeno. Para ello, se tomaron imágenes de los agregados, obtenidos de mezclas THF/agua y MeOH/agua, con un microscopio electrónico de barrido (SEM), e imágenes con un microscopio óptico de fluorescencia.

La comparación de las imágenes del SEM de ambos compuestos muestra que los dos tienen morfologías similares en MeOH/40% agua, siendo la única diferencia el tamaño de las esferas, siendo más grandes las del compuesto **15** que las del compuesto **7**. Por el contrario, se observa una morfología completamente diferente en THF/80% agua. En este caso, los agregados son laminares y con tendencia a apilarse (figura 3.16). Como se puede observar

en la figura 3.17, la morfología observada en las imágenes del SEM es consistente con la obtenida mediante microscopía óptica de fluorescencia.

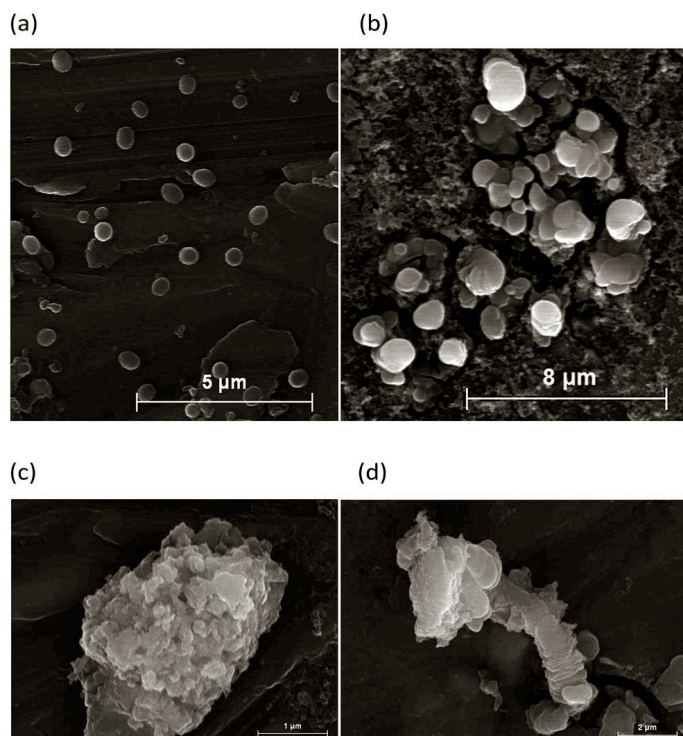


Figura 3.16. Imágenes SEM de las morfologías de los agregados en MeOH/40% agua de (a) 15 y (b) 7; y en THF/80% agua de (c) 15 y (d) 7.

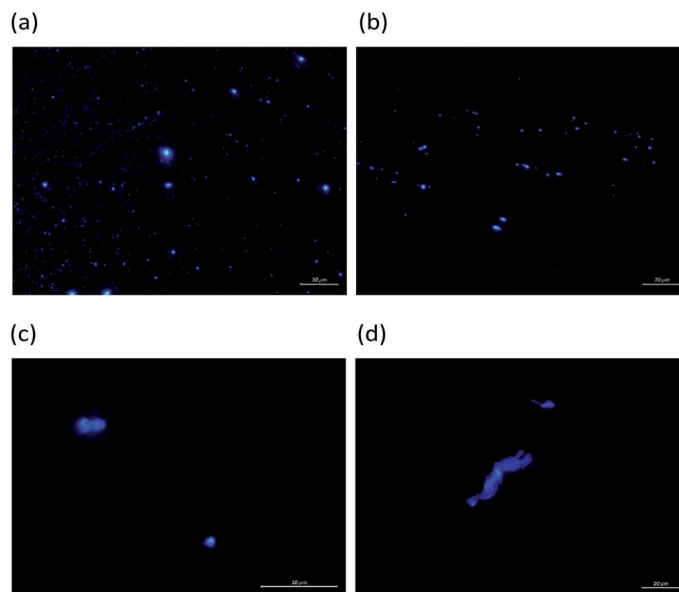


Figura 3.17. Imágenes de microscopía óptica de fluorescencia de (a) **15** y (b) **7** en MeOH/40% agua y (c) **15** y (d) **7** en THF/80% agua. Línea de escala: 20 µm.

3.2.3 Influencia de la longitud de las cadenas periféricas

Finalmente, se realizó un estudio comparativo con los compuestos **4-7** en mezclas MeOH/agua y THF/agua con fracciones volumétricas de agua crecientes. Este demostró que la fracción de agua mínima necesaria para producir un incremento de la fluorescencia disminuía a medida que la longitud de las cadenas aumentaba. De este modo, mientras que para el compuesto **4** se necesitó alcanzar el 60% de agua en MeOH y un 80% de agua en THF, solo fue necesario el 30% en MeOH y el 60% en THF para los compuestos **5** y **6**, y el 10% en MeOH y el 50% en THF para el compuesto **7** (figuras 3.18 y 3.19). En los estudios con mezclas

MeOH/agua, mayores fracciones de agua no dieron lugar a incrementos sustanciales de la fluorescencia a partir de las citadas para cada compuesto.

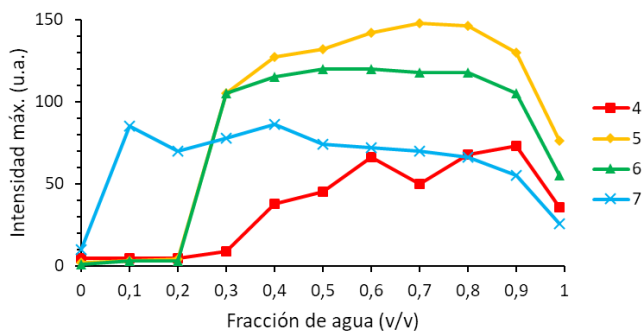


Figura 3.18. Intensidad máxima de las bandas de emisión de los compuestos 4, 5, 6 y 7 en mezclas 10 μ M MeOH/agua ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

Sin embargo, en los estudios con mezclas THF/agua, la intensidad de la fluorescencia se incrementa con la fracción de agua hasta alcanzar el 80-90% de agua, tras lo cual, disminuye drásticamente.

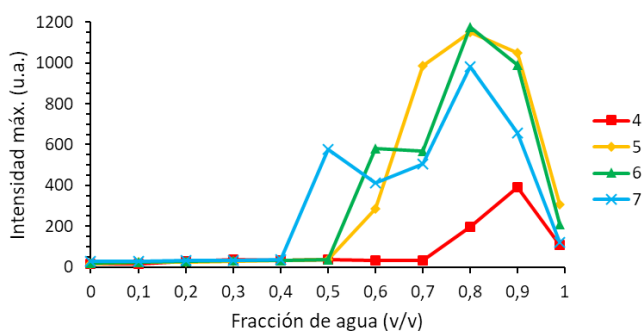


Figura 3.19. Intensidad máxima de las bandas de emisión de los compuestos 4, 5, 6 y 7 en mezclas 10 μ M THF/agua ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm, rendijas a 5 nm/5 nm; los valores superiores a 1000 han sido estimados a partir de los datos de rendimiento cuántico).

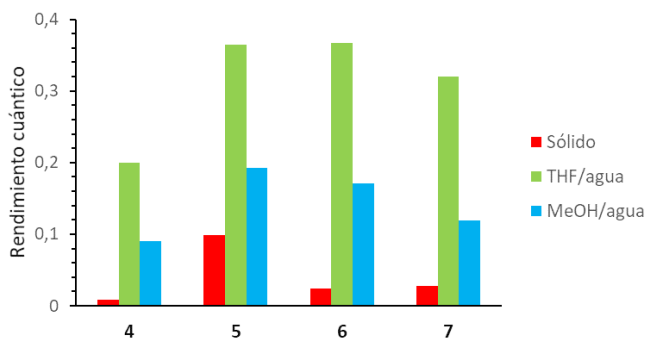


Figura 3.20. Rendimientos cuánticos máximos de los compuestos **4**, **5**, **6** y **7** en estado sólido, en mezclas THF/agua y mezclas MeOH/agua. Se utilizaron las fracciones de agua que proporcionaban la máxima fluorescencia en cada compuesto (THF/agua: **4**, 90%; **5**, **6** y **7**, 80%. MeOH/agua: **4**, 90%; **5**, 70%; **6**, 60%; **7**, 40%). Se incluyen los rendimientos cuánticos de los compuestos puros (sólidos).

Estos resultados indican claramente que cuanto mayor es la longitud de la cadena hidrófoba, menor es la solubilidad del compuesto en mezclas acuosas. Esto es consistente con la solubilidad observada en metanol por medio de RMN.

Sin embargo, cuando se compara la fluorescencia máxima de cada compuesto, podemos observar que esta es mayor para los compuestos **5** y **6**, seguidos del compuesto **7**. El compuesto **4** presentó la menor emisión de los cuatro compuestos. Este patrón es prácticamente idéntico tanto en las mezclas THF/agua, como en las de MeOH/agua (figura 3.20).

Cabe destacar que todos los compuestos mostraron aproximadamente el doble de emisión en las mezclas THF/agua que en las de MeOH/agua, mientras que en estado sólido apenas mostraban fluorescencia, salvo el compuesto **5**. Este comportamiento puede deberse a cómo fueron preparadas las mezclas (véase sección 8.4.1), de modo que en las mezclas THF/ los compuestos tienen

más tiempo para agregarse, dando como resultado un empaquetamiento más compacto y produciendo una restricción de las rotaciones intramoleculares más eficaz, como ha sido reportado en la literatura.^{24,33}

3.3 Conclusiones

Los compuestos **4-7** son sencillos de preparar utilizando las correspondientes reacciones “clic”. La regioquímica del sustituyente afecta en gran medida al efecto de las mezclas de disolventes sobre la fluorescencia. Este comportamiento puede estar relacionado con el diferente empaquetamiento de los compuestos en el solvente usado.

Los estudios teóricos han demostrado que el compuesto **15** presenta coplanaridad entre los anillos de fenilo y triazol (ángulo diedro de 7°), mientras que el compuesto **7** posee un ángulo diedro de 25° entre ambos anillos.

A pesar de tener una solubilidad similar en MeOH, el compuesto **15** es mucho más fluorescente y mucho más sensible a los cambios en la polaridad del solvente que el compuesto **7**.

Cuando se comparan los compuestos **4-7**, los resultados obtenidos indican claramente que, a mayor longitud de cadena hidrófoba, menor es su solubilidad en MeOH, lo que da pie a diferentes respuestas en mezclas THF/agua y MeOH/agua. Finalmente,

se ha encontrado una longitud de cadena óptima para conseguir un mayor incremento de la fluorescencia.

Capítulo 4

Detección fluorimétrica de monóxido de nitrógeno (NO)

4.1 Introducción

El monóxido de nitrógeno (NO) es un gas incoloro y poco soluble en agua que se produce por reacción entre el dióxígeno y el di-nitrógeno a altas temperaturas. De modo natural, se genera durante las descargas eléctricas producidas en las tormentas,³⁴ pero desde la aparición de los motores de combustión interna, estos se han convertido, junto con las centrales térmicas, en una de las mayores fuentes artificiales de este gas.³⁵ Debido a su naturaleza de radical libre, es capaz de reaccionar rápidamente con el oxígeno del aire para formar dióxido de nitrógeno (NO₂), uno de los mayores contaminantes atmosféricos de la actualidad, causante del smog fotoquímico que se puede observar alrededor de las grandes urbes.³⁶

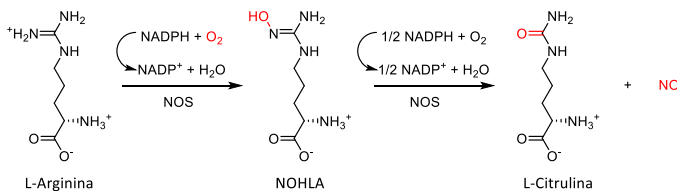


Figura 4.1. Biosíntesis del NO por medio de las enzimas óxido nítrico sintasa (NOS) a partir de L-arginina.

Sin embargo, desde la década de los ochenta se sabe que el cuerpo humano es capaz de producir pequeñas cantidades de NO a partir de la arginina por medio de una familia de enzimas (figura 4.1), las óxido nítrico sintasas (NOS).³⁷ Desde entonces, se ha documentado ampliamente en mamíferos el papel esencial de este gas en diversas funciones orgánicas, como la respuesta inmune, dónde es utilizado por los fagocitos para dañar bacterias

y parásitos invasores;³⁸ o como molécula señalizadora, tanto en el sistema vascular como el sistema nervioso. A diferencia de la mayoría de neurotransmisores, el NO se genera cuando es necesario y difunde libremente a través de las membranas celulares, sin requerir receptores específicos.³⁹ Además, recientemente se ha descubierto que el NO se puede producir en la piel a partir de nitratos y nitritos por medio de fotocatalisis con rayos UVA, dando lugar un efecto vasodilatador que se ha relacionado con una mejor salud cardiovascular.⁴⁰

Gracias a sus efectos fisiológicos, el NO es utilizado en diversas aplicaciones terapéuticas. Por ejemplo, se han desarrollado fármacos dadores de NO exógeno para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.⁴¹ Por otro lado, el monóxido de nitrógeno inhalado (iNO) es un vasodilatador pulmonar selectivo que es particularmente útil en pediatría,⁴² ya que el iNO mejora transitoriamente la oxigenación en casos de fallo respiratorio e hipertensión pulmonar persistente en recién nacidos.⁴³ Esto es posible debido a que el NO induce la vasodilatación de los espacios pulmonares ventilados, redirigiendo el flujo sanguíneo desde las regiones poco ventiladas hacia las bien ventiladas, de modo que se produce una mejora de la oxigenación. Para estos tratamientos, se recomiendan concentraciones iniciales de 20 ppm de iNO, dado que concentraciones elevadas de este gas no son más efectivas y puede incrementar la incidencia de metahemoglobinemia y la formación de dióxido de nitrógeno.^{44,45} En consecuencia, el control de la concentración de iNO es de gran interés.

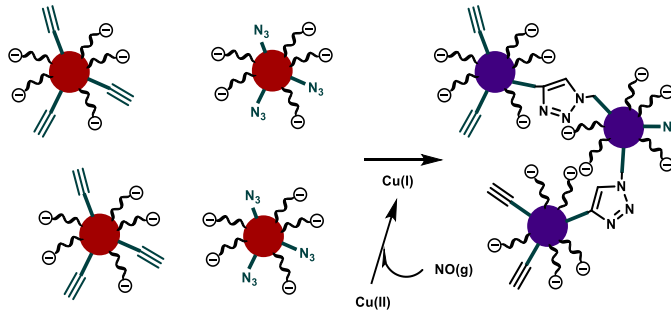


Figura 4.2. Detección de NO por medio de nanopartículas de oro.⁴⁶

Nuestro grupo de investigación ha estado interesado en detectar monóxido de nitrógeno mediante el uso de diferentes protocolos, la mayoría de ellos consistentes en quimiodosímetros basados en nanopartículas de oro ⁴⁶ (figura 4.2) o derivados fluorescentes de borodipirrometeno (BODIPY) como unidades señalizadoras.⁴⁷ Siguiendo nuestro interés en esta área, hemos decidido estudiar el posible uso del fenómeno AIE como mecanismo de transducción para la detección de monóxido de nitrógeno.

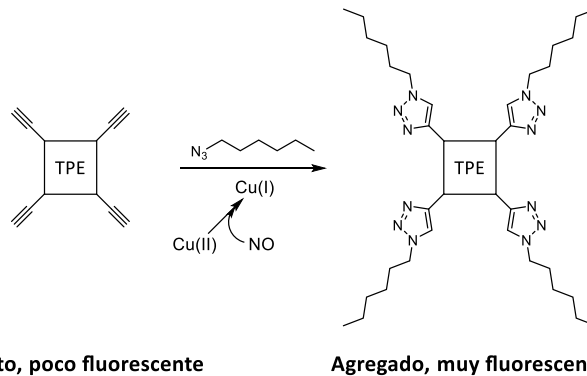


Figura 4.3. Paradigma de detección de los sistemas estudiados. El NO produce la reducción *in situ* del Cu(II) a Cu(I), induciendo la reacción “clic” entre el derivado de TPE y una azida alifática. El derivado de TPE formado es menos soluble en el medio, por lo que forma agregados, incrementando su fluorescencia gracias al fenómeno AIE. Nota: El derivado de TPE también puede contener la azida y hacersele reaccionar con un alquino lineal.

En base a los estudios realizados en el capítulo 3, se han diseñado y estudiado una serie de derivados de TPE cuyos sustituyentes pueden ser modificados por medio de reacciones desencadenadas por el monóxido de nitrógeno. Se eligió utilizar una reacción “clic” catalizada por Cu(I) porque el NO es capaz de reducir el Cu(II) a Cu(I).⁴⁸ El mecanismo de detección está basado en que la mayor hidrofobia de las cadenas laterales ancladas provocan la formación de agregados y, por tanto, un incremento de la fluorescencia (figura 4.3).

Se sintetizaron y estudiaron los compuestos **3**, **9**, **13**, **16**, **17** y **18** (figura 4.4) para determinar si podían ser utilizados como quimiosímetros para NO utilizando el paradigma propuesto.

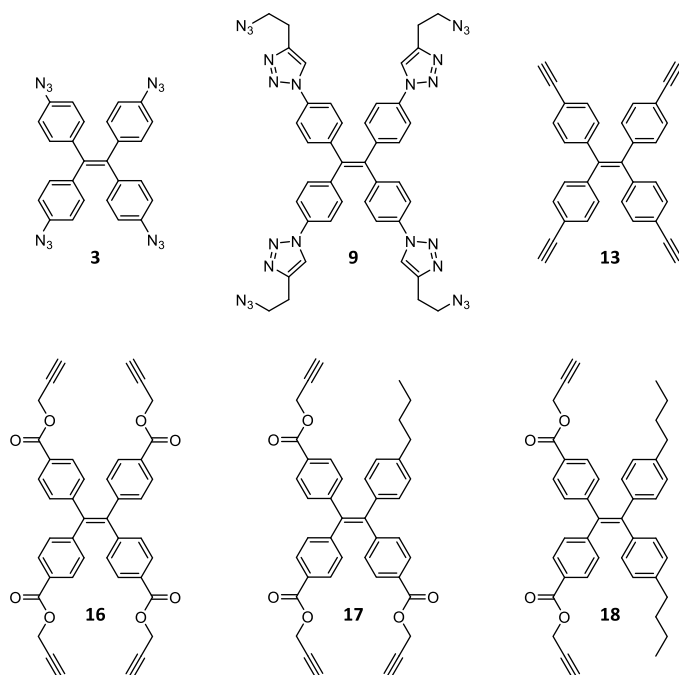


Figura 4.4. Derivados de TPE sintetizados y estudiados.

4.2 Resultados y discusión

4.2.1 Síntesis de los derivados de TPE

El compuesto **3** se sintetizó según la ruta descrita en el capítulo anterior (figuras 4.5).

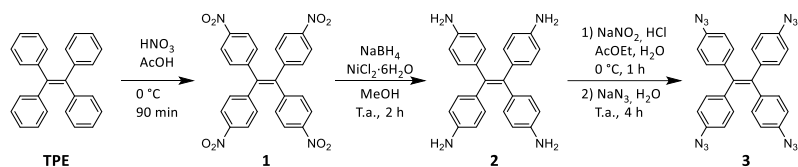


Figura 4.5. Ruta sintética del compuesto **3**.

El compuesto **13** también se sintetizó siguiendo la ruta descrita en el capítulo 3 excepto la síntesis del compuesto **11**, que se realizó mediante una bromación con bromo líquido sobre una disolución de TPE en ácido acético y diclorometano (figura 4.6).

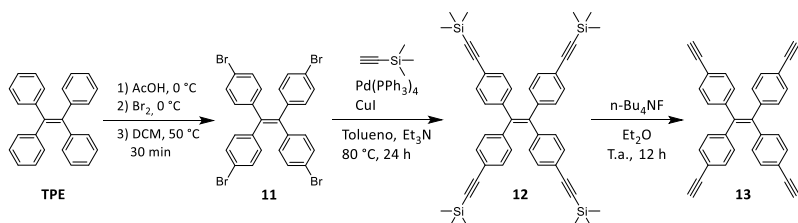


Figura 4.6. Ruta sintética del compuesto **13**.

El compuesto **9** se obtuvo mediante una ruta sintética de dos etapas, consistente en una reacción “clíc” CuAAC entre el compuesto **3** y 4-bromo-1-butino, utilizando acetato de cobre (II) y ascorbato sódico en una mezcla 1:1 de THF y agua, seguida de

una reacción de sustitución nucleofílica con azida sódica en dimetilformamida; con un rendimiento global del 80% (figura 4.7).

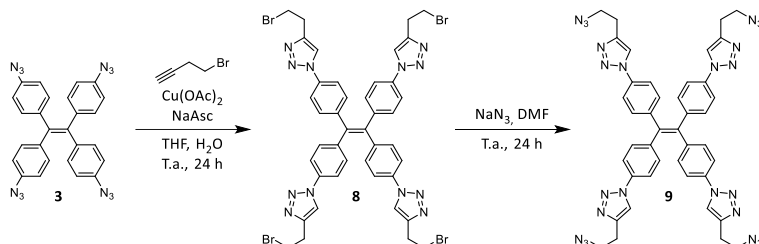


Figura 4.7. Ruta sintética del compuesto 9.

Por otro lado, los compuestos **16**, **17** y **18** se obtuvieron a partir del compuesto **11** mediante la formación *in situ* del correspondiente organolítico, por reacción con *n*-butillitio en THF seco, seguida de una reacción de carboxilación con dióxido de carbono sólido y una reacción de sustitución nucleofílica posterior con 3-bromo-1-propino (figura 4.8). Si bien el objetivo era obtener el compuesto **16** con este procedimiento, en el primer paso de la reacción se produjeron reacciones de Wurtz-Fittig que, tras la segunda reacción, dieron lugar a los subproductos **17** y **18**. Los rendimientos globales de los tres compuestos fueron 17%, 6% y 2% respectivamente. Aprovechando que se habían aislado estos subproductos, se decidió estudiar también su capacidad para detectar y cuantificar monóxido de nitrógeno.

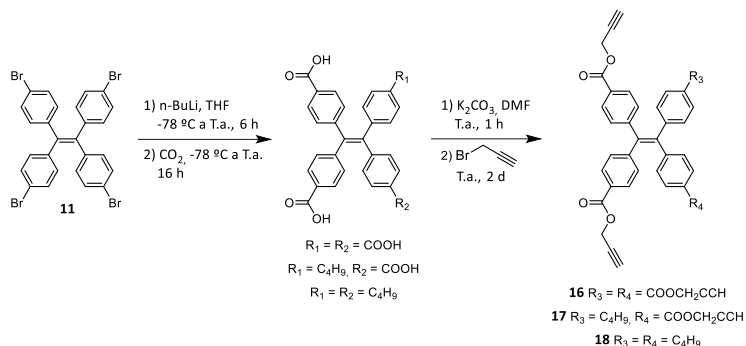


Figura 4.8. Ruta sintética de los compuestos 16, 17 y 18.

Una vez obtenidos los compuestos anteriores, se realizaron las correspondientes reacciones “clic” con los compuestos 9, 16, 17 y 18; y azidas o alquinos de cadena lineal, con el ánimo de caracterizar las propiedades ópticas de los triazoles obtenidos. Esto es crucial, dado que estos triazoles serán la especie fluorescente una vez haya interactuado el NO con el quimiodosímetro.

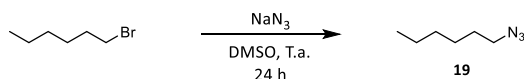


Figura 4.9. Síntesis de 1-azidohexano (19).

Todas las reacciones “clic” se realizaron utilizando acetato de cobre (II) y ascorbato sódico en una mezcla 1:1 de THF y agua. A la vista de los resultados del capítulo anterior, se decidió usar una longitud de cadena de seis átomos de carbono para realizar las reacciones. Así, el compuesto 9, se hizo reaccionar con 1-octino, mientras que los compuestos 16-18 se hicieron reaccionar con 1-azidohexano (19), que se obtuvo mediante una sustitución nucleofílica entre 1-bromohexano y azida sódica en dimetilsulfóxido (figura 4.9).

Los triazoles derivados de los compuestos **3** y **13** ya se habían sintetizado y estudiado como se indica en el capítulo 3, por lo que no fue necesario prepararlos de nuevo.

De esta forma, se han obtenido derivados con azidas y alquinos terminales conjugados y aislados, lo que permitió estudiar las diferencias de reactividad de la reacción “clic” entre ambos motivos estructurales.

4.2.2 Optimización de las condiciones de medida

4.2.2.1 Elección del solvente para las pruebas preliminares

Para determinar las condiciones óptimas de medida se comenzó estudiando las propiedades ópticas de los compuestos **3**, **9**, **13** y **16-18**; y la de sus correspondientes derivados tras realizar las reacciones “clic” descritas anteriormente (figura 4.10). El criterio seguido fue maximizar la diferencia en la intensidad de fluorescencia entre el derivado de TPE inicial y su correspondiente triazol tras realizar la reacción “clic”. A continuación, se estudió la evolución de la fluorescencia al realizar las mencionadas reacciones “clic” en las condiciones de medida escogidas, pero usando ascorbato sódico en lugar de NO como reductor. De este modo se comprobó si la reacción se podía producir en esas condiciones.

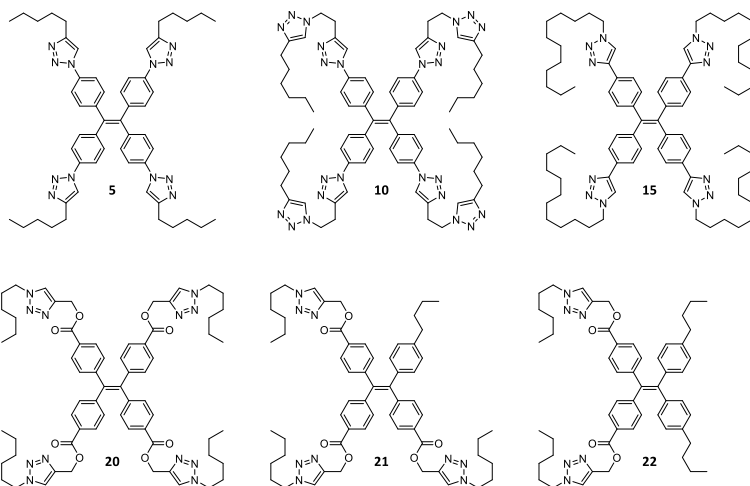


Figura 4.10. Compuestos obtenidos mediante reacciones “clic” con los compuestos 3, 9, 13, 16, 17 y 18.

Compuestos 3 y 5

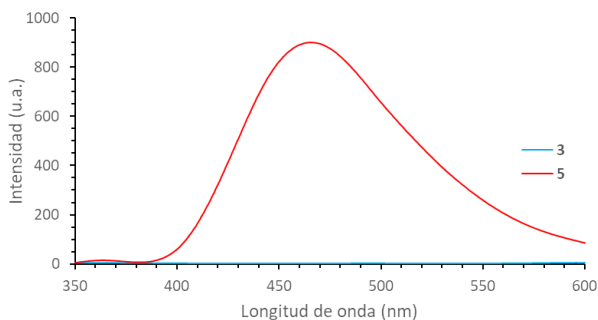


Figura 4.11. Espectros de emisión de los compuestos 3 y 5 en una mezcla MeOH/50% agua 10 μ M (λ_{ex} = 310 nm, rendijas a 5 nm/5 nm).

Para empezar, se estudió la fluorescencia de los compuestos 3 y 5. El compuesto 3 apenas mostró fluorescencia disuelto en ninguna proporción de mezclas THF/agua y MeOH/agua 10 μ M, mientras que el compuesto 5 muestra mayor intensidad de fluorescencia disuelto en THF/80% agua y MeOH/80% agua, si bien en MeOH/agua la intensidad no varía mucho entre el 40 y el 90%

de agua, como se vio en el capítulo anterior. En MeOH/agua 50%, el compuesto **5** mostró una intensidad máxima de fluorescencia 332 veces mayor que el compuesto **3** (figura 4.11).

Compuestos 13 y 15

A continuación, se estudió la fluorescencia de los compuestos **13** y **15**. Como se puede observar en la figura 4.12, el compuesto **13** no emite apenas disuelto en una mezcla THF/50% agua 10 μ M, mientras que el compuesto **15** muestra una emisión 190 veces más intensa, por lo que estas condiciones resultan idóneas como punto de partida para las siguientes pruebas.

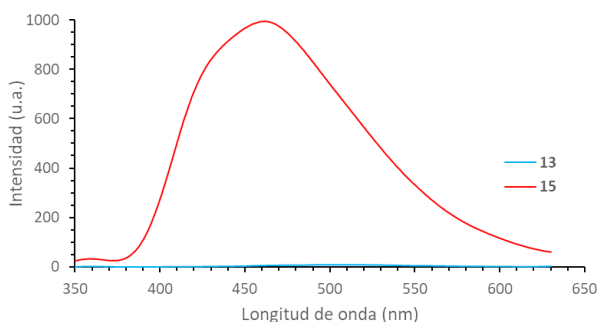


Figura 4.12. Espectros de emisión de los compuestos **13** y **15** en una mezcla THF/50% agua 10 μ M (λ_{ex} = 325 nm, rendijas a 5 nm/5 nm).

Compuestos 9 y 10

El estudio de la fluorescencia de los compuestos **9** y **10** en solución mostró que las condiciones óptimas de medida son mezclas THF/90% agua y MeOH/80% agua, puesto que es en las que se observa mayor diferencia en la intensidad de emisión de ambos compuestos, siendo unas 10 y 19 veces mayor respectivamente en el compuesto **10** (figuras 4.13 y 4.14).

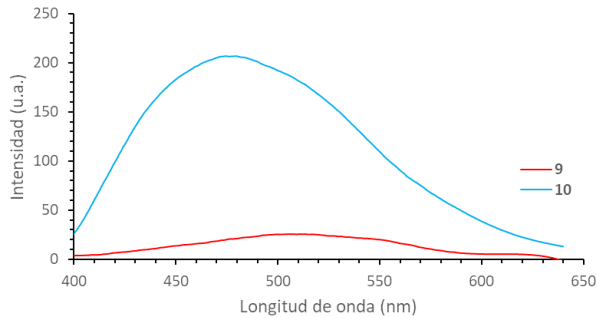


Figura 4.13. Espectros de emisión de los compuestos **9** y **10** en una mezcla THF/90% agua 10 μ M (λ_{ex} = 330 nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

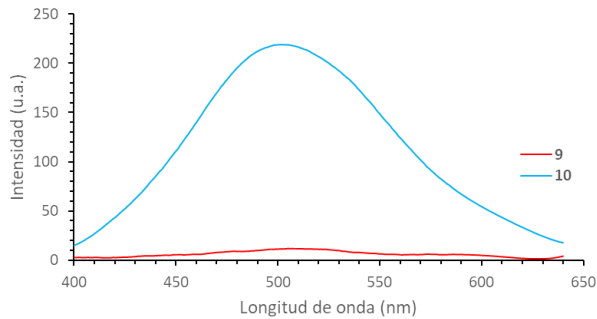


Figura 4.14. Espectros de emisión de los compuestos **9** y **10** en una mezcla MeOH/80% agua 10 μ M (λ_{ex} = 330 nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

Compuestos 16 y 20

Por lo que respecta a los compuestos **16** y **20**, la mayor diferencia entre la intensidad de emisión de ambos fue en mezclas THF/90% agua y MeOH/50% agua, siendo 11 y 2,7 veces mayor la del compuesto **20** respectivamente (figuras 4.15 y 4.16).

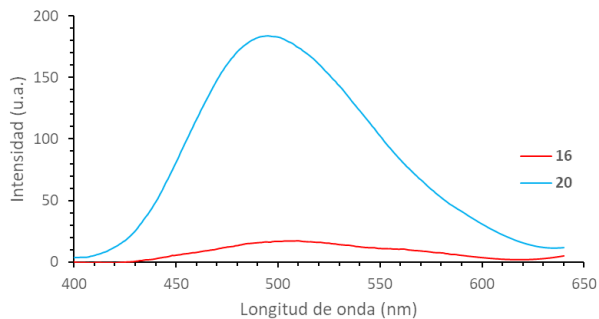


Figura 4.15. Espectros de emisión de los compuestos **16** y **20** en una mezcla THF/90% agua 10 μ M ($\lambda_{\text{ex}} = 330$ nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

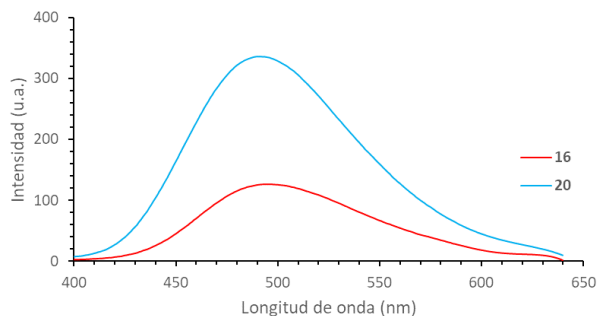


Figura 4.16. Espectros de emisión de los compuestos **16** y **20** en una mezcla MeOH/80% agua 10 μ M ($\lambda_{\text{ex}} = 330$ nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

Compuestos **17** y **21**

El estudio de la fluorescencia de los compuestos **17** y **21** mostró que las condiciones con mayor diferencia de intensidad entre ambos fueron THF/90% agua y MeOH/50% agua, con intensidades 9 y 2 veces mayores en el compuesto **21** (figuras 4.18 y 4.19).

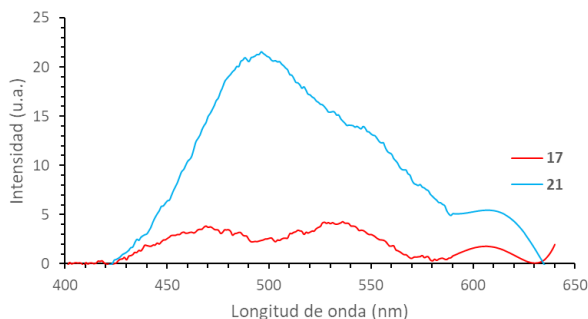


Figura 4.17. Espectros de emisión de los compuestos **17** y **21** en una mezcla THF/90% agua 10 μ M (λ_{ex} = 330 nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

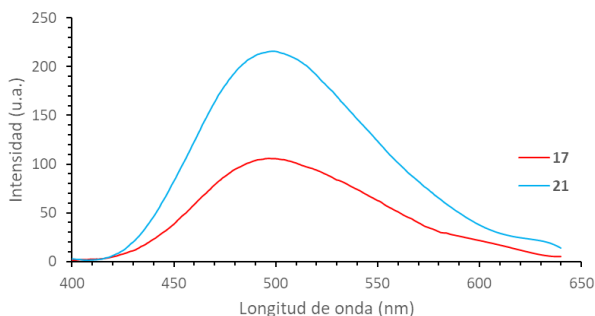


Figura 4.18. Espectros de emisión de los compuestos **17** y **21** en una mezcla MeOH/50% agua 10 μ M (λ_{ex} = 330 nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

Compuestos **18** y **22**

Finalmente, tras estudiar la fluorescencia de los compuestos **18** y **22** en diferentes proporciones de mezclas THF/agua y MeOH/agua, se encontró que las mezclas con mayor diferencia de intensidad entre ambos compuestos eran THF/99% agua y MeOH/90% agua, en las que el compuesto **22** fue 2 y 2,1 veces mayor respectivamente.

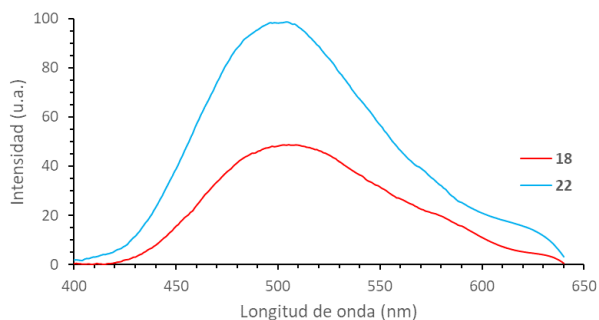


Figura 4.19. Espectros de emisión de los compuestos **18** y **22** en una mezcla THF/99% agua 10 μ M (λ_{ex} = 330 nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

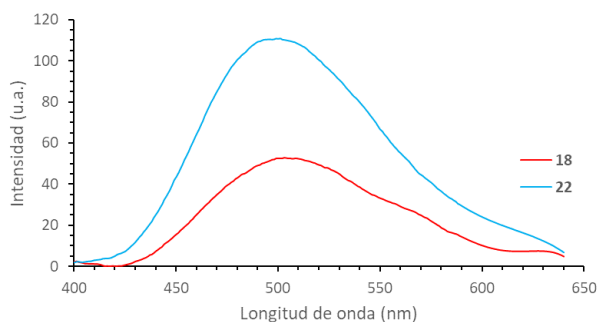


Figura 4.20. Espectros de emisión de los compuestos **18** y **22** en una mezcla MeOH/90% agua 10 μ M (λ_{ex} = 330 nm, rendijas a 2,5 nm/5 nm).

Tras estudiar todos los compuestos, se puede concluir que aquellos sistemas en los que los anillos de triazol están unidos directamente a los fenilos del TPE (compuestos **3** y **5**; **13** y **15**) dan lugar a diferencias de intensidad mucho mayores que aquellos en los que se encuentran a mayor distancia, probablemente debido a que los compuestos **3** y **13** no poseen cadenas laterales, mientras que **9**, **16**, **17** y **18** ya tienen cadenas laterales en su estructura, por lo que el cambio relativo es menos significativo. Sin embargo, todos los sistemas estudiados tienen potencial para ser dosímetros de NO.

4.2.2.2 Estudio de la reacción “clic” con ascorbato sódico

Como parte del proceso de optimización de las condiciones de medida, se realizaron las reacciones “clic” con los compuestos **3**, **9**, **13**, **16**, **17** y **18**; y los correspondientes alquinos y azidas, y se midió su fluorescencia a 1, 15 y 30 min tras la adición del reductor. Para estas pruebas, se decidió utilizar ascorbato sódico como reductor con el objetivo de asegurar una reducción completa y rápida del cobre (II). De esta forma, se pudo estudiar la velocidad de la reacción cuando todos los reactivos necesarios están presentes desde el inicio.

Se comenzó realizando las medidas en las mezclas THF/agua con los derivados de TPE a una concentración de 10 μM , con acetato de cobre 10 μM y ascorbato sódico 20 μM . El alquino o azida alifático correspondiente estuvo presente en las mezclas con una concentración 40 μM , salvo en las de los compuestos **17** y **18**, donde la concentración fue 30 y 20 μM respectivamente. Se utilizó 1-heptino con el compuesto **3**, 1-azidododecano con el compuesto **13**, 1-octino con el compuesto **9** y 1-azidohexano con los compuestos **16**, **17** y **18**.

Los resultados del estudio (figura 4.21) nos llevaron a descartar los compuestos **3**, **9** y **13** como posibles dosímetros de NO, ya que no se observan cambios apreciables en la fluorescencia de los mismos a lo largo del tiempo de reacción. El compuesto **16** dio los mejores resultados, con una intensidad de emisión 4,6 veces mayor al minuto de comenzar la reacción y pasados 15 min; y 7,5 veces mayor a los 30 min, respecto al compuesto disuelto solo en

esa mezcla de solventes. Los compuestos **17** y **18** mostraron intensidades más bajas, que alcanzaban un máximo a los 15 min y disminuían a los 30 min respecto a su valor anterior. Sin embargo, no se descartaron todavía y fueron estudiados en las siguientes pruebas.

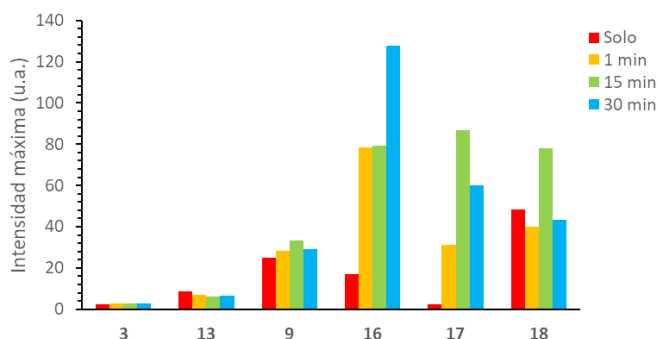


Figura 4.21. Intensidad de fluorescencia máxima para cada mezcla de reacción a tres tiempos diferentes en THF/agua, junto con la fluorescencia de cada compuesto por separado antes de hacerlo reaccionar.

4.2.3 Estudios de detección

Para comenzar, se estudió la capacidad de los compuestos **16**, **17** y **18** para dar lugar a la reacción “clic” en presencia de concentraciones altas de NO (30000 ppm). Para ello, se realizaron las reacciones en las mismas condiciones que en la prueba anterior, salvo que se utilizó NO como reductor en lugar de ascorbato sódico y se registró su fluorescencia a los 30 min de reacción.

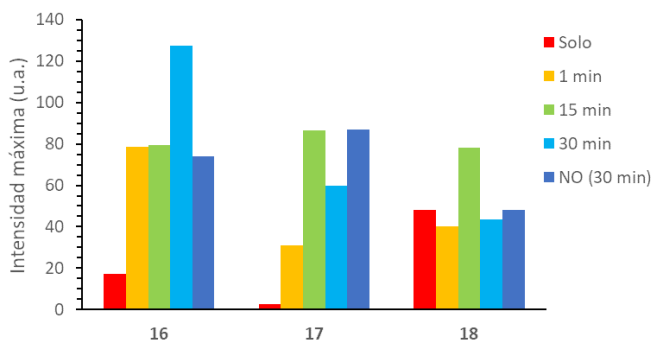


Figura 4.22. Intensidad de fluorescencia máxima para cada mezcla de reacción a tres tiempos diferentes en THF/agua, junto con la fluorescencia de cada compuesto por separado antes de hacerlo reaccionar (solo) y la intensidad tras realizar la reacción burbujeando 10 mL con 30000 ppm de NO (g) en argón.

Como se puede observar en la figura 4.22, los compuestos **16** y **17** muestra una diferencia importante de intensidades de emisión tras media hora de reacción, mientras que el compuesto **18** no experimenta cambios. Sin embargo, tras comparar estos resultados con los de las pruebas con ascorbato, se llegó a la conclusión de que el cobre podría estar formando complejos con los alquinos terminales y provocando cierto grado de agregación.⁴⁹ Para corroborar esta hipótesis, se repitió el estudio utilizando un blanco con la misma composición que la mezcla de reacción a estudiar, salvo que fue burbujeado con argón en lugar de NO. Sin embargo, tras no observar diferencias de fluorescencia en las primeras medidas entre el blanco y la mezcla con NO, se decidió replantear las condiciones de medida.

Se decidió llevar a cabo la reacción con el compuesto **16** a una concentración 10 veces superior y en la mezcla de disolvente que produjese el mayor incremento de fluorescencia, y volver a diluir

la mezcla a una concentración 10 veces inferior y en las condiciones en las que el triazol obtenido tuviese mayor emisión.

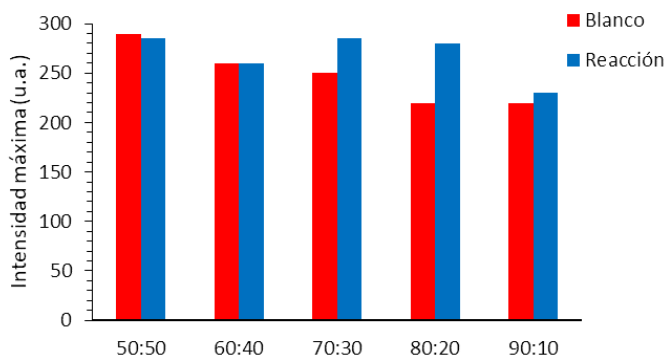


Figura 4.23. Emisión máxima de la mezcla de reacción “clic” realizada con el compuesto **16** a 100 μM con 10 mL de 30000 ppm de NO (g) en diferentes mezclas agua/THF y diluida a 10 μM en THF/90% agua tras 15 min de reacción. Para el blanco, se realizó el mismo procedimiento, pero burbujeando argón en lugar de NO.

A la vista de las fluorescencias registradas, se determinó que las proporciones de disolventes más adecuadas para llevar a cabo la reacción eran THF/80% agua, aumentando un orden de magnitud las concentraciones de todos los componentes de la reacción respecto a las estudiadas con ascorbato sódico, y posteriormente tomar una alícuota, diluir y realizar el registro de la intensidad de emisión del sistema en THF/90% agua.

Dado que la solubilidad del NO es mayor en MeOH que en THF,⁵⁰ se decidió realizar también las pruebas anteriores en mezclas MeOH/agua. Además, se decidió utilizar un tampón a pH 7,5 ya que es conocido que un medio ligeramente básico mejora la reacción de cicloadición.^{51,52} De este modo, para realizar las medidas de fluorescencia se tomaron alícuotas tanto de las

reacciones (burbujeo de NO, un gran exceso) como de los blancos (burbujeo de argón) realizadas a 100 μM , y se diluyeron hasta obtener una concentración de 10 μM en una mezcla de MeOH/90% agua sin tamponar.

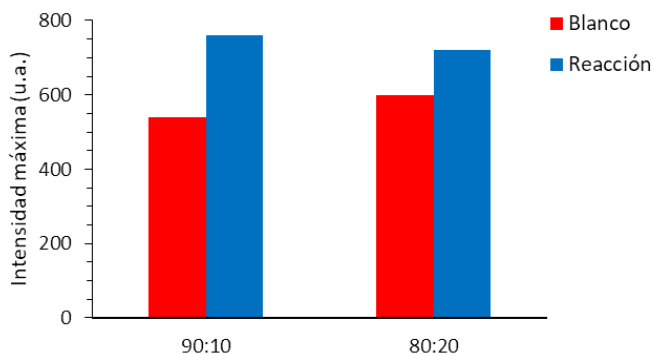


Figura 4.24. Emisión máxima de la mezcla de reacción “clic” realizada a 100 μM con 10 mL de 30000 ppm de NO (g) en dos mezclas agua/MeOH y diluida a 10 μM en MeOH/90% agua tras 15 min de reacción. Para el blanco, se realizó el mismo procedimiento, pero burbujeando argón en lugar de NO.

A la vista de que los resultados obtenidos cuando se hizo uso de una mezcla MeOH/90% agua en la reacción (incremento del 41%) eran mejores que los obtenidos haciendo la reacción en THF/agua 80% (incremento del 27%), se midió en estas condiciones (reacción y medida usando MeOH/90% agua) empleando concentraciones más bajas de NO. Como se puede observar en la figura 4.25, el NO fue capaz de producir cambios en el sistema incluso a 100 ppm, por lo que se procedió a realizar una curva de calibrado de dicho sistema.

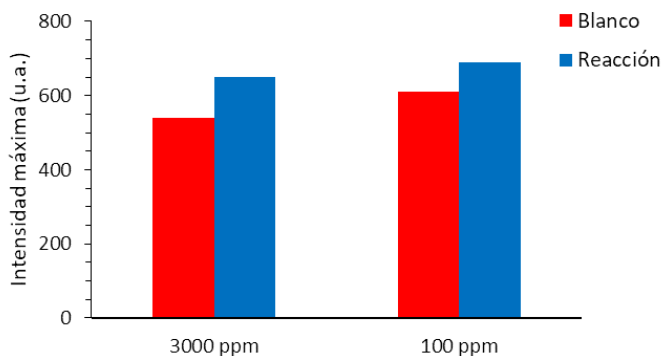


Figura 4.25. Emisión máxima de la mezcla de reacción “clic” realizada a $100 \mu\text{M}$ con 10 mL gas a dos concentraciones diferentes de NO (g) en MeOH/90% agua y diluida a $10 \mu\text{M}$ en MeOH/90% agua tras 15 min de reacción. Para el blanco, se realizó el mismo procedimiento, pero burbujeando argón en lugar de NO.

Para realizar la curva de calibrado, se hizo uso de un caudalímetro de gases para burbujear en el seno de la mezcla de reacción concentraciones exactas y conocidas de NO en nitrógeno. Dicha mezcla consistió en una solución $100 \mu\text{M}$ del compuesto **16** y $400 \mu\text{M}$ de 1-azidohexano y acetato de cobre (II) en MeOH/90% agua tamponada a pH 7,5. Todas las reacciones se realizaron burbujeando durante 10 min con un caudal constante de 100 mL/min y dejando 30 min más de tiempo de reacción, tras lo cual se tomó una alícuota y se diluyó en un factor 1/10 en MeOH/90% agua antes de registrar su fluorescencia.

Se realizó un registro de la variación de la fluorescencia del sistema en función de la concentración de NO, desde 0 hasta 80 ppm. Como se puede observar, el intervalo de linealidad es relativamente restringido, desde 20 ppm hasta 80 ppm (figura 4.26).

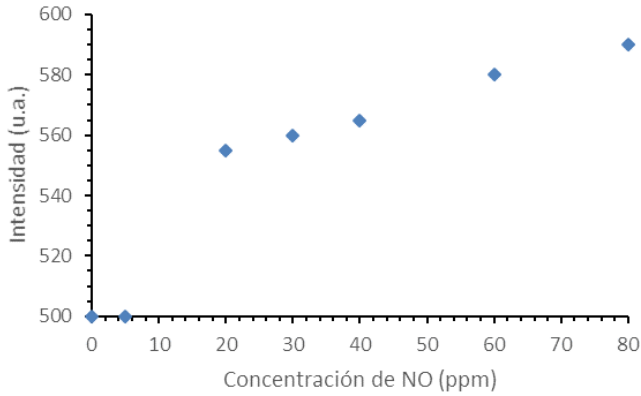


Figura 4.26. Curva de calibrado del sistema con el compuesto 16.

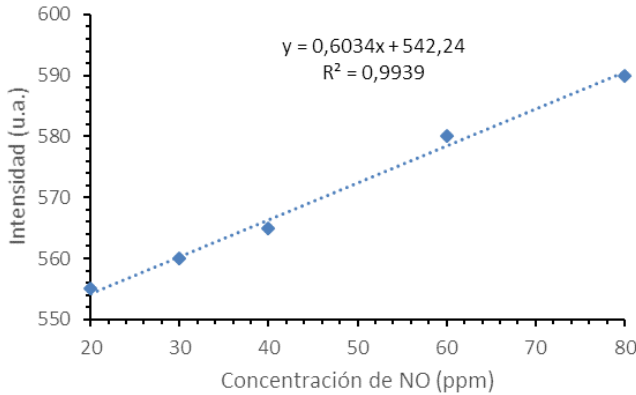


Figura 4.27. Regresión lineal entre 20 y 80 ppm de NO.

A partir de esta regresión lineal (figura 4.27), junto con la desviación estándar del blanco, se calculó un límite de detección (LOD) de 15 ppm. Este fue calculado utilizando la fórmula indicada por la IUPAC a partir de la desviación estándar del blanco (S_b) y la pendiente (m) hallada en la regresión lineal:

$$\text{LOD} = \frac{3 \cdot S_b}{m} = 15 \text{ ppm}$$

Como se comentó al inicio de este capítulo, el NO inhalado se utiliza en aplicaciones terapéuticas a concentraciones que abarcan desde los 20 hasta los 80 ppm, por lo que el quimiosímetro preparado funciona correctamente en el rango de concentraciones de interés terapéutico, con un límite de detección menor que la mínima concentración requerida para que el tratamiento sea efectivo.

Para confirmar la selectividad del sistema, se realizó un estudio de interferentes con diferentes gases: NO₂, CO₂, CO y SO₂. Todas las medidas se llevaron a cabo utilizando la misma metodología que en el estudio de las condiciones de medida con NO, pero burbujeando, en lugar del NO, cada uno los gases en gran exceso.

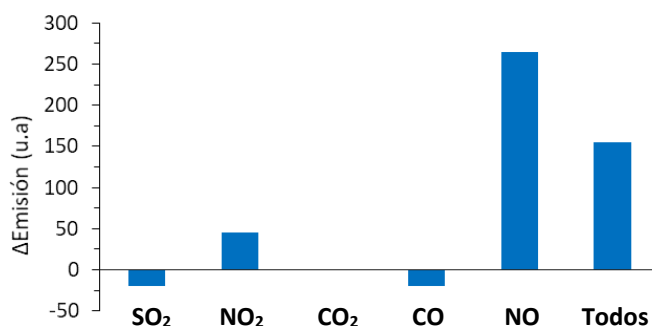


Figura 4.28. Respuesta del dosímetro ante varios interferentes gaseosos, expresada como la diferencia de emisión entre cada gas y el blanco (N₂).

Como puede verse en la figura 4.28, ninguno de los gases produjo cambios significativos en la fluorescencia del sistema. Solo cuando se estudió el NO₂ se observó un ligero aumento de la emisión, posiblemente debido a la presencia de NO en equilibrio,

mientras que el SO₂ y el CO produjeron un ligero descenso de la fluorescencia. En cambio, el CO₂ no alteró la emisión del sistema. De todas formas, hay que tener en cuenta que en todos los casos se burbujeó un gran exceso (5 x 10⁴ ppm, concentraciones 2,5 veces superiores a la de NO) de cada gas en la solución, de modo que su efecto a concentraciones inferiores será insignificante. Por tanto, se puede considerar que el sistema es selectivo.

4.3 Conclusiones

De los seis posibles dosímetros sintetizados y estudiados, el compuesto **16** ha demostrado ser capaz de detectar y cuantificar NO (g) de forma satisfactoria. El compuesto es un derivado de tetrafeniletano y el mecanismo de transducción está realmente basado en el fenómeno de Emisión Inducida por Agregación, ya que la reacción “clic” catalizada por NO modifica la polaridad y el volumen estérico de los sustituyentes del TPE, induciendo claros cambios en la fluorescencia.

Se ha establecido un límite de detección para el sistema de 15 ppm y el rango de linealidad se encuentra entre 20 y 80 ppm, por lo que la sonda podría ser útil en el control del uso de NO inhalado. Además, otros gases como el NO₂, CO₂, CO y SO₂ no inducen cambios apreciables en el intervalo de medida. Finalmente, el dosímetro funciona adecuadamente en medios MeOH/agua.

Capítulo 5

Detección colorimétrica de dióxidos de nitrógeno (NO₂) y azufre (SO₂)

5.1 Introducción

El dióxido de nitrógeno (NO₂) es el componente más tóxico de la mezcla de óxidos de nitrógeno denominada NO_x, importante responsable de la contaminación atmosférica de la actualidad y causante del smog fotoquímico que se puede observar alrededor de las grandes urbes,³⁶ ya que incluso a concentraciones menores de 5 ppm resulta irritante.⁵³ Produciendo efectos adversos en los pulmones reduciendo su funcionamiento, inflamación de las vías respiratorias, incrementando tanto los ataques de asma como la susceptibilidad a adquirir una infección respiratoria.⁵⁴

Debido a estos efectos y, teniendo en cuenta, la ubicua presencia de este gas, el desarrollo de métodos selectivos y sensibles para su detección es un área de interés.^{55,56} Sin embargo, muchos de estos métodos adolecen de una o varias limitaciones, como pueden ser: baja selectividad, detección de falsos positivos, complejidad para ser operados, baja o nula portabilidad, dificultad para la monitorización en tiempo real, etc. Como alternativa a estos procedimientos instrumentales, se plantea el desarrollo de quimiosensores, construidos bajo el paradigma de los quimiodosímetros con lectura óptica. El número de publicaciones relacionadas con la detección óptica de NO₂ no es muy numeroso.⁵⁷

Nuestro grupo de investigación ha estado interesado en detectar dióxido de nitrógeno mediante el uso de diferentes protocolos, la mayoría de ellos consistentes en quimiodosímetros basados en derivados fluorescentes de borodipirrometeno (BODIPY) como

unidades señaladoras,⁵⁷⁻⁵⁹ o basados en la metodología de puertas moleculares que, en presencia de NO₂, liberan un colorante previamente insertado en los poros del material mesoporoso MCM-41, debido a la fragmentación de la puerta por la ruptura de enlaces tipo hidrazona provocada por el NO₂ (figura 5.1).⁶⁰

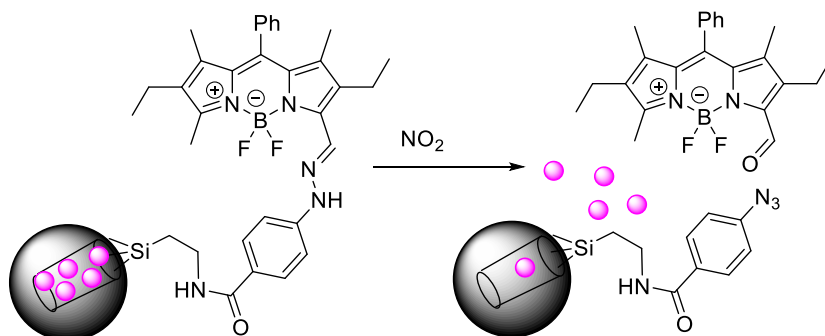


Figura 5.29. Detección de NO₂ por medio de la metodología de puertas moleculares con liberación de un colorante previamente insertado en los poros del material mesoporoso MCM-41.

Por otra parte, el dióxido de azufre, junto con el dióxido de nitrógeno, en la atmósfera es responsable de la lluvia ácida. Además, este compuesto origina graves perjuicios para la salud humana pues la exposición aguda al mismo puede inducir varias enfermedades respiratorias y cardiovasculares, así como desórdenes neurológicos.^{61,62} Estos hechos han conducido a que su medición, generalmente por vía electroquímica, sea obligatoria en plantas industriales, refinerías, estaciones de medición de las ciudades, etc.⁶³ También se han descrito quimiosensores para la detección vía óptica de este gas, de modo reversible.⁶⁴

Además, el dióxido de azufre y sus derivados, como el hidrógenosulfito y el sulfito, se utilizan ampliamente como aditivos en muchos alimentos y bebidas con el fin de prolongar su frescura y ampliar la fecha de caducidad. El SO₂ tiene un efecto citoprotector a bajos niveles, mientras que a mayor concentración es citotóxico, por lo que es importante contar con métodos que permitan su cuantificación en alimentos, especialmente en vinos, o medios de lisado celular.⁶⁵

Por otro lado, se ha descrito la liberación endógena de dióxido de azufre en sistemas biológicos y, al igual de otras moléculas gaseosas que actúan como señalizadores (NO, CO, H₂S), se le relaciona con una serie de procesos psicológicos tanto en animales como en plantas,⁶⁶⁻⁶⁸ y más concretamente en la regulación cardiovascular donde el SO₂ endógeno interviene en la remodelación de la estructura vascular.⁶⁹ Por tanto, es importante estudiar el papel que juega el SO₂ a nivel fisiológico para lo que es conveniente contar con métodos analíticos eficaces para monitorizar su biodistribución. Recientemente se han descrito diversos quimiosensores ópticos para la detección de SO₂ en sistemas biológicos tales como células⁶⁹ o incluso *in vivo*.^{70,71}

Siguiendo nuestro interés en el estudio de derivados del TPE, decidimos, en primer lugar, aprovechar las propiedades electrocrómicas del 1,1,2,2-tetrakis(4-(dimetilamino)fenil)eteno (**TDAPE**) como sensor cromogénico de un gas oxidante como es el dióxido de nitrógeno.

Las moléculas electrocromáticas son aquellas en las que su espectro de absorción depende del estado de oxidación.⁷² Hay muchas moléculas con la capacidad de presentar este comportamiento, así es bien conocido el cambio de color que experimenta el ion ferrocianuro, amarillo claro en disolución acuosa, cuando es oxidado a ion ferricianuro de color amarillo brillante. Del mismo modo, algunos compuestos orgánicos pueden presentar comportamiento electrocromático. Así, los cationes incoloros bipyridilio (BPYCs), también conocidos como viológenos o paraquats, adquieren colores intensos en cuanto se reducen, lo que se refleja en un drástico cambio en sus propiedades de absorción de luz UV-visible.⁷³ Los materiales electrocromáticos tienen multitud de aplicaciones por lo que han sido utilizados en la fabricación de diversos dispositivos tales como ventanas capaces de controlar la cantidad de luz que permiten pasar, espejos electrocromáticos que se montan ya en la mayor parte de los automóviles, gafas o pantallas protectoras en casos o máscaras para soldadores.⁷⁴⁻⁷⁶

Hünig y colaboradores propusieron en 1999 una estructura general para estos compuestos electrocromáticos.^{77,78} Esta estructura contiene una agrupación violeno con grupos funcionales en sus extremos que, al ser oxidada o reducida por completo, da lugar a colorantes poli-metínicos de estructura cerrada como son las merocianinas, oxonoles o cianinas. En estos sistemas, debido a sus características electrónicas, la concentración de violeno es despreciable debido a la elevada estabilidad de las formas oxidadas o reducidas. Dentro de este tipo de compuestos, se pueden incluir algunos derivados del tetrafeniletano;⁷⁹ de hecho, son

bien conocidas desde 1872 las propiedades electrocromáticas del tetrakis(4-hidroxifenil)etano.⁸⁰

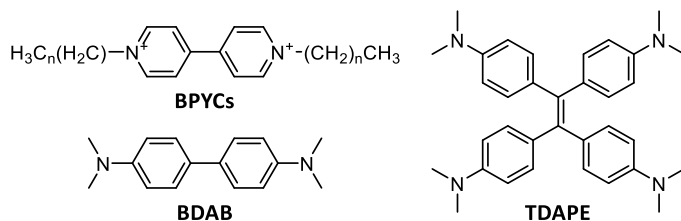


Figura 5.30. Estructuras electrocromáticas.

El 4,4'-bis(*N,N*-dimetilamino)bifenilo (BDAB) también pertenece a este tipo de compuestos y sus propiedades electroquímicas y electrocromáticas, han sido profusamente estudiadas, sin embargo, la utilización dichas propiedades, como mecanismo de transducción en el desarrollo de sensores, ha recibido mucha menos atención.⁷² Hace años, nuestro grupo de investigación estuvo interesado en el uso de derivados del BDAB en el reconocimiento de cationes y, en el curso de esos estudios, se emplearon los cambios conformacionales inducidos por la oxidación del BDAB para conseguir un control electroquímico de la complejación.^{81,82}

Las propiedades electrocromáticas del TDAPE han sido descritas, pero el proceso de oxidación-reducción se realiza habitualmente bajo condiciones electroquímicas. Sin embargo, la oxidación química ha sido menos descrita. Únicamente, en 1961, Anderson *et al.* describieron la oxidación de TDAPE con nitrato de plata;⁸³ la estequiometría de la reacción fue 1:2 rindiendo disoluciones acuosas de color púrpura que no presentaban absorción en resonancia electrónica paramagnética (EPR); por lo que se propuso

para el colorante una estructura dicatiónica (**TDAPE**²⁺) (figura 5.3).

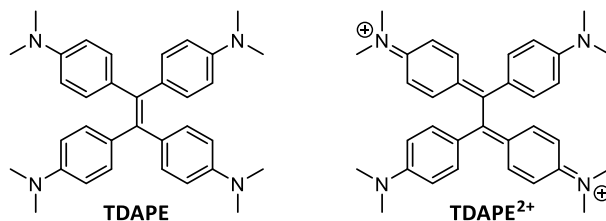


Figura 5.31. Estructuras del **TDAPE** y del colorante producto de su oxidación **TDAPE**²⁺.

5.2 Resultados y discusión

5.2.1 Síntesis del **TDAPE**

El **TDAPE** se sintetizó mediante una reacción de McMurry simétrica con 4,4'-bis(dimetilamino)benzofenona utilizando TiCl₄ y Zn.⁸⁴ Tras purificar con columna cromatográfica, se obtuvo el compuesto deseado con un rendimiento del 69%.

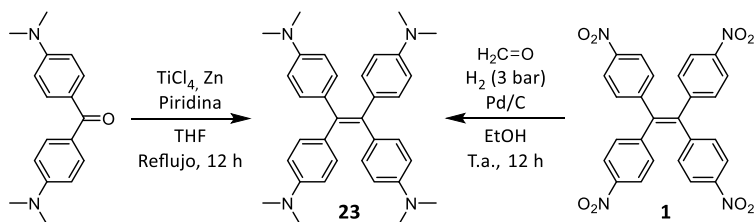


Figura 5.32. Síntesis del compuesto **23** (**TDAPE**).

El mismo compuesto también fue sintetizado por medio de una reacción de alquilación reductiva del compuesto **1** con formaldehído e hidrógeno (3 bares) y catalizada con Pd/C (10%).⁸⁵ Tras

realizar una purificación con columna cromatográfica, se obtuvo el compuesto deseado con un rendimiento del 65%.

Teniendo en cuenta el menor rendimiento del segundo procedimiento y que este requiere 2 pasos desde el producto TPE comercial, el procedimiento basado en la McMurry resultó más conveniente.

5.2.2 Reacción del TDAPE con dióxido de nitrógeno

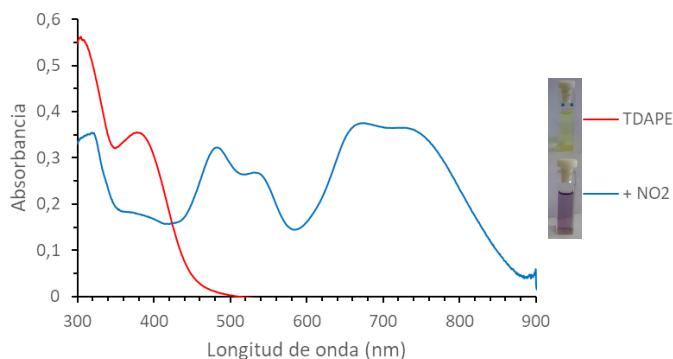


Figura 5.33. Espectros de absorción UV-visible del TDAPE 10 μM en THF/agua (1:9, v:v) antes (rojo) y después (azul) de ser tratados con NO₂.

Teniendo en cuenta que el potencial redox del NO₂ (0,89-1,13 V) es adecuado⁸⁶ para la oxidación del 1,1,2,2-tetrakis(4-(dimetilamino)fenil)etano, se comenzó por tratar disoluciones de TDAPE en THF/agua (1:9, v:v) con un exceso, 53000 ppm, de dióxido de nitrógeno. El cambio de color en la disolución, de amarillo a violeta, resultó evidente y el espectro UV-vis (figura 5.5) del producto oxidado resultó idéntico al descrito para el TDAPE tras oxidación electroquímica.

De este modo, se comprobó que el color era debido a la formación del dicatión (TDAPE²⁺). También se observó que dicho cambio de color era reversible a pH mayor de 10, ya que a ese pH el potencial redox del dicatión es capaz de oxidar al agua. Esos procesos se muestran en la figura 5.6.

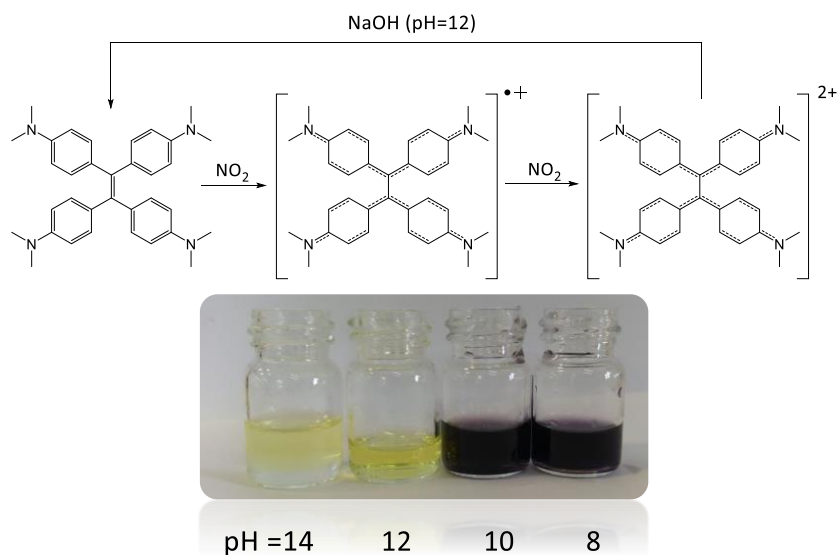


Figura 5.34. Ruta de oxidación del TDAPE con NO₂ al dicatión y su reducción a pH>12.

El mismo cambio de color se produce en el producto sólido al exponerlo al dióxido de nitrógeno (figura 5.7).

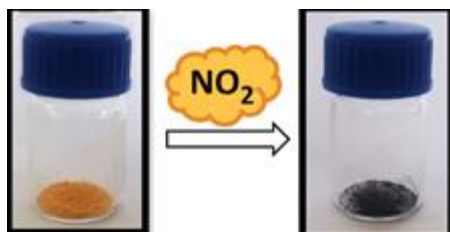


Figura 5.35. Oxidación de **TDAPE** sólido con NO₂.

Al exponer disoluciones de **TDAPE** en diversos disolventes (THF, DMSO y MeCN) a atmósferas con concentraciones creciente de NO₂, se observó el mismo cambio de color, de lo que se deduce que la reacción es de aplicación general, aunque el efecto más acusado se obtuvo al emplear MeCN/agua (6:4 v:v) como disolvente. Por ello decidimos estudiar, en estas condiciones, la aplicabilidad de este compuesto como quimiosensor cromogénico de dióxido de nitrógeno. En la figura 5.8 se muestra la valoración de una disolución de **TDAPE** 10 μM en MeCN/agua (6:4 v:v) con atmósferas de nitrógeno con cantidades crecientes de NO₂.

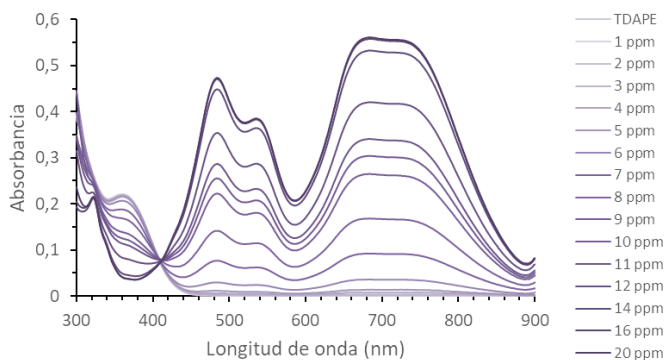


Figura 5.36. Valoración de **TDAPE** 10 μM en MeCN/agua (6:4, v:v) con NO₂.

Para estandarizar el tiempo de exposición se expusieron alícuotas de una disolución de **TDAPE** 10 μM en MeCN/agua (6:4, v:v) a atmósferas de aire con cantidades crecientes de dióxido de nitrógeno gas durante 4 minutos y tras un minuto adicional se midió la absorbancia a 684 nm (figura 5.9).

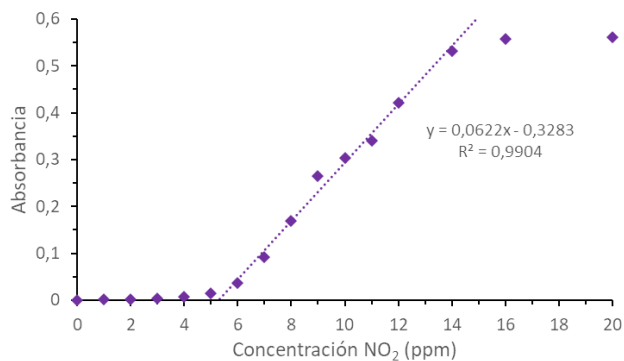


Figura 5.37. Cambios en la absorbancia de **TDAPE** a 684 nm frente a la concentración de NO₂.

Bajo esas condiciones el rango de linealidad fue de 6 a 14 ppm y el límite de detección, estimado usando la aproximación señal/ruido 3:1, fue de 4 ppm.

5.2.3 Reacción del **TDAPE** con dióxido de azufre

Como ampliación de este estudio se expusieron disoluciones de **TDAPE** en THF a atmósferas que contenían dióxido de azufre y, sorprendentemente, también se producía el mismo cambio de color, aunque en menor extensión. Para racionalizar este hecho, habida cuenta del carácter no oxidante, en principio, del SO₂, nos planteamos que la presencia de peróxidos en el THF en combinación con SO₂ gas, también podía producir la oxidación. Apoyaba esta idea el hecho de que, en otros disolventes tales como el acetonitrilo, el cambio de color en presencia de SO₂ no se producía.

Para confirmar esta hipótesis comenzamos por ensayar si diversos peróxidos eran capaces de promover la oxidación. Se ensayaron el peróxido de dibenzoilo, peróxido de hidrógeno, triperóxido de triacetona (TATP) y el hidroperóxido de *terc*-butilo. De todos ellos, sólo el peróxido de dibenzoilo provocó el cambio de color en las condiciones descritas anteriormente, **TDAPÉ** 10 µM en acetonitrilo:agua 9:1 v:v. Resultado que es coherente con los datos referidos en la bibliografía donde se describe que el peróxido de dibenzoilo oxida al BDAB al catión radical correspondiente, así como al dicatión.⁸⁷

El resto de peróxidos no provocaron cambios en el color de la disolución. Este hecho está de acuerdo con datos bibliográficos como que la oxidación del BDAB a la correspondiente sal azul de Wurster, mediante peróxido de hidrógeno, solo se produce en presencia de catalizadores, generalmente enzimas.⁸⁸

Por otra parte, está bien establecido que el dióxido de azufre forma complejos con aminas aromáticas.^{89,90} De hecho, se han utilizado estos complejos de transferencia de carga como base de un quimiosensor colorimétrico de SO₂ donde este desplaza una amina de un complejo con Zn.⁹⁰ Teniendo en cuenta este hecho, se pensó que esta coordinación podría modificar el potencial de oxidación de las aminas y, por tanto, que el **TDAPÉ** podría ser oxidado por otros peróxidos en presencia del SO₂. Esto explicaría que peróxidos presentes en el THF no sean capaces de general del dicatión del **TDAPÉ** en ausencia de SO₂, mientras que en presencia de ese gas sí conduzcan al cambio de color característico.

Para extender este comportamiento a disoluciones de **TDAPE** en otros disolventes, se les añadieron a cantidades controladas de hidropérido de *terc*-butilo. Este no produce el cambio de color en el **TDAPE** a no ser que estas disoluciones se expongan a atmósferas conteniendo SO_2 . Como consecuencia, el **TDAPE** se puede utilizar también para el sensado de dióxido de azufre.

La elección de este peróxido está basada en las propiedades como iniciador de radicales libres del par redox: $\text{SO}_2/t\text{-BuOOH}$. Este par redox está descrito como iniciador de la reacción de polimerización de varios metacrilatos.⁹¹

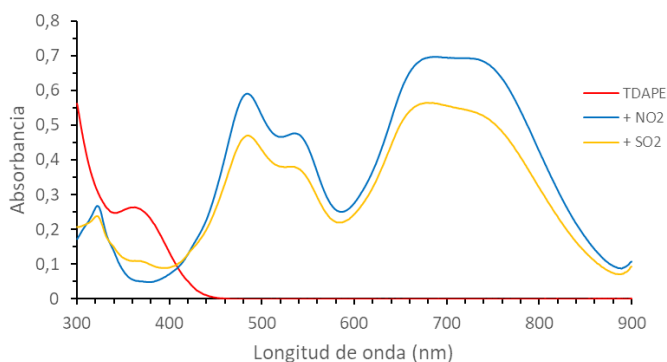


Figura 5.38. Comparación entre los espectros de UV de **TDAPE** 10 μM antes (rojo) y después de la adición bien de NO_2 (azul) o bien de SO_2 (amarillo), en MeCN/agua (6:4, v:v).

La reacción de **TDAPE** en las condiciones habituales, pero en presencia del par redox $\text{SO}_2/t\text{-BuOOH}$ condujo al esperado cambio de color. De hecho, el espectro UV-visible fue idéntico al de la reacción con NO_2 solo a la misma concentración (figura 5.10).

La respuesta fue proporcional a la concentración de hidropérido de *terc*-butilo hasta alcanzar los 20 μM ; mayor cantidad del

peróxido condujo a pérdida de señal seguida de cambios en el espectro UV-visible. Sin embargo, ni la adición de peróxido de hidrógeno o ni la de triperóxido de triacetona alteró el espectro de UV que se obtiene en presencia solo de SO₂.

Para evaluar la aplicabilidad del sistema como quimiosensor cromogénico para dióxido de azufre gas, se valoró una disolución de **TDAPE** 10 μM en MeCN/agua (6:4 v:v) conteniendo 20 μM de *t*-BuOOH a atmósferas de nitrógeno con cantidades crecientes de dióxido de azufre (figura 5.11).

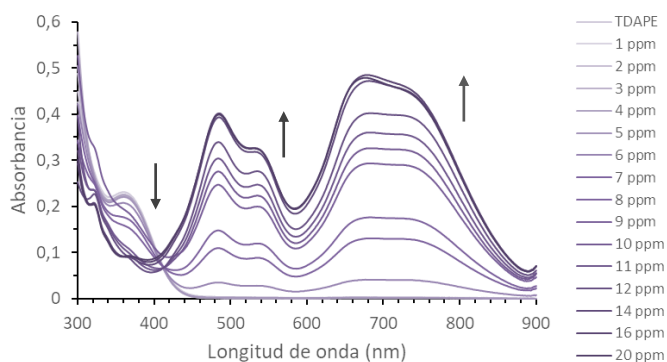


Figura 5.39. Valoración de **TDAPE** 10 μM y *t*-BuOOH 20 μM en MeCN/agua (6:4 v:v) con SO₂.

Del mismo modo que antes, se estudió la respuesta de la absorbancia a 680 nm de esta valoración (figura 5.12), donde se ve que muestra una respuesta lineal entre 5 y 14 ppm de SO₂ con un límite de detección, estimado usando la aproximación señal/ruido 3:1, de 6 ppm.

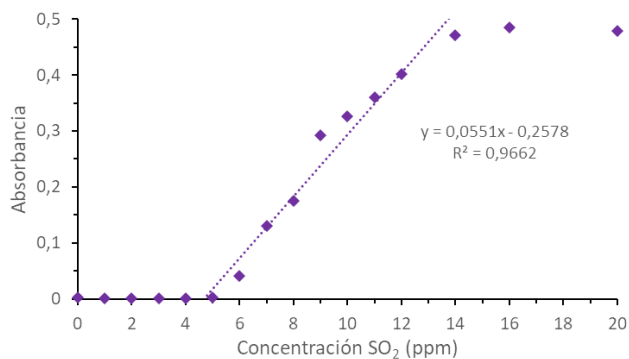


Figura 5.40. Absorbancia a 680 nm en la valoración de **TDAPE** 10 μM y *t*-BuOOH 20 μM en MeCN/agua (6:4 v:v) con SO_2 .

5.2.4 Estudio electroquímico de la oxidación del **TDAPE** por el par $\text{SO}_2/t\text{-BuOOH}$

Para comprender el modo de actuación del sistema *t*-BuOOH/ SO_2 , se realizó un estudio de las propiedades electroquímicas de la 1,1,2-tetrakis(4-(dimetilamino)fenil)eteno (**TDAPE**). Para ello, se realizaron medidas de voltamperometría cíclica de tres soluciones de **TDAPE** 1 mM: Una en DMSO, otra en DMSO y agua (10% agua v:v), y otra en DMSO, THF y agua (10% THF y 10% agua v:v), utilizando hexafluorofosfato (V) de tetrabutilamonio 0,1 M como sal de fondo. Las soluciones fueron opcionalmente desoxigenadas burbujando argón durante 10-15 min y se mantuvieron bajo atmósfera del mismo gas durante las medidas voltamperométricas. Los potenciales se referenciaron a Ag/AgCl acuoso.

La figura 5.13 compara los voltamperogramas cíclicos en el GCE de disoluciones 1 mM de **TDAPE** en DMSO a) con desoxigenación y b) tras aireación para conseguir saturación de O₂. El compuesto muestra un proceso de oxidación reversible que está caracterizado por señales bien definidas de oxidación (A1) y reducción (C1). La separación entre picos tiende a un valor de 30 mV, para velocidades de barrido bajas, y que corresponden a procesos reversibles bi-electrónicos. El potencial formal de electrodo, determinado como la semisuma de los potenciales de los picos catódico y anódico, fue de +0,22 V vs. Ag/AgCl.

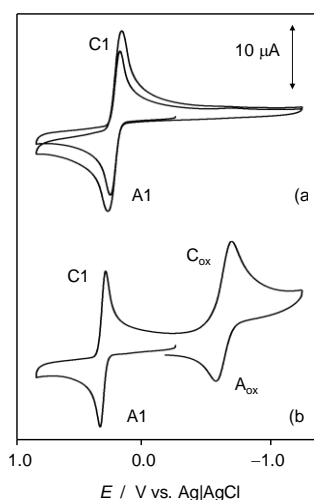
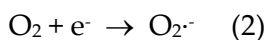


Figura 5.41. Voltamperogramas cíclicos en el GCE de disoluciones 1 mM de **TDAPE** en 0,1 M Bu₄NPF₆/DMSO a) con desoxigenación y b) tras aireación. Velocidad de barrido 50 mV/s.

La aireación de la celda no provoca cambios aparentes en la respuesta voltamétrica del **TDAPE** ni en la del par O₂/O₂⁻ que consiste en una transferencia mono-electrónica reversible (picos

C_{ox}/A_{ox} con una separación que tiende a los 59 mV a bajas velocidades de barrido) a -0,65 V vs. Ag/AgCl, que concuerda con los datos bibliográficos.^{92,93} Estos procesos pueden representados del siguiente modo:



La ausencia de cambios en la respuesta voltamétrica en los pares $\text{TDAPE}^{2+}/\text{TDAPE}$ y O_2/O_2^- sugiere que no hay una interacción directa entre estas especies, es decir, el oxígeno no oxida el **TDAPE** en las condiciones experimentales.

La naturaleza bi-electrónica del par C1/A1 concuerda con la electroquímica descrita por Hünig para los compuestos relacionados violeno/cianeno.^{77,78}

Al aplicar los métodos descritos⁹⁴ para determinar el estado de oxidación del compuesto original, se confirma que tras la entrada de O_2 en la celda electroquímica, el **TDAPE** permanece en su forma reducida.

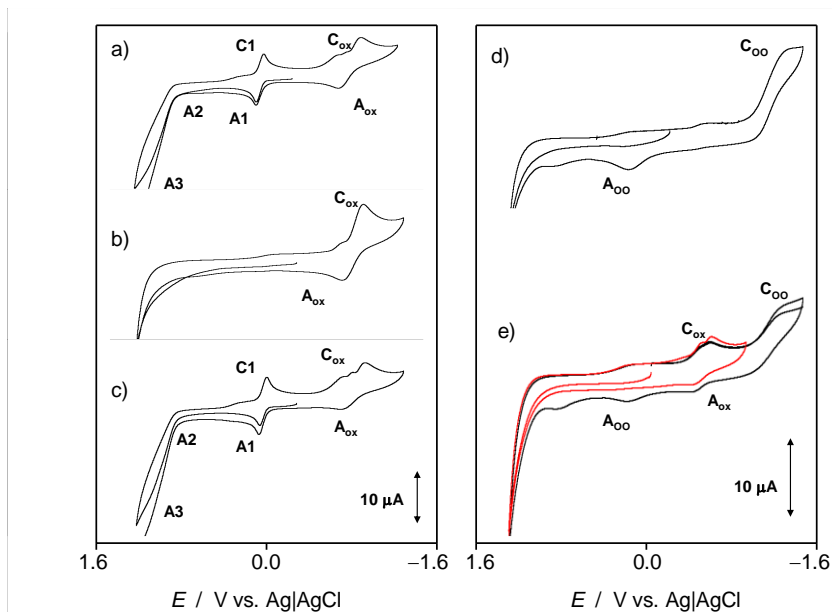


Figura 5.42. Voltamperogramas cíclicos de disoluciones saturadas de aire 0,1 M $\text{Bu}_4\text{NPF}_6/\text{DMSO}$ a) **TDAPE** 1 mM; b) SO_2 38000 ppm; c) 1 mM de **TDAPE** + SO_2 ; *t*-BuOOH 1 mM d) antes y e) tras burbujeo de SO_2 (+ O_2). Velocidad de barrido 50 mV/s.

La figura 5.14 compara los voltamperogramas (GCE) de disoluciones 0,1 M $\text{Bu}_4\text{NPF}_6/\text{DMSO}$ saturadas de aire a) **TDAPE** 1 mM; b) SO_2 38000 ppm; c) 1 mM de **TDAPE** + SO_2 . La disolución muestra las pares C1/A1 y $\text{C}_{\text{ox}}/\text{A}_{\text{ox}}$ descritas antes y acompañadas por una leve señal anódica (A2) a aproximadamente 0,85 V, atribuibles a oxidación monoeléctrica del catión **TDAPE**²⁺ generado en el proceso A1 y una prominente onda de oxidación irreversible a 1,2 V (A3), atribuible a la degradación oxidativa de los anillos aromáticos. La señal A2 aumenta al añadir THF al electrolito como se ve en la figura 5.15.

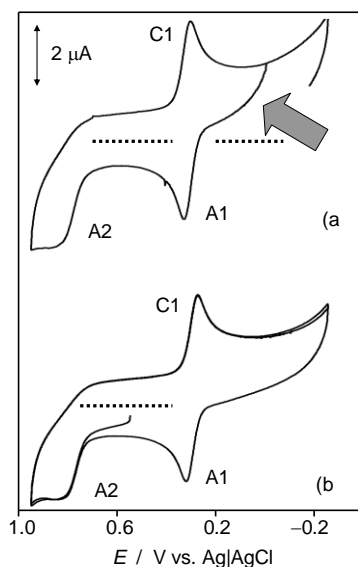
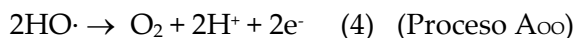


Figura 5.43. Voltamperogramas cíclicos de disoluciones saturadas de aire 0,1 M $\text{Bu}_4\text{NPF}_6/\text{DMSO}$ + agua (10% v:v) y THF (10% v:v) tras 48 h. Barrido de potencial iniciado en dirección positiva en 0,0 a) y 0,5 V b). Velocidad de barrido 50 mV/s. Las líneas puntadas indican la línea base de corriente cero y la flecha marca la prominente corriente catódica inicial en el voltamperograma.

Conviene indicar que, como puede verse en la figura 5.14b, la disolución saturada de SO_2 no muestra cambios electroquímicos durante las condiciones experimentales, mientras que **TDAPE** + SO_2 es prácticamente idéntica que la disolución original de **TDAPE**, indicando que no hay una interacción significativa entre estas especies en la escala de tiempo de los experimentos voltamperométricos.

La figura 5.14 d) y e) compara las voltamperometrías al añadir *t*-BuOOH 1 mM; antes y después de burbujear SO_2 junto con O_2 . El hidropéroxido muestra un proceso de reducción a -1,6 V (C_{OO})

seguido, en el subsecuente barrido anódico, de una onda principal de oxidación a 0,0 V (A_{oo}). A primera vista, esto se puede describir como:



En presencia de SO₂ ambas señales disminuyen, indicando la existencia de alguna interacción entre el hidroperóxido y el SO₂.

La figura 5.16 muestra el voltamperograma cíclico de disoluciones saturadas de aire 0,1 M Bu₄NPF₆/DMSO con un 10% de agua de **TDAPE** 1 mM al que se ha añadido hidroperóxido de *terc*-butilo hasta una concentración de 1 mM. En él se puede ver que las parejas C₁/A₁ y C_{ox}/A_{ox} permanecen, en apariencia, inalteradas mientras que el pico catódico C_{oo} aparece disminuido, en relación a las disoluciones con el hidroperóxido solo, mientras que la onda anódica A_{oo} desaparece. Es interesante destacar que cuando el barrido de potencial se inicia en la dirección positiva, justo antes de la señal A₁, la corriente inicial es catódica (esto se marca con una flecha en la figura 5.16) lo que indica que hay una porción significativa de la forma oxidada del **TDAPE**. Esto se confirma con la aplicación del criterio electroquímico por el que se determina el estado de oxidación de un despolarizador,^{95,96} por lo que hay algún tipo de reacción entre el **TDAPE** y el *t*-BuOOH.

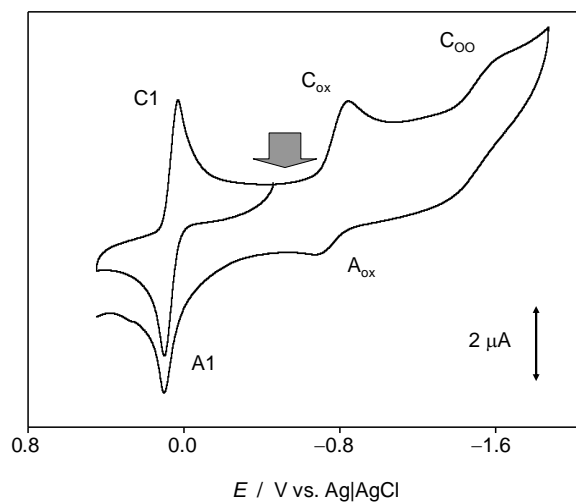
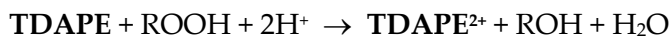


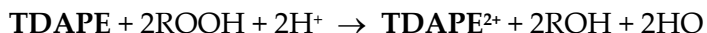
Figura 5.44. Voltamperograma cíclico de disoluciones saturadas de aire 0,1 M $\text{Bu}_4\text{NPF}_6/\text{DMSO} + \text{Agua}$ (10% v:v) de **TDAP**E 1 mM +*t*-BuOOH 1 mM. Velocidad de barrido 50 mV/s.

En consecuencia, se puede proponer, de modo tentativo, un esquema de reacción en el cual, el hidroperóxido de *terc*-butilo reacciona lentamente con **TDAP**E, bajo la asistencia regenerativa del SO_2 tal como se muestra en la figura 5.17.

En este esquema, la oxidación bi-electrónica:



Estaría cinéticamente inhibida, siendo reemplazada por el proceso lento:



Este proceso estaría promovido catalíticamente por la regeneración del hidroperóxido de *terc*-butilo, gracias a la reacción de los radicales hidroxilo con el dióxido de azufre y el *t*-butanol:



Así pues, del estudio electroquímico de la reacción entre el **TDAPE**, el *t*-BuOOH y el SO₂, se deduce que el hidroperóxido reacciona lentamente con **TDAPE** al tiempo que es regenerado por el dióxido de azufre.

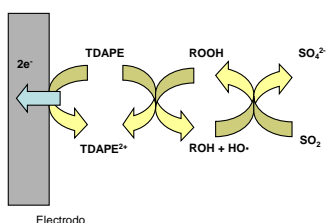


Figura 5.45. Esquema tentativo para explicar la formación de **TDAPE**²⁺ por reacción de **TDAPE** con SO₂ e hidroperóxido de *terc*-butilo.

5.3 Conclusiones

En conclusión, se ha demostrado que la oxidación química del **TDAPE** produce el dicatión **TDAPE**²⁺, fuertemente coloreado que puede ser útil como sensor cromogénico de un gas oxidante como el dióxido de nitrógeno. Además, elevando el pH por encima de 10, se consigue la reversibilidad de esa oxidación, con lo que el **TDAPE** puede actuar como quimiosensor para la detec-

ción de NO_2 gas con un límite de detección de 4 ppm. Esta respuesta puede ser obtenida en diversos disolventes, con elevado porcentaje de agua, e incluso en fase sólida.

Por otro lado, dicha oxidación se puede realizar con peróxido de dibenzoilo, pero otros peróxidos como el peróxido de hidrógeno o el hidroperóxido de *terc*-butilo son incapaces que promover esta oxidación. Sin embargo, si se produce la oxidación con el consiguiente cambio de color cuando el hidroperóxido de *terc*-butilo actúa en combinación con dióxido de azufre gas. En consecuencia, el **TDAPE** también puede ser usado como un quimiosensor de SO_2 gas con un límite de detección de 6 ppm.

El estudio electroquímico permite concluir que no hay una interacción entre las dos especies del par redox *t*-BuOOH/ SO_2 en las condiciones utilizadas, sino que el hidroperóxido reacciona lentamente con el **TDAPE** bajo la asistencia regenerativa del SO_2 gas.

Capítulo 6

Detección fluorimétrica de bioaminas

6.1 Introducción

La detección de analitos de interés biológico, en especial moléculas neutras, es un campo que despierta un extraordinario interés debido a sus posibles aplicaciones en la detección precoz de distintas enfermedades. Entre las diferentes metodologías que se pueden emplear, el uso de quimiosensores y dosímetros químicos basados en interacciones supramoleculares es una de las más atractivas debido a las claras ventajas que presentan estos sistemas.

Entre los compuestos de interés biológico, las bioaminas despiertan un interés especial debido a su impacto en numerosos campos que van desde su empleo como biomarcadores para diferentes enfermedades⁹⁷⁻¹⁰⁶ hasta su determinación en los procesos de control de calidad de alimentos.¹⁰⁷⁻¹¹⁴ Ciertas bioaminas (figura 6.1) como la dopamina, la espermidina o la putrescina son compuestos claves en los sistemas vivos ya que se ven implicados en muchas funciones biológicas vitales tales como la síntesis de proteínas, la regulación de la proliferación celular o la modulación de la expresión genética.¹¹⁵ Por otra parte, la putrescina es también el precursor del ácido γ -aminobutírico (GABA).¹¹⁶ Además de la trascendental importancia del GABA como neurotransmisor en el sistema nervioso central de los mamíferos,^{117,118} varios estudios han demostrado el crucial papel jugado por algunas bioaminas alifáticas en el campo de la bioquímica médica, como por ejemplo marcadores de algunos tipos de cáncer¹¹⁹ o en relación a la toxicidad de ciertos alimentos.¹²⁰

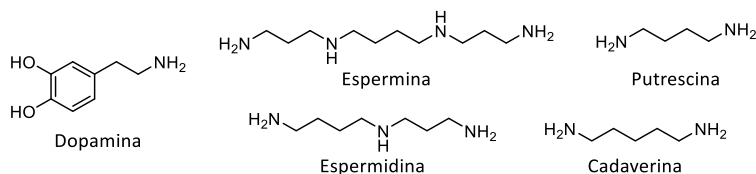


Figura 6.1. Estructuras de algunas de las bioaminas de interés.

Por otra parte, durante los últimos 30 años se ha realizado un tremendo esfuerzo para desarrollar métodos sencillos y fiables para la detección de dopamina (DA).¹²¹⁻¹²⁵ Niveles anormales de DA se han relacionado con diferentes trastornos neurológicos tales como la esquizofrenia, la enfermedad de Huntington o la de Parkinson. Como la enfermedad de Parkinson está relacionada con niveles marcadamente bajos de DA, la capacidad de detectar la concentración de esta molécula en forma selectiva puede tener aplicación en el diagnóstico de esta enfermedad, así como en la evaluación de la eficacia terapéutica de los tratamientos empleados para combatirla.¹²⁶ Por su parte, las bioaminas alifáticas también se consideran metabolitos útiles para la detección de algunos tipos de cáncer.^{127,128}

Hay descritos en la bibliografía distintos quimiosensores ópticos para la detección de DA. Como un ejemplo, se puede citar el compuesto descrito por K. Secor y T. Glass,¹²⁹ que contiene en su estructura un ácido borónico capaz de interactuar con el grupo catecol de la DA, y una cumarina que además de actuar como unidad señalizadora se ve involucrada en el proceso de reconocimiento a través de la formación de una imina con la cooperación de una interacción por enlace de hidrógeno (figura 6.2). La

presencia de la amina provoca un amortiguamiento en la intensidad de fluorescencia. Se trata por tanto de un sensor *ON-OFF*.

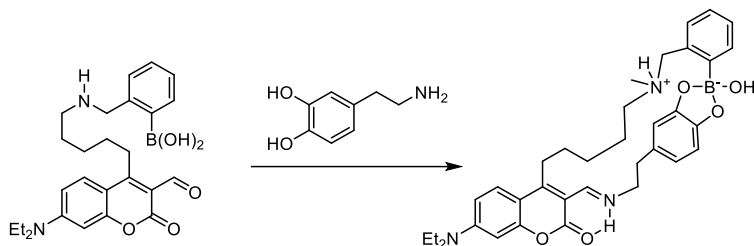


Figura 6.2. Quimiosímetro fluorescente para la detección de DA.

Más recientemente, Liu y colaboradores han propuesto un método muy simple para la detección de DA,¹³⁰ empleando el ácido 3-hidroxifenilborónico como se indica en la figura 6.3.

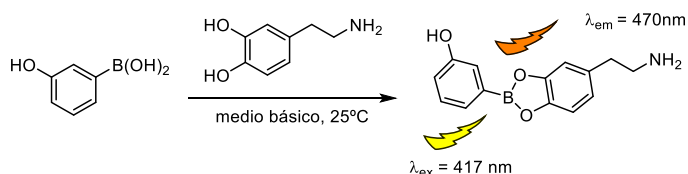


Figura 6.3. Quimiosímetro fluorescente para la detección de DA basado en el ácido 3-hidroxifenilborónico.

En relación con las aminas biológicas de cadena lineal, espermina, espermidina, putrescina, etc.; además del empleo de la agregación usando nanopartículas de oro,^{131,132} se recoge en la bibliografía el uso de nanopartículas orgánicas basadas en complejos de cobre como el que se indica en la figura 6.4.¹³³

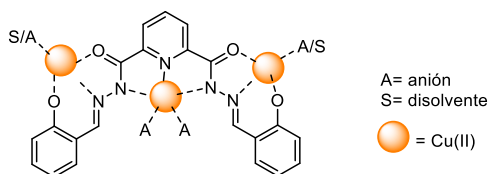


Figura 6.4. Complejo de Cu(II) para la detección de bioaminas alifáticas mediante nanopartículas orgánicas.

6.2 Resultados y discusión

6.2.1 Diseño y síntesis de receptores de bioaminas

Teniendo en cuenta nuestro interés en el empleo de derivados de TPE en el diseño de sensores para distintos analitos, se planteó la preparación y estudio de una serie de compuestos capaces teóricamente de modificar sus propiedades fluorescentes en presencia de aminas biológicas haciendo uso del fenómeno AIE. En este sentido se propuso, en primer lugar, la preparación del compuesto que aparece en la figura 6.5.

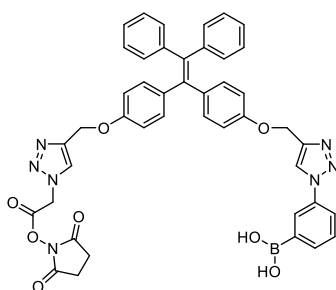


Figura 6.5. Estructura del **SBTPE**, un potencial sensor para DA.

El **SBTPE** contiene en su estructura, además del esqueleto de TPE que actuará como unidad transductora, un ácido borónico y

un éster de *N*-hidroxisuccinimida. La presencia del ácido borónico garantiza la interacción con el grupo catecol de la DA como se ha visto anteriormente en este mismo capítulo. Por otra parte, es bien sabido que los ésteres de *N*-hidroxisuccinimida reaccionan con aminas en condiciones fisiológicas.¹³⁴ Dada la disposición de los grupos en la unidad de TPE, la reacción con el analito daría lugar a una restricción en la rotación de los anillos aromáticos del TPE induciendo de ese modo el efecto AIE.

La figura 6.6 muestra el primer análisis retrosintético que se planteó para la obtención del compuesto deseado.

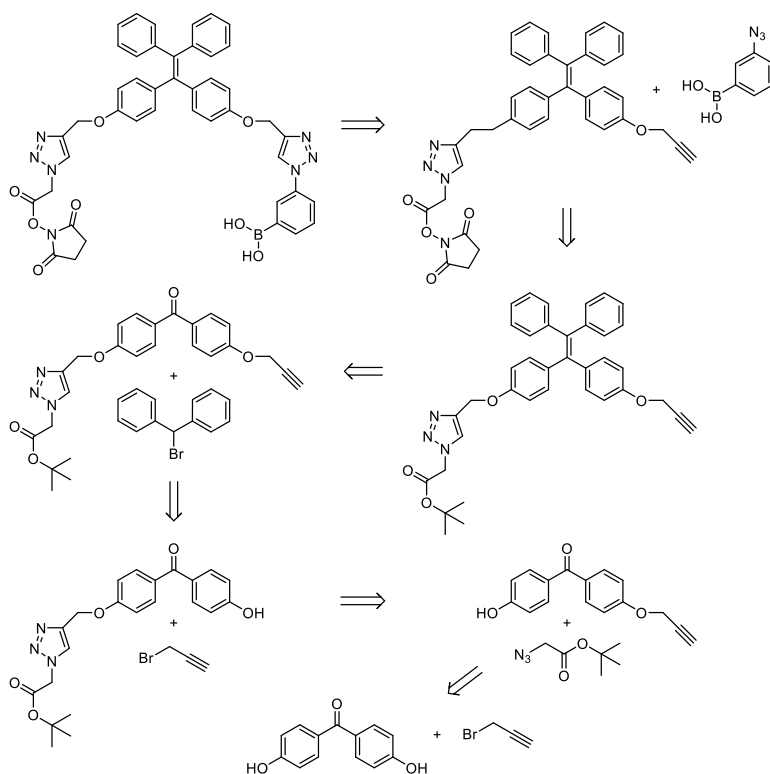


Figura 6.6. Primer análisis retrosintético planteado para la preparación de SBTPE.

La síntesis del **SBTPE** se abordó, siguiendo la ruta sintética propuesta, partiendo de la 4,4'-dihidrobzofenona. Este compuesto se hizo reaccionar con un equivalente de 3-bromo-1-propino para obtener el compuesto **24** (figura 6.7). Para ello, se empleó hidruro sódico como base, DMF como disolvente y temperatura ambiente. En estas condiciones la reacción transcurrió con un rendimiento del 8% recuperándose un 83% de producto de partida sin reaccionar. Por esta razón se modificó la temperatura, llevándose a cabo el proceso a 50 °C y se cambió la base, empleándose carbonato potásico, pero en estas condiciones lo que se obtuvo fue el producto dialquilado.

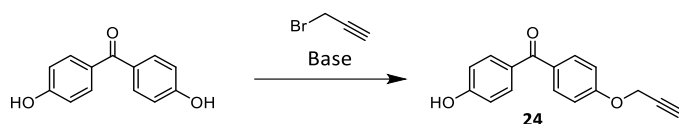


Figura 6.7. Preparación de la 4,4'-dihidroxibenzofenona monoalquilada (**24**).

En un nuevo intento se modificaron las condiciones de reacción, empleándose únicamente medio equivalente del bromuro de propargilo, medio equivalente de carbonato potásico como base y acetona como solvente; y realizando la reacción a una temperatura similar (reflujo).¹³⁵ En este caso, tras la correspondiente purificación se obtuvo el producto deseado con un 25% de rendimiento y se recuperó el 81% de material de partida. Teniendo en cuenta que el material recuperado era de alta pureza decidimos repetir la síntesis en reacciones consecutivas hasta obtener una cantidad de producto adecuada para proseguir la secuencia sintética.

Una vez preparado el compuesto **24**, se llevó a cabo la síntesis del 2-azidoacetato de *tert*-butilo (**25**) a partir de 2-bromoacetato de *tert*-butilo y azida sódica. La reacción permitió obtener el producto deseado con un 99% de rendimiento. Este compuesto fue utilizado para llevar a cabo la reacción de cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (I) con el compuesto **24** con el fin de obtener el 2-(4-((4-(4-hidroxibenzoil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de *tert*-butilo (**26**, figura 6.8). Para llevar a cabo la reacción, se utilizó acetato de cobre (II) y ascorbato sódico, ambos en cantidades catalíticas, como fuente de Cu(I), en una mezcla 1:1 de tetrahidrofurano y agua.²⁵ Tras el tratamiento del crudo de reacción, el producto se obtuvo prácticamente puro con un rendimiento del de 85%.

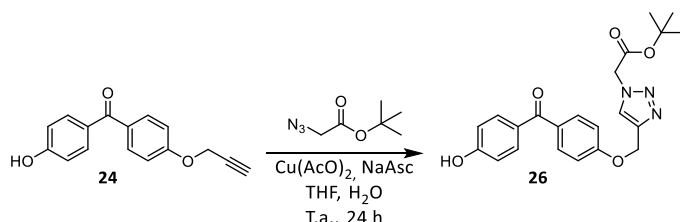


Figura 6.8. Preparación del compuesto **26**.

De todos los posibles ésteres se eligió el de *tert*-butilo porque es fácil de hidrolizar para generar el ácido correspondiente¹³⁶ u obtener directamente el cloruro de ácido,¹³⁷ que serían empleados en la formación posterior del éster de la *N*-hidroxisuccinimida.

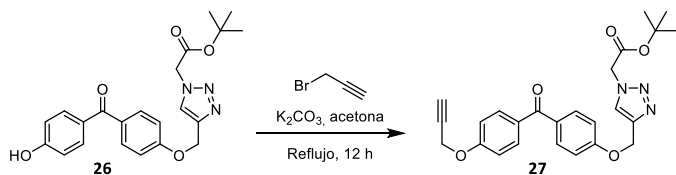


Figura 6.9. Preparación del compuesto 27.

A continuación, se realizó una reacción de sustitución nucleofílica entre el compuesto **26** y el bromuro de propargilo, utilizando como base carbonato potásico y acetona como solvente (figura 6.9). El producto deseado (**27**) se aisló tras la correspondiente purificación con un rendimiento del 40%.

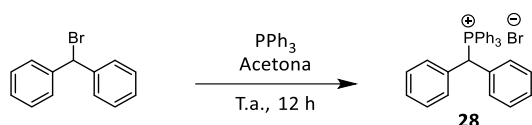


Figura 6.10. Preparación del compuesto 28.

Una vez obtenido el compuesto **27**, se debía llevar a cabo una reacción de Wittig usando dicho compuesto y bromuro de benzhidriltrifenilfosfonio (**28**) (figura 6.11). Para ello, se sintetizó el compuesto **28** por medio de una reacción de sustitución entre difenilbromometano y trifenilfosfina con un rendimiento del 33% (figura 6.10).

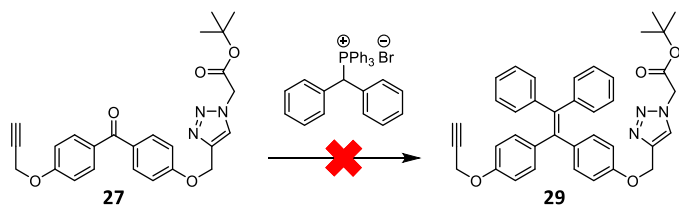


Figura 6.11. Aproximación a la síntesis del compuesto 29 mediante una reacción de Wittig.

En un primer intento, la reacción se llevó a cabo usando *tert*-butóxido potásico como base y tetrahidrofurano seco como solvente. Sin embargo, bajo estas condiciones no se obtuvo el producto deseado ni se pudieron recuperar los reactivos de partida. Por ello, se volvió a intentar realizar la reacción utilizando hidruro sódico como base y 2-propanol como intercambiador de protones. Desafortunadamente, tampoco en estas condiciones se obtuvo el compuesto deseado.

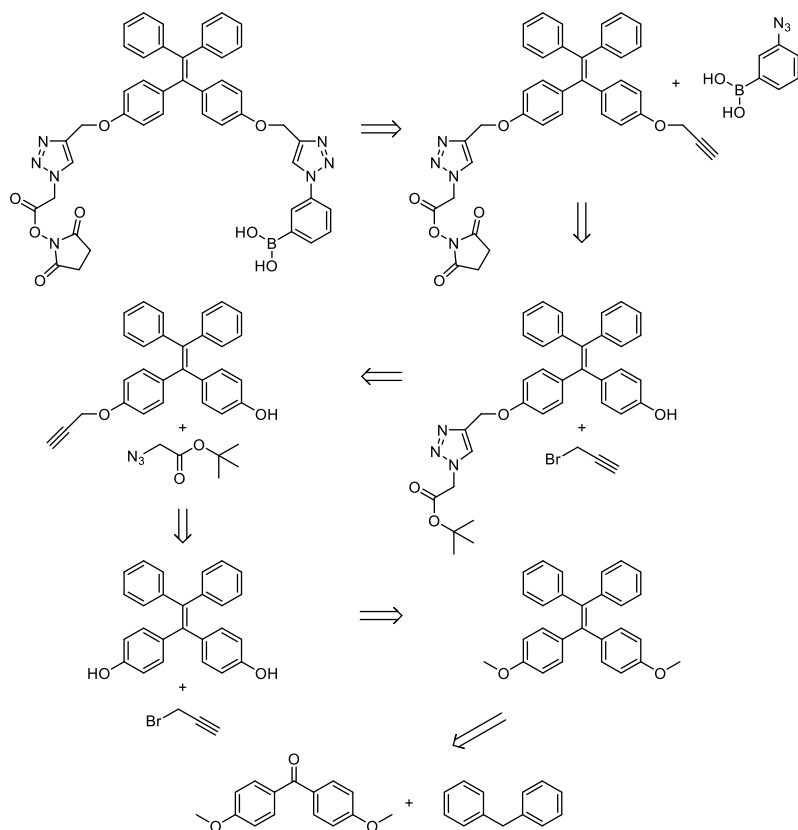


Figura 6.12. Segundo análisis retrosintético planteado para la preparación de SBTPE.

Dado que la reacción de Wittig, necesaria para proseguir la ruta sintética no se producía y además cada intento suponía la pérdida del producto de partida, se pensó en sintetizar la molécula objetivo haciendo uso de otra aproximación que se refleja en el análisis retrosintético mostrado en la figura 6.12.

Para llevar a cabo la síntesis de **SBTPE** a través de la nueva ruta sintética diseñada, el primer paso fue la preparación del 1,1-bis(4-metoxifenil)-2,2-difeniletano (compuesto **30**) por medio de una reacción de adición de difenilmetano a 4,4'-dimetoxibenzo-fenona, utilizando *n*-butillitio como base y tetrahidrofurano seco como solvente.¹³⁸ Tras un proceso de purificación con una columna cromatográfica y se obtuvo el producto deseado con un rendimiento del 53%.

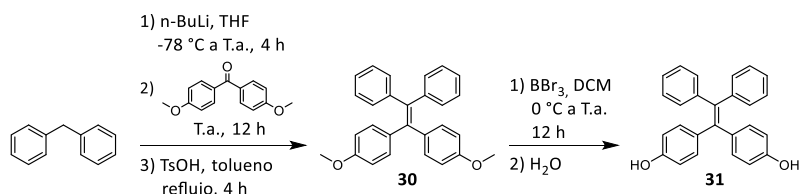


Figura 6.13. Síntesis de los compuestos **30** y **31**.

A continuación, se realizó una reacción de O-desmetilación en el compuesto **30** con tribromuro de boro para obtener 1,1-bis(4-hidroxifenil)-2,2-difeniletano (compuesto **31**, figura 6.13).¹³⁹ La reacción se realizó utilizando diclorometano como solvente y el compuesto deseado se obtuvo con un rendimiento del 83%.

El paso siguiente era la monoalquilación del compuesto **31** para lo que se siguió una estrategia similar a la empleada en la ruta

sintética anterior, es decir, utilizando 0,5 equivalentes de bromuro de propargilo con carbonato potásico (0,5 equivalentes) como base y acetona como disolvente. Bajo estas condiciones se obtuvo el producto monoalquilado **32** con un rendimiento del 37% después de purificación por cromatografía de columna. La reacción se repitió empleando KOH (1 equivalente) como base y DMF como disolvente. En estas condiciones el rendimiento de la reacción mejoró pasando del 37 al 70%

La reacción entre el compuesto **32** y 2-azidoacetato de *tert*-butilo en las condiciones de cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (I) condujo al compuesto **33** (figura 6.14)

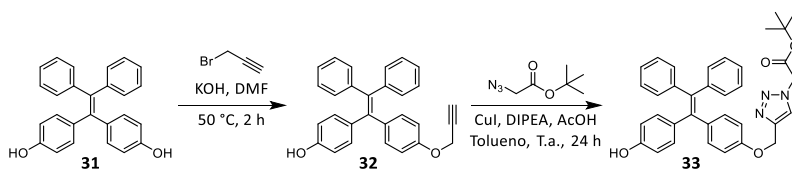


Figura 6.14. Síntesis de los compuestos **32** y **33**.

Esta reacción, inicialmente, se realizó empleando acetato de cobre (II) y ascorbato sódico, ambos en cantidades catalíticas, como fuente de Cu(I). La reacción se llevó a cabo en una mezcla 1:1 de tetrahydrofurano y agua a temperatura ambiente durante 4 días.²⁵ El compuesto **33** se obtuvo impurificado (porcentaje en la mezcla del 60% mediante los espectros de ¹H-RMN) y con rendimientos no demasiado elevados. Por ello, se modificaron las condiciones de reacción empleando CuI como fuente de cobre (I) junto con DIPEA y ácido acético como catalizadores, y tolueno

como disolvente.¹⁴⁰ La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 24 horas. En esas condiciones, parte del producto precipitó puro en el medio de reacción, por lo que se pudo separar por centrifugación y decantación del sobrenadante con un rendimiento del 60%.

El paso siguiente en la secuencia sintética era la alquilación del fenol libre del compuesto **33** con bromuro de propargilo para obtener el compuesto **29**. Esta reacción, análoga a otras que ya se habían realizado, parecía que no debería originar problemas. Sin embargo y pese a que se emplearon distintas condiciones de base y disolventes (K_2CO_3 /DMF, NaH/DMF, DBU/acetona y K_2CO_3 /acetona) y diferentes temperaturas y tiempos de reacción no se logró obtener el producto deseado aislándose el compuesto de partida con impurezas de difícil identificación (figura 6.15).

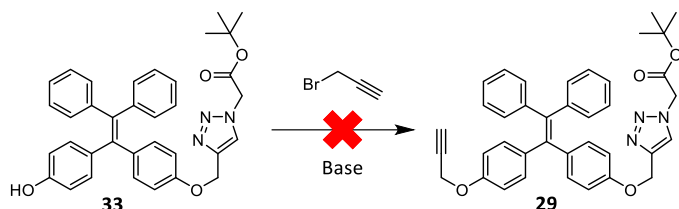


Figura 6.15. Intento de preparación del compuesto **29**.

Vistas las enormes dificultades que aparecían en las secuencias sintéticas diseñadas para la preparación del **SBTPE**. Se decidió emplear la experiencia obtenida en todos los intentos sintéticos para preparar un compuesto que pudiera reconocer bioaminas alifáticas. Para conseguir este objetivo se decidió preparar el compuesto **36** (figura 6.16).

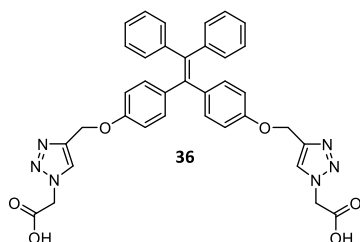


Figura 6.16. Compuesto diseñado para reconocer bioaminas alifáticas (compuesto 36).

El compuesto **36** era un buen candidato para el reconocimiento de bioaminas alifáticas ya que la disposición de los dos ácidos carboxílicos era la adecuada para la interacción con diaminas lineales. Si la interacción que se produjese fuera intramolecular, ello originaría una restricción en la libre rotación de los anillos de fenilo y por tanto un efecto AIE. Además, de ser este el tipo de interacción producido podría presentar una cierta selectividad relacionada con la longitud de la cadena. Si, por el contrario, la interacción fuese intermolecular, podría originar una agregación con lo que también se observaría un efecto AIE.

La síntesis de **36** se pensó abordar según se indica en la figura 6.17 partiendo del compuesto **7** que se preparó de la forma que se ha indicado anteriormente.

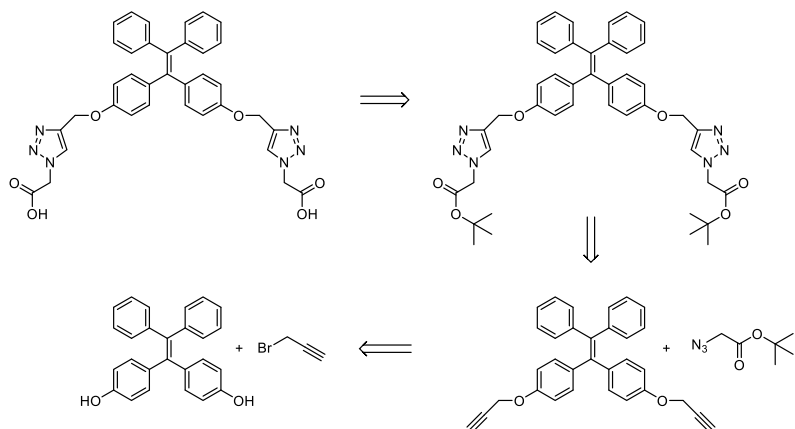


Figura 6.17. Análisis retrosintético para la preparación del compuesto **36**.

El primer paso de la síntesis fue la dialquilación del compuesto **31** que se llevó a cabo en las condiciones habituales sin más que modificar las cantidades de bromuro de propargilo pasando de usar 0,5 equivalentes a emplear 2,2. En estas condiciones el producto **34** se obtuvo con un rendimiento del 99% (figura 6.18).

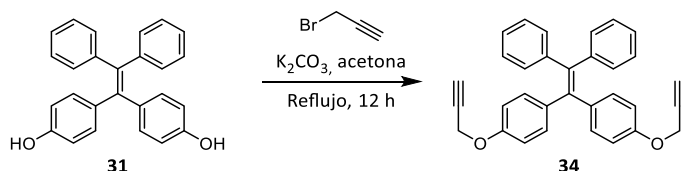


Figura 6.18. Preparación del compuesto **34**.

La reacción de cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (I) con 2-azidoacetato de *tert*-butilo, sintetizado con anterioridad, permitió obtener el compuesto **35** con un rendimiento del 46%. La hidrólisis del compuesto **35** con ácido fosfórico 85%,¹³⁶ utilizando DCM como disolvente permitió aislar el compuesto **36** puro con un rendimiento del 88% (figura 6.19).

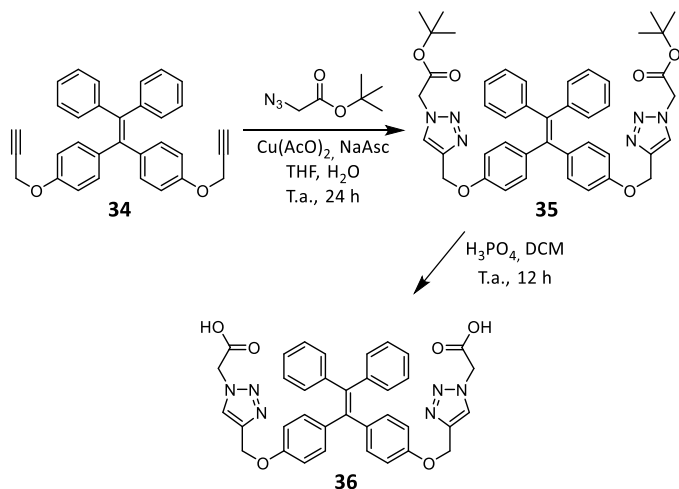


Figura 6.19. Preparación del compuesto 36.

6.2.2 Estudios preliminares de detección de aminas biológicas alifáticas

Una vez obtenido el compuesto **36**, se realizó un estudio preliminar de su fluorescencia en presencia de algunas aminas biológicas (putrescina, cadaverina, espermidina y espermina) (figura 6.1). Todas las pruebas se realizaron con una concentración $100 \mu\text{M}$ del compuesto en acetonitrilo, irradiando a 340 nm y con las ranuras de excitación y emisión a 5 nm . Se registraron los espectros de nueve mezclas diferentes: una solo con **36** y dos para cada amina (a concentraciones 10 y a $100 \mu\text{M}$).

Cuando se registra el espectro de fluorescencia del compuesto **36** en acetonitrilo $100 \mu\text{M}$ irradiando a 340 nm se comprueba que el compuesto es muy poco fluorescente presentando una banda

muy débil alrededor de 380 nm. Sin embargo, cuando se registran los espectros del ligando 100 μM en acetonitrilo con 0,1 equivalentes de distintas bioaminas alifáticas, se comprueba que en presencia de cadaverina no hay cambios apreciables mientras que en presencia de espermina y espermidina, se produce un claro incremento de fluorescencia apareciendo una banda en torno a 480 nm (figura 6.20)

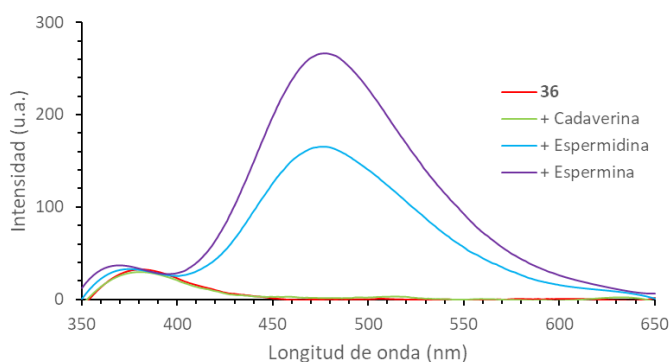


Figura 6.20. Espectros de fluorescencia del compuesto **36** (100 μM en acetonitrilo, $\lambda_{\text{ex}}=340$ nm) solo y en presencia de 0,1 equiv. de distintas bioaminas alifáticas.

La aparición de la banda de emisión en presencia de espermina y espermidina indica que en estos casos se ha producido una interacción con el ligando de tal naturaleza que ha desencadenado un efecto AIE. El hecho de que la cadaverina, la diamina de cadena más corta, no origine ninguna modificación sugiere que el complejo que se forma podría ser 1:1, estando los dos grupos carboxílicos de la molécula implicados en el proceso. Por ello, cadenas cortas como la cadaverina no dan lugar a complejos estables mientras que cadenas de longitud mayor sí interaccionan ade-

cuadramente, siendo la espermina la que mejor se adapta al ligando y por ello da lugar a un incremento de la fluorescencia mayor.

Con el fin de comprobar que los efectos observados estaban relacionados con la formación de complejos se llevó a cabo la misma experiencia, pero usando una cantidad equimolecular de las aminas. Al aumentar 10 veces la concentración del analito se desplazaría el equilibrio hacia la formación del complejo incrementándose su concentración y por tanto el aumento de la fluorescencia. Como puede verse en la figura 6.21, el incremento en la concentración de la amina, efectivamente, conduce a un incremento de la fluorescencia que en este caso es incluso medible para la cadaverina. De cualquier modo, siempre es la espermina la que origina un incremento mayor.

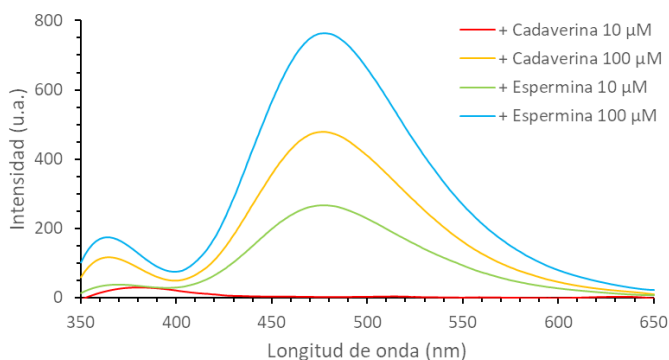


Figura 6.21. Espectros de fluorescencia del compuesto **36** (100 μM en acetoni-trilo, λ_{ex} =340 nm) en presencia de 0,1 y 1 equiv. de cadaverina y espermina.

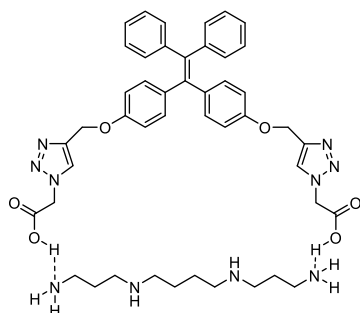


Figura 6.22. Propuesta del complejo formado entre el compuesto **36** y la espermina.

Estos resultados sugieren que en las condiciones de medida se forman complejos 1:1 con las aminas que pueden ser debidos a interacciones por puentes de hidrógeno o bien a reacciones de transferencia de protón (figura 6.22). Estos complejos aumentan la rigidez del sistema lo que origina un claro incremento de la emisión de fluorescencia.

6.3 Conclusiones

De los resultados obtenidos en las experiencias realizadas se puede concluir que ninguna de las rutas sintéticas diseñadas para obtener el receptor de dopamina ha sido eficaz. En el primer caso todos los intentos llevados a cabo para lograr la preparación del esqueleto de TPE a partir de los correspondientes derivados de benzofenona y difenilbromometano fueron infructuosos. Por su parte, la síntesis llevada a cabo partiendo del 4,4'-dihidroxitetrafeniletano tampoco permitió llegar al producto deseado ya que fue imposible efectuar la alquilación en el segundo grupo hidroxilo del TPE.

En cuanto al receptor diseñado para reconocer aminas biológicas alifáticas, el receptor se pudo obtener con relativa facilidad. El compuesto fue capaz de reconocer los analitos deseados mostrando una cierta selectividad. En efecto, la espermina fue la amina que dio lugar a cambios mayores de fluorescencia. Los resultados obtenidos al multiplicar por diez las concentraciones de las aminas sugieren fuertemente que el compuesto actúa como una pinza molecular interaccionando con las aminas terminales bien a través de enlaces de hidrógeno o de reacciones de transferencia de protón.

Capítulo 7

Conclusiones

- I. En derivados de TPE funcionalizados con anillos de triazol sustituidos con cadenas alifáticas, la intensidad del fenómeno AIE depende tanto de la longitud de la cadena alifática en el heterociclo como de la naturaleza del átomo que está directamente unido a los anillos aromáticos.
- II. Se ha preparado un derivado del TPE capaz de actuar como dosímetro químico para detectar selectivamente NO a través de una reacción de cicloadición de Huisgen inducida por Cu(I) generado a partir de Cu(II) usando NO como agente reductor. El límite de detección del dosímetro es de 15 ppm y el rango de linealidad se encuentra entre 20 y 80 ppm.
- III. Se ha comprobado el derivado del TPE que contiene el grupo dimetilamino en las posiciones 4,4',4'' y 4''' puede actuar como un sensor químico capaz de detectar la presencia de NO₂ a través de una reacción de oxidación con un límite de detección de 4 ppm. El mismo compuesto es capaz de reaccionar con SO₂, pero solo en presencia de hidroperóxido de *terc*-butilo. El límite de detección para este gas es de 5 ppm.
- IV. Se ha conseguido sintetizar un derivado de tipo pinza capaz de interactuar con bioaminas alifáticas. El sistema muestra una cierta selectividad que se relaciona con la longitud de la cadena de la amina.

Capítulo 8

Procedimiento experimental

8.1 Métodos generales

Todos los reactivos de partida y disolventes se adquirieron comercialmente (Sigma-Aldrich) y se utilizaron sin previa purificación. Cuando fue necesario, los disolventes se secaron y destilaron adecuadamente: El THF sobre sodio/benzofenona, el tolueno y el DCM sobre cloruro de calcio.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C se registraron en los espectrómetros de RMN Bruker DPX300, AV 400 y AV 500. Todas las mediciones se llevaron a cabo utilizando el pico de disolvente residual como referencia interna.

Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) se registraron en el modo de iones positivos en un espectrómetro de masas AB SCIEX TripleTOF™ 5600 LC/MS.

Los espectros de absorción se registraron en un espectrofotómetro Shimadzu UV-2600 y los espectros de emisión en un espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse, ambos utilizando cubetas de cuarzo de 10 mm. Estos últimos fueron suavizados usando el filtro de Savitzky-Golay con 100 puntos de ventana y orden polinómico 5. El THF fue destilado antes de su uso para evitar que el estabilizador que contiene (BHT) interfiriera en las medidas de absorción y emisión.

Para las medidas con gases, se utilizó un sistema consistente en dos caudalímetros controlados por medio de un programa informático; uno de ellos conectado a una bala del gas interés a

100 ppm en aire (excepto el NO), y otro conectado a una bala de nitrógeno puro. La salida de ambos caudalímetros está conectada a un recipiente de mezcla de gases con tres olivas encargado a medida. La tercera oliva se conecta a una aguja que permite burbujear el gas en la solución deseada (figura 8.1).



Figura 8.1. Sistema de caudalímetros empleado en las medidas con gases. A la izquierda se observa la bala del gas reactivo, en el centro, el gabinete que contiene los caudalímetros y la electrónica de control, y a la derecha, se encuentra el recipiente de mezcla de gases, el matraz de burbujeo sobre una placa agitadora y una trampa de gases con una disolución capaz de capturar el gas utilizado (Na_2CO_3 saturado, generalmente).

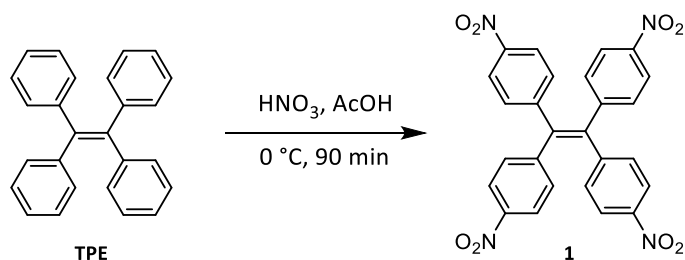
Los rendimientos cuánticos se determinaron utilizando el espectrómetro de rendimiento cuántico absoluto Hamamatsu C9920.

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido se obtuvieron con el microscopio Hitachi S-4100 (20 kV) y las de fluorescencia se obtuvieron con el microscopio óptico Leica DMR.

Los experimentos de voltamperometría cíclica se llevaron a cabo con un potenciostato CH 660I, conectado a una celda convencional de tres electrodos a 25 °C. Como electrodo de trabajo se utilizó un electrodo de carbono vitrificado (BAS MF2014, área geométrica 0,071 cm²), de referencia se utilizó un electrodo Ag/AgCl (5 M NaCl) separado de la solución por un capilar Luggin, y como auxiliar se utilizó un electrodo de alambre de platino.

8.2 Procedimientos de síntesis

8.2.1 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-nitrofenil)eteno (1)



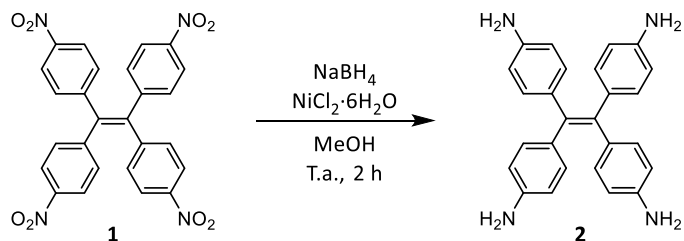
En un vaso de precipitados (500 mL), provisto de un imán agitador, y enfriado en baño de hielo, se mezclaron ácido nítrico fumante (30 mL) y ácido acético glacial (30 mL). A continuación, se añadió 1,1,2,2-tetrafenileteno (3,02 g; 9,08 mmol) en pequeñas porciones y se dejó agitando a 0 °C durante 90 min.

Después, se añadió agua desionizada (250 mL) a la mezcla y esta se filtró a vacío. El sólido separado se lavó con más agua desionizada y se dejó secar al aire. Se obtuvo el compuesto **1** como un sólido amarillo (4,60 g; 99%).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,07 (d; $J = 8,8$ Hz; 8H); 7,19 (d; $J = 8,9$ Hz; 8H).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 147,5; 147,3; 141,7; 131,9; 124,1.

8.2.2 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-aminofenil)eteno (2)



En un matraz de fondo redondo (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron el compuesto **1** (2,03 g; 3,96 mmol) y cloruro de níquel (II) hexahidratado (7,53 g; 31,7 mmol) en metanol (60 mL).

Tras agitar durante 5 minutos la mezcla anterior, se colocó el matraz en un baño de hielo y se adicionó el borohidruro sódico (2,40 g; 63,4 mmol) a lo largo de 30 minutos con agitación. Tras terminar la adición, se dejó agitando la mezcla durante 2 h a temperatura ambiente.

Después, se evaporó el disolvente y al crudo se añadió ácido clorhídrico 10% hasta que se disolvió completamente, dando lugar a una disolución negra que, tras basificar con amoníaco 28%, se volvió de color turquesa y generó un precipitado blanquecino.

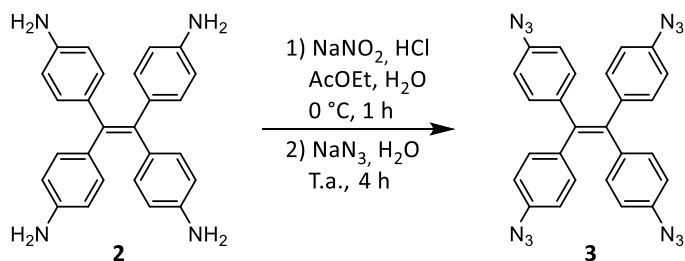
Se extrajo la mezcla anterior sin filtrado previo con acetato de etilo (3 x 50 mL) y quedó una fase acuosa de color azul oscuro y

una fase orgánica de color naranja. Esta última se lavó con bicarbonato de sodio saturado (50 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró por gravedad y, tras evaporar el disolvente, se obtuvo el compuesto **2** como un sólido granate (1,45 g; 96%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 6,57 (d; $J = 8,5$ Hz; 8H); 6,26 (d; $J = 8,5$ Hz; 8H); 4,84 (s; 8H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 146,0; 136,7; 132,9; 131,7; 113,1.

8.2.3 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-azidofenil)eteno (**3**)



En un matraz de fondo redondo (250 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **2** (1,49 g; 3,79 mmol) en acetato de etilo (60 mL). Se llevó el sistema a 0°C y se añadió ácido clorhídrico 37% (12 mL). Por otro lado, se disolvió nitrito sódico (1,26 g; 18,3 mmol) en agua desionizada (40 mL) y esta disolución se adicionó gota a gota sobre el matraz durante 10 min con agitación. Después, la mezcla se dejó agitando a 0°C durante 1 h. Paralelamente, se disolvió azida de sodio (1,19 g; 18,3 mmol) en agua desionizada (40 mL) y, cuando hubo transcurrido el tiempo indicado, esta disolución se vertió en el matraz de reacción. A

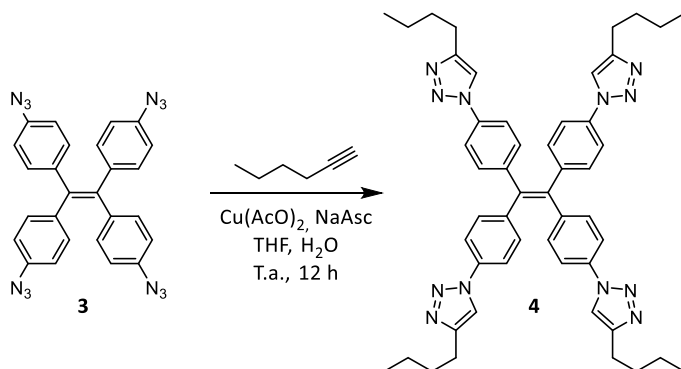
continuación, se dejó la mezcla agitando a temperatura ambiente durante 4 horas.

Transcurrido ese tiempo, se vertió la mezcla de reacción en un matraz Erlenmeyer (250 mL) con agua desionizada (80 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (100 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró por gravedad. Tras evaporar el disolvente, se obtuvo el compuesto **3** como un sólido naranja (1,75 g; 93%).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6,97 (d; $J = 8,7$ Hz; 8H);
6,79 (d; $J = 8,7$ Hz; 8H).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 140,1; 139,6; 138,6; 132,8; 118,8.

8.2.4 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-butil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (**4**)



En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron el compuesto **3** (102 mg; 0,206 mmol) y 1-hexino (100 μL ; 0,89 mmol) en tetrahidrofurano (4 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (16 mg;

0,082 mmol) y ascorbato sódico (32 mg; 0,16 mmol) en 2 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 h.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (12 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **4** como un sólido amarillo (146 mg; 88%).

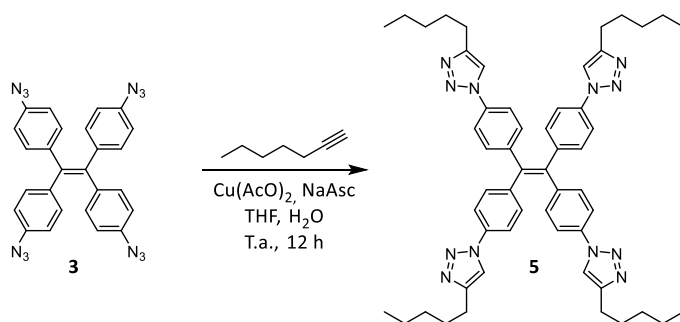
$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,68 (s, 4H); 7,55 (d; $J = 8,6$ Hz; 8H); 7,22 (d; $J = 8,6$ Hz; 8H); 2,78 (t; $J = 7,7$ Hz; 8H); 1,70 (q; $J = 7,4$ Hz; 8H); 1,41 (h, $J = 7,3$ Hz; 8H); 0,94 (t; $J = 7,3$ Hz; 12H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 149,4; 142,7; 140,3; 136,2; 132,6; 120,1; 118,7; 31,6; 25,4; 22,4; 13,9.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{50}\text{H}_{56}\text{N}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 825,4829.

Encontrada: 825,4817.

8.2.5 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-pentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (**5**)



En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron el compuesto **3** (146 mg; 0,295 mmol) y 1-heptino (170 μ L; 1,3 mmol) en tetrahidrofurano (4 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (26 mg; 0,13 mmol) y ascorbato sódico (48 mg; 0,28 mmol) en 2 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 h.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (12 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **5** como un sólido amarillo (225 mg; 87%).

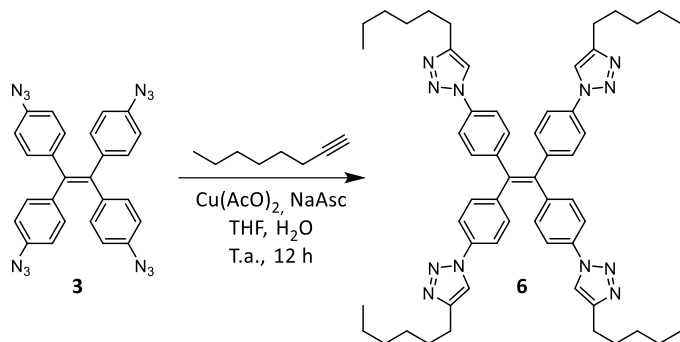
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,68 (s, 4H); 7,54 (d; $J = 8,3$ Hz; 8H); 7,20 (d; $J = 8,4$ Hz; 8H); 2,75 (t; $J = 7,7$ Hz; 8H); 1,70 (q; $J = 7,5$ Hz; 8H); 1,34 (m, 16H); 0,88 (t; $J = 6,9$ Hz; 12H).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 149,4; 142,7; 140,3; 136,2; 132,6; 120,2; 118,7; 31,5; 29,2; 25,7; 22,5; 14,1.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{54}\text{H}_{64}\text{N}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 881,5455.

Encontrada: 881,5454.

8.2.6 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-hexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (6)



En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron el compuesto **3** (100 mg; 0,202 mmol) y 1-octino (120 μ L; 0,80 mmol) en tetrahidrofurano (4 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (16 mg; 0,081 mmol) y ascorbato sódico (32 mg; 0,16 mmol) en 2 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 h.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (12 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **6** como un sólido amarillo (159 mg; 84%).

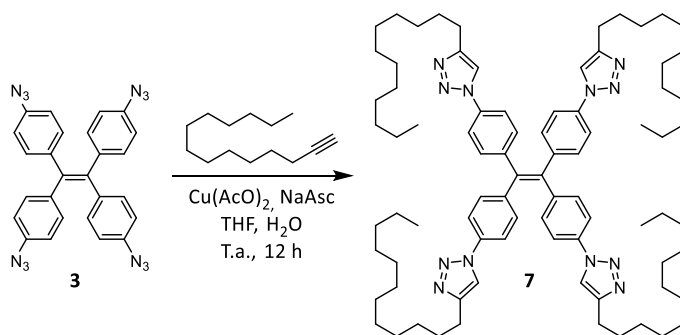
¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,67 (s, 4H); 7,55 (d; J = 8,6 Hz; 8H); 7,21 (d; J = 8,6 Hz; 8H); 2,76 (t; J = 7,7 Hz; 8H); 1,70 (q; J = 7,2 Hz; 8H); 1,41-1,24 (m, 24H); 0,88 (t; J = 7,1 Hz; 12H).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 149,5; 142,7; 140,3; 136,2; 132,6; 120,2; 118,7; 31,7; 29,4; 29,0; 25,8; 22,6; 14,2.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{58}\text{H}_{72}\text{N}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 937,6081.

Encontrada: 937,6075.

8.2.7 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-dodecil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (7)



En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron el compuesto 3 (100 mg; 0,202 mmol) y 1-tetradecino (200 μL ; 0,82 mmol) en tetrahidrofurano (4 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (16 mg; 0,079 mmol) y ascorbato sódico (32 mg; 0,16 mmol) en 2 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 horas.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (12 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y

se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **7** como un sólido amarillo (222 mg; 86%).

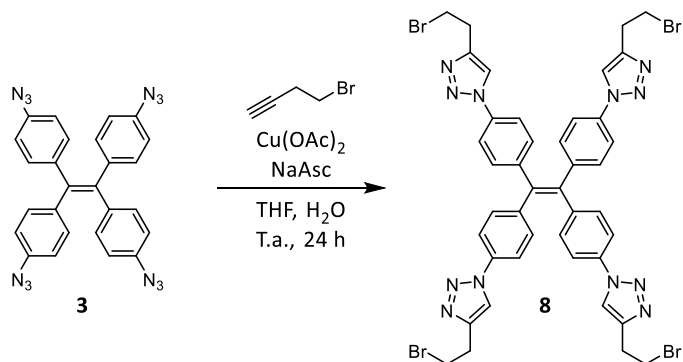
$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,67 (s, 4H); 7,55 (d; $J = 8,7$ Hz; 8H); 7,22 (d; $J = 8,6$ Hz; 8H); 2,77 (t; $J = 7,7$ Hz; 8H); 1,70 (q; $J = 7,5$ Hz; 8H); 1,45-1,18 (m, 72H); 0,87 (t; $J = 7,0$ Hz; 12H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 149,5; 142,7; 140,3; 136,2; 132,7; 120,2; 118,7; 32,0; 29,8; 29,7; 29,5; 29,4; 25,8; 22,8; 14,2.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{82}\text{H}_{120}\text{N}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 1273,9837.

Encontrada: 1273,9834.

8.2.8 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-(2-bromoetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (**8**)



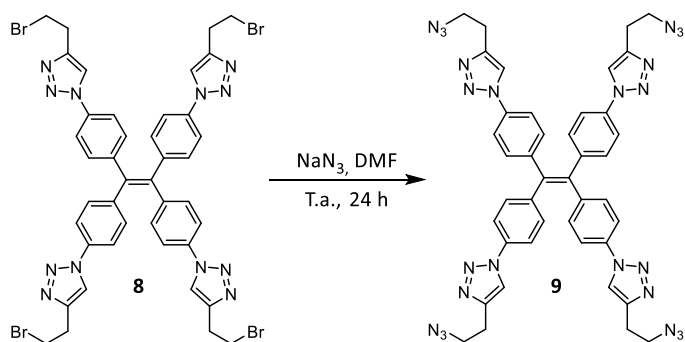
En un matraz de fondo redondo (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron el compuesto **3** (210 mg; 0,43 mmol) y 4-bromo-1-butino (190 μL ; 1,96 mmol) en tetrahidrofurano (12 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (34 mg; 0,17 mmol) y ascorbato sódico (68 mg; 0,34 mmol) en 6 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A

continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 24 horas.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (20 mL) al matraz y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **8** como un sólido naranja (390 mg, 83%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 8,65 (s, 4H); 7,77 (d; $J = 8,7$ Hz; 8H); 7,31 (d; $J = 8,7$ Hz; 8H); 3,78 (t; $J = 6,8$ Hz; 8H); 3,26 (t; $J = 6,8$ Hz; 8H).

8.2.9 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-(2-azidoetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil)eteno (**9**)



En un matraz de fondo redondo (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **8** (390 mg; 0,38 mmol) en dimetilformamida (14 mL). Después, se adicionó azida de sodio (150 mg; 2,27 mmol) y se dejó reaccionando 24 horas.

Tras ese tiempo, se añadió agua desionizada (40 mL) y, tras 15 min de agitación, se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 mL) y se lavó la fase orgánica con agua desionizada (30 mL). Tras evaporar a vacío el disolvente se obtuvo el compuesto **9** húmedo como un sólido naranja (340 mg), que se utilizó sin más purificación en la siguiente reacción.

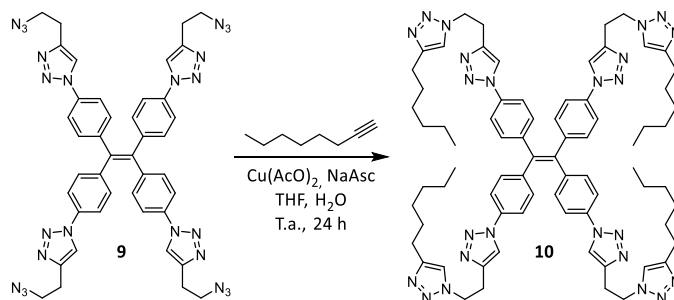
^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8,63 (s, 4H); 7,76 (d; $J = 8,6$ Hz; 8H); 7,30 (d; $J = 8,6$ Hz; 8H); 3,66 (t; $J = 6,7$ Hz; 8H); 2,96 (t; $J = 6,7$ Hz; 8H).

^{13}C RMN (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 144,8; 142,4; 139,9; 135,3; 132,3; 120,9; 119,4; 49,7; 25,0.

HRMS (ESI $^+$) para $\text{C}_{42}\text{H}_{36}\text{N}_{24}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, calculada: 899,3452.

Encontrada: 899,3432.

8.2.10 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-(4-(2-(4-hexil-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-ilo)fenil)eteno (**10**)



En un matraz de fondo redondo (50 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron el compuesto **9** (101 mg; 0,12 mmol) y 1-octino (76 μL ; 0,50 mmol) en tetrahidrofurano (6 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (9 mg;

0,04 mmol) y ascorbato sódico (18 mg; 0,09 mmol) en 3 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 24 h.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (15 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **10** como un sólido amarillo anaranjado (147 mg; 98%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,60 (s, 4H); 7,49 (d; J = 8,7 Hz; 8H); 7,23 (s, 4H); 7,19 (d; J = 8,6 Hz; 8H); 4,72 (t; J = 6,8 Hz; 8H); 3,42 (t; J = 6,8 Hz; 8H); 2,65 (t; J = 7,7 Hz; 8H); 1,39-1,05 (m, 32H); 0,85 (t, 12H).

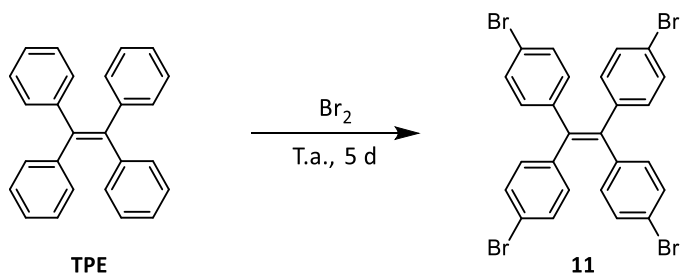
¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 148,5; 144,2; 142,9; 140,3; 135,9; 132,6; 121,4; 120,2; 120,1; 49,1; 31,6; 29,5; 28,9; 26,8; 25,7; 22,6; 14,2.

HRMS (ESI⁺) para C₇₄H₉₂N₂₄ [M+Na]⁺, calculada: 1339,7834.

Encontrada: 1339,7818.

8.2.11 Síntesis de 1,1,2-tetrakis(4-bromofenil)eteno (**11**)

8.2.11.1 Reacción A



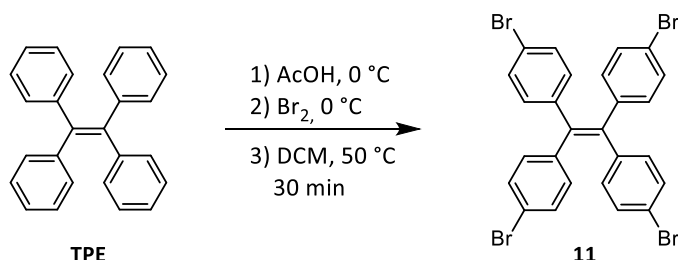
En el fondo de un desecador (25 cm de diámetro) se introdujo un vaso de precipitados (10 mL) con bromo (5,8 ml; 109 mmol). Se colocó el plato cerámico del desecador en su posición habitual y, sobre este, una placa de Petri (10 cm de diámetro) de vidrio con 1,1,2,2-tetrafeniletano (5,15 g; 15,5 mmol) depositado formando una capa uniforme. Se cerró la tapa del desecador y se dejó la oliva ligeramente abierta para evitar sobrepresiones en el interior y permitir la salida del bromuro de hidrógeno generado. El sistema se dejó reaccionando durante 5 días.

Tras ese tiempo, se purgó el desecador con aire, usando una trampa para gases con una disolución saturada de tiosulfato y bicarbonato de sodio y se recristalizó el crudo de reacción con diclorometano. De esta forma, se obtuvo el compuesto **11** como un sólido cristalino blanco (7,96 g; 79%).

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,26 (d; $J = 8,4$ Hz; 8H); 6,84 (d; $J = 8,5$ Hz; 8H).

$^{13}\text{C RMN}$ (126 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 141,6; 139,8; 132,9; 131,4; 121,4.

8.2.11.2 Reacción B



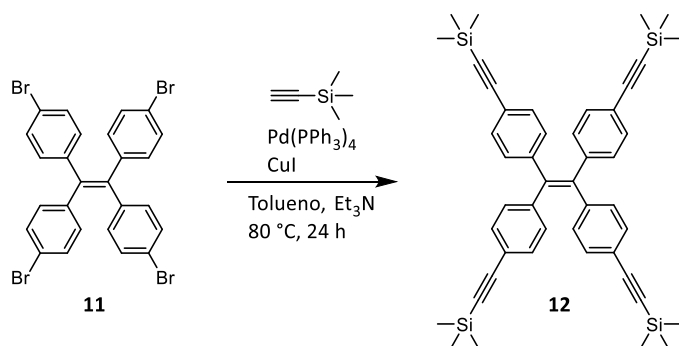
En un matraz de fondo redondo, (50 mL) provisto de un imán agitador, se disolvió 1,1,2,2-tetrafeniletano (1,03 g; 3,10 mmol) en

ácido acético glacial (10 mL). A continuación, se enfrió el sistema a 0 °C y se adicionó bromo (1,2 mL; 23 mmol) gota a gota con agitación durante 10 min. Después, se añadió diclorometano (7,5 mL) y se agitó durante 30 minutos a 50 °C.

Posteriormente, la mezcla de reacción se vertió en un vaso de precipitados (250 mL) con agua desionizada y hielo (50 mL) y el precipitado obtenido se lavó con más agua desionizada y etanol. Se obtuvo el compuesto **11** puro como un polvo blanco (1,75 g; 87%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,26 (d; $J = 8,7$ Hz; 8H); 6,84 (d; $J = 8,7$ Hz; 8H).

8.2.12 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-((trimetilsilil)etnil)-fenil)eteno (**12**)



En un matraz de fondo redondo de dos bocas (250 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **11** (1,30 g; 2,00 mmol) en tolueno seco (15 mL) bajo atmósfera de argón. A continuación, se inyectó trietilamina seca (45 mL) y se añadieron

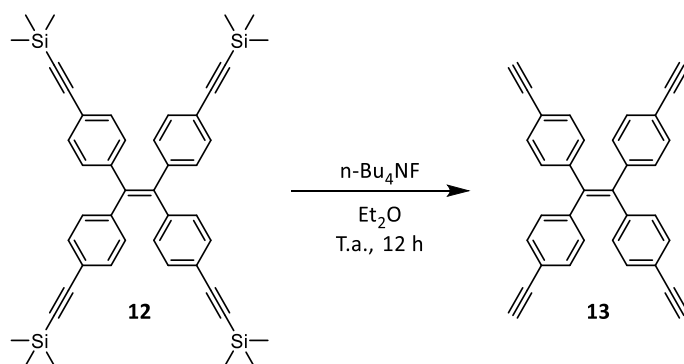
yoduro de cobre (I) (159 mg; 0,84 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (467 mg; 0,40 mmol) bajo corriente de argón. Acto seguido, se calentó la mezcla a 60 °C y se inyectó etiniltrimetilsilano (2,12 mL; 15,0 mmol). Tras 15 minutos de agitación, se elevó la temperatura de la mezcla a 80 °C y se dejó agitando durante 24 horas.

Pasado ese tiempo, se dejó enfriar la mezcla a temperatura ambiente y se filtró a vacío sobre tierra de diatomeas. El líquido filtrado se evaporó a sequedad y el crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 95:5, v:v); obteniéndose el compuesto **12** como un sólido amarillo (1,01 g; 70%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,20 (d; *J* = 8,7 Hz; 8H); 6,89 (d; *J* = 8,5 Hz; 8H); 0,23 (s, 36H).

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 143,3; 141,0; 131,7; 131,3; 121,7; 105,1; 95,1; 0,1.

8.2.13 Síntesis de 1,1,2,2-tetrakis(4-etinilfenil)eteno (**13**)



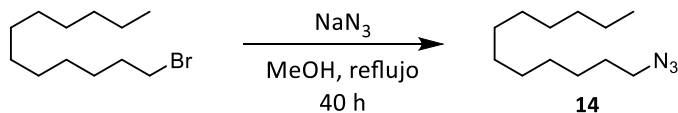
En un matraz de fondo redondo (50 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **12** (940 mg; 1,31 mmol) en dietiléter (20 mL). Se añadió una disolución comercial de fluoruro de tetrabutilamonio 1,0 M en tetrahidrofurano (5,5 mL; 5,5 mmol) y se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 horas.

Tras ese tiempo, el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 8:2, v:v). Se obtuvo el compuesto **13** como un sólido amarillo (407 mg; 72%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,25 (d; $J = 8,6$ Hz; 8H); 6,94 (d; $J = 8,6$ Hz; 8H); 3,07 (s; 4H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 143,4; 141,0; 131,9; 131,4; 120,9; 83,6; 77,9.

8.2.14 Síntesis de 1-azidododecano (**14**)



En un matraz de fondo redondo de dos bocas (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron 1-bromododecano (1,01 g; 4,04 mmol) y azida de sodio (307 mg; 4,72 mmol) en metanol (10 mL). La mezcla se dejó agitando a reflujo durante 40 horas.

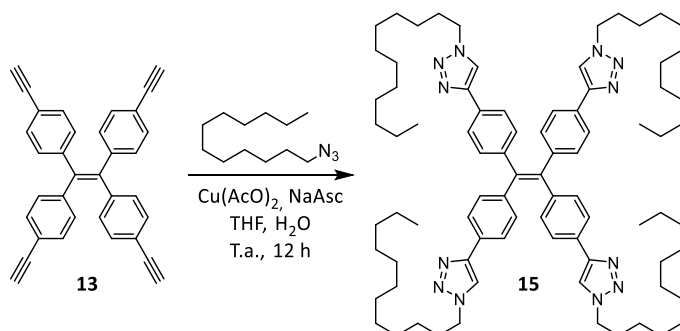
Tras ese tiempo, se añadió cloroformo (8 mL) a la mezcla, observándose la aparición de un precipitado blanco. Tras intentar filtrar el sólido sin éxito, se lavó la mezcla con salmuera (2 x 20 mL),

se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró por gravedad. Tras evaporar el disolvente, se obtuvo el compuesto **14** como un aceite incoloro (493 mg; 58%).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 3,25 (t; $J = 7,0$ Hz; 2H); 1,58 (q; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,42-1,20 (m; 20H); 0,88 (t; $J = 6,9$ Hz; 3H).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 51,6; 32,1; 29,8; 29,7; 29,6; 29,5; 29,3; 29,0; 26,9; 22,8; 14,2.

8.2.15 Síntesis de 1,1,2-tetrakis(4-(1-dodecil-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)eteno (**15**)



En un matraz de fondo redondo (10 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron los compuestos **13** (30 mg; 0,071 mmol) y **14** (67 mg; 0,32 mmol) en tetrahidrofurano (2 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (5,6 mg; 0,03 mmol) y ascorbato sódico (12 mg; 0,06 mmol) en 1 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 horas.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (8 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 10 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (10 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **15** como un sólido amarillo (66 mg; 73%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,67 (s, 4H); 7,59 (d; $J = 8,3$ Hz; 8H); 7,14 (d; $J = 8,3$ Hz; 8H); 4,36 (t; $J = 7,2$ Hz; 8H); 1,91 (q; $J = 7,4$ Hz; 8H); 1,38-1,18 (m, 72H); 0,87 (t; $J = 6,9$ Hz; 12H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 147,6; 143,5; 140,8; 132,1; 129,1; 125,4; 119,6; 50,6; 32,0; 30,5; 29,73; 29,66; 29,52; 29,47; 29,2; 26,6; 22,8; 14,3.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{82}\text{H}_{120}\text{N}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 1273,9837. Encontrada: 1273,9844.

8.2.16 Síntesis de 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail)tetrabenzoato de tetra(prop-2-in-1-ilo) (16); 4,4',4''-(2-(4-butilfenil)eteno-1,1,2-triil)tribenzoato de tri(prop-2-in-1-ilo) (17) y 4,4'-(1,2-bis(4-butilfenil)eteno-1,2-diil)dibenzoato de di(prop-2-in-1-ilo) (18)

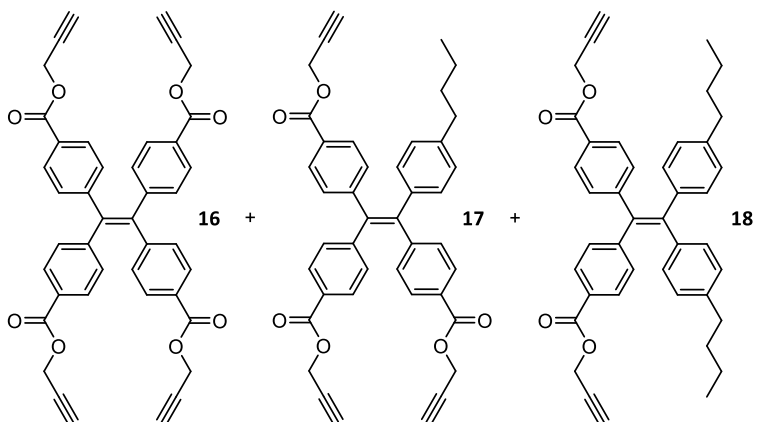
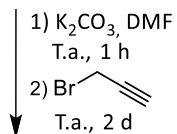
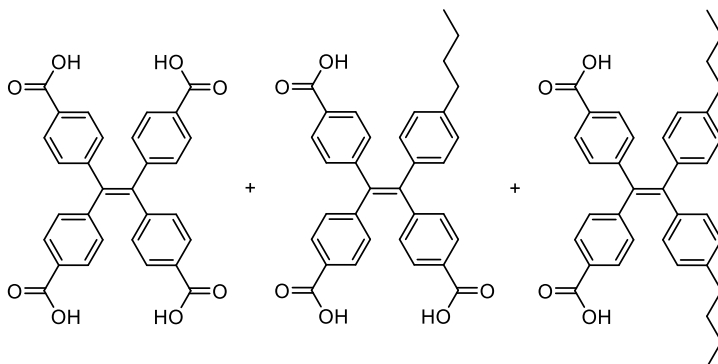
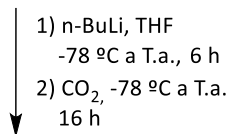
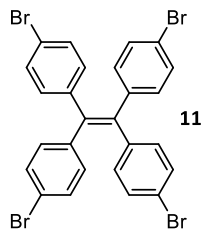
En un matraz de fondo redondo de dos bocas (250 mL), provisto de un imán agitador y bajo atmósfera de argón, se disolvió el compuesto **11** (1,50 g; 2,32 mmol) en tetrahidrofurano seco (60 mL). A continuación, se enfrió la disolución a -78 °C y se adicionó *n*-butillitio 2,2 M en hexano (6,0 mL; 14 mmol) lentamente. La mezcla se dejó reaccionando durante 6 horas, realizando un aumento paulatino de la temperatura hasta alcanzar la ambiental. Transcurrido este tiempo, se disminuyó la temperatura de

nuevo a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se introdujo un exceso de dióxido de carbono sólido en el matraz. Posteriormente, se mantuvo la mezcla en agitación durante 16 horas a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo indicado, se añadió ácido clorhídrico 10% (20 mL) y se mantuvo la agitación 30 minutos más. Después, se extrajo con acetato de etilo (3 x 40 mL), se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente a vacío. Se obtuvieron 0,61 g de sólido amarillo, siendo su rendimiento bruto del 52%.

Este sólido se introdujo en un matraz de fondo redondo (250 mL) y se disolvió en dimetilformamida seca (50 mL) bajo atmósfera de argón. Después, se adicionó carbonato de potasio (1,65 g; 12,0 mmol) y se dejó agitando durante 1 hora. A continuación, se adicionó 3-bromo-1-propino (1,7 mL; 9,6 mmol) y se mantuvo reaccionando durante 2 días.

Tras ese tiempo, se adicionó ácido clorhídrico 10% (30 mL) para detener la reacción, continuando con la agitación 1 hora más. Después, se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 mL), se lavó la fase orgánica con bicarbonato sódico saturado, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente por evaporación. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 95:5 a 70:30, v:v). Se obtuvieron los compuestos **16** (265 mg, 17%), **17** (90 mg, 6%) y **18** (30 mg, 2%); como tres sólidos amarillos.



Compuesto 16:

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,83 (d; J = 8,7 Hz; 8H); 7,07 (d; J = 8,7 Hz; 8H); 4,88 (d; J = 2,5 Hz; 8H); 2,50 (t; J = 2,4 Hz; 4H).

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 165,4; 147,3; 141,9; 131,3; 129,8; 128,5; 100,1; 75,2; 52,7.

HRMS (ESI⁺) para C₄₂H₂₈O₈ [M+Na]⁺, calculada: 683,1682.

Encontrada: 683,1655.

Compuesto 17:

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,82 (d; J = 8,0 Hz; 6H); 7,17-6,99 (m, 6H); 6,93 (d; J = 8,3 Hz; 2H); 6,85 (d; J = 8,3 Hz; 2H); 4,88 (d; J = 2,5 Hz; 6H); 2,59-2,43 (m, 5H); 1,60-1,48 (m, 2H); 1,39-1,18 (m, 2H); 0,91 (t; J = 7,3 Hz; 3H).

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 165,7; 165,5; 153,9; 148,3; 142,7; 139,2; 131,4; 131,1; 129,7; 129,6; 128,3; 128,02; 127,98; 77,8; 75,2; 52,6; 35,4; 33,4; 22,5; 14,1.

HRMS (ESI⁺) para C₄₂H₃₄O₆ [M+Na]⁺, calculada: 657,2253.

Encontrada: 657,2218.

Compuesto 18:

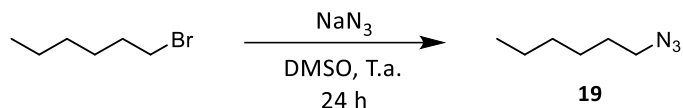
¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) δ 7,79 (d; J = 8,7 Hz; 4H), 7,06 (d; J = 8,7 Hz; 4H); 6,96-6,82 (m, 8H); 4,88 (d; J = 2,4 Hz; 4H); 2,57-2,46 (m, 6H); 1,61-1,48 (m, 4H); 1,31 (h; J = 7,4 Hz, 4H); 0,91 (t; J = 7,3 Hz; 6H).

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 165,8; 149,2; 142,2; 140,1; 131,6; 131,3; 131,2; 129,5; 128,0; 127,3; 77,9; 75,1; 52,5; 35,5; 33,4; 22,5; 14,1.

HRMS (ESI⁺) para C₄₂H₄₀O₄ [M+H]⁺, calculada: 609,3005.

Encontrada: 609,2982.

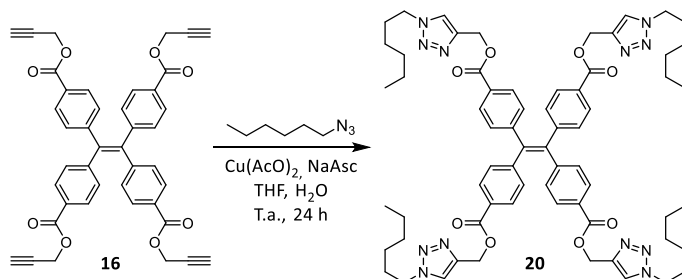
8.2.17 Síntesis de 1-azidohexano (19)



En un matraz de fondo redondo (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron 1-bromohexano (1,50 mL; 10,5 mmol) y azida de sodio (750 mg; 11,5 mmol) en dimetilsulfóxido (20 mL). La mezcla se dejó agitando a temperatura ambiente durante 24 h. Tras ese tiempo, se añadió agua desionizada (40 mL) y se mantuvo la agitación durante 30 minutos más. Después, se extrajo con dietiléter (3 x 20 mL), se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró por gravedad. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **19** como un aceite incoloro y transparente (1,14 g; 85%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 3,26 (t; $J = 6,9$ Hz; 2H); 1,66-1,53 (m, 2H); 1,43-1,24 (m, 6H); 0,90 (t; $J = 6,9$ Hz; 3H).

8.2.18 Síntesis de 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail)tetrabenzato de tetrakis((1-hexil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilo) (20)



En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron los compuestos **16** (40 mg; 0,06 mmol) y **19** (34 mg; 0,27 mmol) en tetrahidrofurano (3 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (5 mg; 0,02 mmol) y ascorbato sódico (10 mg; 0,05 mmol) en 1,5 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 24 horas.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (10 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 10 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (10 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **20** húmedo como un sólido naranja claro (95 mg).

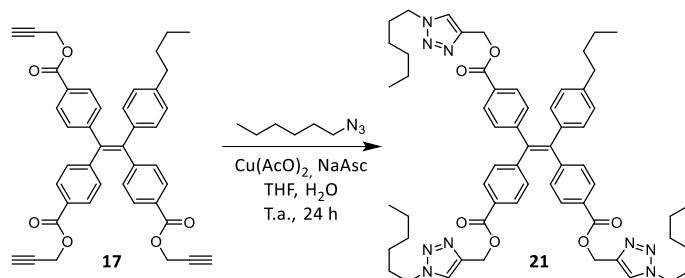
$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,78 (d; $J = 8,3$ Hz; 8H); 7,65 (s, 4H); 7,01 (d; $J = 8,4$ Hz; 8H); 5,42 (s, 8H); 4,33 (t; $J = 7,3$ Hz; 8H); 1,90 (q; $J = 7,0$ Hz; 8H); 1,40-1,17 (m, 24H); 0,87 (t; $J = 6,9$ Hz; 12H).

$^{13}\text{C RMN}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 166,0; 147,1; 141,7; 131,2; 129,6; 128,7; 124,0; 107,8; 58,3; 50,5; 31,2; 30,3; 26,2; 22,5; 14,0.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{66}\text{H}_{80}\text{N}_{12}\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 1169,6300.

Encontrada: 1169,6265.

8.2.19 Síntesis de 4,4',4''-(2-(4-butilfenil)eteno-1,1,2-triil)tri-benzoato de tris((1-hexil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilo) (21)



En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron los compuestos **17** (67 mg; 0,11 mmol) y **19** (59 mg; 0,46 mmol) en tetrahidrofurano (3 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (8 mg; 0,04 mmol) y ascorbato sódico (16 mg; 0,08 mmol) en 1,5 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 24 horas.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (10 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 10 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (10 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **21** como un sólido naranja claro (96 mg; 90%).

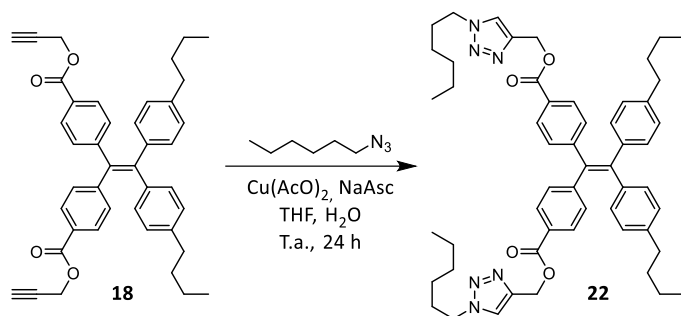
$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,87-7,70 (m; 6H); 7,65 (s, 3H); 7,13-6,95 (m; 6H); 6,90 (d; $J = 7,9$ Hz; 2H); 6,81 (d; $J = 7,9$ Hz; 2H); 5,41 (s, 6H); 4,33 (t; $J = 7,3$ Hz; 6H); 2,50 (t; $J = 7,8$ Hz; 2H); 1,89 (m, 6H); 1,52 (q; $J = 7,4$ Hz; 2H), 1,41-1,18 (m, 20H); 0,94-0,78 (m, 12H).

^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 166,34; 166,27; 166,22; 148,18; 148,10; 147,99; 143,1; 142,6; 139,7; 139,2; 131,36; 131,31; 131,1; 129,6; 129,5; 128,34; 128,29; 128,23; 128,15; 58,3; 50,6; 35,4; 33,3; 31,2; 30,3; 26,3; 22,51; 22,46; 14,0.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{60}\text{H}_{73}\text{N}_9\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 1016,5762.

Encontrada: 1016,5724.

8.2.20 Síntesis de 4,4'-(1,2-bis(4-butilfenil)eteno-1,2-diilo)di-benzoato de bis((1-hexil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metilo) (22)



En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron los compuestos **18** (32 mg; 0,05 mmol) y **19** (29 mg; 0,02 mmol) en tetrahidrofurano (2,5 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (4 mg; 0,02 mmol) y ascorbato sódico (9 mg; 0,04 mmol) en 1,25 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 24 horas. Tras este tiempo, se adicionó salmuera (10 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 10 mL). La fase orgánica se lavó con

salmuera (10 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **22** húmedo como un sólido naranja claro (56 mg).

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,75 (d; $J = 8,0$ Hz; 4H); 7,64 (s, 2H); 7,01 (d; $J = 8,1$ Hz; 4H); 6,93-6,80 (m, 8H); 5,41 (s, 4H); 4,33 (t; $J = 7,3$ Hz; 4H); 2,50 (t; $J = 7,8$ Hz; 4H); 1,94-1,82 (m, 4H); 1,52 (q; $J = 7,6$ Hz; 4H), 1,40-1,21 (m, 16H); 0,96-0,80 (m, 12H).

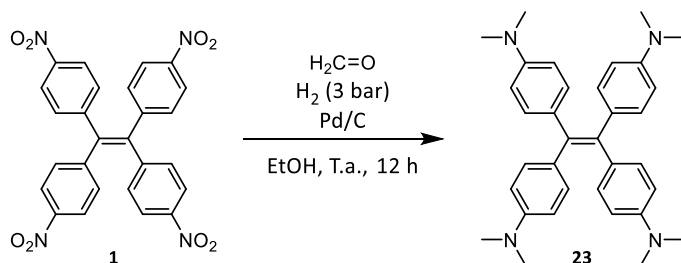
$^{13}\text{C RMN}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 166,4; 149,0; 144,4; 142,1; 141,05; 141,04 137,8; 131,4; 131,2; 129,4; 129,3; 128,0; 127,6; 58,2; 50,6; 35,4; 33,4; 31,2; 30,3; 26,2; 22,50; 22,47; 14,05; 14,03.

HRMS (ESI⁺) para $\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{N}_6\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, calculada: 863,5224.

Encontrada: 863,5202.

8.2.21 Síntesis de 4,4',4'',4'''-(eteno-1,1,2,2-tetrail)-tetra-kis(*N,N*-dimetilamina) (**23**)

8.2.21.1 Reacción A



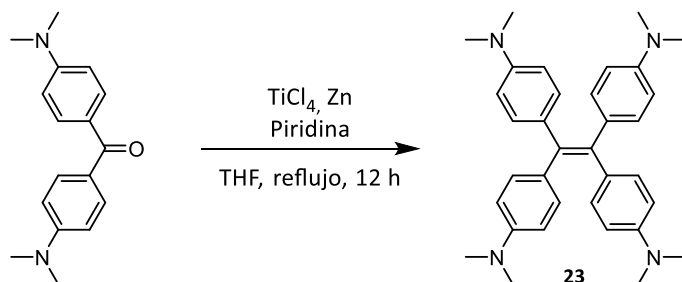
En el recipiente del hidrogenador (1 L) se introdujeron el compuesto **1** (512 mg; 1,00 mmol), formaldehído (disolución acuosa 37%, 1 mL), una cantidad catalítica de Pd/C 10% y etanol

(100 mL). A continuación, se colocó el recipiente en el sistema hidrogenador y se sometió a una presión de 3 bar de hidrógeno durante 12 horas con agitación constante. Pasado ese tiempo, la mezcla resultante se filtró a vacío sobre tierra de diatomeas y se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 6:4, v:v), tras lo cual se obtuvo el compuesto **23** como un sólido amarillo lima fluorescente (325 mg, 65%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{THF-}d_8$) δ (ppm) 6,84 (d; $J = 8,9$ Hz; 8H); 6,42 (d; $J = 9,0$ Hz; 8H); 2,85 (s, 24H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, $\text{THF-}d_8$) δ (ppm) 149,5; 145,2; 135,0; 133,4; 112,4; 40,7.

8.2.21.2 Reacción B



En un matraz de fondo redondo de dos bocas (250 mL), provisto de un imán agitador, se introdujeron 4,4'-bis(dimetilamino)benzofenona (1,01 g; 3,77 mmol), zinc (492 mg; 7,53 mmol) y tetrahidrofurano seco (50 mL) bajo atmósfera de argón. A continuación, se enfrió el matraz a -78 °C mediante un baño de hielo seco y ace-

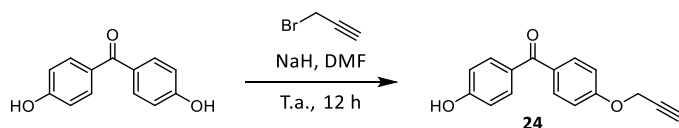
tona y se inyectó cloruro de titanio (IV) (0,4 mL; 3,8 mmol) lentamente. Después, se dejó atemperar fuera del baño durante 30 minutos y se inyectó piridina seca (60 μ L; 0,8 mmol) en la mezcla de reacción. Acto seguido, se llevó la mezcla a reflujo y se dejó reaccionando 12 h.

Tras ese tiempo, se añadieron carbonato de sodio 10% (20 mL) y agua desionizada (100 mL), la mezcla se extrajo con diclorometano (3 x 20 mL) y la fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL) Esta fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo un sólido verde lima, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 1:10, v:v). Se obtuvo el compuesto **23** como un sólido verde lima (657 mg; 69%).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 6,74 (d; $J = 8,8$ Hz; 8H); 6,44 (d; $J = 8,8$ Hz; 8H); 2,82 (s, 24H).

8.2.22 Síntesis de (4-hidroxifenil)(4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil)metanona (**24**)

8.2.22.1 Reacción A



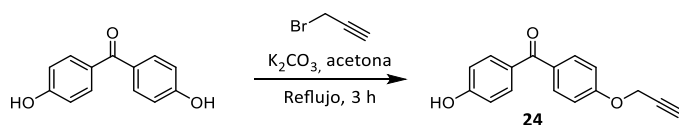
En un matraz de fondo redondo de dos bocas (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió 4,4'-dihidroxibenzofenona (3,00 g; 14,0 mmol) en dimetilformamida seca (25 mL). Una vez

disuelta completamente, se añadió hidruro sódico 60% en aceite mineral (560 mg; 14,0 mmol) y posteriormente, 3-bromo-1-propino 80% en tolueno (1,25 mL; 11,2 mmol) gota a gota. Tras esta adición, la mezcla se dejó agitando durante 12 horas.

Pasado este tiempo, se evaporó a vacío parte del disolvente y se añadió cloruro de amonio saturado (20 mL) a la mezcla. Se realizó una extracción con acetato de etilo (3 x 10 mL), se lavó la fase orgánica con salmuera (10 mL) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, el sólido obtenido (2,88 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 7:3, v:v). Se obtuvo una pequeña cantidad del compuesto **24** (274 mg, 8%) como un sólido amorfo amarillento, junto con la benzofenona de partida sin reaccionar (2,49 g; 83%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 10,34 (s, 1H); 7,69 (d; $J = 8,8$ Hz, 2H); 7,63 (d; $J = 8,7$ Hz; 2H); 7,11 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H), 6,89 (d; $J = 8,7$ Hz; 2H); 4,91 (d; $J = 2,4$ Hz; 2H); 3,63 (t; $J = 2,4$ Hz; 1H).

8.2.22.2 Reacción B



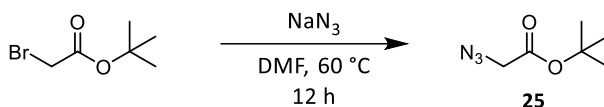
En un matraz de fondo redondo de dos bocas (50 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió 4,4'-dihidroxibenzofenona (1,10 g; 5,15 mmol) en acetona (10 mL). Una vez disuelta completamente, se añadió carbonato de potasio (351 mg; 2,54 mmol) y

posteriormente, 3-bromo-1-propino 80% en tolueno (0,28 mL; 2,5 mmol) gota a gota. Tras esta adición, la mezcla se dejó agitando a reflujo durante 3 horas.

Pasado este tiempo, se añadió agua desionizada (20 mL) a la mezcla y se realizó una extracción con acetato de etilo (3 x 10 mL). Se lavó la fase orgánica con salmuera (10 mL) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, el sólido obtenido (1,01 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 7:3, v:v). Se obtuvo el compuesto **24** (157 mg, 25%) como un sólido amorfo amarillento, junto con la benzofenona de partida sin reaccionar (891 mg; 81%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 10,34 (s, 1H); 7,69 (d; $J = 8,9$ Hz, 2H); 7,63 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H); 7,11 (d; $J = 8,9$ Hz; 2H), 6,89 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H); 4,91 (d; $J = 2,4$ Hz; 2H); 3,63 (t; $J = 2,5$ Hz; 1H).

8.2.23 Síntesis de 2-azidoacetato de *terc*-butilo (**25**)

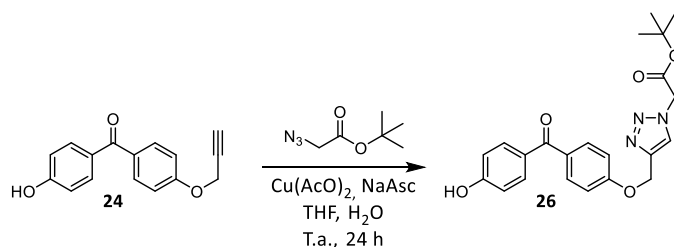


En un matraz de fondo redondo de dos bocas (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió 2-bromoacetato de *terc*-butilo (2,3 mL; 15 mmol) en dimetilformamida (20 mL). A continuación, se añadió azida sódica (1,20 g; 18,4 mmol) y se dejó la mezcla en agitación a $60\text{ }^\circ\text{C}$ durante 12 horas.

Tras ese tiempo, se añadió agua desionizada (100 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua desionizada (3 x 20 mL) y con salmuera (20 mL). Tras secar la fase orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, filtrar y evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **25** puro como un líquido incoloro (2,40 g; 99%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 3,95 (s, 2H); 1,45 (s, 9H).

8.2.24 Síntesis de 2-(4-((4-(4-hidroxibenzoil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de *terc*-butilo (**26**)

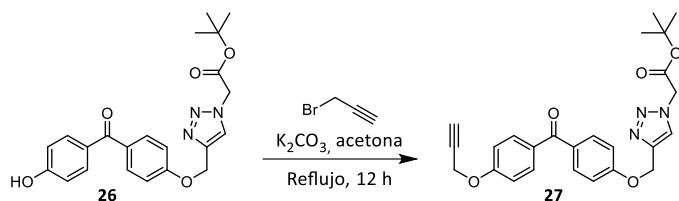


En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvieron los compuestos **24** (194 mg; 0,77 mmol) y **25** (124 mg; 0,79 mmol) en tetrahidrofurano (8 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (16 mg; 0,08 mmol) y ascorbato sódico (32 mg; 0,16 mmol) en 4 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 24 horas.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (12 mL) al matraz y se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (15 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **26** como un aceite amarillo (281 mg, 85%).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 10,34 (s, 1H); 8,26 (s, 1H); 7,69 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H); 7,63 (d; $J = 8,7$ Hz; 2H); 7,18 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H); 6,89 (d; $J = 8,7$ Hz; 2H); 5,30 (s, 2H); 5,29 (s, 2H); 1,43 (s, 9H).

8.2.25 Síntesis de 2-(4-((4-(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzoil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de *terc*-butilo (**27**)



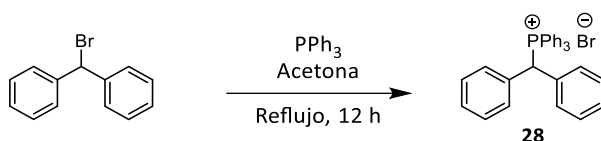
En un matraz de fondo redondo de dos bocas (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **26** (281 mg; 0,69 mmol) en acetona (7 mL). Una vez disuelto completamente, se añadió carbonato de potasio (104 mg; 0,76 mmol) y posteriormente, 3-bromo-1-propino 80% en tolueno (84 μL ; 0,76 mmol) gota a gota. Tras esta adición, la mezcla se dejó agitando a reflujo durante 12 horas.

Pasado este tiempo, se añadió agua desionizada (20 mL) a la mezcla y se realizó una extracción con acetato de etilo (3 x 10 mL). Se lavó la fase orgánica con salmuera (10 mL) y se

secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, el sólido obtenido (335 mg) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 7:3, v:v). Se obtuvo el compuesto **27** como un aceite amarillo (123 mg, 40%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 8,26 (s, 1H); 7,72 (d; $J = 9,0$ Hz; 4H); 7,20 (d; $J = 8,9$ Hz; 2H); 7,13 (d; $J = 8,9$ Hz; 2H); 5,30 (m, 4H); 4,92 (d; $J = 2,3$ Hz; 2H); 3,64 (t; $J = 2,4$ Hz; 1H); 1,43 (s, 9H).

8.2.26 Síntesis de bromuro de benzhidriltrifenilfosfonio (**28**)

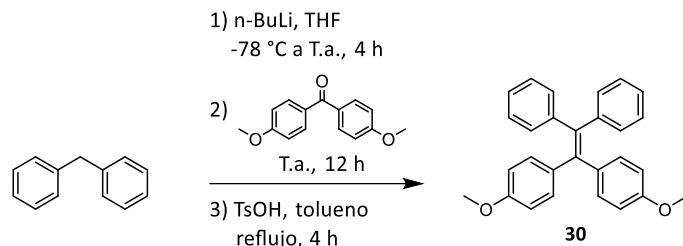


En un matraz de fondo redondo de dos bocas (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió bromodifenilmetano (2,60 g; 10,0 mmol) en acetona (30 mL). Después, se añadió trifenilfosfina (2,63 g; 10,0 mmol) y se dejó la mezcla agitando a reflujo durante 12 horas.

Pasado ese tiempo, apareció un precipitado blanco en el matraz de reacción que, tras filtrarlo a vacío y lavarlo con dietiléter, resultó ser el compuesto **28** puro. (1,69 g; 33%).

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 7,92-7,87 (m, 3H); 7,75-7,69 (m, 6H); 7,66-7,59 (m, 6H); 7,38-7,31 (m, 6H); 7,29-7,25 (m, 4H); 7,16 (d; $J = 18,2$ Hz; 1H).

8.2.27 Síntesis de 4,4'-(2,2-difeniletano-1,1-diil)bis(metoxibenceno) (30)



En un matraz de fondo redondo de dos bocas (250 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió difenilmetano (2,02 g; 12,0 mmol) en tetrahidrofurano seco (40 mL) bajo atmósfera de argón. A continuación, se refrigeró el matraz a -78 °C (baño hielo seco/acetona) y se inyectó *n*-butillitio 2,2 M en hexano (5,0 mL; 11 mmol) a través de septum gota a gota. Tras finalizar la adición, se retiró el baño refrigerante y se dejó la mezcla en agitación durante 4 horas.

Pasado este tiempo, se inyectó a través de septum 4,4'-dimetoxibenzofenona (2,42 g; 10,0 mmol) disuelta en tetrahidrofurano seco (10 mL) y se dejó la mezcla resultante en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas.

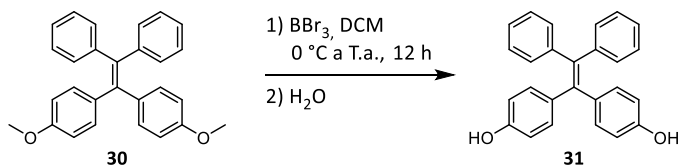
Después, se añadió cloruro de amonio saturado (50 mL) y se extrajo con diclorometano (3 x 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y secaron sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo un aceite amarillo que se usó directamente en la siguiente etapa de la reacción.

A continuación, se añadió tolueno seco (80 mL) y ácido p-toluen-sulfónico (380 mg; 2,00 mmol). Una vez añadidos, se llevó la mezcla a ebullición, utilizando un Dean-Stark para eliminar el agua generada durante la reacción y se dejó agitando la mezcla en esas condiciones durante 12 horas.

Trascurrido ese tiempo, la mezcla se lavó con bicarbonato sódico saturado (80 mL) y con salmuera (80 mL), y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, el sólido obtenido (3,82 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 9:1, v:v). Finalmente, se obtuvo el compuesto **30** como un sólido amarillo (2,08 g; 53%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,15-7,06 (m, 6H); 7,06-7,00 (m, 4H); 6,95 (d; $J = 8,9$ Hz; 4H); 6,64 (d; $J = 8,8$ Hz; 4H); 3,74 (s, 6H).

8.2.28 Síntesis de 4,4'-(2,2-difenileteno-1,1-diil)difenol (**31**)



En un matraz de fondo redondo de dos bocas (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **30** (2,00 g; 5,10 mmol) en diclorometano seco (15 mL). Una vez disuelto, se refrigeró la mezcla a $0\text{ }^\circ\text{C}$ (baño de hielo) y se le inyectó a través de septum una solución de tribromuro de boro 1 M en DCM (20,4 mL; 20,4 mmol) gota a gota bajo agitación constante. Una

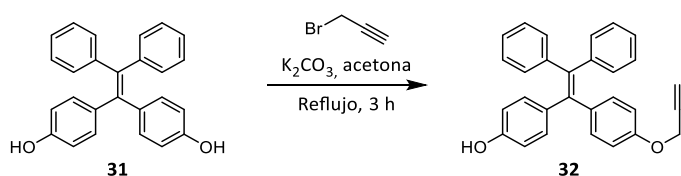
vez completada la adición, se retiró el baño refrigerante y la mezcla se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 horas. Pasado ese tiempo, se añadió agua desionizada a la mezcla (20 mL) gota a gota y se realizó una extracción con acetato de etilo (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y secaron sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el solvente a vacío, se obtuvo el compuesto **31** puro como un sólido pardo (1,54 g; 83%).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 9,30 (s, 2H); 7,17-7,02 (m, 6H); 6,95-6,91 (m, 4H); 6,74 (d; $J = 8,6$ Hz; 4H); 6,48 (d; $J = 8,6$ Hz; 4H).

^{13}C RMN (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 155,9; 144,2; 140,6; 137,7; 134,1; 132,0; 130,8; 127,7; 125,9; 114,6.

8.2.29 Síntesis de 4-(2,2-difenil-1-(4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil)vinil)fenol (**32**)

8.2.29.1 Reacción A



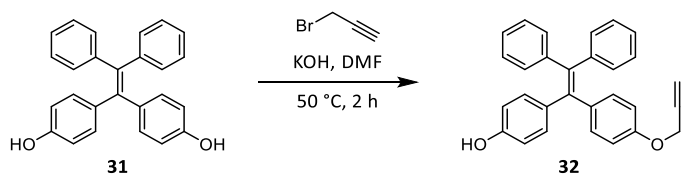
En un matraz de fondo redondo de dos bocas (50 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **31** (425 mg; 1,17 mmol) en acetona (10 mL). Una vez disuelto completamente, se enfrió la mezcla a 0 °C (baño de hielo), se añadió carbonato de potasio (81 mg; 0,58 mmol) y posteriormente, 3-bromo-1-propino 80% en tolueno (65 μL ; 0,58 mmol) gota a gota.

Tras esta adición, se retiró el baño de hielo y la mezcla se dejó agitando a reflujo durante 3 horas.

Pasado este tiempo, se añadió agua desionizada (20 mL) a la mezcla y se realizó una extracción con acetato de etilo (3 x 10 mL). Se lavó la fase orgánica con salmuera (10 mL) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, el sólido obtenido (498 mg) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 8:2, v:v). Se obtuvo el compuesto **32** (95 mg, 37%) como un aceite amarillento, junto con el compuesto **31** sin reaccionar (208 mg; 49%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 9,33 (s, 1H); 7,17-7,04 (m, 6H); 6,97-6,91 (m, 4H); 6,87 (d; $J = 8,9$ Hz; 2H); 6,76-6,69 (m, 4H); 6,49 (d; $J = 8,7$ Hz; 2H); 4,70 (d; $J = 2,4$ Hz; 2H); 3,54 (t; $J = 2,3$ Hz; 1H).

8.2.29.2 Reacción B



En un matraz de fondo redondo de dos bocas (100 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **31** (1,30 g; 3,57 mmol) en dimetilformamida seca (20 mL). Una vez disuelto completamente, se añadió hidróxido de potasio (200 mg;

3,57 mmol) y posteriormente, 3-bromo-1-propino 80% en tolueno (0,20 mL; 1,79 mmol) gota a gota. Tras esta adición, la mezcla se dejó agitando a 50 °C durante 2 horas.

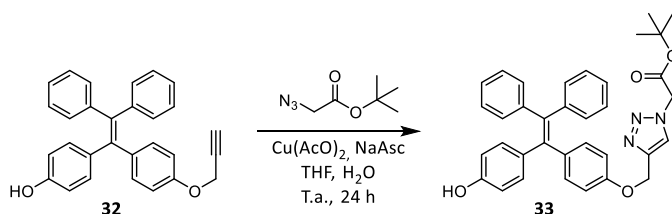
Pasado este tiempo, se evaporó a vacío parte del disolvente y se añadió cloruro de amonio saturado (20 mL) a la mezcla. Se realizó una extracción con acetato de etilo (3 x 10 mL), se lavó la fase orgánica con salmuera (3 x 20 mL) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, el sólido obtenido (1,44 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo, 8:2, v:v). Se obtuvo el compuesto **32** (503 mg, 70%) como un aceite amarillento, junto con el compuesto **31** sin reaccionar (549 mg; 42%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 9,33 (s, 1H); 7,17-7,06 (m, 6H); 6,98-6,91 (m, 4H); 6,88 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H); 6,78-6,68 (m, 4H); 6,50 (d; $J = 8,6$ Hz; 2H); 4,70 (d; $J = 2,4$ Hz; 2H); 3,54 (t; $J = 2,3$ Hz; 1H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 155,9; 155,7; 144,0; 143,8; 140,1; 138,5; 136,5; 133,9; 132,0; 131,9; 130,72; 130,70; 127,82; 127,76; 126,2; 126,1; 114,6; 113,9; 79,2; 78,2; 55,3.

8.2.30 Síntesis de 2-(4-((4-(1-(4-hidroxifenil)-2,2-difenilvinil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de *tert*-butilo (33)

8.2.30.1 Reacción A

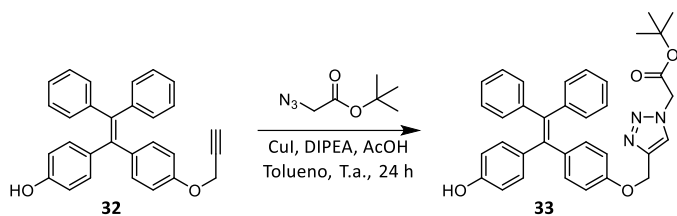


En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **32** (95 mg; 0,24 mmol) y 2-azidoacetato de *tert*-butilo (37 mg; 0,24 mmol) en tetrahidrofurano (4 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (4,7 mg; 0,024 mmol) y ascorbato sódico (9,3 mg; 0,047 mmol) en 2 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 4 días.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (8 mL) al matraz y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (10 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **33** como un aceite amarillo (121 mg, 54%) con una pureza aproximada del 60% (calculada mediante $^1\text{H RMN}$).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 9,32 (s, 1H); 8,17 (s, 1H); 7,17-7,03 (m, 6H); 6,97-6,91 (m, 4H); 6,87 (d; $J = 9,0$ Hz; 2H); 6,79 (d; $J = 8,9$ Hz; 2H); 6,74 (d; $J = 8,6$ Hz; 2H); 6,49 (d; $J = 8,6$ Hz; 2H); 5,28 (s, 2H); 5,06 (s, 2H); 1,43 (s, 9H).

8.2.30.2 Reacción B

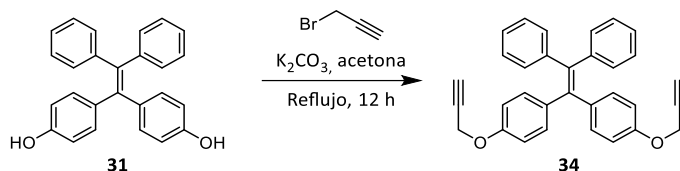


En un matraz de fondo redondo (50 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **32** (503 mg; 1,25 mmol) y 2-azidoacetato de *terc*-butilo (216 mg; 1,38 mmol) en tolueno (20 mL). A continuación, se añadió a la mezcla yoduro de cobre (I) (48 mg; 0,25 mmol), diisopropiletilamina (87 μL ; 0,50 mmol) y ácido acético glacial (28 μL ; 0,50 mmol), y se dejó agitando durante 24 horas a temperatura ambiente.

Tras este tiempo, se observó la aparición de un fino precipitado blanco, por lo que se centrifugó la mezcla y se decantó el sobrenadante para separar el sólido. Tras lavar con pequeñas porciones de tolueno y secarlo, se obtuvo el compuesto **33** puro como un sólido blanco (414 mg; 60%).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 9,32 (s, 1H); 8,18 (s, 1H); 7,15-7,04 (m, 6H); 6,98-6,91 (m, 4H); 6,87 (d; $J = 8,8$ Hz; 2H); 6,79 (d; $J = 8,9$ Hz; 2H); 6,74 (d; $J = 8,6$ Hz; 2H); 6,49 (d; $J = 8,7$ Hz; 2H); 5,28 (s, 2H); 5,06 (s, 2H); 1,43 (s, 9H).

8.2.31 Síntesis de 4,4'-(2,2-difenileteno-1,1-diil)bis((prop-2-in-1-iloxi)benceno) (34)



En un matraz de fondo redondo de dos bocas (50 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **31** (256 mg; 0,70 mmol) en acetona (10 mL). Una vez disuelto completamente, se añadió carbonato de potasio (214 mg; 1,55 mmol) y posteriormente, 3-bromo-1-propino 80% en tolueno (172 μ L; 1,55 mmol) gota a gota. Tras esta adición, la mezcla se dejó agitando a reflujo durante 12 horas.

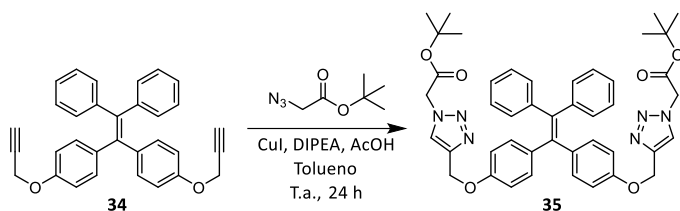
Pasado este tiempo, se añadió agua desionizada (20 mL) a la mezcla y se realizó una extracción con acetato de etilo (3 x 10 mL). Se lavó la fase orgánica con salmuera (10 mL) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo el compuesto **34** puro como un sólido amarillo amorfo (307 mg; 99%).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 7,19-7,07 (m, 6H); 7,00-6,92 (m, 4H); 6,88 (d; $J = 8,7$ Hz; 4H); 6,73 (d; $J = 8,8$ Hz; 4H); 4,71 (d; $J = 2,4$ Hz; 4H); 3,54 (t; $J = 2,3$ Hz; 2H).

$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 155,7; 143,6; 139,5; 139,2; 136,3; 131,9; 130,7; 127,8; 126,3; 114,0; 79,2; 78,2; 55,3.

8.2.32 Síntesis de 2,2'-((((2,2-difenileteno-1,1-diil)bis(4,1-fenileno))bis(oxi))bis(metileno))bis(1H-1,2,3-triazol-4,1-diil)diacetato de di-*terc*-butilo (35)

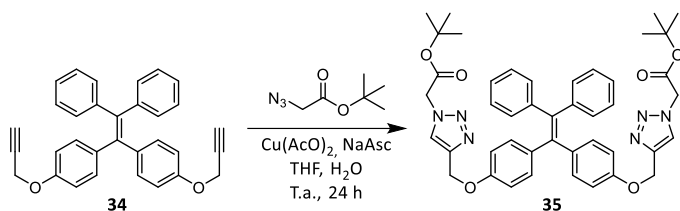
8.2.32.1 Reacción A



En un matraz de fondo redondo (50 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **34** (180 mg; 0,48 mmol) y 2-azidoacetato de *terc*-butilo (135 mg; 0,86 mmol) en tolueno (10 mL). A continuación, se añadió a la mezcla yoduro de cobre (I) (31 mg; 0,16 mmol), diisopropiletilamina (57 μ L; 0,33 mmol) y ácido acético glacial (19 μ L; 0,33 mmol), y se dejó agitando durante 24 horas a temperatura ambiente.

Tras este tiempo, no se observaron cambios en la mezcla de reacción, por lo que se lavó con salmuera (2 x 10 mL) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo un aceite amarillo (193 mg) que resultó contener un 12% del compuesto deseado (según ¹H RMN), siendo el resto el compuesto **34** sin reaccionar.

8.2.32.2 Reacción B



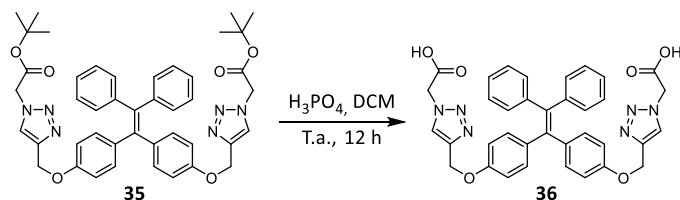
En un matraz de fondo redondo (25 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **34** (150 mg; 0,340 mmol) y 2-azidoacetato de *terc*-butilo (118 mg; 0,750 mmol) en tetrahidrofurano (10 mL). Por otro lado, se disolvieron acetato de cobre (II) dihidrato (14 mg; 0,068 mmol) y ascorbato sódico (30 mg; 0,14 mmol) en 5 mL de agua desionizada cada uno, en viales separados. A continuación, se vertió la disolución de cobre (II) sobre la de ascorbato y esta mezcla se introdujo inmediatamente en el matraz de reacción, que se dejó agitando a temperatura ambiente durante 12 horas.

Tras este tiempo, se adicionó salmuera (40 mL) al matraz y se extrajo con diclorometano (3 x 40 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (40 mL), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtró. Tras evaporar el disolvente a vacío, se obtuvo un aceite amarillo (255 mg). Tras añadirle tolueno (5 mL), apareció un precipitado blanco, que fue separado por centrifugación y decantación del sobrenadante, dando lugar al compuesto **35** puro (118 mg; 46%).

^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 8.17 (s, 2H), 7.17-7.05 (m, 6H), 6.99-6.94 (m, 4H), 6.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H), 6.80 (d, $J = 8.9$ Hz, 4H), 5.28 (s, 4H), 5.06 (s, 4H), 1.43 (s, 18H).

^{13}C RMN (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 166,2; 156,6; 143,7; 142,6; 139,7; 139,0; 135,9; 132,0; 130,7; 127,9; 126,3; 126,0; 113,8; 82,4; 60,8; 50,9; 27,6.

8.2.33 Síntesis de ácido 2,2'-((((2,2-difenileteno-1,1-diil)bis(4,1-fenileno))bis(oxi))bis(metileno))bis(1H-1,2,3-triazol-4,1-diil))diacético (36)



En un matraz de fondo redondo (10 mL), provisto de un imán agitador, se disolvió el compuesto **35** (118 mg; 0,16 mmol) en diclorometano (2 mL). A continuación, se añadió gota a gota ácido fosfórico 85% (0,10 mL; 1,5 mmol) y se dejó la mezcla en agitación durante 12 horas.

Pasado ese tiempo, se añadió agua desionizada (2 mL) a la mezcla y se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (5 mL) y se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro. Tras filtrar por gravedad y evaporar el solvente a vacío, se obtuvo el compuesto **36** puro como un sólido amorfo amarillo (91 mg; 91%).

^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) δ 13,36 (s ancho, 2H); 8,17 (s, 2H); 7,19-7,04 (m, 6H); 7,00-6,94 (m, 4H); 6,89 (d; $J = 8,8$ Hz; 4H); 6,81 (d; $J = 8,9$ Hz; 4H); 5,28 (s, 4H); 5,06 (s, 4H).

^{13}C RMN (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 168,6; 156,6; 143,8; 142,5; 139,7; 139,0; 136,0; 132,0; 130,7; 127,9; 126,0; 113,9; 60,9; 50,6.

8.3 Medidas de absorción UV-visible

8.3.1 Compuestos 4-7 y 15 en THF y MeOH

Se registraron los espectros de absorción UV-visible de diez soluciones 10 μM diferentes de los compuestos **4-7** y **15**. Cada compuesto se disolvió por separado en THF y MeOH, y sus espectros fueron medidos inmediatamente.

A continuación, se exponen los espectros registrados para cada compuesto en ambos solventes.

Compuesto 4

En THF, el compuesto **4** presenta una banda principal, centrada a 282 nm y una segunda banda a 338 nm. Se puede intuir un hombro sobre 295 nm. En MeOH, ambas bandas están un poco desplazadas hipsocrómicamente, quedándose en 276 nm y 332 nm respectivamente. Dado que el hombro no se ha desplazado, aparece más prominente.

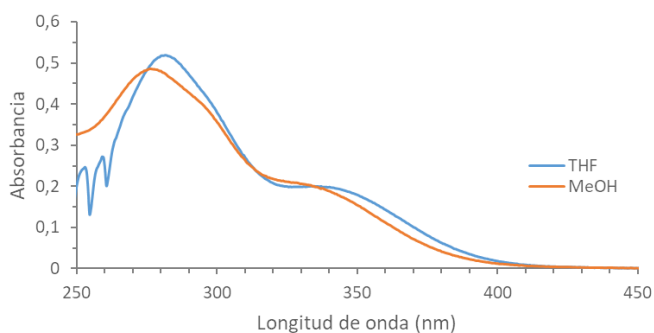


Figura 8.2. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **4** en THF y en MeOH.

Compuesto 5

En THF, el compuesto **5** presenta una banda principal, centrada a 280 nm y una segunda banda a 338 nm. En MeOH, ambas bandas están un poco desplazadas hipsocrómicamente, quedándose en 275 nm y 331 nm respectivamente. Además, presenta un hombro a 297 nm.

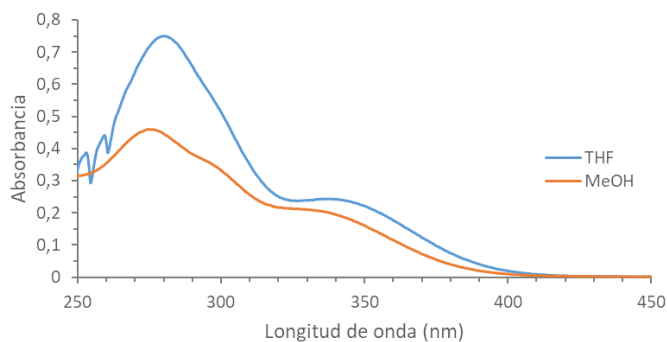


Figura 8.3. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **5** en THF y en MeOH.

Compuesto 6

En THF, el compuesto 6 presenta una banda principal, centrada a 282 nm y una segunda banda a 338 nm. Se puede intuir un hombro sobre 295 nm. En MeOH, ambas bandas están un poco desplazadas hipsocrómicamente, quedándose en 276 nm y 332 nm respectivamente. Dado que el hombro no se ha desplazado, aparece más prominente.

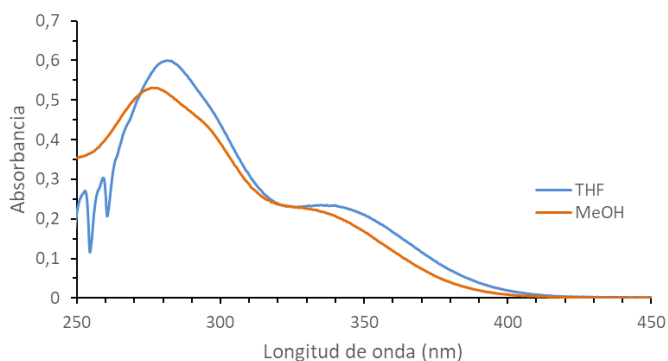


Figura 8.4. Espectros de absorción UV-vis del compuesto 6 en THF y en MeOH.

Compuesto 7

En THF, el compuesto 7 presenta una banda principal, centrada a 278 nm y una segunda banda a 338 nm. Se aprecia claramente un hombro a 300 nm. En MeOH, ambas bandas están un poco desplazadas hipsocrómicamente, quedándose en 272 nm y 332 nm respectivamente. Sin embargo, el hombro a 300 nm no se ha desplazado.

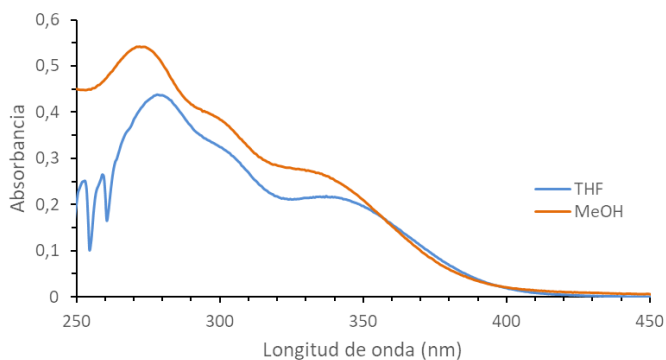


Figura 8.5. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **7** en THF y en MeOH.

Compuesto 15

En THF, el compuesto **15** presenta una banda principal, centrada a 285 nm y una segunda banda a 351 nm. En MeOH, ambas bandas están un poco desplazadas hipsocrómicamente, quedándose en 281 nm y 341 nm respectivamente.

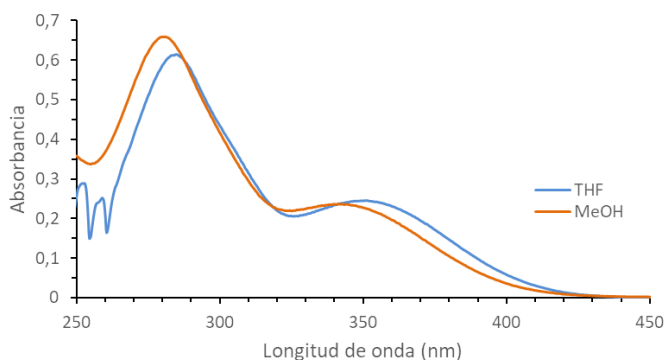


Figura 8.6. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **15** en THF y en MeOH.

8.3.2 Compuestos 9, 10, 16-18 y 20-22 en THF y MeOH

Se registraron los espectros de absorción UV-visible de diez soluciones 10 μ M diferentes de los compuestos **9**, **10**, **16-18** y **20-22**. Cada compuesto se disolvió por separado en THF y MeOH, y sus espectros fueron medidos inmediatamente.

A continuación, se exponen los espectros registrados para cada compuesto en ambos solventes.

Compuesto 9

En THF, el compuesto **9** presenta una banda principal, centrada a 278 nm y una segunda banda a 338 nm. Se aprecia claramente un hombro a 300 nm. En MeOH, ambas bandas están un poco desplazadas hipsocrómicamente, quedándose en 272 nm y 332 nm respectivamente. Sin embargo, el hombro a 300 nm no se ha desplazado.

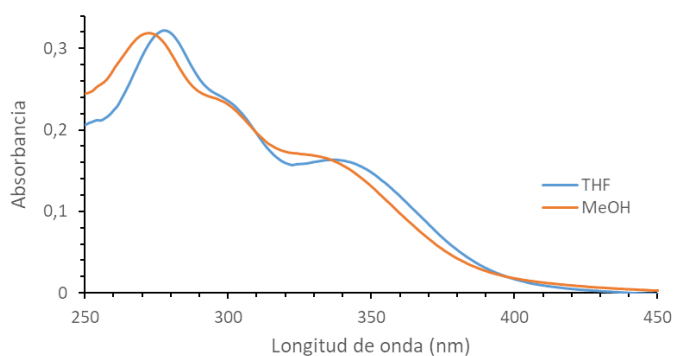


Figura 8.7. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **9** en THF y en MeOH.

Compuesto 10

En THF, el compuesto **10** presenta una banda principal, centrada a 277 nm y una segunda banda a 338 nm. Se aprecia claramente un hombro a 300 nm. En MeOH, ambas bandas están un poco desplazadas hipsocrómicamente, quedándose en 271 nm y 332 nm respectivamente. Sin embargo, el hombro a 300 nm no se ha desplazado.

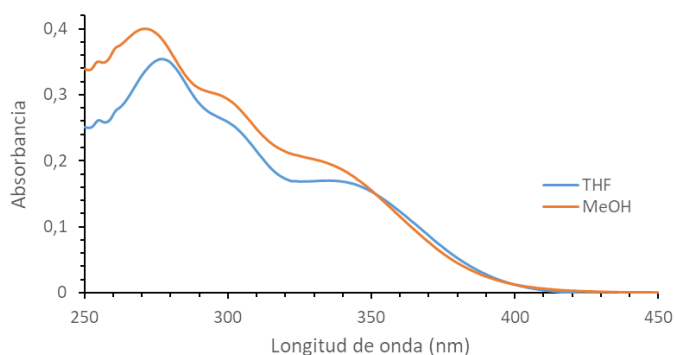


Figura 8.8. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **10** en THF y en MeOH.

Compuesto 16

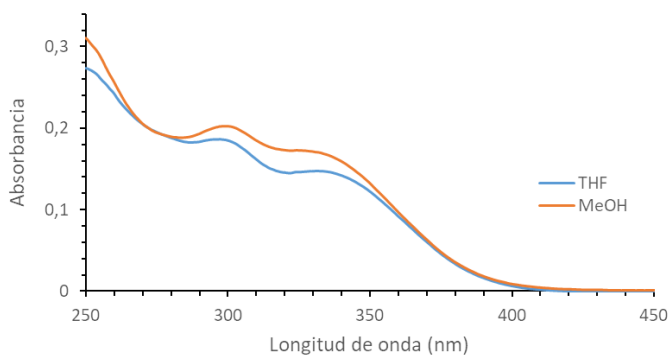


Figura 8.9. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **16** en THF y en MeOH.

En THF, el compuesto **16** presenta tres bandas: La primera por debajo de 250 nm, la segunda a 297 nm y la tercera banda a 332 nm. En MeOH, el espectro es muy similar, siendo las tres bandas ligeramente más intensas y sin apenas desplazamiento respecto al espectro en THF.

Compuesto 17

En THF, el compuesto **17** presenta tres bandas: La primera a 250 nm, la segunda a 302 nm y la tercera banda a 335 nm. En MeOH, el espectro es muy similar, siendo las tres bandas ligeramente menos intensas y con un pequeño desplazamiento hipsocrómico (≈ 2 nm) respecto al espectro en THF.

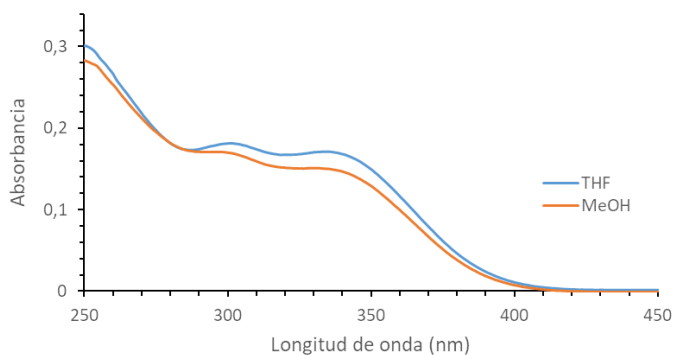


Figura 8.10. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **17** en THF y en MeOH.

Compuesto 18

En THF, el compuesto **18** presenta dos bandas principales: La primera a 250 nm, la segunda a 332 nm. También se aprecia un ligero hombro a 305 nm. En MeOH, el espectro es muy similar al

registrado en THF, salvo que en este caso el hombro es menos prominente.

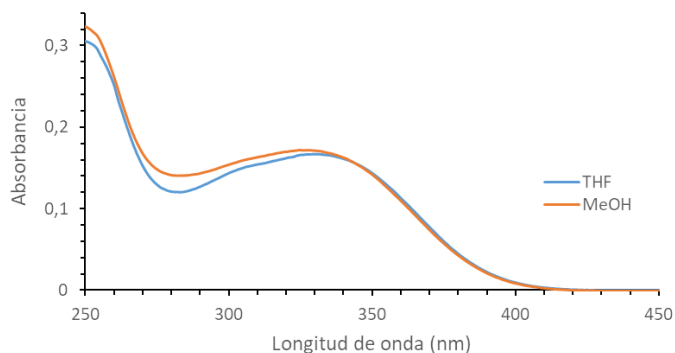


Figura 8.11. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **18** en THF y en MeOH.

Compuesto 20

En THF, el compuesto **20** presenta tres bandas: La primera por debajo de 250 nm, la segunda a 299 nm y la tercera banda a 332 nm. En MeOH, el espectro es muy similar, siendo las tres bandas ligeramente más intensas y sin apenas desplazamiento respecto al espectro en THF.

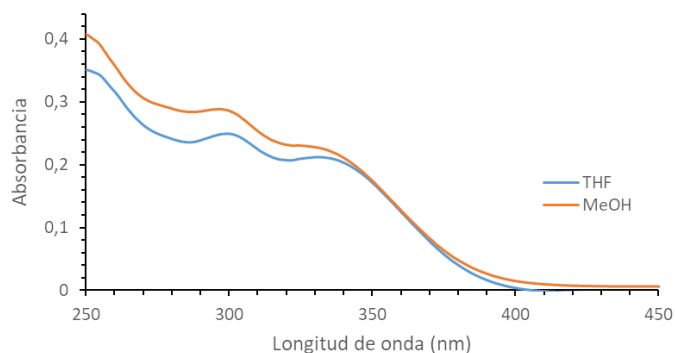


Figura 8.12. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **20** en THF y en MeOH.

Compuesto 21

En THF, el compuesto **21** presenta tres bandas: La primera alrededor de 250 nm, la segunda a 302 nm y la tercera banda a 338 nm. En MeOH, el espectro es muy similar, siendo las dos primeras bandas ligeramente más intensas y con un pequeño desplazamiento hipsocrómico (≈ 2 nm) respecto al espectro en THF.

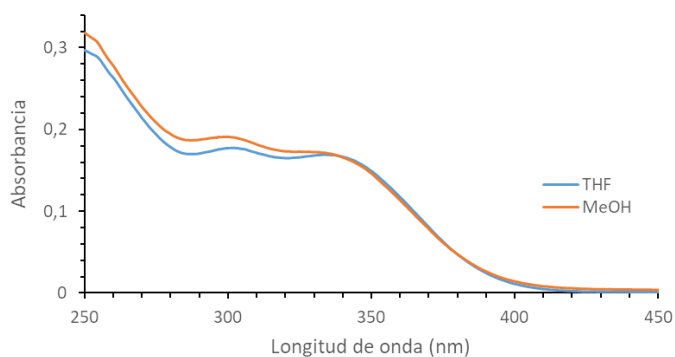


Figura 8.13. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **21** en THF y en MeOH.

Compuesto 22

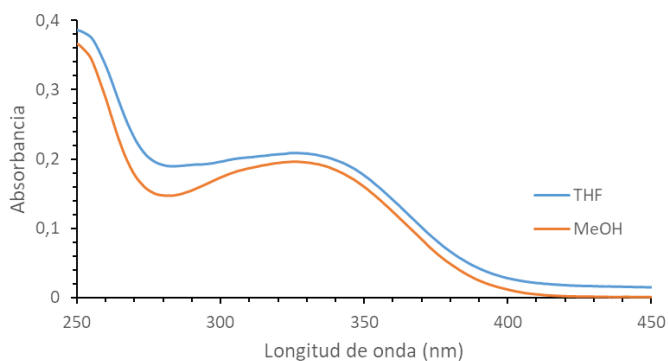


Figura 8.14. Espectros de absorción UV-vis del compuesto **22** en THF y en MeOH.

En THF, el compuesto **22** presenta dos bandas principales: Una primera a 250 nm y una segunda banda ancha a 326 nm. También se intuye un hombro sobre 305 nm. En MeOH, el espectro es muy similar al registrado en THF, pero en este caso el hombro no es apreciable.

Tras comparar los espectros de los pares de compuestos antes y después de realizar la reacción de cicloadición (**9** y **10**; **16** y **20**; **17** y **21**; y **18** y **22**), se puede observar que apenas hay cambios en las bandas de absorción de los mismos.

8.3.3 TDAPE (**23**) con NO₂ en varios disolventes

Para empezar, se registró el espectro de absorción UV-visible de una solución 10 μM de **TDAPE** en THF/agua (1:9, v:v) antes y después de burbujear en ellas una mezcla de concentrada de NO₂ en argón (≈5% v:v), obtenida a partir de cobre metálico y ácido nítrico. El compuesto se disolvió en la mezcla y su espectro fue medido inmediatamente.

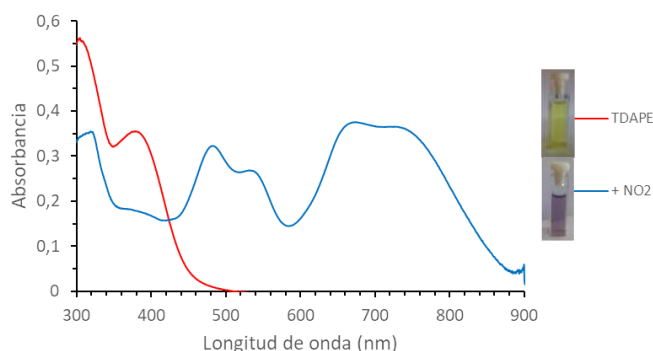


Figura 8.15. Espectros de absorción UV-vis del **TDAPE** 10 μM en THF/agua (1:9, v:v) antes (rojo) y después (azul) de ser tratados con NO₂.

En la figura 8.15 se observa el cambio drástico que experimenta el espectro de la mezcla. El **TDAPÉ** presenta dos bandas de absorción a 300 y 390 nm respectivamente. Sin embargo, tras burbujear NO_2 , la banda de 390 nm desaparece, la de 300 nm se desplaza batocrómicamente 15 nm y aparecen cuatro bandas nuevas agrupadas de dos en dos (482, 534, 672 y 730 nm)

A continuación, se midieron los espectros de absorción de soluciones 10 μM de **TDAPÉ** en THF, DMSO y MeCN; antes y después de burbujear en ellas 100 mL/min de NO_2 50 ppm en nitrógeno/aire (1:1, v:v) durante 5 minutos.

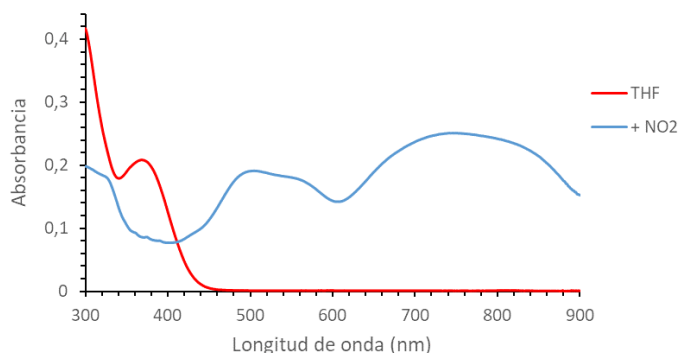


Figura 8.16. Espectros de absorción UV-vis del **TDAPÉ** 10 μM en THF antes y después de ser tratados con NO_2 .

Como puede verse en las figuras 8.16, 8.17 y 8.18; los espectros del **TDAPÉ** son muy similares en los tres disolventes. Tras el burbujeo con NO_2 , las soluciones en DMSO y MeCN mostraron espectros con forma casi idéntica, registrándose una mayor absorción en MeCN. Por el contrario, en THF puro el NO_2 produjo un espectro con las bandas ensanchadas en comparación con la mezcla THF/agua y el resto de mezclas medidas.

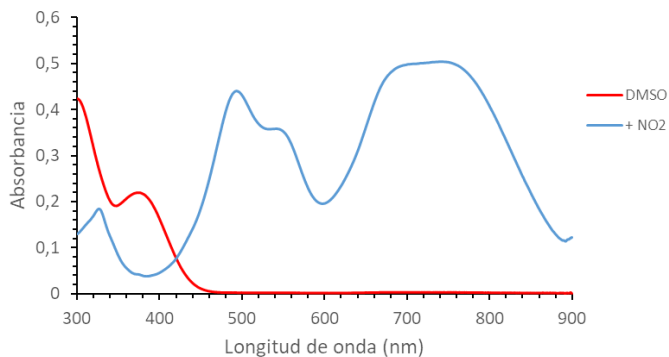


Figura 8.17. Espectros de absorción UV-vis del **TDAPE** 10 μM en DMSO antes y después de ser tratados con NO_2 .

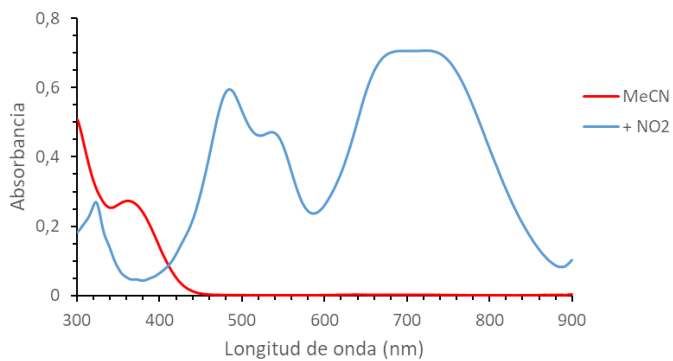


Figura 8.18. Espectros de absorción UV-vis del **TDAPE** 10 μM en MeCN antes y después de ser tratados con NO_2 .

Después, se midieron los espectros de absorción de soluciones 10 μM de **TDAPE** en mezclas de THF, DMSO y MeCN con agua (9:1, v:v), después de burbujear en ellas 100 mL/min de NO_2 50 ppm en nitrógeno/aire (1:1, v:v) durante 5 minutos.

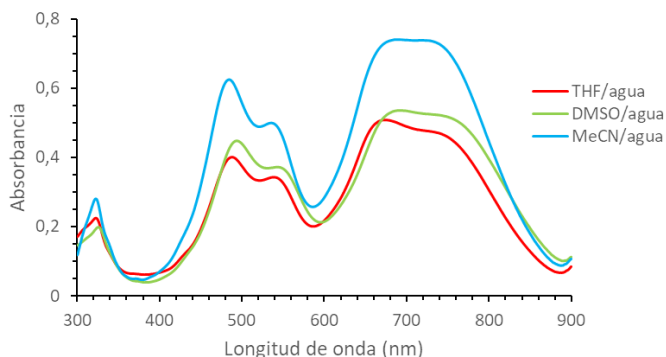


Figura 8.19. Espectros de absorción UV-vis de soluciones 10 μM de TDAPE en mezclas de THF, DMSO y MeCN con agua (9:1, v:v), después de ser tratadas con NO_2 .

En mezclas de los disolventes mencionados con 10% de agua se obtienen espectros con forma similar tras tratarlas con NO_2 . aun así, le mezcla MeCN/agua destacó con una mayor absorción en todas las bandas, superando incluso a la del espectro en MeCN solo.

Finalmente, se realizó una curva de calibrado de la respuesta del **TDAPE** frente al NO_2 . Para ello, se burbujearon concentraciones crecientes de este gas en diferentes soluciones 10 μM de **TDAPE** en MeCN/agua (6:4, v:v), con un caudal de 100 mL/min. Las mezclas se burbujearon bajo agitación durante 4 minutos y sus espectros se registraron tras un minuto adicional. A cada cambio de concentración de gas, el sistema de caudalímetros se dejó funcionando durante 20 minutos para homogeneizar la concentración del mismo en el recipiente de mezcla de gases. Las medidas se realizaron por triplicado y los espectros resultantes se promediaron.

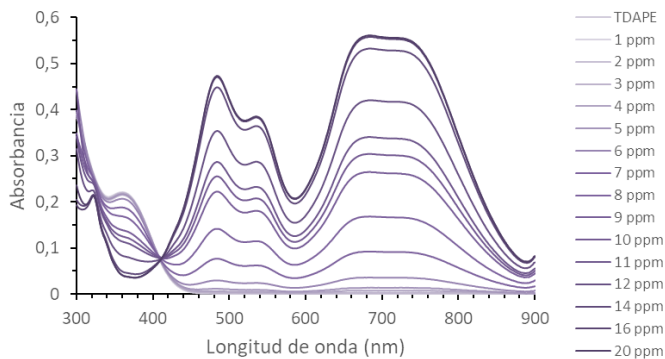


Figura 8.20. Valoración de TDAPE 10 μM en MeCN/agua (6:4, v:v) con NO_2 .

8.3.3 TDAPE (23) con SO_2 y *t*-BuOOH en varios disolventes

Para comenzar, se midieron los espectros de absorción de soluciones 10 μM de TDAPE en THF, DMSO y MeCN; después de burbujear en ellas 100 mL/min de SO_2 50 ppm en nitrógeno/aire (1:1, v:v) durante 5 minutos.

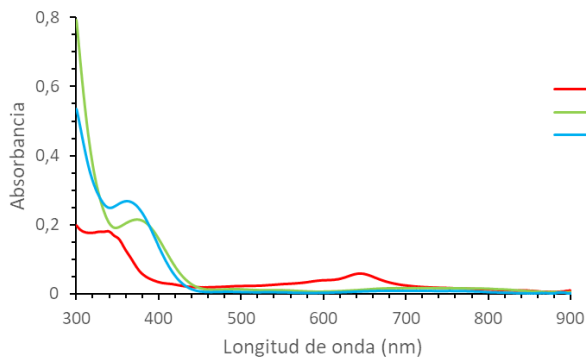


Figura 8.21. Espectros de absorción UV-vis de soluciones 10 μM de TDAPE en THF, DMSO y MeCN, después de ser tratadas con SO_2 .

Se puede observar (figura 8.21) que el SO_2 no produjo cambios en los espectros del TDAPE en DMSO y MeCN, mientras que en

THF provocó la disminución de las bandas propias del **TDAPE** junto con la aparición de una nueva de poca absorbancia sobre 645 nm.

A continuación, se registraron los espectros de absorción de soluciones 10 μM de **TDAPE** en mezclas de THF, DMSO y MeCN con agua (9:1, v:v), después de burbujear en ellas 100 mL/min de SO_2 50 ppm en nitrógeno/aire (1:1, v:v) durante 5 minutos.

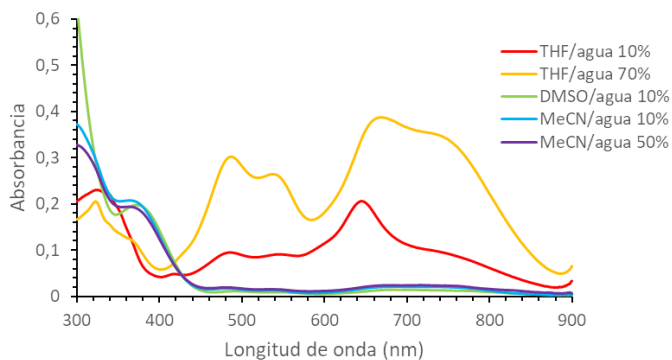


Figura 8.22. Espectros de absorción UV-vis de soluciones 10 μM de **TDAPE** en mezclas de THF/agua (9:1 y 3:7, v:v), DMSO/agua (9:1, v:v) y MeCN/agua (9:1 y 5:5, v:v), después de ser tratadas con SO_2 .

En la figura 8.22 se observa que en mezclas DMSO/agua y MeCN/agua, el SO_2 no produce cambios en el espectro del **TDAPE**. Sin embargo, en mezclas THF/agua, se producen cambios significativos: con un 10% de agua, la banda a 645 nm observada en THF se incrementa, mientras que al 70%, el espectro es muy similar a los observados con el burbujeo de NO_2 .

Visto esto, se midieron los espectros de absorción de soluciones 10 μM de **TDAPE** en MeCN/agua (9:1, v:v) con cantidades crecientes de hidroperóxido de *terc*-butilo, después de burbujear en

ellas 100 mL/min de SO₂ 50 ppm en nitrógeno/aire (1:1, v:v) durante 5 minutos.

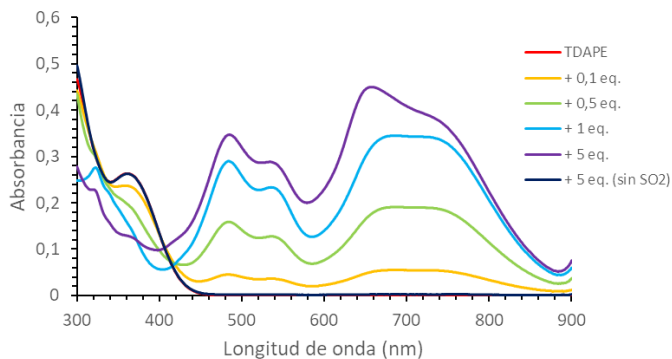


Figura 8.23. Espectros de absorción UV-vis de soluciones 10 μM de TDAPe en MeCN/agua (9:1, v:v) con cantidades crecientes de hidroperóxido de *tert*-butilo, después de ser tratadas con SO₂.

Se puede observar que la presencia de hidroperóxido de *tert*-butilo permite que el SO₂ produzca cambios en el espectro de absorción del TDAPe similares a los que provoca el NO₂. La absorción se incrementa proporcionalmente con la cantidad de hidroperóxido de *tert*-butilo presente en el medio hasta llegar a 1 equivalente. A partir de ahí el incremento es limitado y ocurre predominantemente en la tercera banda, que experimenta un ligero desplazamiento hipsocrómico.

Finalmente, se realizó una curva de calibrado de la respuesta del TDAPe frente al SO₂ en presencia de hidroperóxido de *t*-butilo. Para ello, se burbujearon concentraciones crecientes de este gas en diferentes soluciones 10 μM de TDAPe y 20 μM de *t*-BuOOH en MeCN/agua (6:4, v:v), con un caudal de 100 mL/min. Las mez-

clas se burbujearon bajo agitación durante 4 minutos y sus espectros se registraron tras un minuto adicional. A cada cambio de concentración de gas, el sistema de caudalímetros se dejó funcionando durante 20 minutos para homogeneizar la concentración del mismo en el recipiente de mezcla de gases. Las medidas se realizaron por triplicado y los espectros resultantes se promediaron.

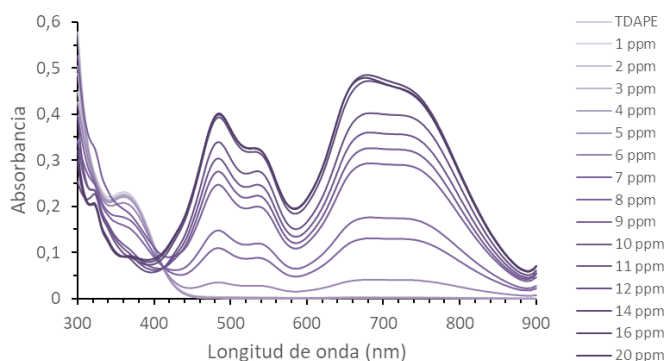


Figura 8.24. Valoración de TDAPE 10 μM y t-BuOOH 20 μM en MeCN/agua (6:4, v:v) con SO_2 .

8.4 Medidas de fluorescencia

8.4.1 Compuestos 4-7 y 15 en THF/agua y MeOH/agua

Se registraron los espectros de emisión de 110 soluciones 10 μM diferentes de los compuestos 4-7 y 15 en mezclas THF/agua y MeOH/agua. Se preparó una mezcla diferente para cada compuesto, fracción volumétrica de agua y disolvente orgánico. Las mezclas se prepararon a partir de soluciones madre 1 mM de

cada compuesto en el disolvente orgánico (THF y MeOH) utilizado en cada caso. Al preparar las mezclas, primero se adicionó el disolvente orgánico, después la disolución madre del compuesto y finalmente, el agua desionizada. Los espectros se registraron excitando a 350 nm. La abertura de las rendijas de excitación y emisión del fluorímetro fue de 5 nm para ambas en las medidas en THF/agua, y de 2,5 nm y 5 nm respectivamente en las medidas en MeOH/agua.

Compuesto 4

A fracciones de agua inferiores al 70% en THF/agua e inferiores al 30% en MeOH/agua, el compuesto 4 muestra una banda de emisión muy débil centrada en 495 nm. Sin embargo, al 80% de agua en THF y 40% de agua en MeOH, se produce un gran incremento de la intensidad de la banda de emisión, junto con un desplazamiento hipsocrómico de la misma, quedando en 465 nm y 486 nm respectivamente.

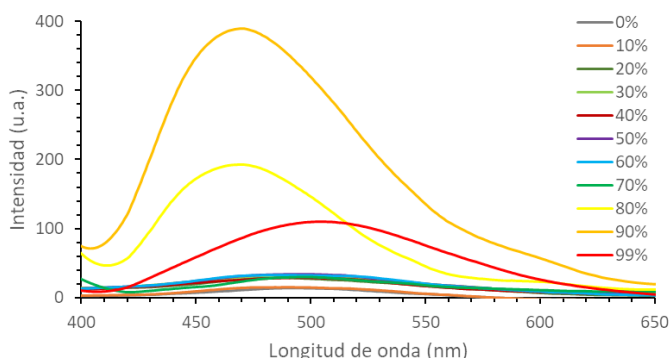


Figura 8.25. Espectros de emisión del compuesto 4 en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

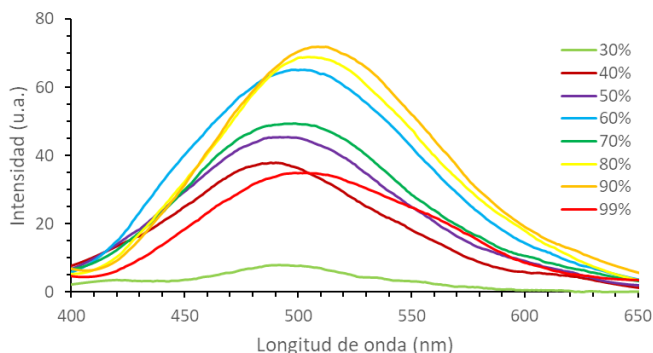


Figura 8.26. Espectros de emisión del compuesto **4** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

A partir de este punto, la intensidad de la banda de emisión se incrementa hasta llegar a su máximo con un 90% de agua, seguido de un descenso brusco de la misma, junto con un desplazamiento batocrómico, al llegar al 99% de agua. En las mezclas MeOH/agua, se observa un paulatino desplazamiento batocrómico de la banda conforme la fracción de agua aumenta desde el 40% hasta el 90%, mientras que en THF la banda de emisión no se desplaza entre el 80 y el 90% de agua.

Compuesto 5

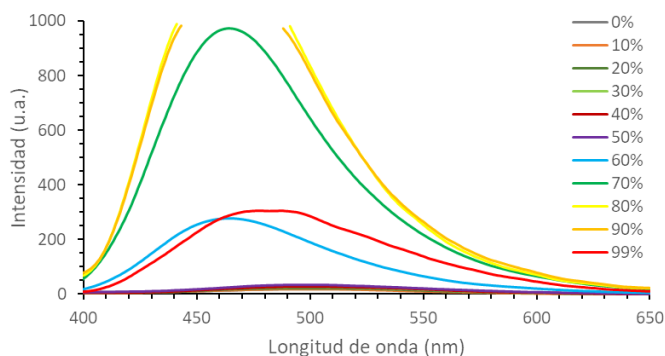


Figura 8.27. Espectros de emisión del compuesto **5** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua. El fluorímetro se satura a 1000 u.a.

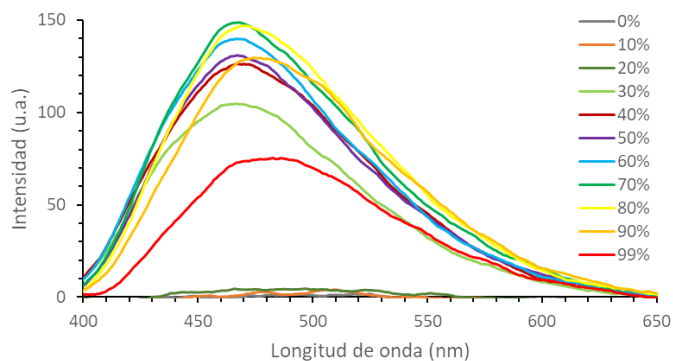


Figura 8.28. Espectros de emisión del compuesto **5** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Con fracciones de agua inferiores al 50% en THF/agua, o inferiores al 20% en MeOH/agua, el compuesto **5** muestra una banda de emisión muy débil centrada en 495 nm. Sin embargo, con el 60% de agua en THF, o 30% de agua en MeOH, se produce un gran incremento de la intensidad de la banda de emisión, junto con un desplazamiento hipsocrómico de la misma, quedando en 465 nm en ambas mezclas.

A partir de este punto, en THF/agua la intensidad de la banda de emisión se incrementa hasta llegar a su máximo con un 80% de agua, seguido de un descenso brusco de la misma, junto con un desplazamiento batocrómico, al llegar al 99% de agua. Sin embargo, en las mezclas MeOH/agua apenas cambia la intensidad de la emisión, pero se observa un paulatino desplazamiento batocrómico de la banda conforme la fracción de agua aumenta desde el 70% hasta el 90%. En THF/agua la banda de emisión no se desliza entre el 60 y el 90% de agua. A pesar que el fluoríme-

tro se saturó en un par de medidas, se ha podido estimar su intensidad máxima gracias a medidas de rendimiento cuántico absoluto realizadas posteriormente.

Compuesto 6

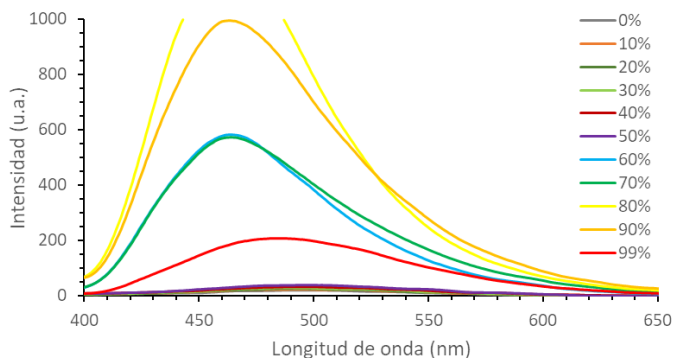


Figura 8.29. Espectros de emisión del compuesto 6 en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua. El fluorímetro se satura a 1000 u.a.

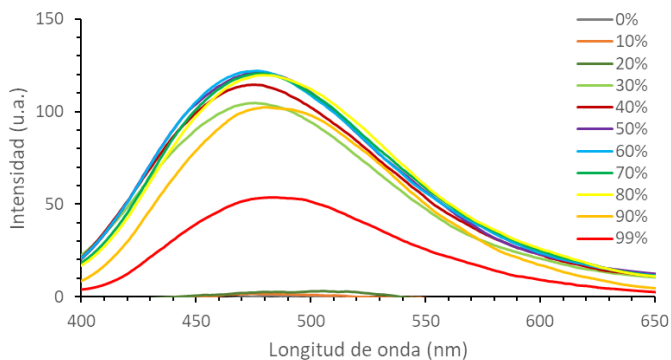


Figura 8.30. Espectros de emisión del compuesto 6 en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Con fracciones de agua inferiores al 50% en THF/agua, o inferiores al 20% en MeOH/agua, el compuesto 6 muestra una banda de emisión muy débil centrada en 500 nm. Sin embargo, al 60% de

agua en THF, o 30% de agua en MeOH, se produce un gran incremento de la intensidad de la banda de emisión, junto con un desplazamiento hipsocrómico de la misma, quedando en 464 nm y 476 nm respectivamente.

A partir de este punto, en THF/agua la intensidad de la banda de emisión se incrementa hasta llegar a su máximo con un 80% de agua, seguido de un descenso brusco de la misma, junto con un desplazamiento batocrómico, al llegar al 99% de agua. Sin embargo, en las mezclas MeOH/agua apenas cambia la intensidad de la emisión, pero se observa un paulatino desplazamiento batocrómico de la banda conforme la fracción de agua aumenta desde el 70% hasta el 90%. En THF/agua la banda de emisión no se desplaza entre el 60 y el 90% de agua.

Compuesto 7

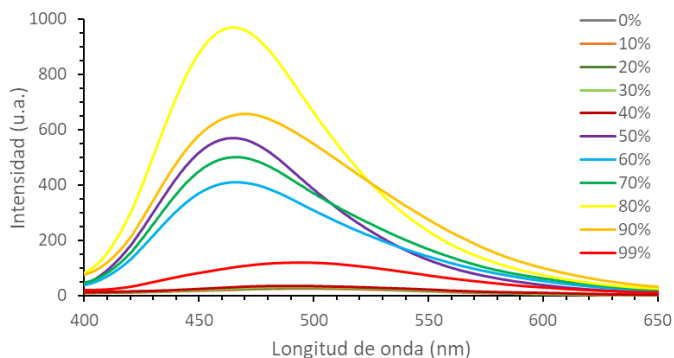


Figura 8.31. Espectros de emisión del compuesto 7 en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

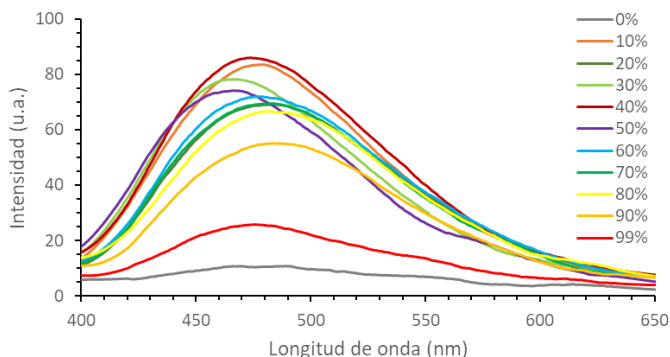


Figura 8.32. Espectros de emisión del compuesto 7 en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Con fracciones de agua inferiores al 40% en THF/agua, o en MeOH puro, el compuesto 7 muestra una banda de emisión muy débil centrada en 500 nm. Sin embargo, al 50% de agua en THF, o 10% de agua en MeOH, se produce un gran incremento de la intensidad de la banda de emisión, junto con un desplazamiento hipsocrómico de la misma, quedando en 465 nm y 478 nm respectivamente.

A partir de este punto, en THF/agua la intensidad de la banda de emisión se incrementa hasta llegar a su máximo con un 80% de agua, seguido de un descenso brusco de la misma, junto con un desplazamiento batocrómico, al llegar al 99% de agua. Sin embargo, en las mezclas MeOH/agua la intensidad de la emisión va disminuyendo ligeramente a partir del 40%. También se observan desplazamientos batocrómicos e hipsocrómicos alternados de la banda conforme la fracción de agua aumenta desde el 10% hasta el 99%. En THF/agua la banda de emisión no se desplaza entre el 50% y el 90% de agua.

Compuesto 15

Con fracciones de agua inferiores al 30% en THF/agua, o en MeOH puro, el compuesto **15** muestra una banda de emisión muy débil centrada en 515 nm. Sin embargo, al 40% de agua en THF, o 10% de agua en MeOH, se produce un gran incremento de la intensidad de la banda de emisión, junto con un desplazamiento hipsocrómico de la misma, quedando en 458 nm y 490 nm respectivamente.

A partir de este punto, en THF/agua la intensidad de la banda de emisión se incrementa bruscamente hasta llegar al 50%, y más lentamente su máximo con un 99% de agua, junto con un desplazamiento batocrómico al pasar del 90% al 99% de agua. Sin embargo, en las mezclas MeOH/agua la intensidad de la emisión se incrementa rápidamente hasta el 30%, se mantiene constante hasta el 80% y disminuye bruscamente hasta el 99% de agua. También se observan un desplazamiento hipsocrómico progresivo entre el 30% y el 70% de agua, seguido de un desplazamiento batocrómico progresivo entre el 70% y el 99% de agua. En THF/agua, se observa un ligero desplazamiento batocrómico de la banda de emisión entre el 40% y el 60% de agua, seguido de otro desplazamiento batocrómico más brusco entre el 80 y el 99% de agua.

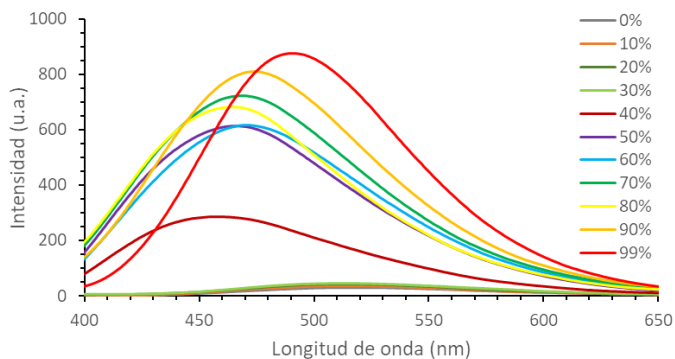


Figura 8.33. Espectros de emisión del compuesto **15** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

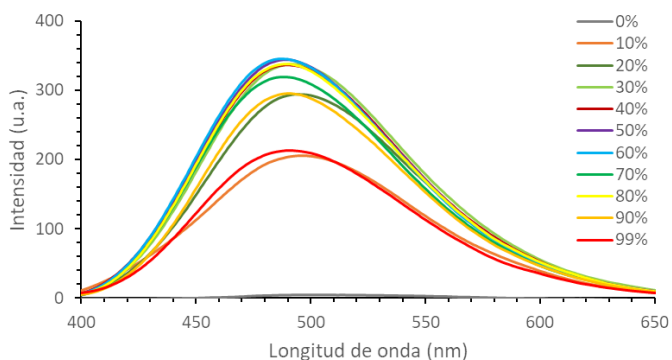


Figura 8.34. Espectros de emisión del compuesto **15** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

8.4.1.1 Medidas de rendimiento cuántico absoluto

Se determinaron los rendimientos cuánticos absolutos de los compuestos **4-7** y **15** en las mezclas THF/agua y MeOH/agua. También se registró el rendimiento cuántico absoluto de los compuestos en estado sólido.

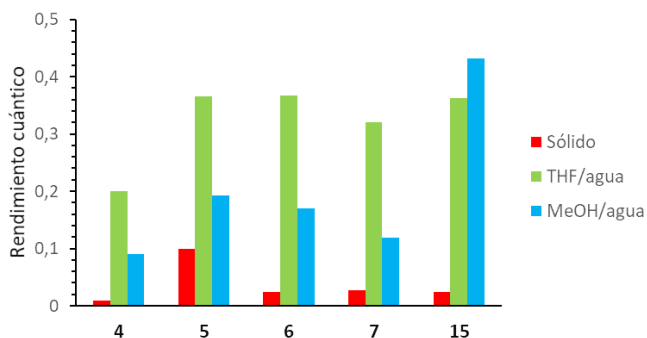


Figura 8.35. Rendimientos cuánticos absolutos de los compuestos **4**, **5**, **6**, **7** y **15** en estado sólido, en mezclas THF/agua y mezclas MeOH/agua. Se utilizaron las fracciones de agua que proporcionaban la máxima fluorescencia en cada compuesto (THF/agua: **4**, 90%; **5**, **6**, **7**, 80% y **15**, 99%. MeOH/agua: **4**, 90%; **5**, 70%; **6**, 60%; **7**, 40% y **15**, 60%)

En la figura 8.16 se puede observar que los compuestos **4-7** son casi el doble de fluorescentes en mezclas THF/agua que en mezclas MeOH/agua, mientras que el compuesto **15** muestra una fluorescencia máxima un 20% mayor en MeOH/agua que en THF/agua.

Por otro lado, la emisión máxima en THF/agua de los compuestos **5**, **6** y **15** es idéntica (0,36), la emisión de **7** es un 12% menor (0,32) y la de **4** un 45% menor (0,20). En MeOH, los compuestos **5** (0,19) y **6** (0,17) tienen rendimientos cuánticos similares, mientras que los compuestos **7** (0,12) y **4** (0,09) tiene rendimientos cuánticos más bajos. Sin embargo, el compuesto **15** destaca con una fluorescencia muy superior al resto en este solvente, con un rendimiento cuántico de 0,43.

En estado sólido, los compuestos apenas muestran fluorescencia, con rendimientos cuánticos en torno a 0,01-0,02; salvo el compuesto **5**, que destaca entre los demás con un rendimiento cuántico de 0,10.

8.4.2 Compuestos 9, 10, 16-18 y 20-22 en THF/agua y MeOH/agua

Se registraron los espectros de emisión de 96 soluciones 10 μM diferentes de los compuestos 9, 10, 16-18 y 20-22 en mezclas THF/agua y MeOH/agua. Se preparó una mezcla diferente para cada compuesto, fracción volumétrica de agua y disolvente orgánico. Las mezclas se prepararon a partir de soluciones madre 1 mM de cada compuesto en el disolvente orgánico (THF y MeOH) utilizado en cada caso. Al preparar las mezclas, primero se adicionó el disolvente orgánico, después la disolución madre del compuesto y finalmente, el agua desionizada. Los espectros se registraron excitando a 330 nm. La abertura de las rendijas de excitación y emisión del fluorímetro fue de 2,5 nm y 5 nm respectivamente.

Compuesto 9

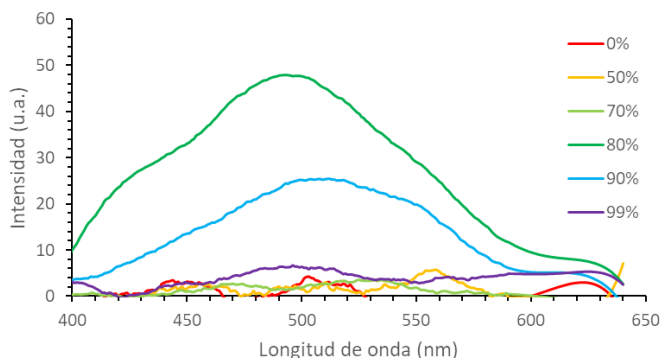


Figura 8.36. Espectros de emisión del compuesto 9 en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

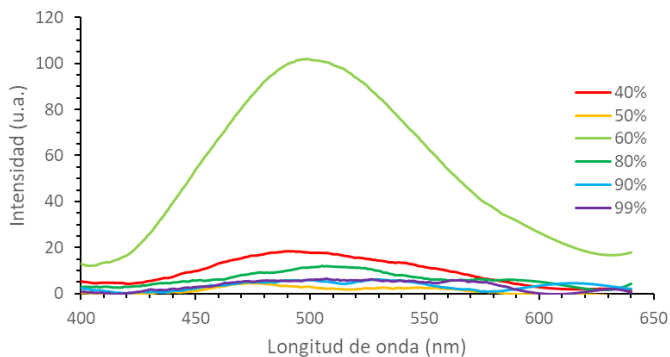


Figura 8.37. Espectros de emisión del compuesto **9** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

El compuesto **9** presenta una baja fluorescencia en las mezclas THF/agua 2:8 y 1:9, mientras que en el resto de mezclas es nula (figura 8.36). La banda de emisión se desplaza batocrómicamente al aumentar la fracción de agua (495 a 510 nm). En MeOH/agua, el compuesto no es fluorescente, salvo en la fracción 4:6, que emite sobre 500 nm (figura 8.37).

Compuesto 10

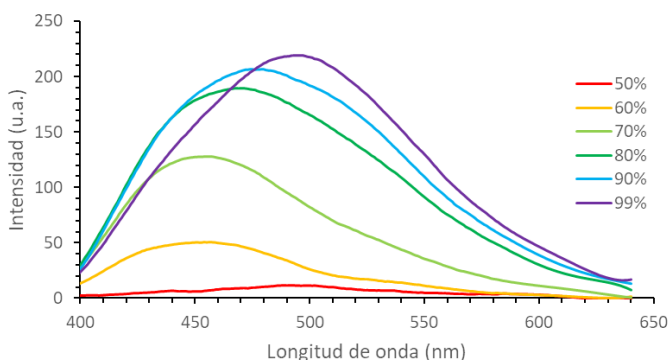


Figura 8.38. Espectros de emisión del compuesto **10** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

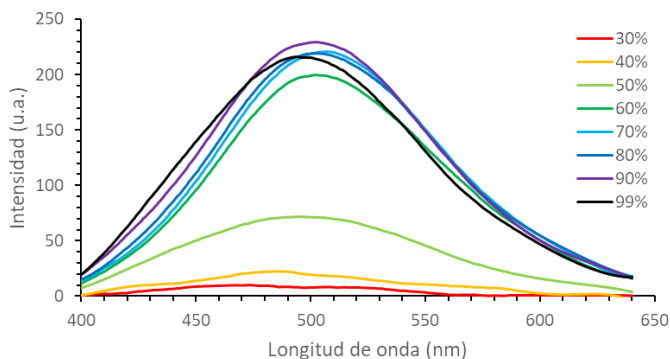


Figura 8.39. Espectros de emisión del compuesto **10** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Como se puede observar en las figuras 8.38 y 8.39, el compuesto **10** muestra una emisión mucho mayor que el compuesto **9**, tanto en mezclas THF/agua como MeOH/agua. En THF/agua, la fluorescencia se incrementa a partir de la mezcla 4:6 hasta la 1:99, acompañada de un desplazamiento progresivo de la banda de emisión desde 455 nm hasta 495 nm. En cambio, en MeOH/agua la fluorescencia se incrementa bruscamente entre la mezcla 4:6 y la 6:4, permaneciendo con una intensidad constante desde esa proporción hasta 1:99. Por otro lado, la banda de emisión permanece alrededor de 500 nm en todas las mezclas.

Compuesto 16

En mezclas THF/agua, el compuesto **16** solo emite en la proporción 1:99, con una banda centrada en 500 nm. En cambio, en MeOH/agua, exhibe un comportamiento prácticamente idéntico al del compuesto **10** (figuras 8.40 y 8.41).

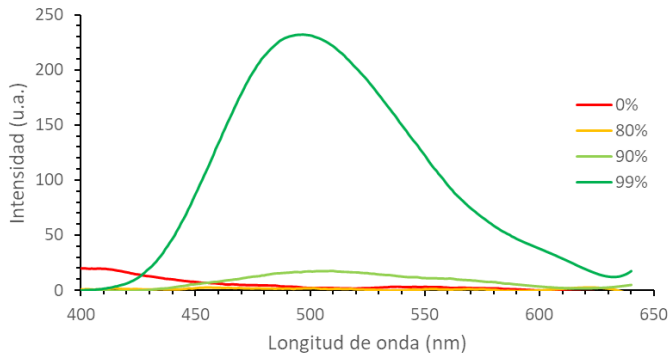


Figura 8.40. Espectros de emisión del compuesto **16** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

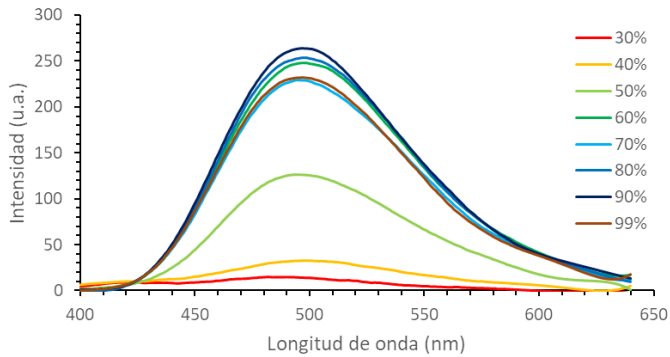


Figura 8.41. Espectros de emisión del compuesto **16** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Compuesto 17

Como se puede observar en las figuras 8.42 y 8.43, el compuesto **17** se comporta de igual manera que el compuesto **16** en todas las mezclas THF/agua y MeOH/agua estudiadas. Sin embargo, presenta una menor intensidad de emisión que el compuesto **16** en todas las mezclas estudiadas.

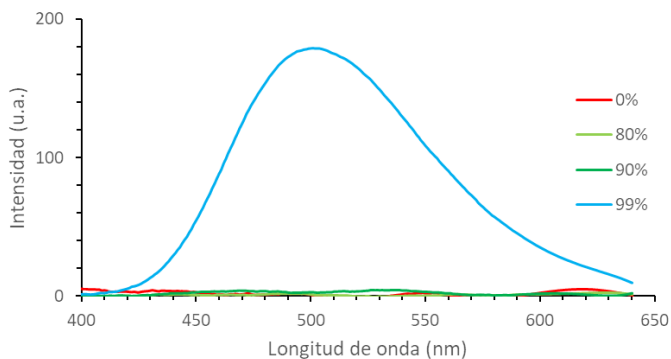


Figura 8.42. Espectros de emisión del compuesto **17** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

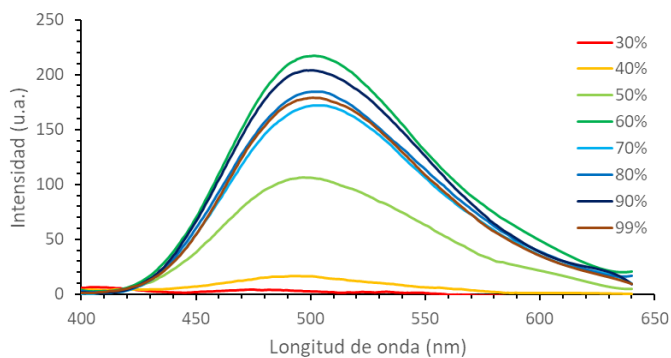


Figura 8.43. Espectros de emisión del compuesto **17** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Compuesto 18

El compuesto **18** muestra una fluorescencia mucho menor que los compuestos **16** y **17** (figuras 8.44 y 8.45) y un comportamiento similar a estos. También se observa que, en las mezclas MeOH/agua, la intensidad de la emisión aumenta desde el 30% hasta el 50% de agua, pero vuelve a descender cuando se incrementa la proporción de agua desde el 70 al 99%.

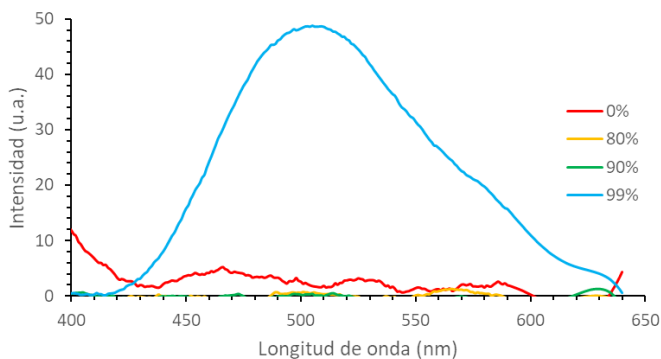


Figura 8.44. Espectros de emisión del compuesto **18** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

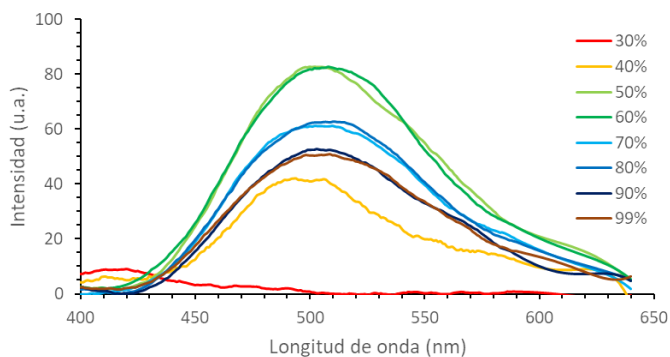


Figura 8.45. Espectros de emisión del compuesto **18** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Compuesto 20

Las figuras 8.46 y 8.47 muestran que el compuesto **20** emite el doble en THF/agua 1:99 y en mezclas MeOH/agua entre el 60 y el 99% de agua, y 9 veces más en THF/agua 1:9 que el compuesto **16**. Aparte de eso, el comportamiento al variar la fracción de agua es muy similar al de dicho compuesto.

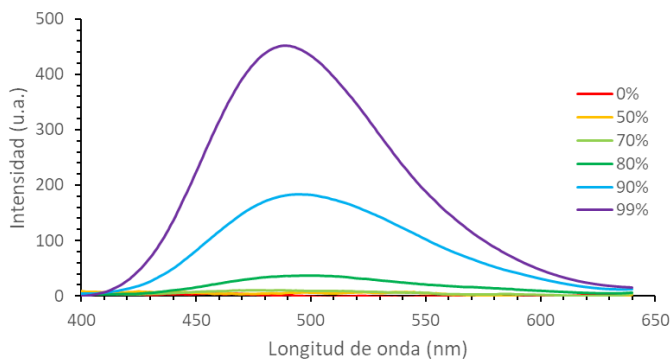


Figura 8.46. Espectros de emisión del compuesto 20 en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

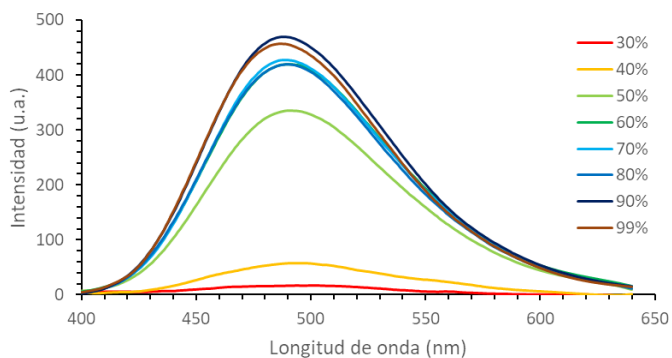


Figura 8.47. Espectros de emisión del compuesto 20 en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Compuesto 21

En THF/agua, el compuesto 21 muestra un comportamiento similar al compuesto 17, emitiendo fuertemente en la proporción 1:99, con un 40% más de intensidad (figura 8.48). En MeOH también se ve incrementada su emisión para cada mezcla, además de observarse un paulatino incremento de la misma hasta el 99% de agua, después del aumento brusco entre el 40 y el 50% de agua (figura 8.49).

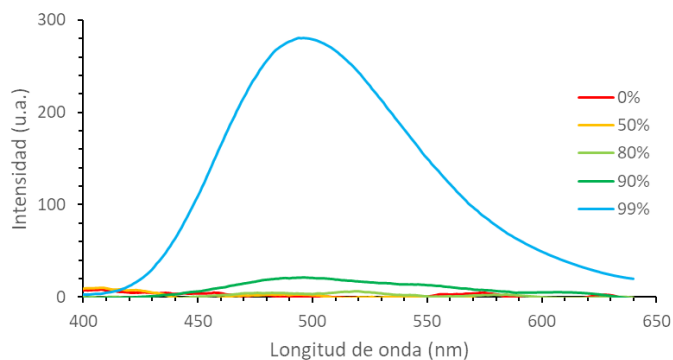


Figura 8.48. Espectros de emisión del compuesto **21** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

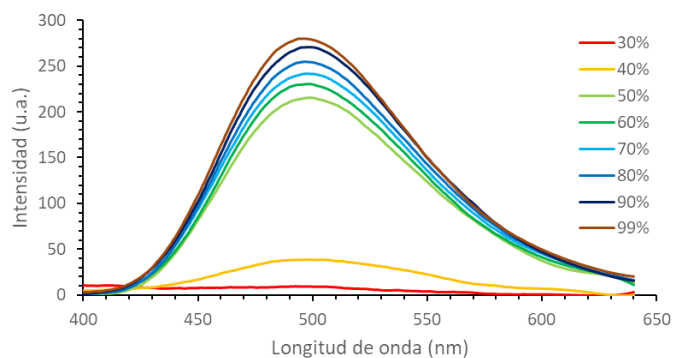


Figura 8.49. Espectros de emisión del compuesto **21** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

Compuesto 22

Finalmente, las figuras 8.50 muestra que el comportamiento del compuesto **22** es similar al del compuesto **18**, pero con el doble de intensidad en el caso de la mezcla THF/agua 1:99. En las mezclas MeOH/agua, este compuesto no experimenta el descenso tan acusado de la emisión de **18** entre el 70 y el 90% de agua, por lo que posee mayor fluorescencia en ese intervalo (figura 8.51).

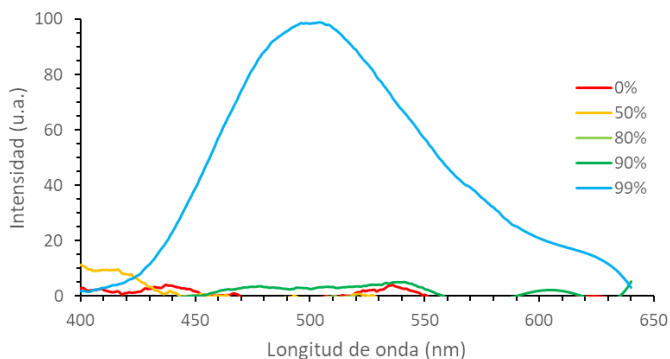


Figura 8.50. Espectros de emisión del compuesto **22** en mezclas THF/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

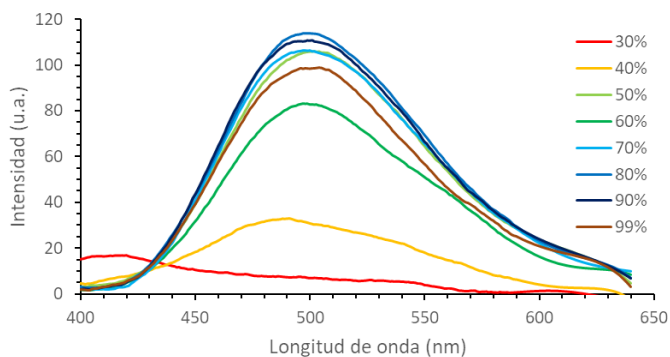


Figura 8.51. Espectros de emisión del compuesto **22** en mezclas MeOH/agua con diferente fracción volumétrica de agua.

8.4.3 Compuesto 36 con bioaminas alifáticas

Se registraron los espectros de emisión de ocho disoluciones 100 μ M del compuesto **36** en MeCN en presencia de 0,1 y 1 equivalentes de putrescina, cadaverina, espermidina y espermina. Los espectros se registraron excitando a 340 nm (a excepción de la de 0,1 equiv. de putrescina) y la abertura rendijas de excitación y emisión del fluorímetro fue de 5 nm.

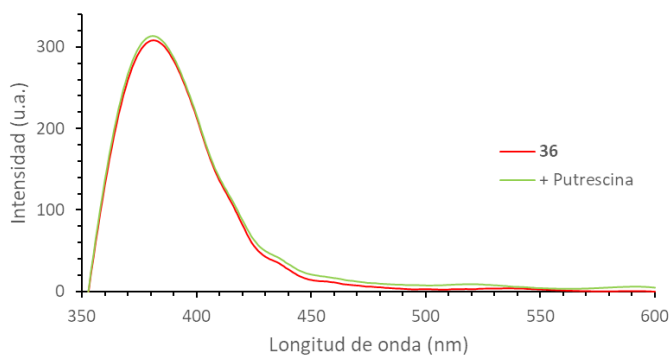


Figura 8.52. Espectros de fluorescencia del compuesto **36** ($100 \mu\text{M}$ en MeCN, $\lambda_{\text{ex}} = 260 \text{ nm}$) solo y en presencia de 0,1 equiv. de putrescina.

El compuesto **36** (figuras 6.23, 6.24 y 6.25) muestra una única banda de emisión centrada a 385 nm, excitando tanto a 260 como 340 nm. Sin embargo, en este último caso su intensidad es bastante menor. Con 0,1 equivalentes, tan solo la espermidina y la espermina son capaces de producir cambios en la emisión del sistema. Con un equivalente, todas las aminas estudiadas producen un gran aumento de la fluorescencia del sistema.

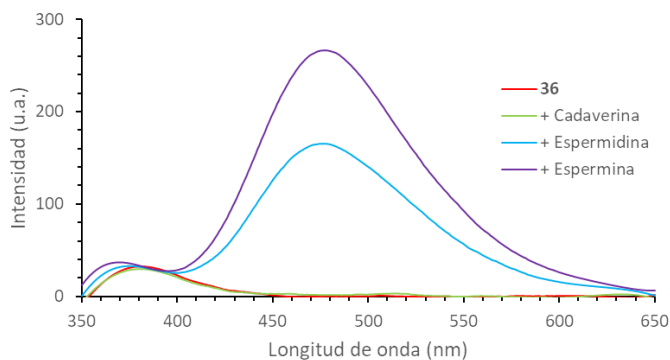


Figura 8.53. Espectros de fluorescencia del compuesto **36** ($100 \mu\text{M}$ en MeCN, $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$) solo y en presencia de un equiv. de varias bioaminas alifáticas.

Todos los espectros de emisión del compuesto **36** en presencia de un equivalente de amina biógena constan de una pequeña banda sobre 365 nm y de una gran banda ancha centrada en 478 nm.

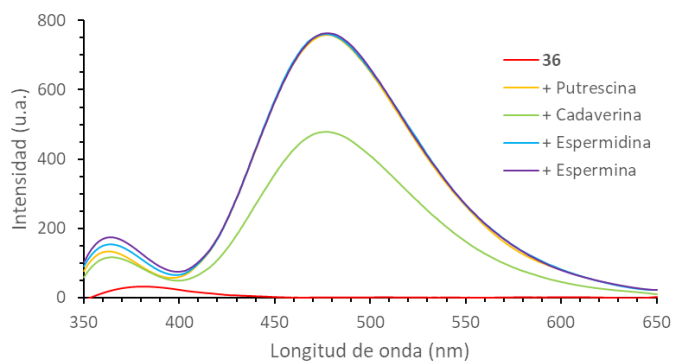


Figura 8.54. Espectros de fluorescencia del compuesto **36** (100 μM en MeCN, λ_{ex} = 340 nm) solo y en presencia de un equiv. de varias bioaminas alifáticas.

Bibliografía

- 1 D. Wu, A. C. Sedgwick, T. Gunnlaugsson, E. U. Akkaya, J. Yoon y T. D. James, *Chem. Soc. Rev.*, 2017, **46**, 7105-7123.
- 2 C. Caltagirone, A. Bencini, F. Demartin, F. A. Devillanova, A. Garau, F. Isaia, V. Lippolis, P. Mariani, U. Papke, L. Tei y G. Verani, *Dalt. Trans.*, 2003, **79**, 901-909.
- 3 T. L. Delaney, D. Zimin, M. Rahm, D. Weiss, O. S. Wolfbeis y V. M. Mirsky, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 3220-3225.
- 4 P. D. Jawale Patil, R. D. Ingle, S. M. Wagalgave, R. S. Bhosale, S. V. Bhosale, R. P. Pawar y S. V. Bhosale, *Chemosensors*, 2019, **7**, 38.
- 5 Z. Xu, X. Chen, H. N. Kim y J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 127-137.
- 6 D. H. Vance y A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 9397-9398.
- 7 K. M. Orcutt, W. S. Jones, A. McDonald, D. Schrock y K. J. Wallace, *Sensors*, 2010, **10**, 1326-1337.
- 8 C. R. Nicoletti, L. G. Nandi y V. G. Machado, *Anal. Chem.*, 2015, **87**, 362-366.
- 9 Q. Wang, Z. Li, D.-D. Tao, Q. Zhang, P. Zhang, D.-P. Guo y Y.-B. Jiang, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 12929-12939.
- 10 A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher y T. E. Rice, *Chem. Rev.*, 1997, **97**, 1515-1566.
- 11 J. Wu, B. Kwon, W. Liu, E. V. Anslyn, P. Wang y J. S. Kim, *Chem. Rev.*, 2015, **115**, 7893-7943.
- 12 A. J. Bryan, A. P. de Silva, S. A. De Silva, R. A. D. D. Rupasinghe y K. R. A. S. Sandanayake, *Biosensors*, 1989, **4**, 169-179.
- 13 Y. Hong, J. W. Y. Lam y B. Z. Tang, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 5361.
- 14 Y. Hong, J. W. Y. Lam y B. Z. Tang, *Chem. Commun. (Camb.)*, 2009, 4332-4353.
- 15 J. Huang, Q. Li y Z. Li, en *Aggregation-Induced Emission: Fundamentals*, eds. A. Qin y B. Z. Tang, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, 2013, pp. 127-153.
- 16 A. Pucci, R. Rausa y F. Ciardelli, *Macromol. Chem. Phys.*, 2008, **209**, 900-906.
- 17 J. Chen y B. Z. Tang, en *Aggregation-Induced Emission: Fundamentals*, eds. A. Qin y B. Z. Tang, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, 2013, pp. 307-322.

- 18 J. Chen, C. C. W. Law, J. W. Y. Lam, Y. Dong, S. M. F. Lo, I. D. Williams, D. Zhu y B. Z. Tang, *Chem. Mater.*, 2003, **15**, 1535-1546.
- 19 C.-W. Lin y C.-T. Chen, en *Aggregation-Induced Emission: Applications*, eds. A. Qin y B. Z. Tang, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, 2013, pp. 1-41.
- 20 W. Z. Yuan, Y. Zhang y B. Z. Tang, en *Aggregation-Induced Emission: Applications*, eds. A. Qin y B. Z. Tang, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, 2013, pp. 43-60.
- 21 Z. Chi y J. Xu, en *Aggregation-Induced Emission: Applications*, eds. A. Qin y B. Z. Tang, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, 2013, pp. 61-86.
- 22 Y. Zheng, en *Aggregation-Induced Emission: Applications*, eds. A. Qin y B. Z. Tang, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, 2013, pp. 87-106.
- 23 Y. Hong, J. W. Y. Lam y B. Z. Tang, en *Aggregation-Induced Emission: Applications*, eds. A. Qin y B. Z. Tang, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, United Kingdom, 2013, pp. 259-274.
- 24 K. Han y B.-K. Cho, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 9510-9517.
- 25 A. M. Deobald, L. R. S. Camargo, D. Alves, J. Zukerman-Schpector, A. G. Corrêa y M. W. Paixão, *Synthesis (Stuttg.)*, 2011, 4003-4010.
- 26 J. H. Gorvin, *J. Chem. Soc.*, 1959, 678.
- 27 A. Nose y T. Kudo, *Chem. Pharm. Bull.*, 1981, **29**, 1159-1161.
- 28 S. Xu, X. Zhuang, X. Pan, Z. Zhang, L. Duan, Y. Liu, L. Zhang, X. Ren y K. Ding, *J. Med. Chem.*, 2013, **56**, 4631-4640.
- 29 V. S. Vyas, M. Banerjee y R. Rathore, *Tetrahedron Lett.*, 2009, **50**, 6159-6162.
- 30 V. S. Vyas y R. Rathore, *Chem. Commun.*, 2010, **46**, 1065.
- 31 I. E. Valverde, A. F. Delmas y V. Aucagne, *Tetrahedron*, 2009, **65**, 7597-7602.
- 32 M. Sohail, R. De Marco, Zdeňka Jarolímová, M. Pawlak, E. Bakker, N. He, R. M. Latonen, T. Lindfors y J. Bobacka, *Langmuir*, 2015, **31**, 10599-10609.
- 33 S.-B. Han, H.-J. Kim, D. Jung, J. Kim, B.-K. Cho y S. Cho, *J. Phys. Chem. C*, 2015, **119**, 16223-16229.
- 34 L. T. Murray, *Curr. Pollut. Reports*, 2016, **2**, 115-133.

- 35 H. Omidvarborna, A. Kumar y D.-S. Kim, *Fuel Process. Technol.*, 2015, **140**, 113-118.
- 36 E. Samoli, E. Aga, G. Touloumi, K. Nisiotis, B. Forsberg, A. Lefranc, J. Pekkanen, B. Wojtyniak, C. Schindler, E. Niclu, R. Brunstein, M. D. Fikfak, J. Schwartz y K. Katsouyanni, *Eur. Respir. J.*, 2006, **27**, 1129-1137.
- 37 R. G. Knowles y S. Moncada, *Biochem. J.*, 1994, **298**, 249-258.
- 38 S. J. Green, S. Mellouk, S. L. Hoffman, M. S. Meltzer y C. A. Nacy, *Immunol. Lett.*, 1990, **25**, 15-19.
- 39 E. Culotta y D. Koshland, *Science*, 1992, **258**, 1862-1865.
- 40 G. M. Halliday y S. N. Byrne, *J. Invest. Dermatol.*, 2014, **134**, 1791-1794.
- 41 D. McGrowder, D. Ragoobirsingh y P. Brown, *Int. J. Pharmacol.*, 2006, **2**, 366-373.
- 42 A. Bernasconi y M. Beghetti, *Images Paediatr. Cardiol.*, 2002, **4**, 4-29.
- 43 P. Thérèse, *Paediatr. Respir. Rev.*, 2006, **7**, S175-S176.
- 44 A. Peliowski y Fetus and Newborn Committee, Canadian Paediatric Society, *Paediatr. Child Health*, 2012, **17**, 95-100.
- 45 Committee on Fetus and Newborn, American Academy of Pediatrics, *Pediatrics*, 2000, **106**, 344-345.
- 46 A. Martí, A. M. Costero, P. Gaviña y M. Parra, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 3077-3079.
- 47 L. A. Juárez, A. Barba-Bon, A. M. Costero, R. Martínez-Máñez, F. Sancenón, M. Parra, P. Gaviña, M. C. Terencio y M. J. Alcaraz, *Chem. - A Eur. J.*, 2015, **21**, 15486-15490.
- 48 A. Kalita, V. Kumar y B. Mondal, *Inorganica Chim. Acta*, 2015, **430**, 55-60.
- 49 K. Balaraman y V. Kesavan, *Synthesis*, 2010, 3461-3466.
- 50 M. D. Lim, I. M. Lorković y P. C. Ford, en *Methods in Enzymology, Nitric Oxide: Part E*, eds. E. Cadenas y L. Packer, Academic Press, 1.ª edn., 2005, vol. 396, pp. 3-17.
- 51 C. D. Hein, X.-M. Liu y D. Wang, *Pharm. Res.*, 2008, **25**, 2216-2230.
- 52 W. S. Horne, C. D. Stout y M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 9372-9376.
- 53 S. C. Barman, N. Kumar, R. Singh, G. C. Kisku, A. H. Khan, M. M. Kidwai, R. C. Murthy, M. P. S. Negi, P. Pandey, A. K. Verma, G. Jain y S. K. Bhargava, *J. Environ. Biol.*, 2010, **31**, 913-920.

- 54 J. L. Devalia, A. M. Campbell, R. J. Sapsford, C. Rusznak, D. Quint, P. Godard, J. Bousquet y R. J. Davies, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1993, **9**, 271-278.
- 55 C. Zhang, Y. Luo, J. Xu y M. Debliquy, *Sensors Actuators A Phys.*, 2019, **289**, 118-133.
- 56 H. Li, W. Shi, J. Song, H.-J. Jang, J. Dailey, J. Yu y H. E. Katz, *Chem. Rev.*, 2019, **119**, 3-35.
- 57 L. A. Juárez, A. M. Costero, M. Parra, S. Gil, F. Sancenón y R. Martínez-Máñez, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 1725-1727.
- 58 L. A. Juárez, A. M. Costero, M. Parra, S. Gil, J. Ródenas, F. Sancenón y R. Martínez-Máñez, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 43719-43723.
- 59 L. A. Juárez, A. M. Costero, M. Parra, P. Gaviña y S. Gil, *Chem. - A Eur. J.*, 2016, **22**, 8448-8451.
- 60 L. Alberto Juárez, A. M. Costero, M. Parra, P. Gaviña, S. Gil, R. Martínez-Máñez y F. Sancenón, *Chem. Commun.*, 2017, **53**, 585-588.
- 61 M. Reist, P. Jenner y B. Halliwell, *FEBS Lett.*, 1998, **423**, 231-234.
- 62 N. Sang, Y. Yun, H. Li, L. Hou, M. Han y G. Li, *Toxicol. Sci.*, 2010, **114**, 226-236.
- 63 M. Khan, M. Rao y Q. Li, *Sensors*, 2019, **19**, 905.
- 64 M. Albrecht, R. A. Gossage, M. Lutz, A. L. Spek y G. van Koten, *Chem. - A Eur. J.*, 2000, **6**, 1431-1445.
- 65 M. Gómez, E. G. Pérez, V. Arancibia, C. Iribarren, C. Bravo-Díaz, O. García-Beltrán y M. E. Aliaga, *Sensors Actuators B Chem.*, 2017, **238**, 578-587.
- 66 J. Li, R. Li y Z. Meng, *Eur. J. Pharmacol.*, 2010, **645**, 143-150.
- 67 X.-B. Wang, X.-M. Huang, T. Ochs, X.-Y. Li, H.-F. Jin, C.-S. Tang y J.-B. Du, *Basic Res. Cardiol.*, 2011, **106**, 865-878.
- 68 K. K. Sun, D. B. Zhu, G. F. Yao, K. D. Hu y H. Zhang, *Biol. Plant.*, 2018, **62**, 809-816.
- 69 J. Liu, Y. Huang, S. Chen, C. Tang, H. Jin y J. Du, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2016, **2016**, 1-8.
- 70 K. Liu, Y. Chen, H. Sun, S. Wang y F. Kong, *J. Mater. Chem. B*, 2018, **6**, 7060-7065.
- 71 C. Chatterjee y A. Sen, *J. Mater. Chem. A*, 2015, **3**, 5642-5647.
- 72 R. J. Mortimer, *Chem. Soc. Rev.*, 1997, **26**, 147.

- 73 C. L. Bird y A. T. Kuhn, *Chem. Soc. Rev.*, 1981, **10**, 49.
- 74 P. R. Somani y S. Radhakrishnan, *Mater. Chem. Phys.*, 2003, **77**, 117-133.
- 75 J. M. Wang, X. W. Sun y Z. Jiao, *Materials (Basel)*, 2010, **3**, 5029-5053.
- 76 T. Jarosz, K. Gebka, A. Stolarczyk y W. Domagala, *Polymers (Basel)*, 2019, **11**, 273.
- 77 S. Hünig, M. Kemmer, H. Wenner, I. F. Perepichka, P. Bäuerle, A. Emge y G. Gescheid, *Chem. - A Eur. J.*, 1999, **5**, 1969-1973.
- 78 S. Hünig, M. Kemmer, H. Wenner, F. Barbosa, G. Gescheidt, I. F. Perepichka, P. Bäuerle, A. Emge y K. Peters, *Chem. - A Eur. J.*, 2000, **6**, 2618-2632.
- 79 Q. Lu, C. Yang, X. Qiao, X. Zhang, W. Cai, Y. Chen, Y. Wang, W. Zhang, X. Lin, H. Niu y W. Wang, *Dye. Pigment.*, 2019, **166**, 340-349.
- 80 R. Wizinger, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft (A B Ser.)*, 1927, **60**, 1377-1389.
- 81 A. Doménech, A. M. Costero, M. Bañuls y M. Aurell, *Electrochem. commun.*, 2004, **6**, 908-912.
- 82 A. M. Costero, M. J. Bañuls, M. J. Aurell y A. Doménech, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 11972-11978.
- 83 D. H. Anderson, R. M. Eloffson, H. S. Gutowsky, S. Levine y R. B. Sandin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, **83**, 3157-3158.
- 84 J. Li, Y. Zhang, J. Mei, J. W. Y. Lam, J. Hao y B. Z. Tang, *Chem. - A Eur. J.*, 2015, **21**, 907-914.
- 85 E. Monrabal, Universitat de València, 1999.
- 86 A. S. Dutton, J. M. Fukuto y K. N. Houk, *Inorg. Chem.*, 2005, **44**, 4024-4028.
- 87 D. M. Graham y R. B. Mesrobian, *Can. J. Chem.*, 1963, **41**, 2938-2944.
- 88 F. J. Van Der Ouderaa, M. Buytenhek, D. H. Nugteren y D. A. Van Dorp, *Biochim. Biophys. Acta - Lipids Lipid Metab.*, 1977, **487**, 315-331.
- 89 W. E. Byrd, *Inorg. Chem.*, 1962, **1**, 762-768.
- 90 A. V. Leontiev y D. M. Rudkevich, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 14126-14127.
- 91 B. Islik-Yürüksoy y O. Güven, *J. Macromol. Sci. Part A*, 1996, **33**, 1653-1661.
- 92 D. T. Sawyer, G. Chiericato, C. T. Angelis, E. J. Nanni y T. Tsuchiya,

- Anal. Chem.*, 1982, **54**, 1720-1724.
- 93 P. Cofre y D. T. Sawyer, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 1057-1062.
- 94 A. Doménech-Carbó, M. Martini, L. M. de Carvalho y M. T. Doménech-Carbó, *J. Electroanal. Chem.*, 2012, **684**, 13-19.
- 95 F. Kuang, D. Zhang, Y. Li, Y. Wan y B. Hou, *J. Solid State Electrochem.*, 2009, **13**, 385-390.
- 96 P. S. Singh y D. H. Evans, *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**, 637-644.
- 97 G. Preti, J. N. Labows, J. G. Kostelc, S. Aldinger y R. Daniele, *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 1988, **432**, 1-11.
- 98 M. L. Simenhoff, J. F. Burke, J. J. Saukkonen, A. T. Ordinario, R. Doty y S. Dunn, *N. Engl. J. Med.*, 1977, **297**, 132-135.
- 99 H. M. Wallace y R. Caslake, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2001, **13**, 1033-1039.
- 100 J. Levêque, J. Levêque, F. Foucher, J.-Y. Bansard, R. Havouis, J.-Y. Grall y J.-P. Moulinoux, *Breast Cancer Res. Treat.*, 2000, **60**, 99-105.
- 101 C. X. Xu, S. A. M. Marzouk, V. V. Cosofret, R. P. Buck, M. R. Neuman y R. H. Sprinkle, *Talanta*, 1997, **44**, 1625-1632.
- 102 M. Al Banchaabouchi, B. Marescau, R. D'Hooge, S. Engelborghs y P. P. De Deyn, *Amino Acids*, 2000, **18**, 265-277.
- 103 S. Kubota, M. Okada, K. Imahori y N. Ohsawa, *Cancer Res.*, 1983, **43**, 2363-7.
- 104 R. Chanda y A. K. Ganguly, *Cancer Lett.*, 1995, **89**, 23-28.
- 105 A. E. Stuart, *Neuron*, 1999, **22**, 431-433.
- 106 E. H. Jacobs, A. Yamatodani y H. Timmerman, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2000, **21**, 293-298.
- 107 F. Calbiani, M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, L. Pistarà y I. Zagnoni, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 3779-3783.
- 108 J. M. Landete, S. Ferrer, L. Polo y I. Pardo, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 1119-1124.
- 109 E. K. Paleologos y M. G. Kontominas, *Anal. Chem.*, 2004, **76**, 1289-1294.
- 110 M. H. S. Santos, *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **29**, 213-231.
- 111 B. ten Brink, C. Damink, H. M. L. J. Joosten y J. H. J. Huis in 't Veld, *Int. J. Food Microbiol.*, 1990, **11**, 73-84.
- 112 T. A. Smith, *Food Chem.*, 1981, **6**, 169-200.

- 113 M.-K. Kim, J.-H. Mah y H.-J. Hwang, *Food Chem.*, 2009, **116**, 87-95.
- 114 A. K. Anderson, *Food Chem.*, 2008, **107**, 761-767.
- 115 R. A. Casero y P. M. Woster, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 1-26.
- 116 M. C. F. de Mello, R. Guerra-Peixe y F. G. de Mello, *Neurochem. Int.*, 1993, **22**, 249-253.
- 117 T. L. Perry, K. Berry, S. Hansen, S. Diamond y C. Mok, *J. Neurochem.*, 1971, **18**, 513-519.
- 118 S. Fahn y L. J. Côte, *J. Neurochem.*, 1968, **15**, 209-213.
- 119 J.-P. Moulinoux, V. Quemener, J.-G. Delcros y B. Cipolla, en *Polyamines in cancer: Basic Mechanisms and Clinical Approaches*, ed. K. Nishioka, Springer, New York, 1996, pp. 233-249.
- 120 B. A. Bartholomew, P. R. Berry, J. C. Rodhouse, R. J. Gilbert y C. K. Murray, *Epidemiol. Infect.*, 1987, **99**, 775-782.
- 121 B. J. Venton y R. M. Wightman, *Anal. Chem.*, 2003, **75**, 414 A-421 A.
- 122 R. M. Wightman, L. J. May y A. C. Michael, *Anal. Chem.*, 1988, **60**, 769A-793A.
- 123 K. P. Troyer, M. L. A. . Heien, B. J. Venton y R. M. Wightman, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2002, **6**, 696-703.
- 124 M. L. A. V. Heien, A. S. Khan, J. L. Ariansen, J. F. Cheer, P. E. M. Phillips, K. M. Wassum y R. M. Wightman, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2005, **102**, 10023-10028.
- 125 P. E. M. Phillips, G. D. Stuber, M. L. A. V. Heien, R. M. Wightman y R. M. Carelli, *Nature*, 2003, **422**, 614-618.
- 126 H.-F. Cui, J.-S. Ye, Y. Chen, S.-C. Chong y F.-S. Sheu, *Anal. Chem.*, 2006, **78**, 6347-6355.
- 127 R. A. Clarke, H. J. Schirra, J. W. Catto, M. F. Lavin y R. A. Gardiner, *Cancers (Basel)*, 2010, **2**, 1125-1154.
- 128 M. van der Graaf, R. G. Schipper, G. O. N. Oosterhof, J. A. Schalken, A. A. J. Verhofstad y A. Heerschap, *Magn. Reson. Mater. Physics, Biol. Med.*, 2000, **10**, 153-159.
- 129 K. E. Secor y T. E. Glass, *Org. Lett.*, 2004, **6**, 3727-3730.
- 130 X. Liu, M. Tian, W. Gao y J. Zhao, *J. Anal. Methods Chem.*, 2019, **2019**, 1-7.
- 131 X. Tan, X. Liu, W. Zeng, Z. Zhang, T. Huang, L. Yu y G. Zhao, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2019, **221**, 117176.

- 132 N. Jornet-Martínez, M. González-Béjar, Y. Moliner-Martínez, P. Campíns-Falcó y J. Pérez-Prieto, *Anal. Chem.*, 2014, **86**, 1347-1351.
- 133 S. Chopra, A. Singh, P. Venugopalan, N. Singh y N. Kaur, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2017, **5**, 1287-1296.
- 134 B. Kong, A. Zhu, Y. Luo, Y. Tian, Y. Yu y G. Shi, *Angew. Chemie*, 2011, **123**, 1877-1880.
- 135 B. Lee, W. Sun, H. Lee, H. Basavarajappa, R. S. Sulaiman, K. Sishtla, X. Fei, T. W. Corson y S.-Y. Seo, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2016, **26**, 4277-4281.
- 136 B. Li, M. Berliner, R. Buzon, C. K. F. Chiu, S. T. Colgan, T. Kaneko, N. Keene, W. Kissel, T. Le, K. R. Leeman, B. Marquez, R. Morris, L. Newell, S. Wunderwald, M. Witt, J. Weaver, Z. Zhang y Z. Zhang, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 9045-9050.
- 137 J. A. Greenberg y T. Sammakia, *J. Org. Chem.*, 2017, **82**, 3245-3251.
- 138 M. V. Ramakrishnam Raju y H.-C. Lin, *Org. Lett.*, 2014, **16**, 5564-5567.
- 139 Y. Ma, Y. Zeng, H. Liang, C.-L. Ho, Q. Zhao, W. Huang y W.-Y. Wong, *J. Mater. Chem. C*, 2015, **3**, 11850-11856.
- 140 C. Shao, X. Wang, Q. Zhang, S. Luo, J. Zhao y Y. Hu, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 6832-6836.

**QUIMIOSENSORES Y QUIMIODOSÍMETROS
PARA LA DETECCIÓN DE
NEUROTRANSMISORES**

Espectros de resonancia magnética nuclear

Material suplementario de la Tesis Doctoral

Presentada por:

Samuel Adrián Ceballos Fernández

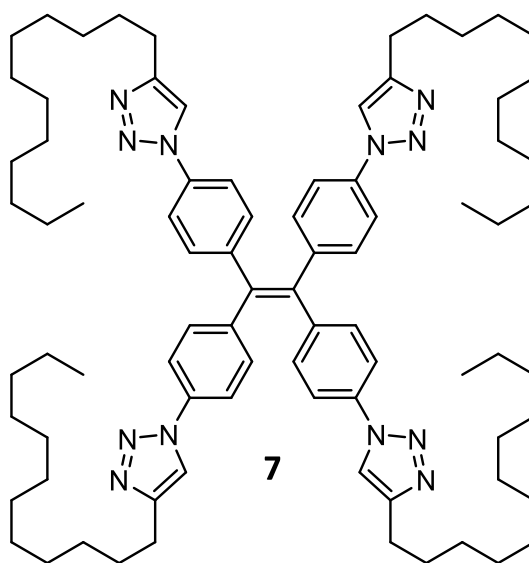
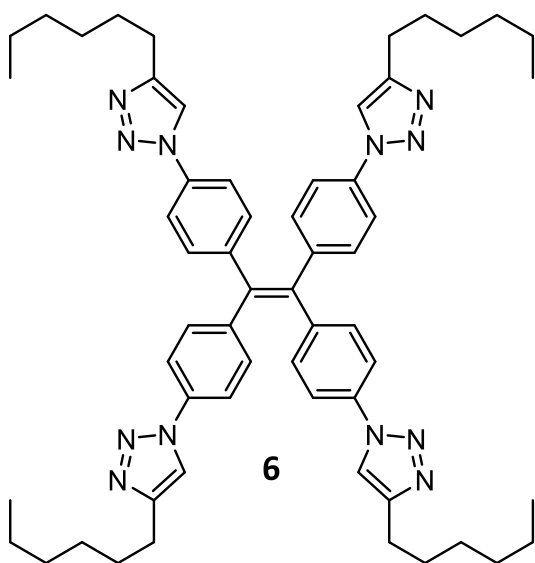
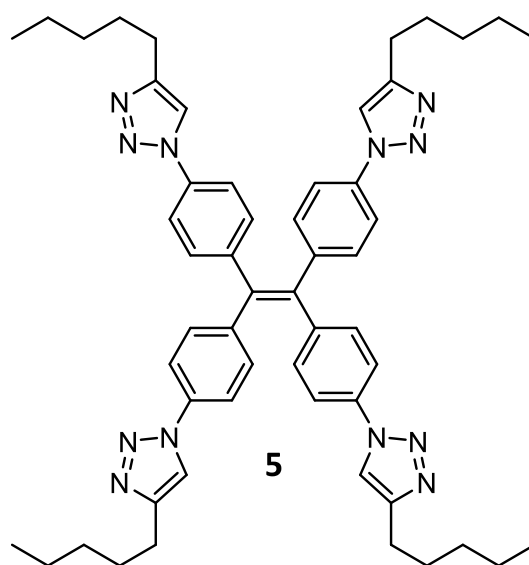
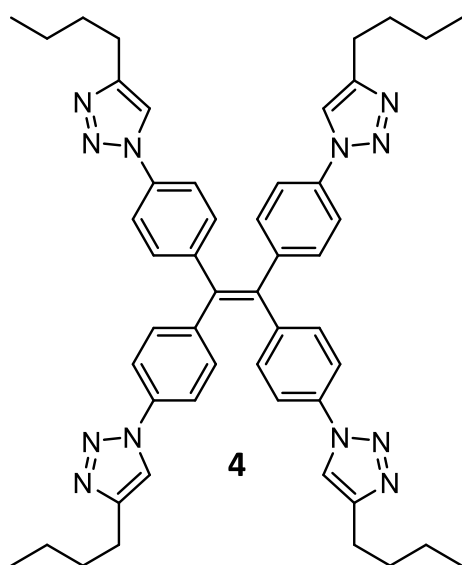
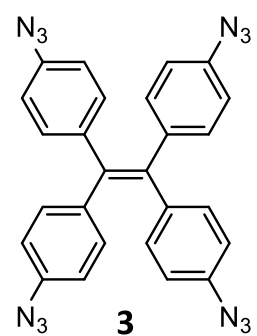
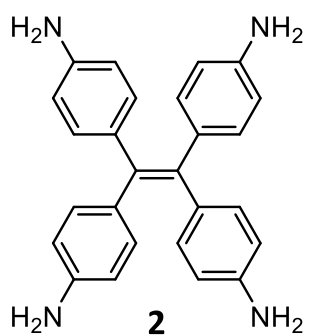
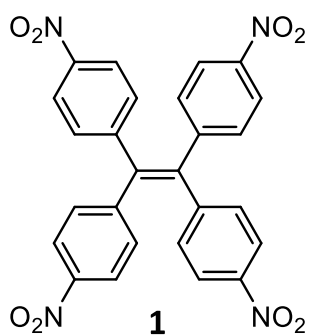
Dirigida por:

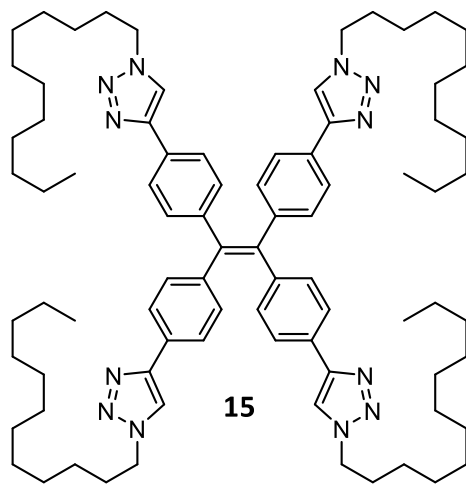
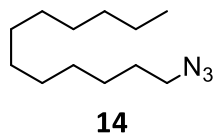
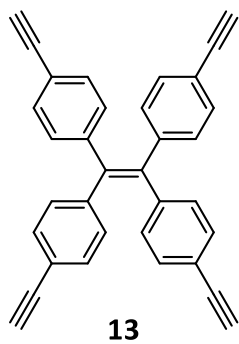
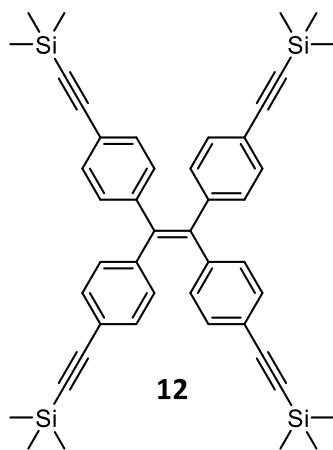
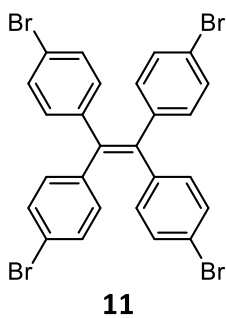
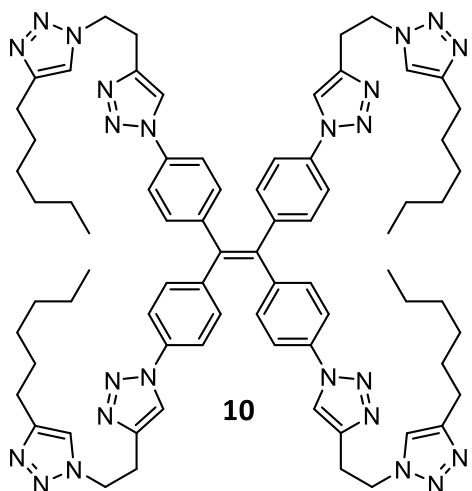
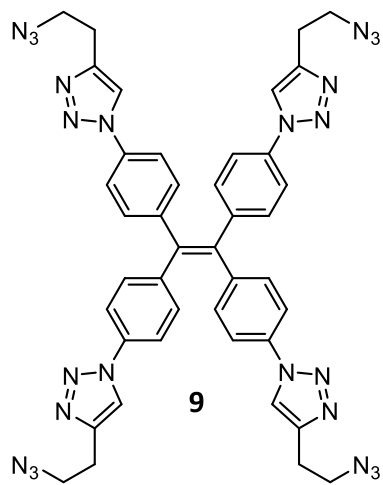
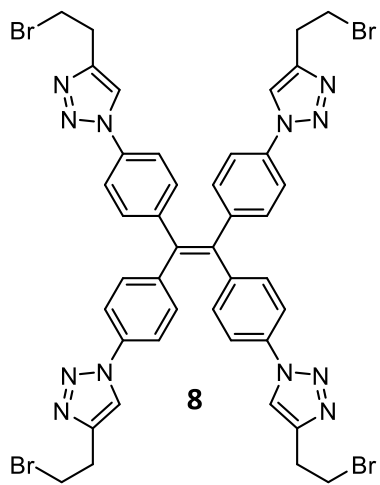
Prof. Ana M^a Costero Nieto

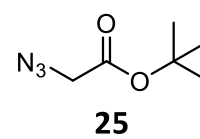
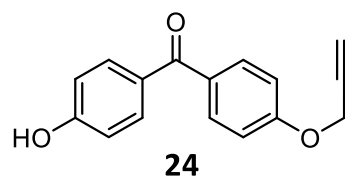
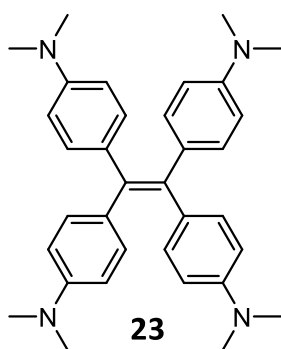
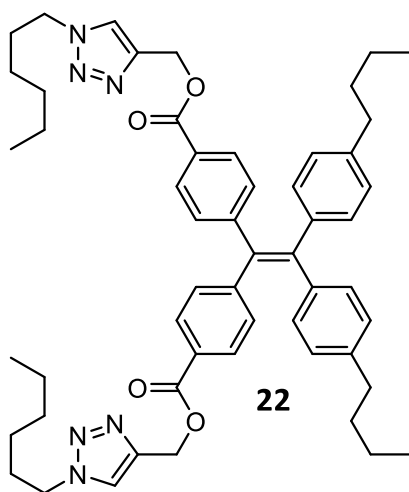
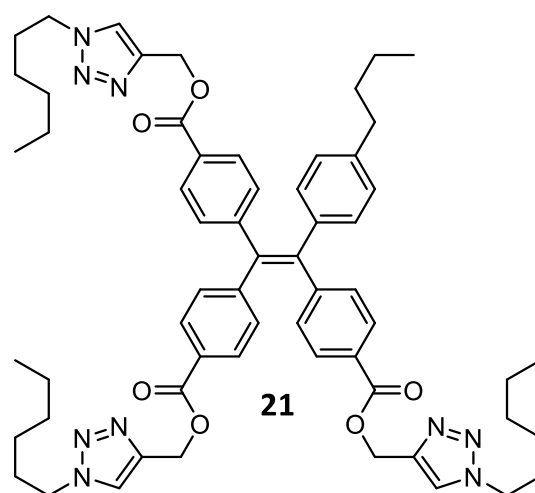
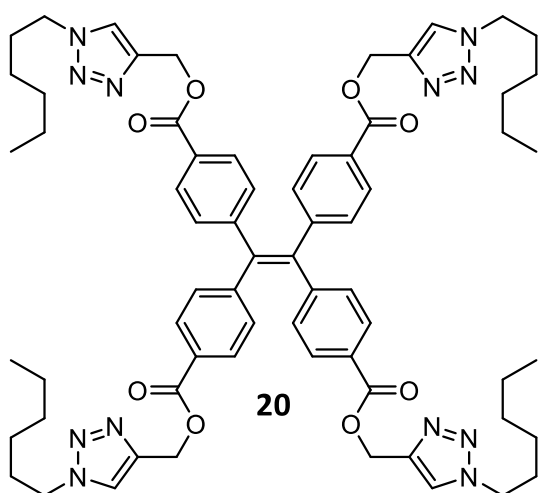
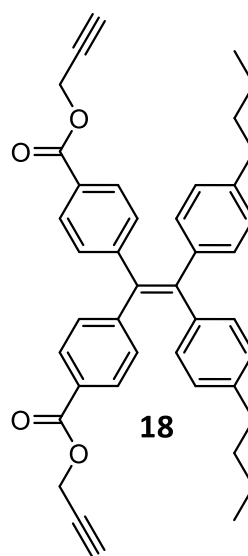
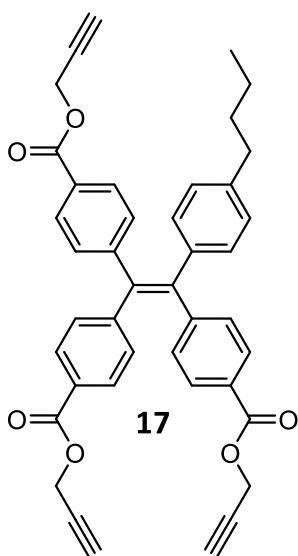
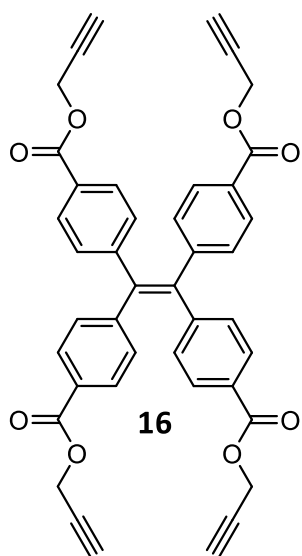
Prof. Salvador Gil Grau

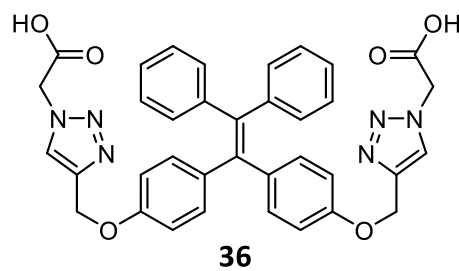
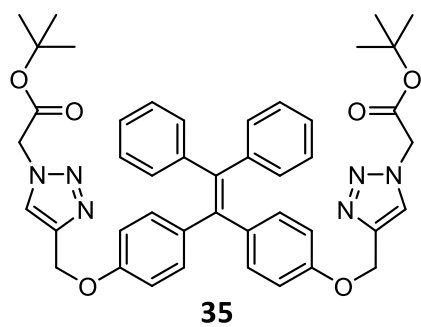
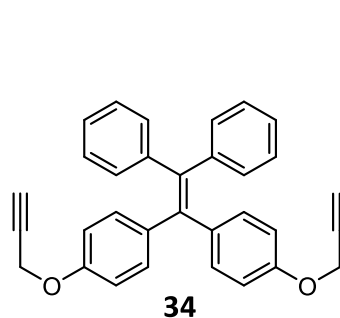
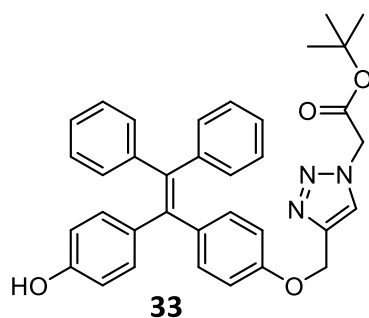
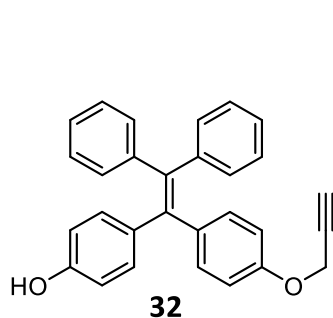
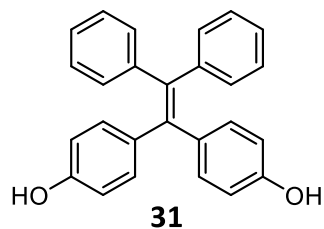
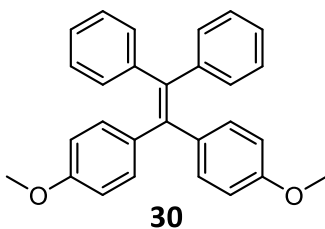
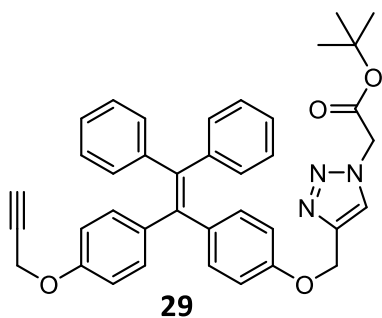
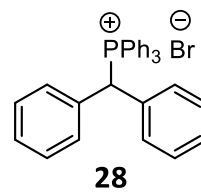
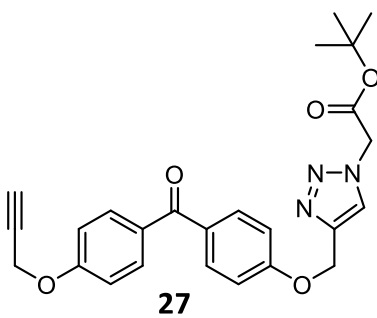
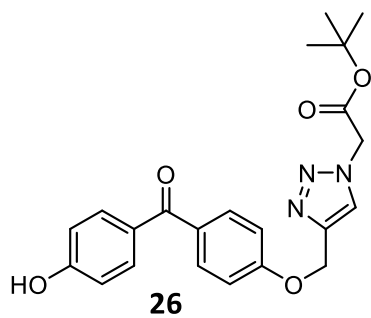
Octubre 2019

Índice de figuras



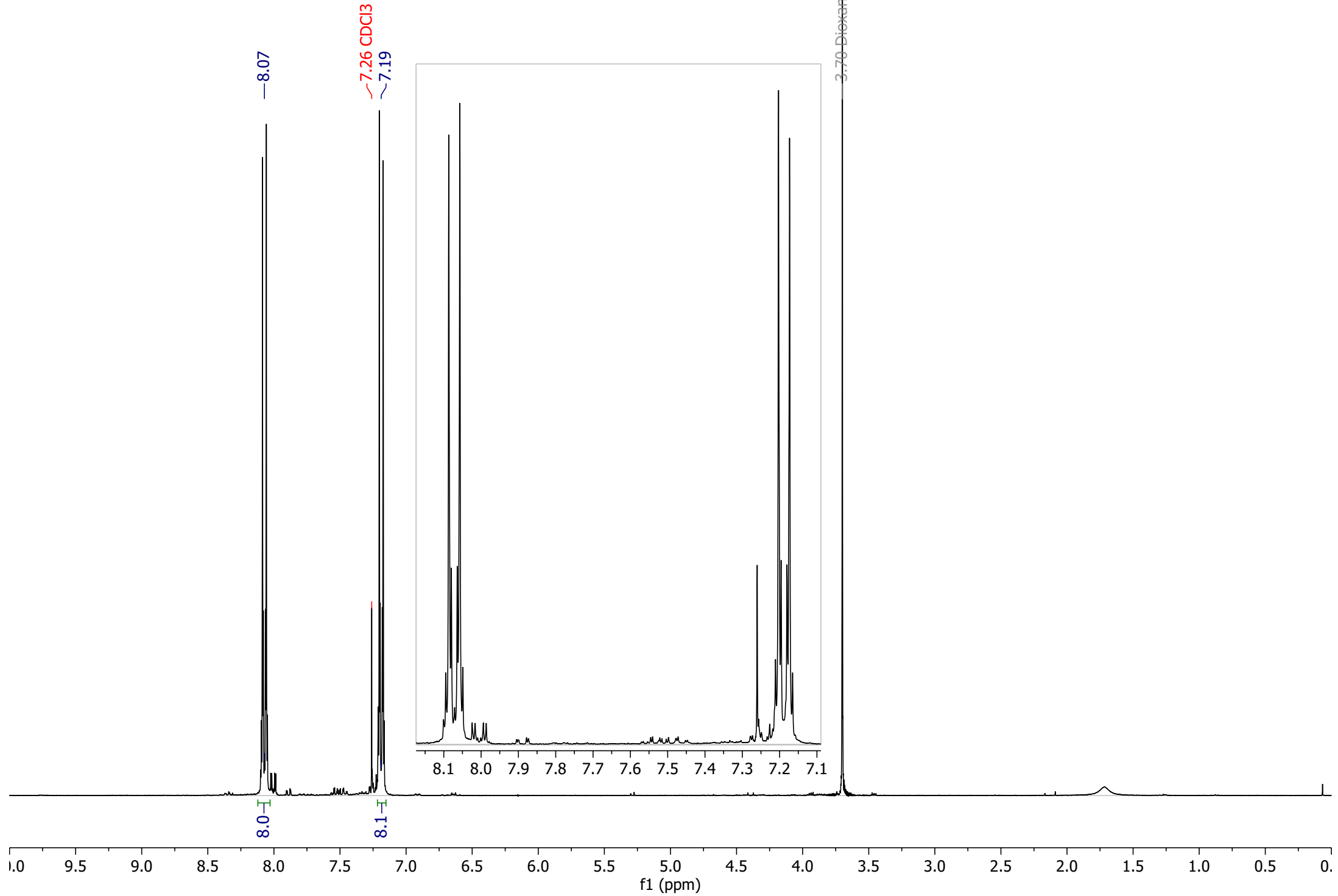




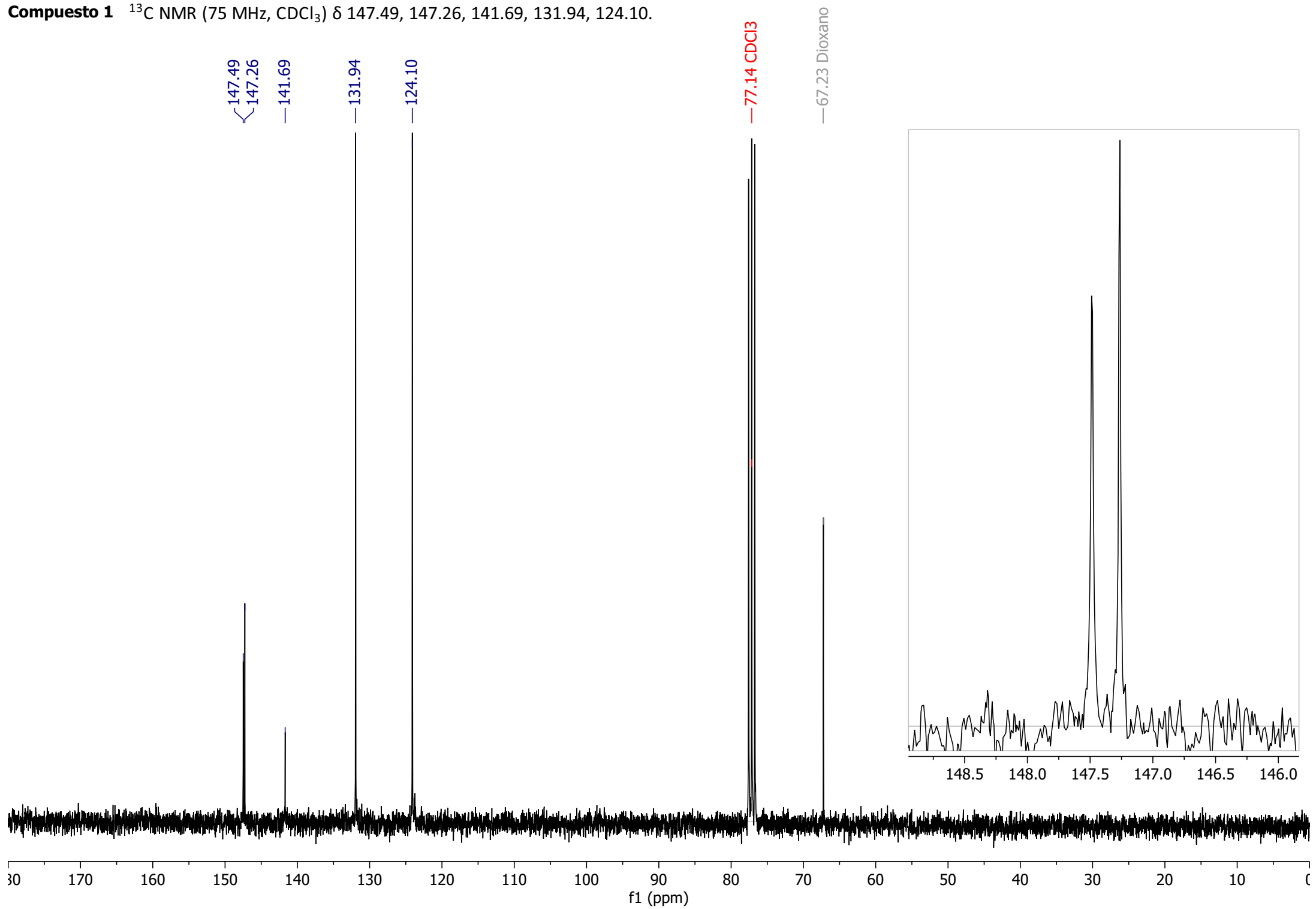


Espectros de resonancia magnética nuclear

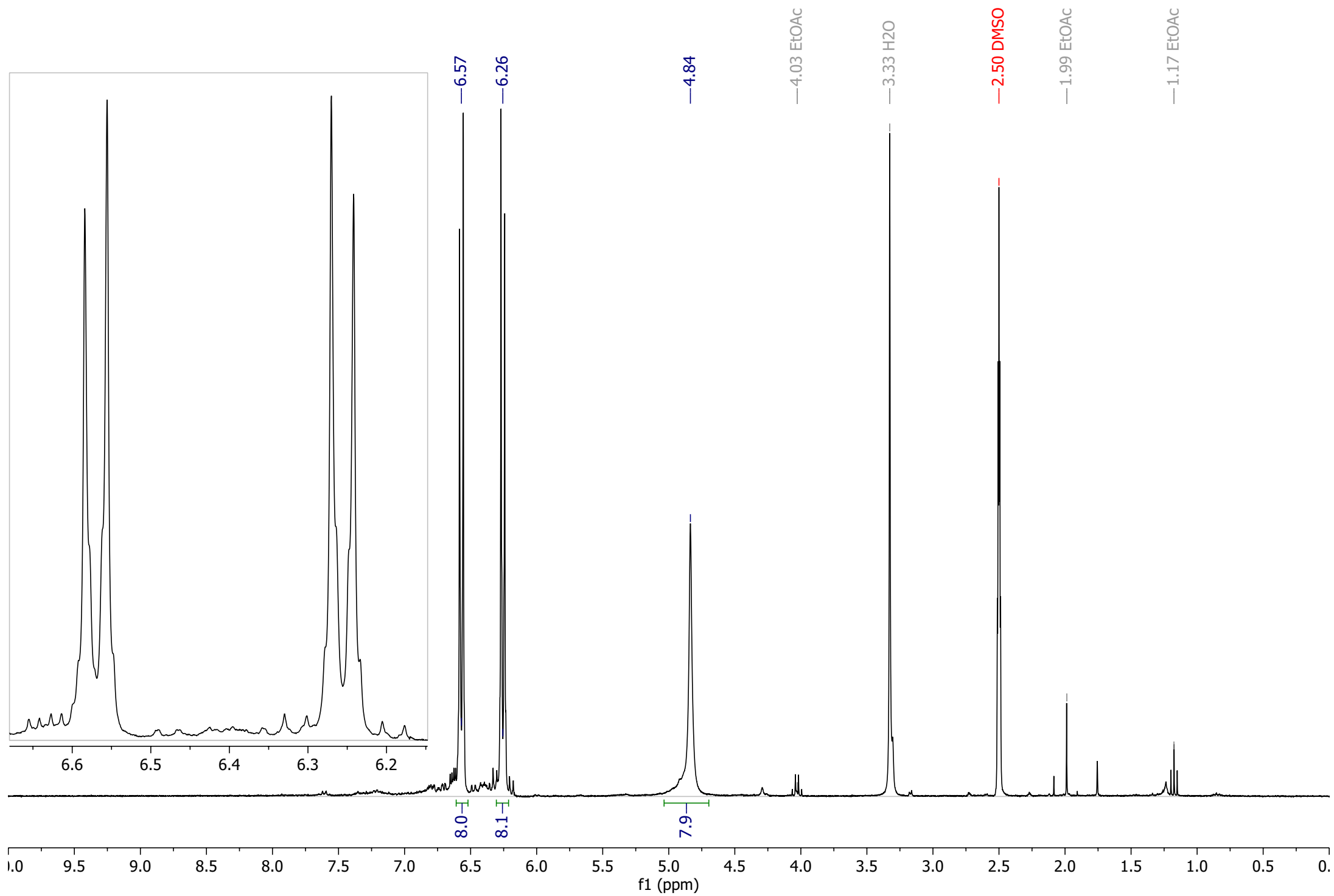
Compuesto 1 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 8.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 8H), 7.19 (d, $J = 8.9$ Hz, 8H).



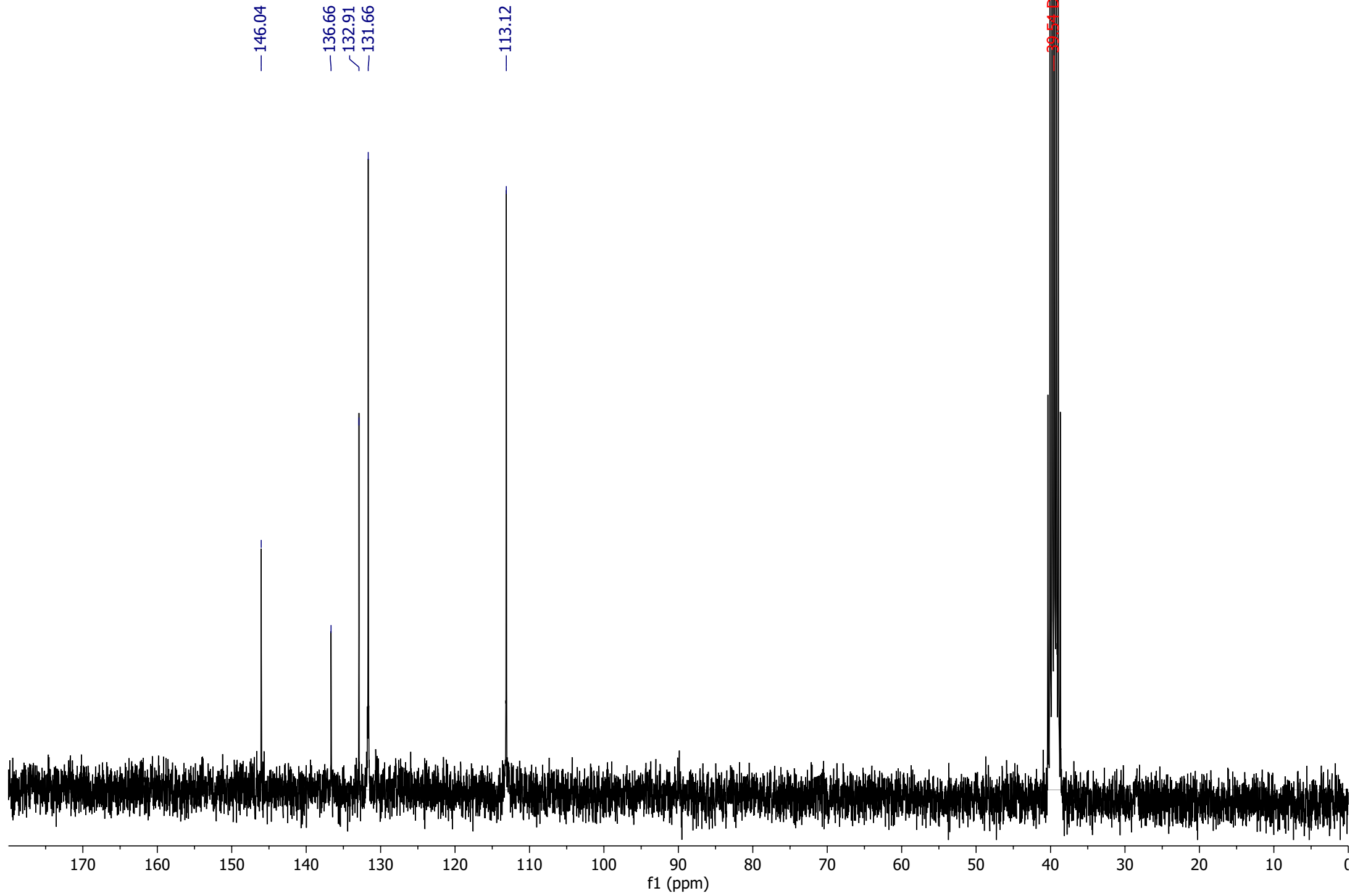
Compuesto 1 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 147.49, 147.26, 141.69, 131.94, 124.10.



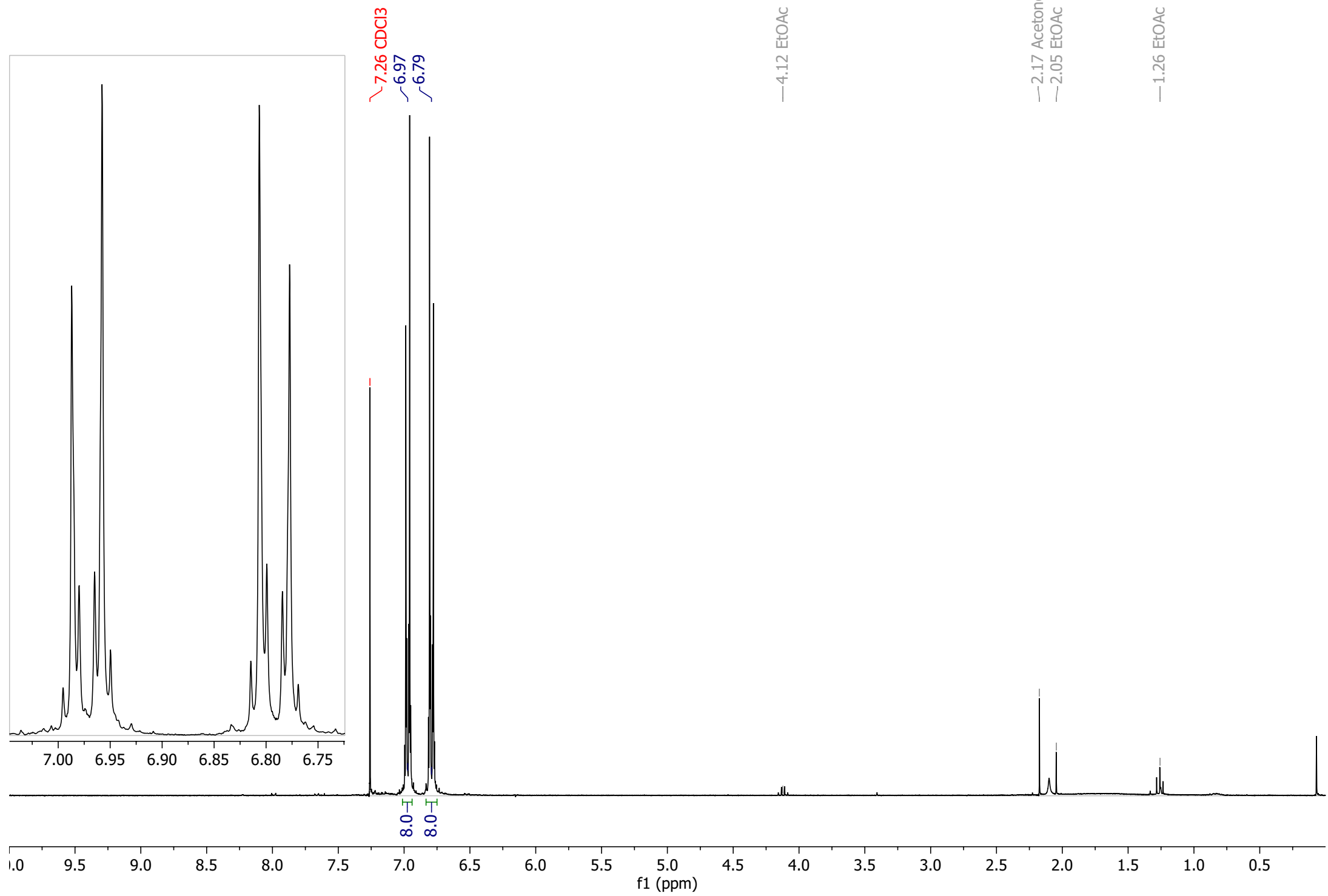
Compuesto 2 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.57 (d, $J = 8.5$ Hz, 8H), 6.26 (d, $J = 8.5$ Hz, 8H), 4.84 (s, 8H).



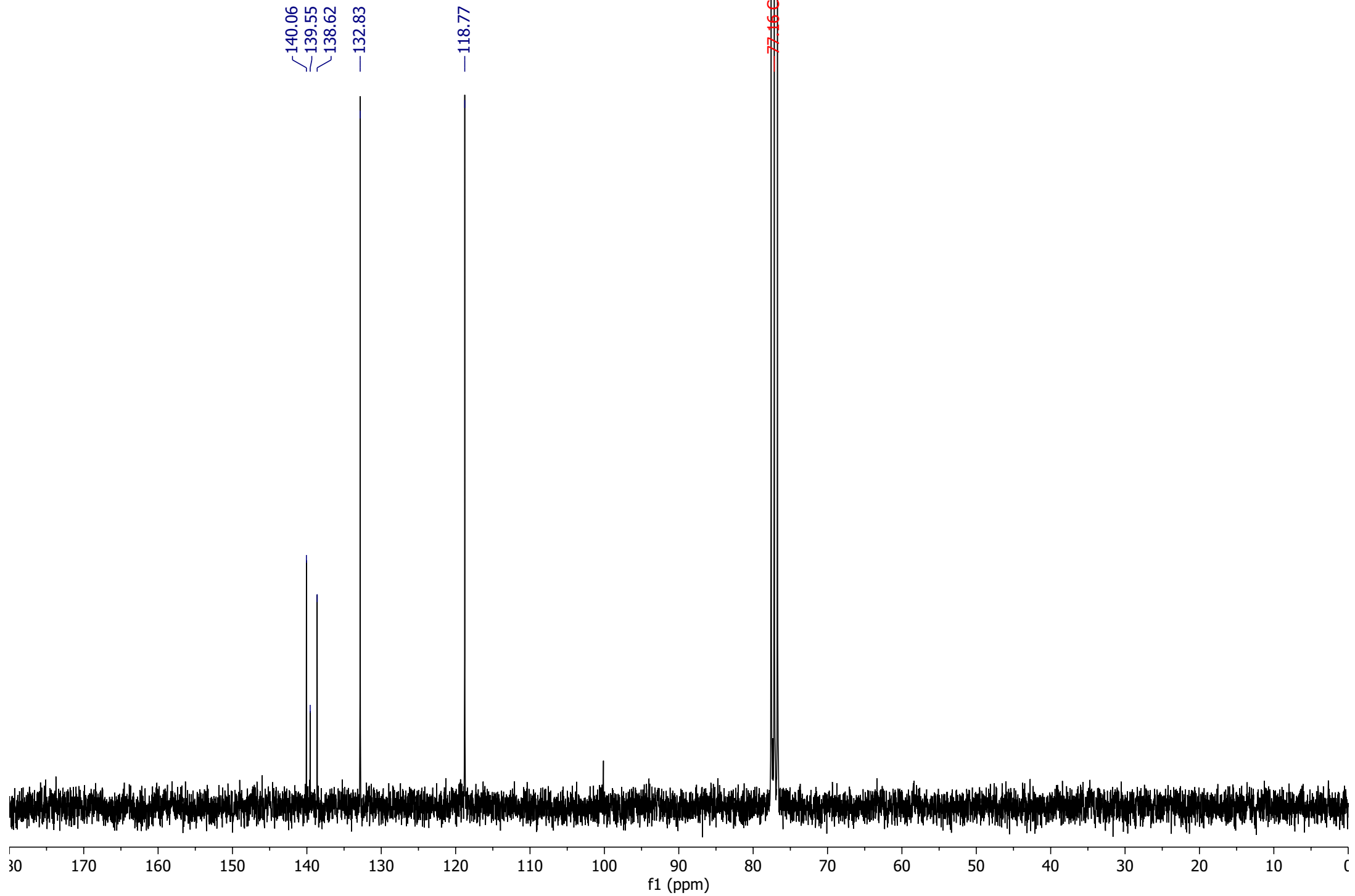
Compuesto 2 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 146.04, 136.66, 132.91, 131.66, 113.12.



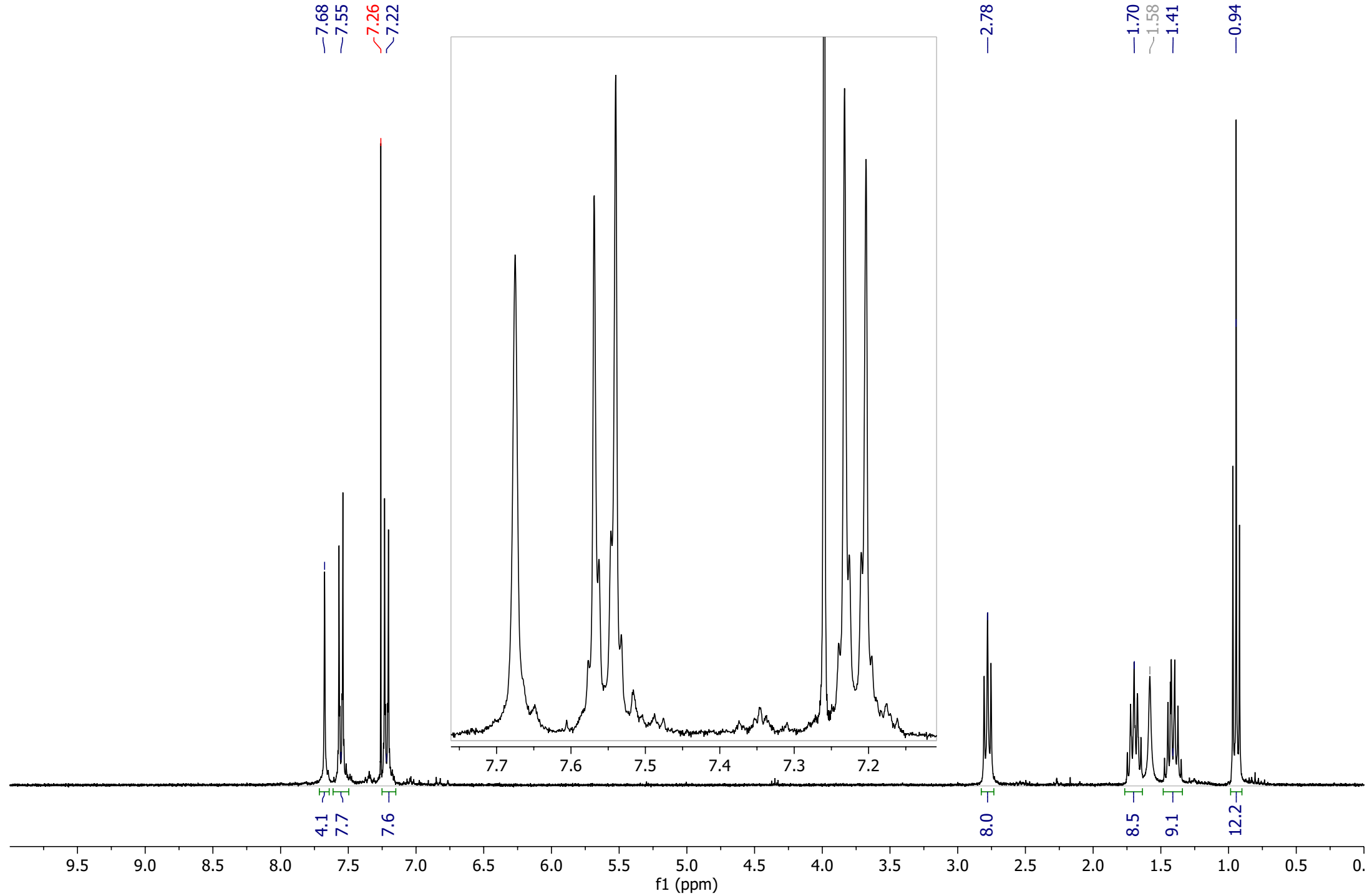
Compuesto 3 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 6.97 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 6.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 8H).



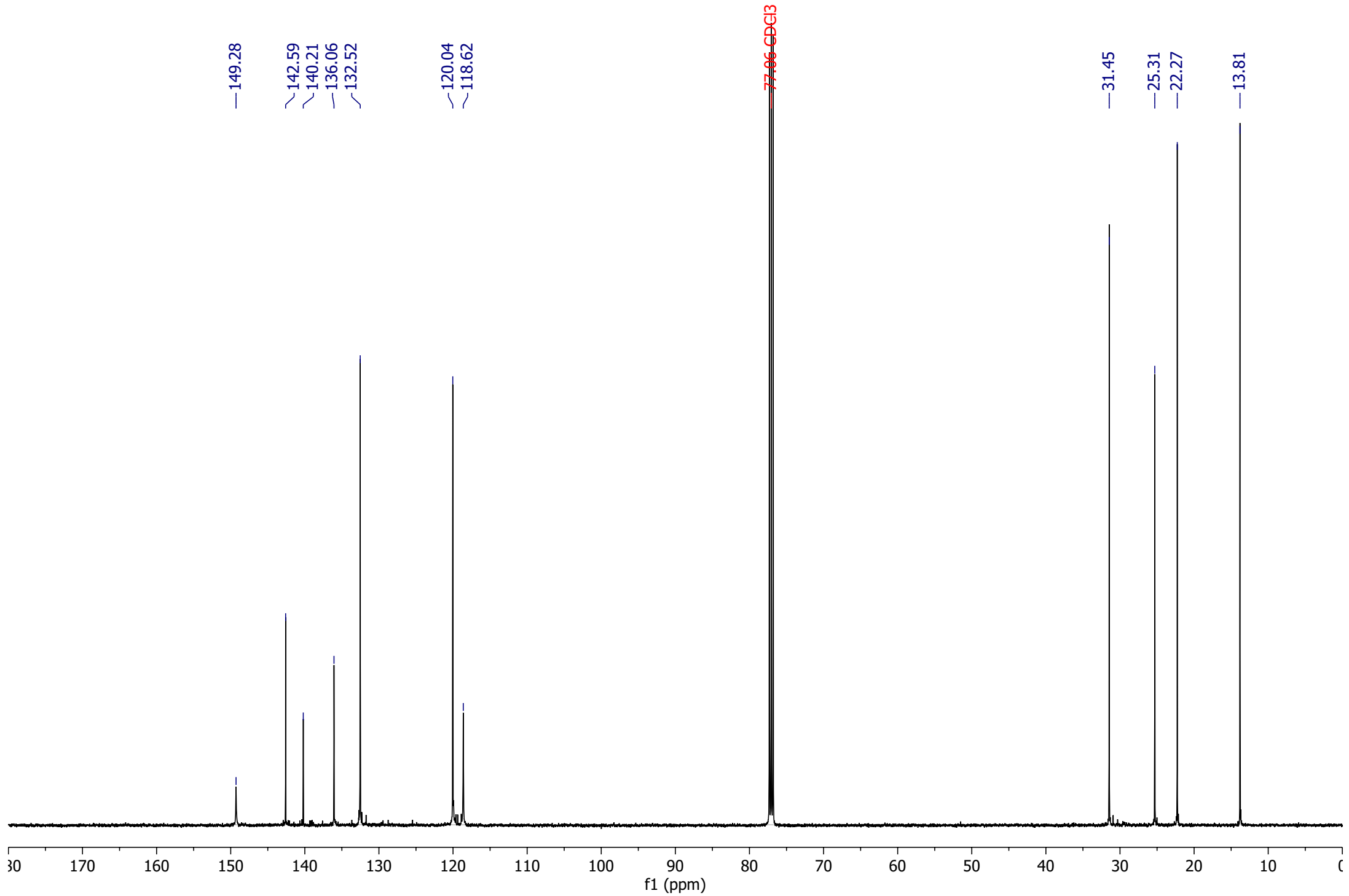
Compuesto 3 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 140.06, 139.55, 138.62, 132.83, 118.77.



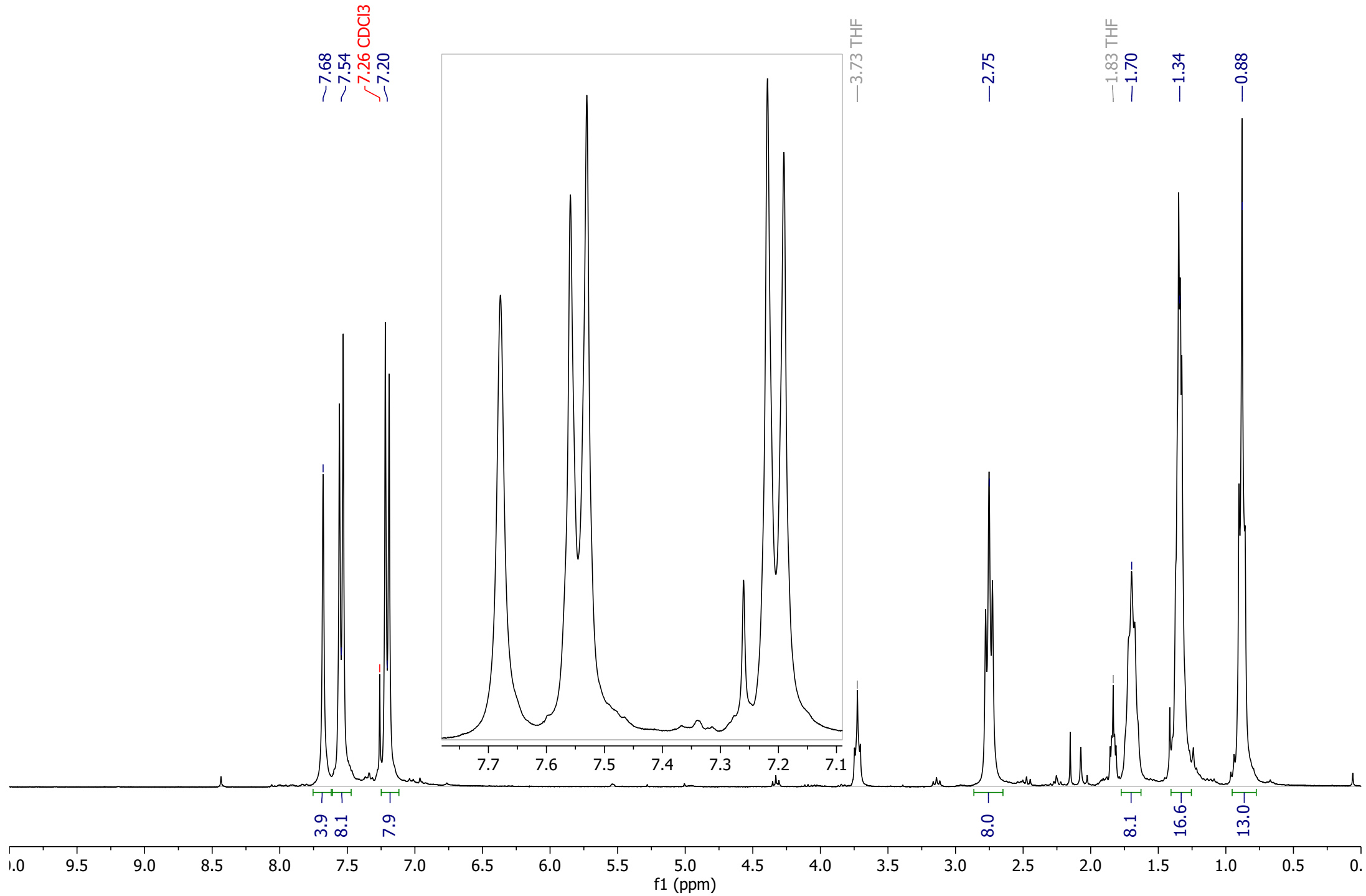
Compuesto 4 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.68 (s, 4H), 7.55 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 7.22 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 2.78 (t, $J = 7.7$ Hz, 8H), 1.70 (p, $J = 7.4$ Hz, 8H), 1.41 (h, $J = 7.3$ Hz, 8H), 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 12H).



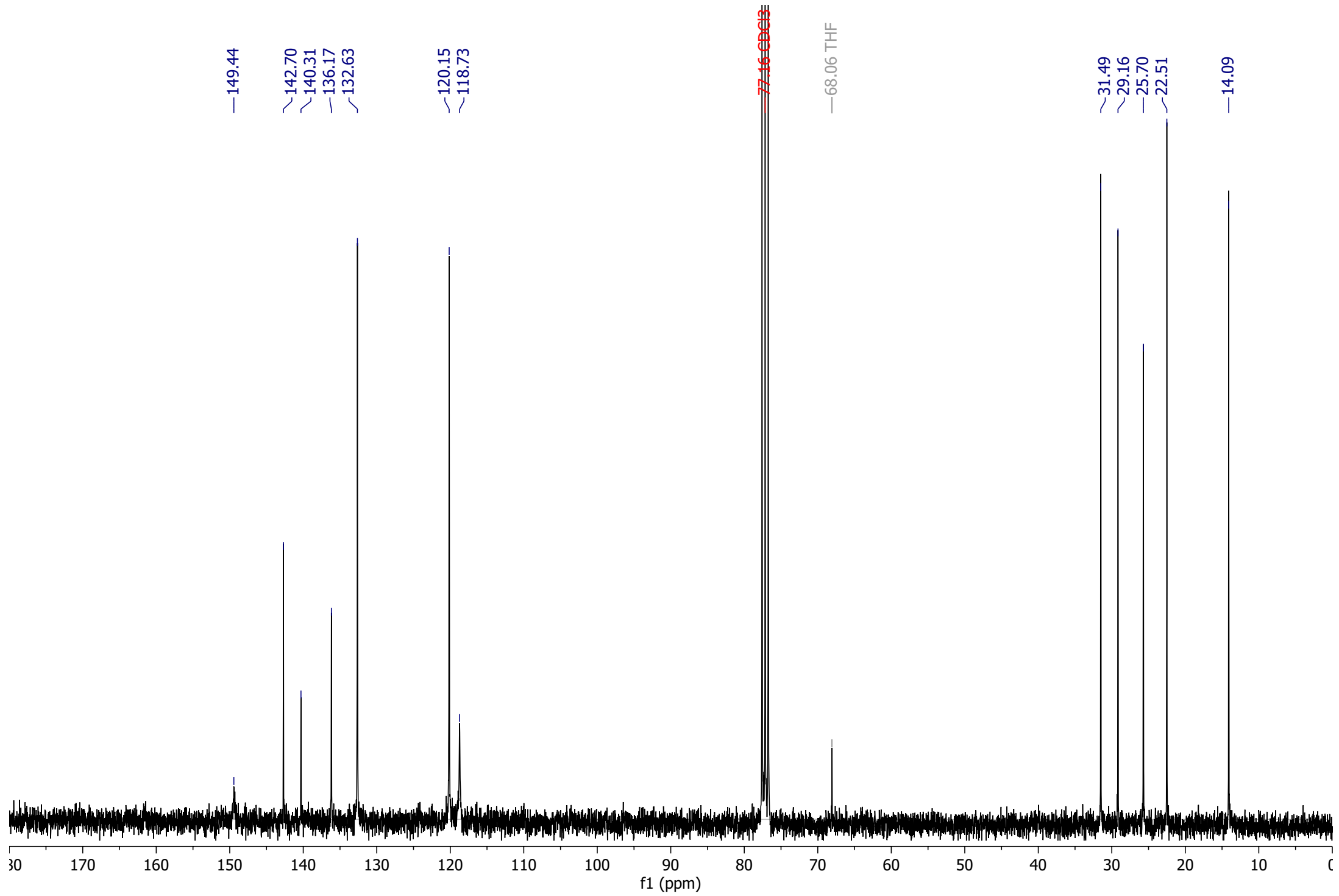
Compuesto 4 ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 149.28, 142.59, 140.21, 136.06, 132.52, 120.04, 118.62, 77.06-CDCl₃, 31.45, 25.31, 22.27, 13.81.



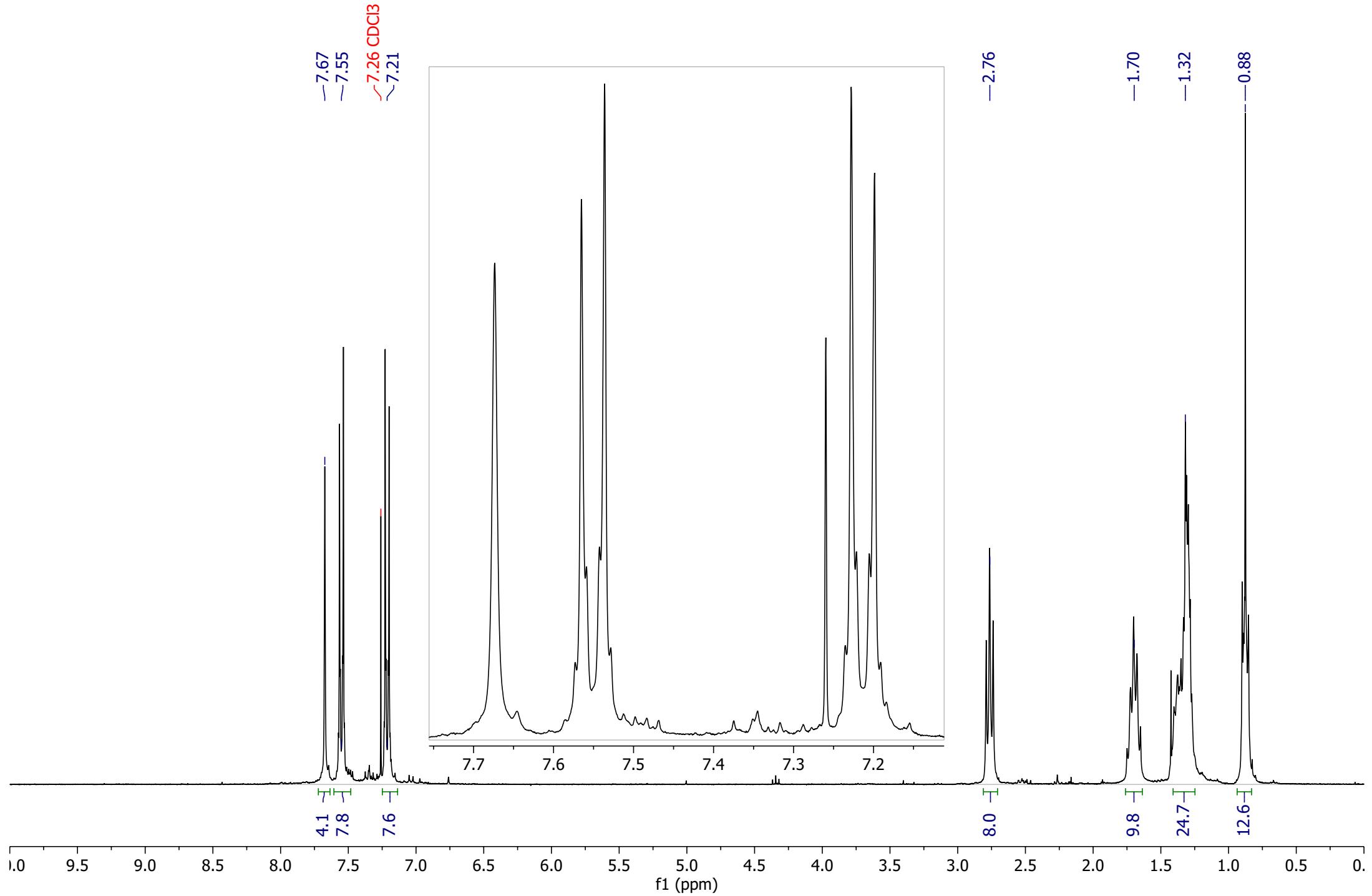
Compuesto 5 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.68 (s, 4H), 7.54 (d, $J = 8.3$ Hz, 8H), 7.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 8H), 2.75 (t, $J = 7.7$ Hz, 8H), 1.70 (p, $J = 7.5$ Hz, 8H), 1.34 (m, 16H), 0.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 12H)



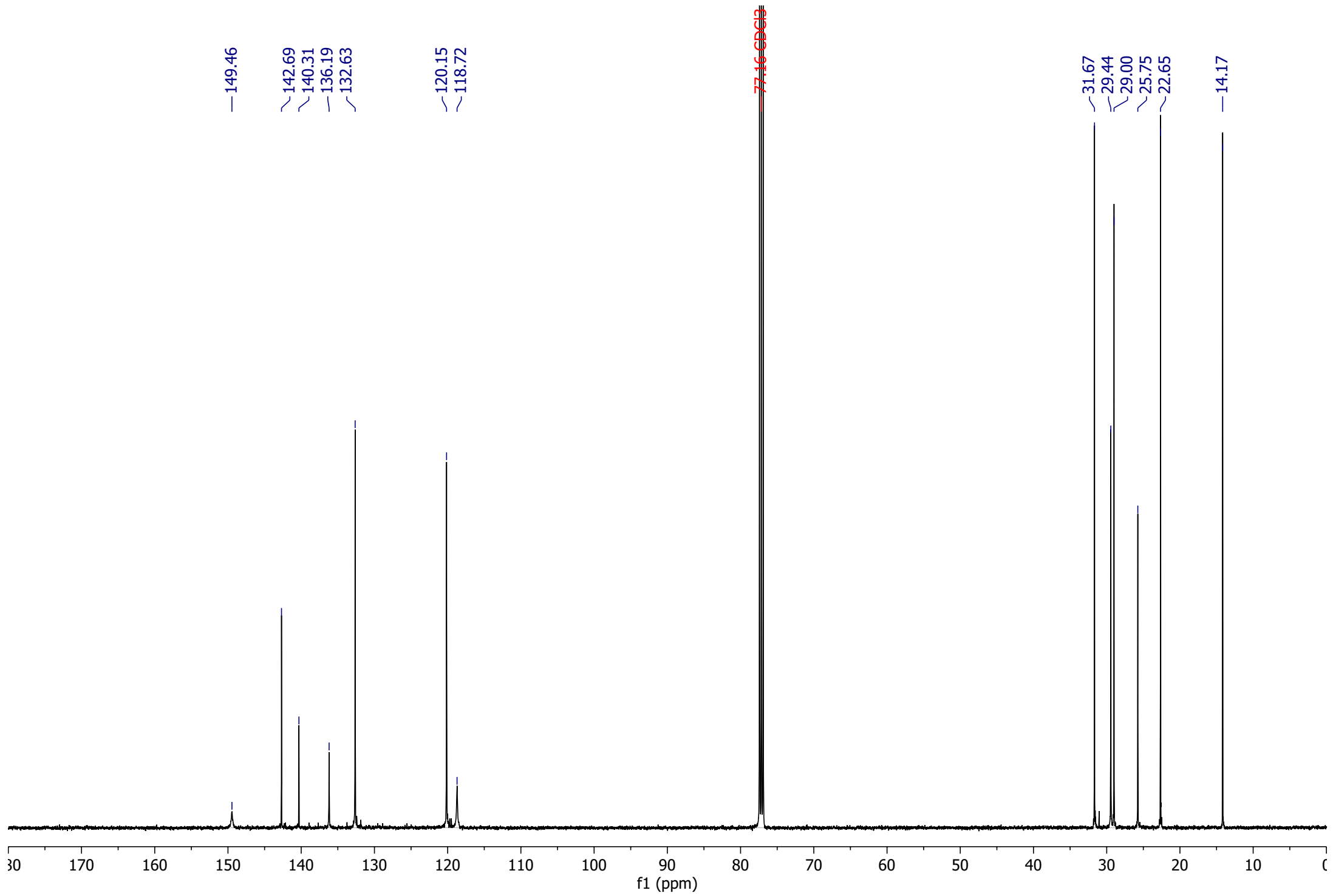
Compuesto 5 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 149.44, 142.70, 140.31, 136.17, 132.63, 120.15, 118.73, 31.49, 29.16, 25.70, 22.51, 14.09.



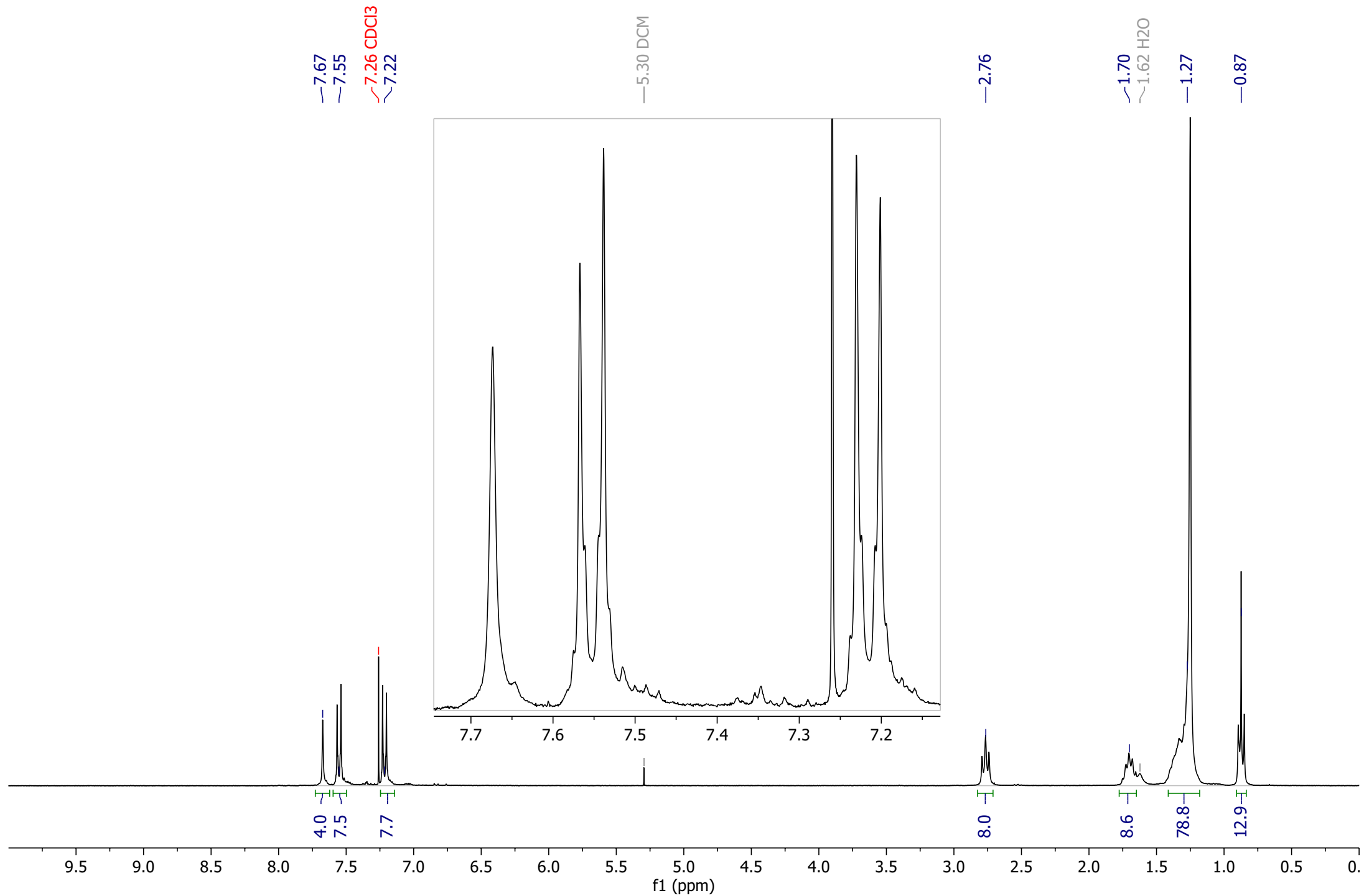
Compuesto 6 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.67 (s, 4H), 7.55 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 7.21 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 2.76 (t, $J = 7.7$ Hz, 8H), 1.70 (p, $J = 7.2$ Hz, 8H), 1.41 – 1.24 (m, 24H), 0.88 (t, $J = 7.1$ Hz, 12H).



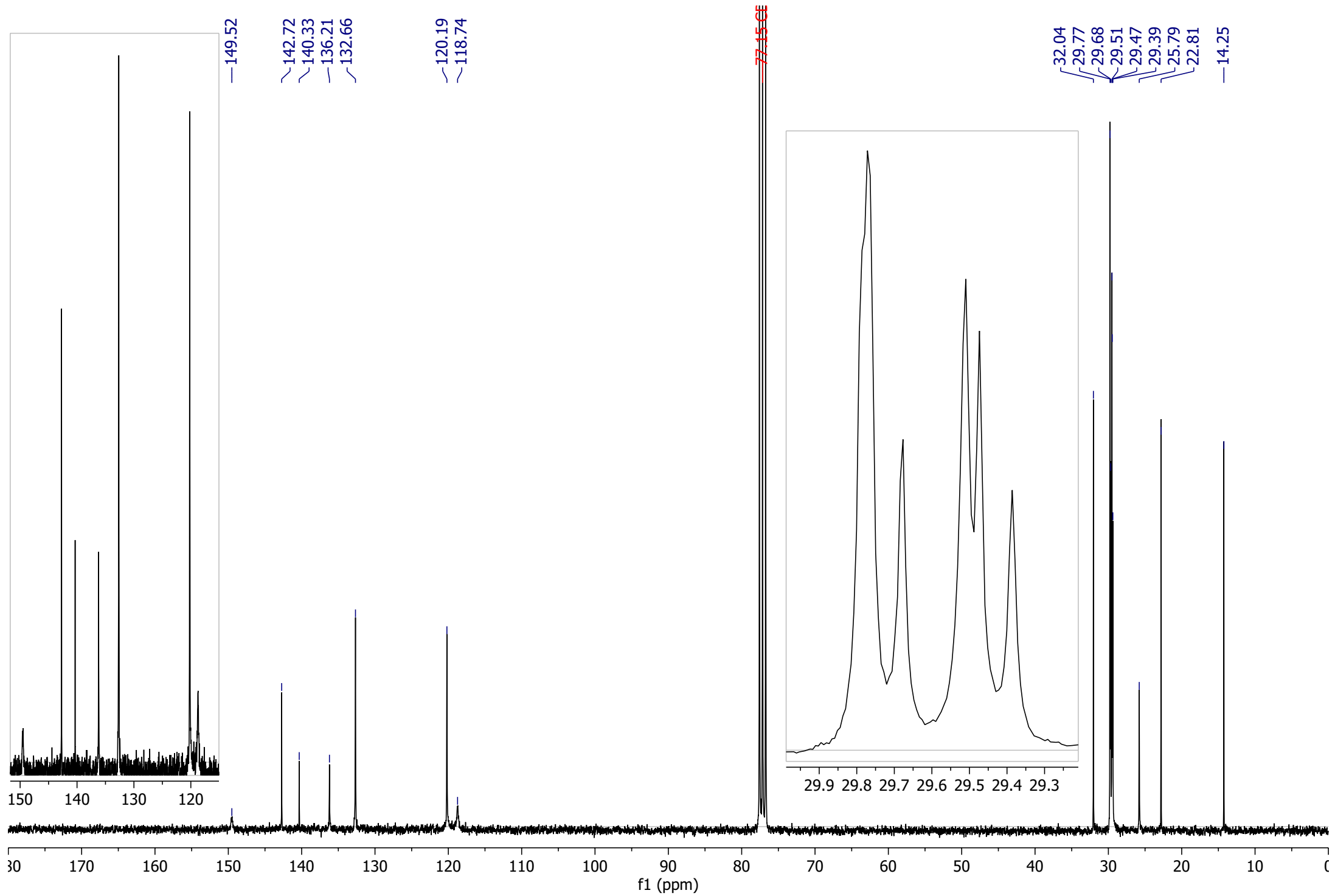
Compuesto 6 ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 149.46, 142.69, 140.31, 136.19, 132.63, 120.15, 118.72, 31.67, 29.44, 29.00, 25.75, 22.65, 14.17.



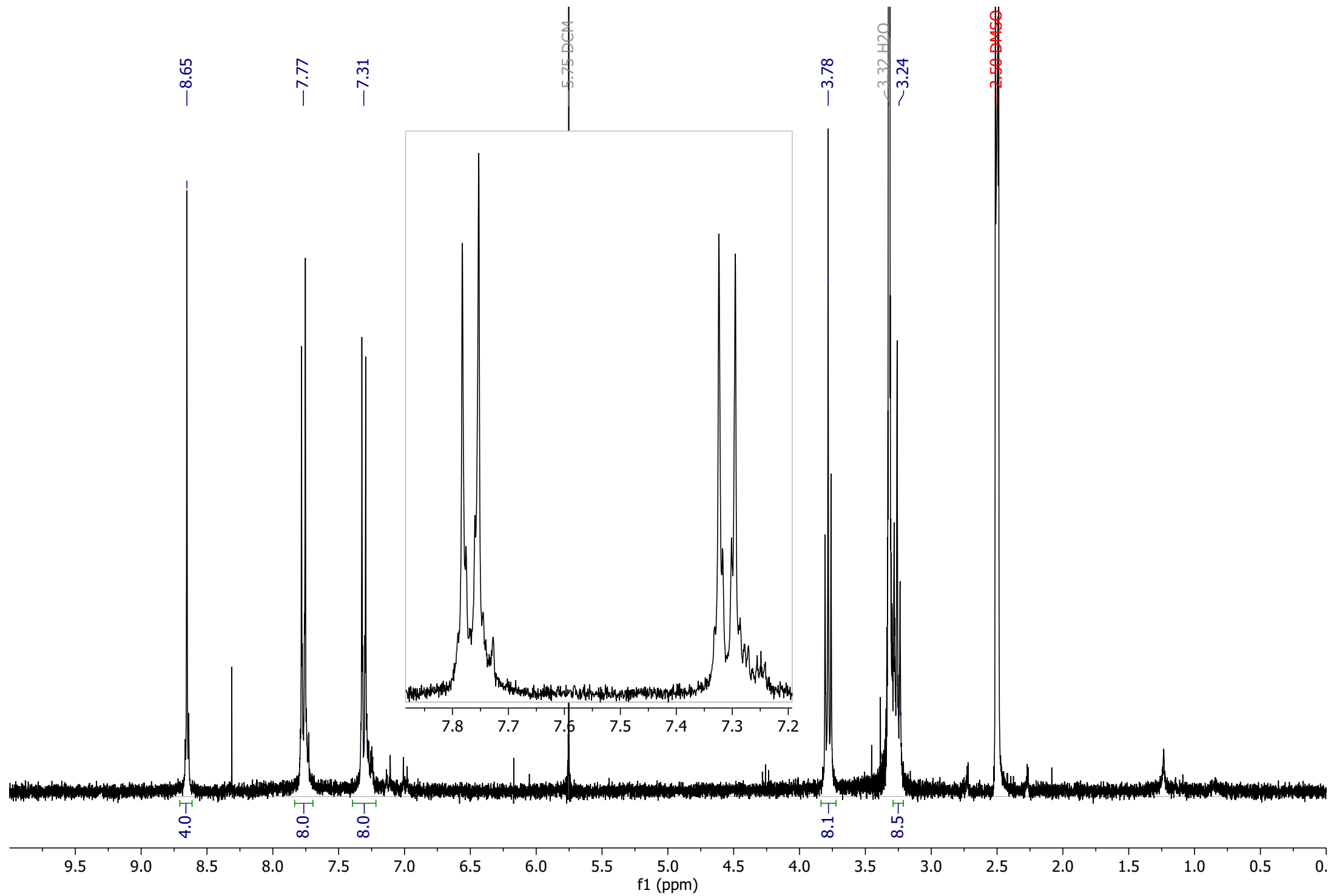
Compuesto 7 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 7.67 (s, 4H), 7.55 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 7.22 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 2.77 (t, $J = 7.7$ Hz, 8H), 1.70 (p, $J = 7.5$ Hz, 8H), 1.45 – 1.18 (m, 72H), 0.87 (t, $J = 7.0$ Hz, 12H).



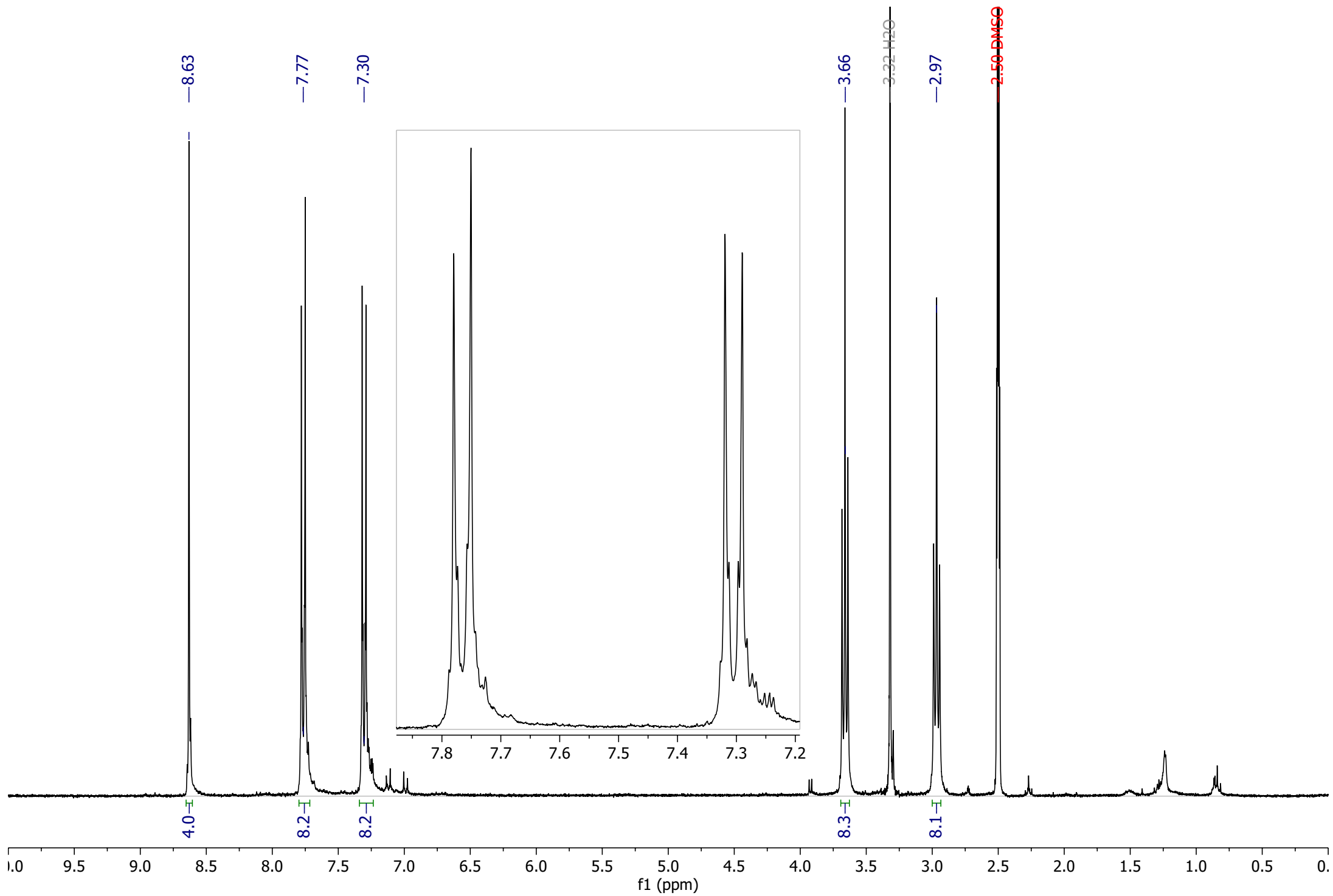
Compuesto 7 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 149.52, 142.72, 140.33, 136.21, 132.66, 120.19, 118.74, 77.15, 32.04, 29.77, 29.68, 29.51, 29.47, 29.39, 25.79, 22.81, 14.25.



Compuesto 8 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.65 (s, 4H), 7.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 7.31 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 3.78 (t, $J = 6.8$ Hz, 8H), 3.26 (t, $J = 6.8$ Hz, 8H).



Compuesto 9 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.63 (s, 4H), 7.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 7.30 (d, $J = 8.8$ Hz, 8H), 3.66 (t, $J = 6.8$ Hz, 8H), 2.97 (t, $J = 6.7$ Hz, 8H).



Compuesto 9 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 144.83, 142.40, 139.89, 135.26, 132.26, 120.86, 119.42, 49.72, 25.05.

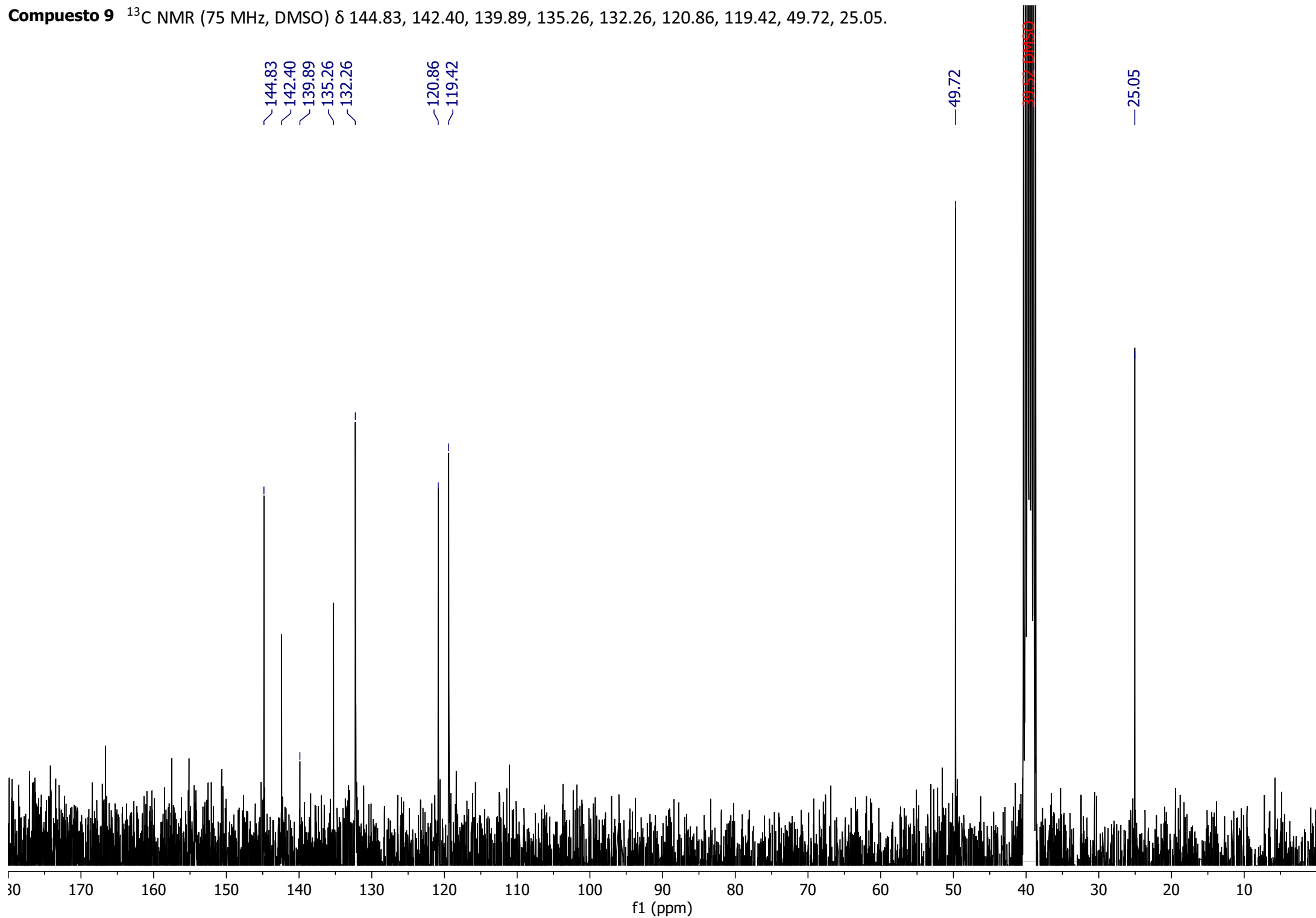
144.83
142.40
139.89
135.26
132.26

120.86
119.42

49.72

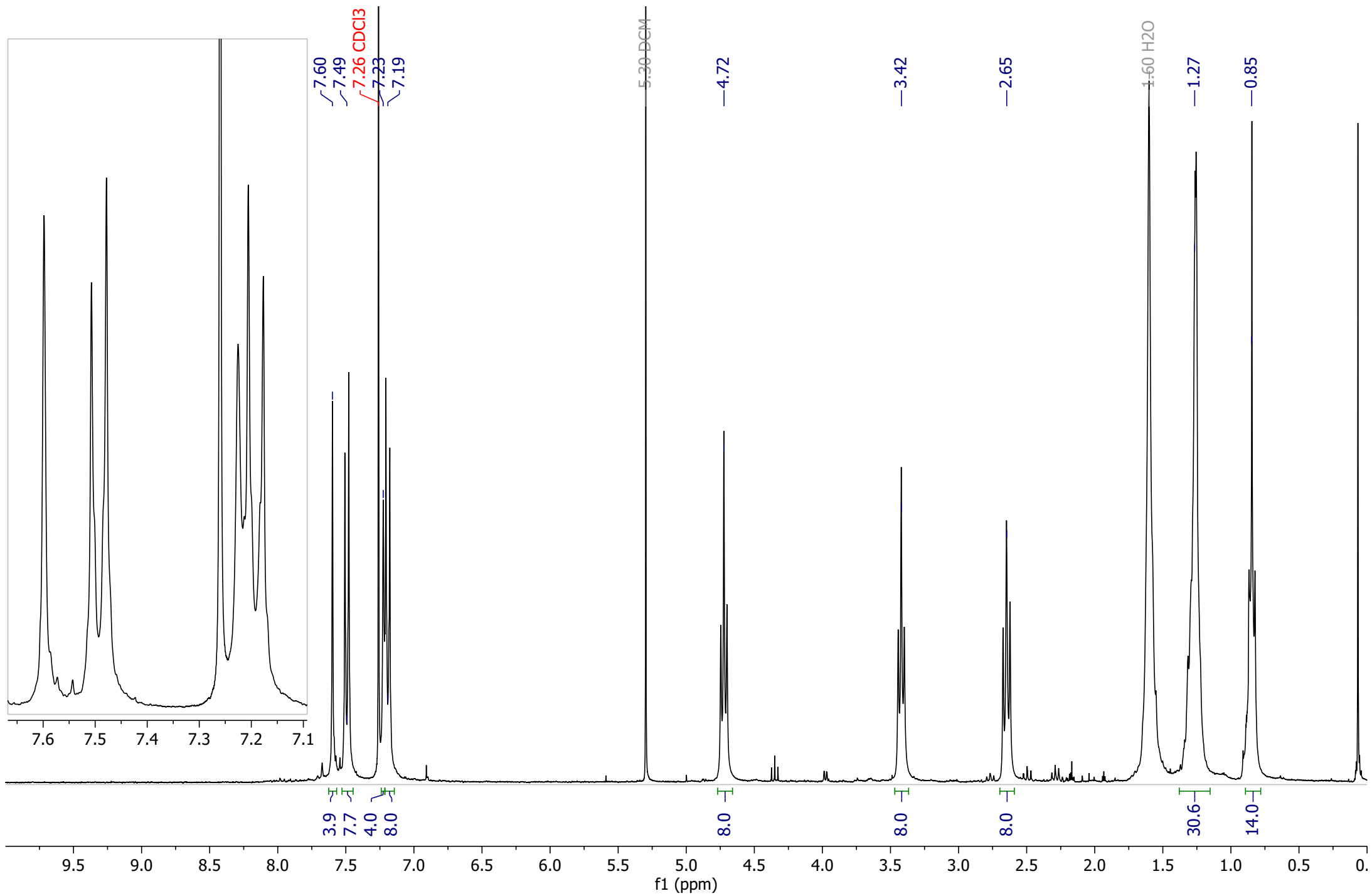
39.52 DMSO

25.05

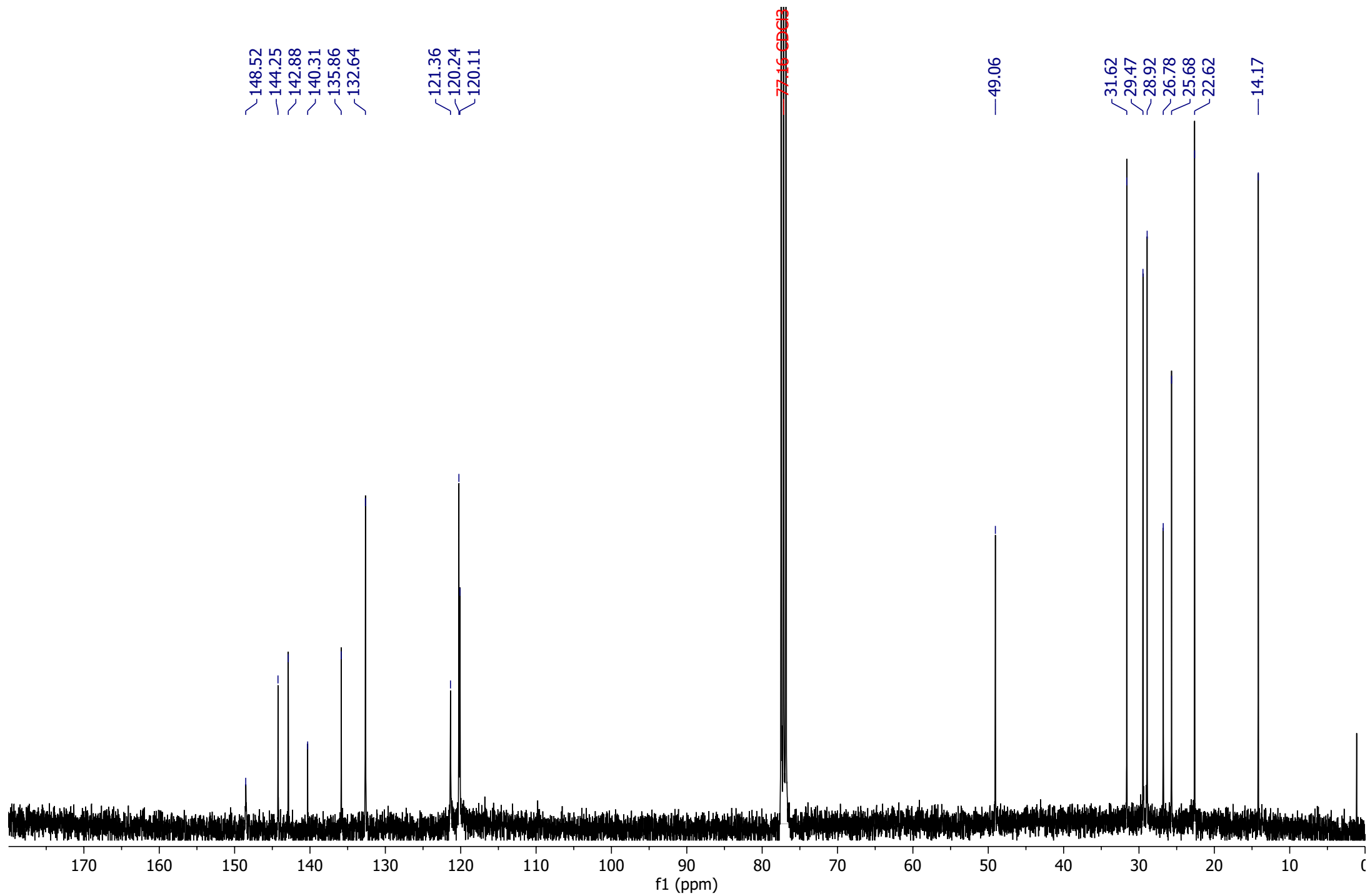


Compuesto 10

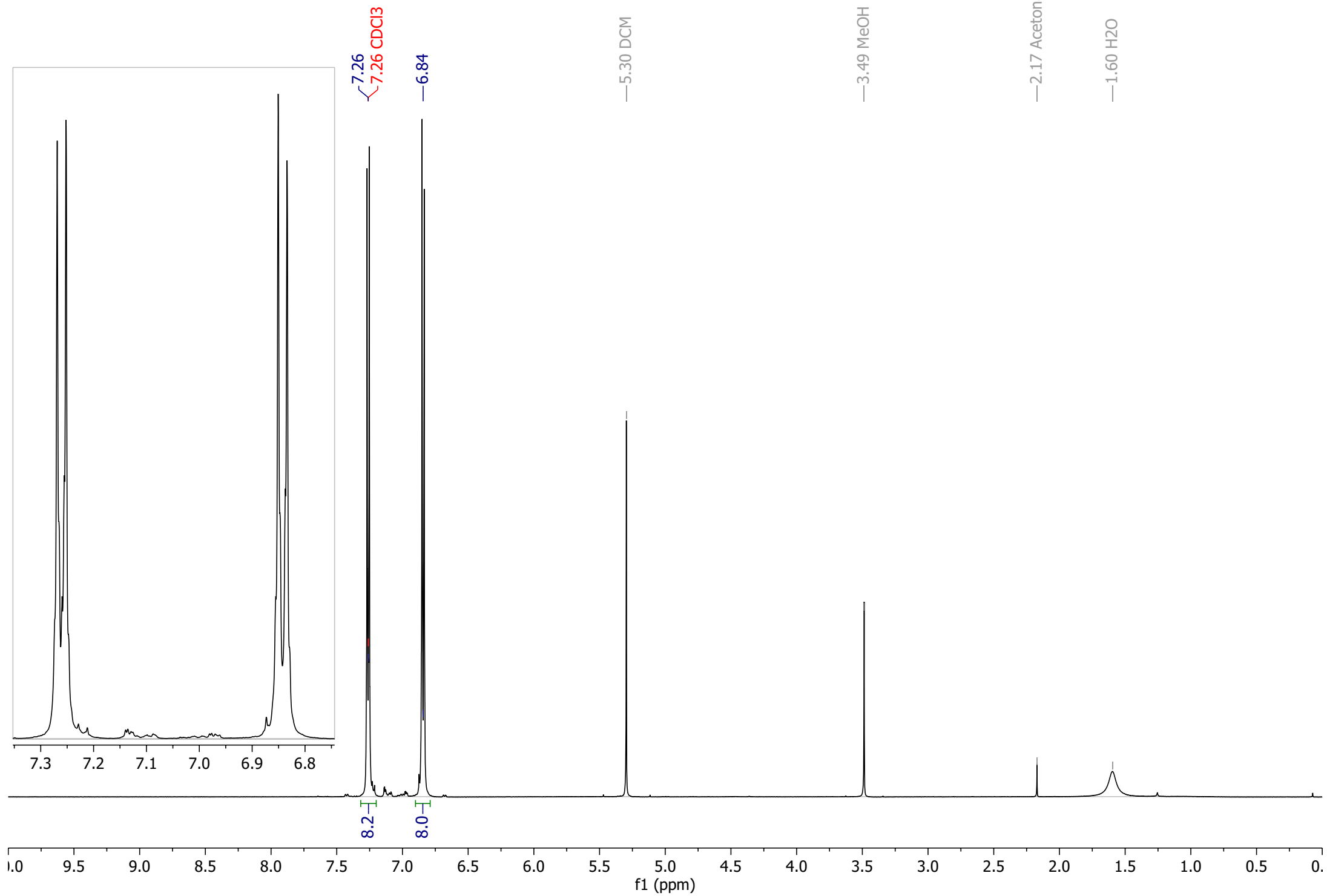
^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 7.60 (s, 4H), 7.49 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 7.23 (s, 4H), 7.19 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 4.72 (t, $J = 6.8$ Hz, 8H), 3.42 (t, $J = 6.8$ Hz, 8H), 2.65 (t, $J = 7.7$ Hz, 8H), 1.39 – 1.05 (m, 32H), 0.85 (t, $J = 6.8$ Hz, 12H).



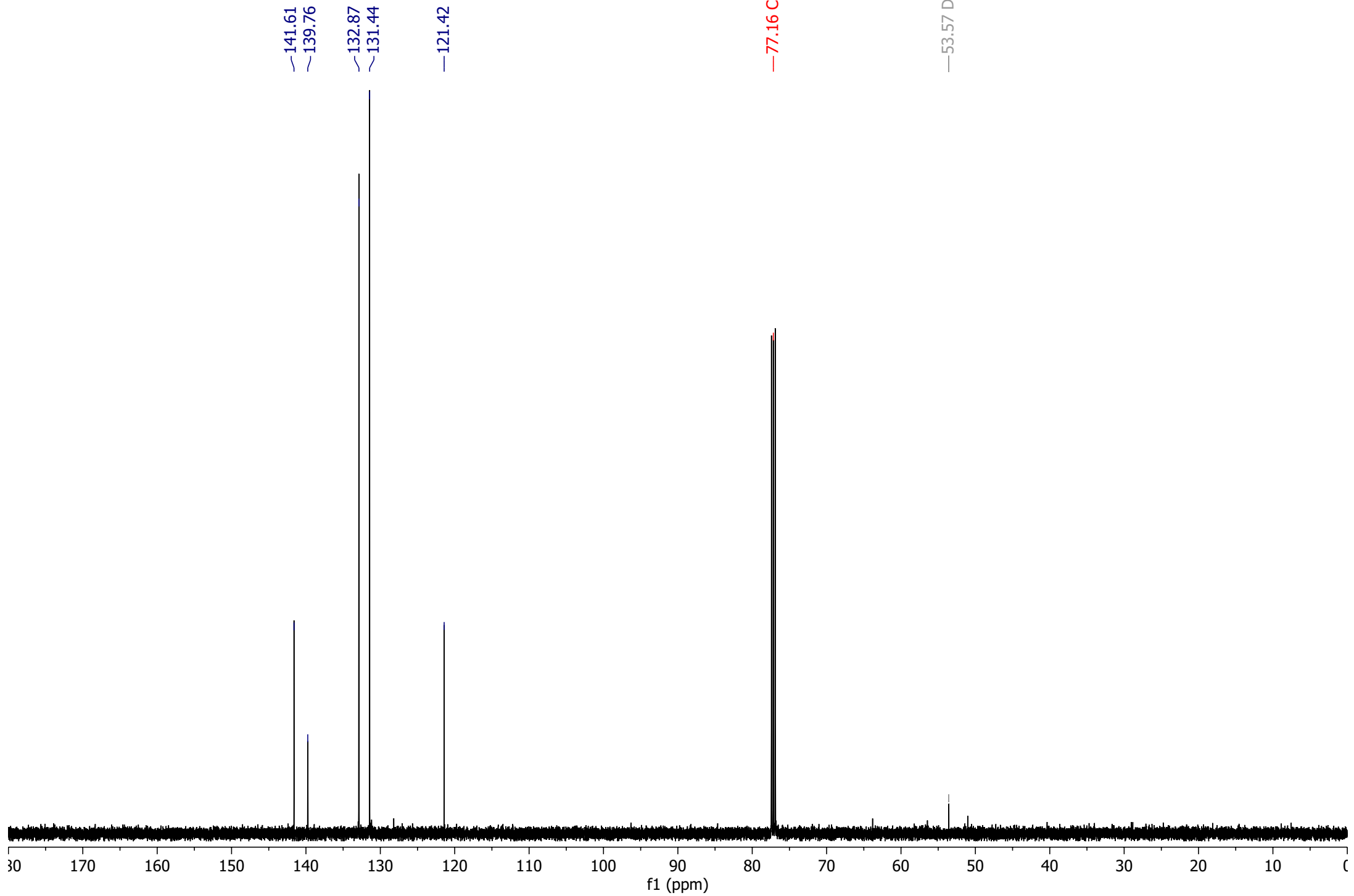
Compuesto 10 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 148.52, 144.25, 142.88, 140.31, 135.86, 132.64, 121.36, 120.24, 120.11, 49.06, 31.62, 29.47, 28.92, 26.78, 25.68, 22.62, 14.17.



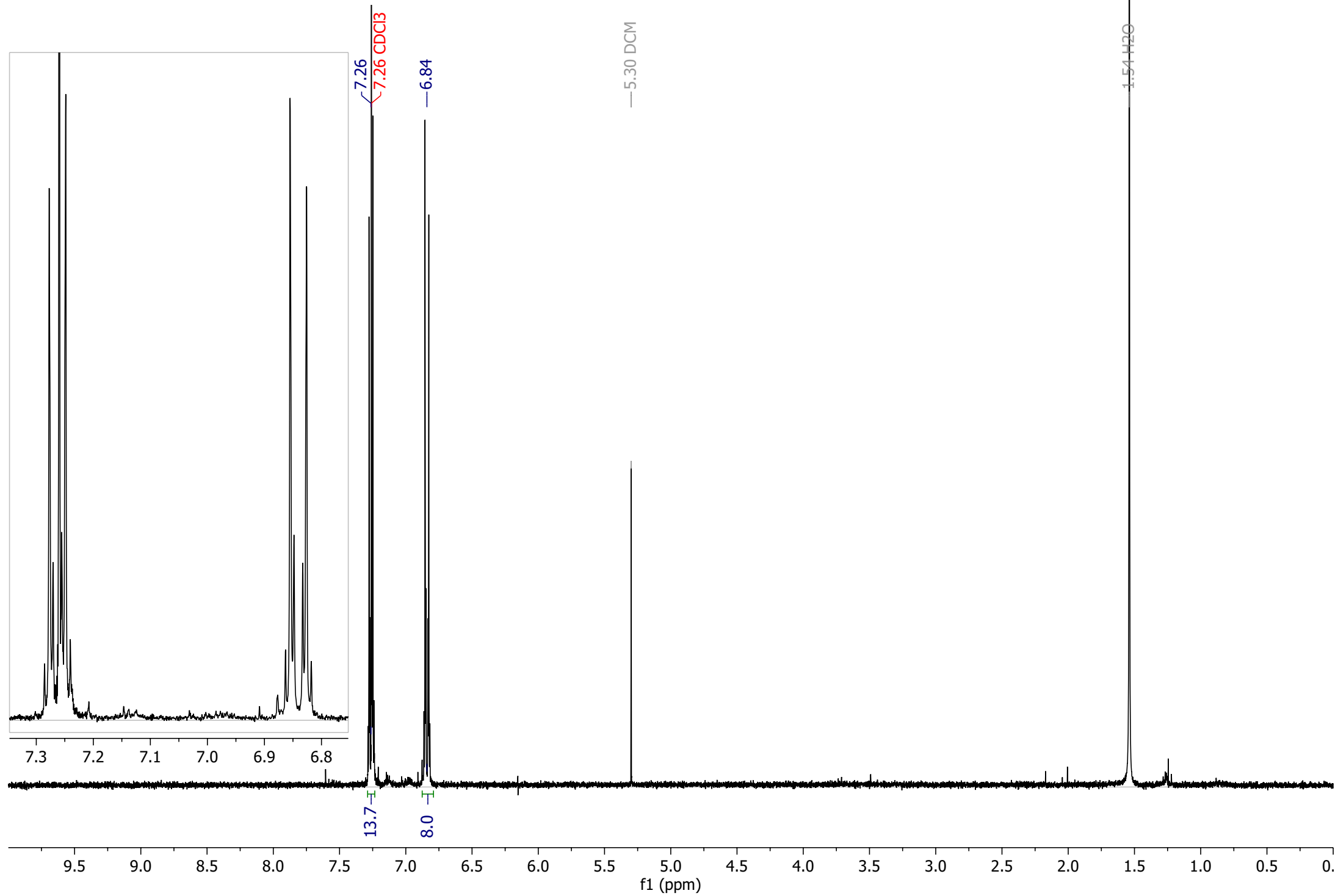
Compuesto 11 A ^1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 8H), 6.84 (d, $J = 8.5$ Hz, 8H).



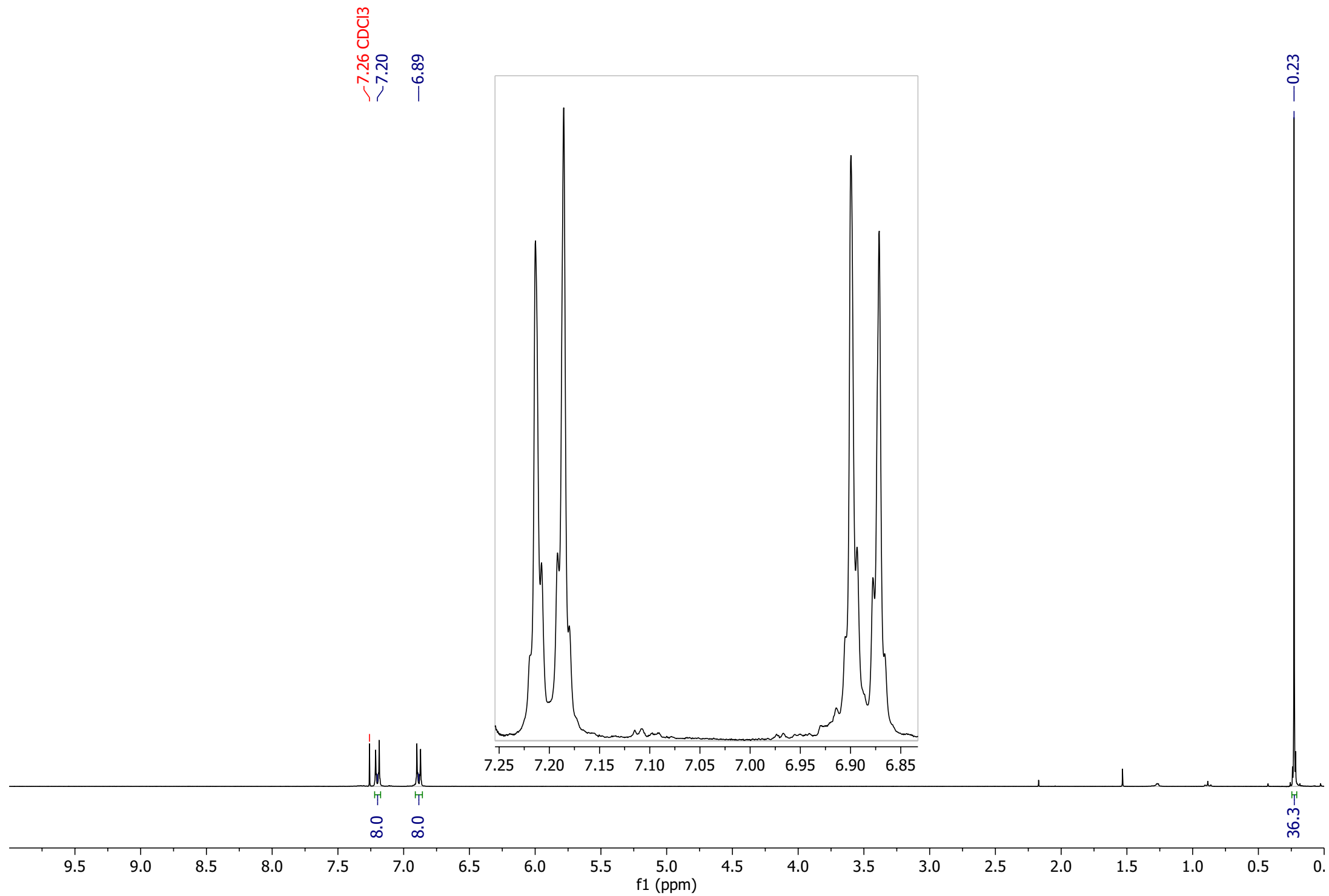
Compuesto 11 A ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 141.61, 139.76, 132.87, 131.44, 121.42.



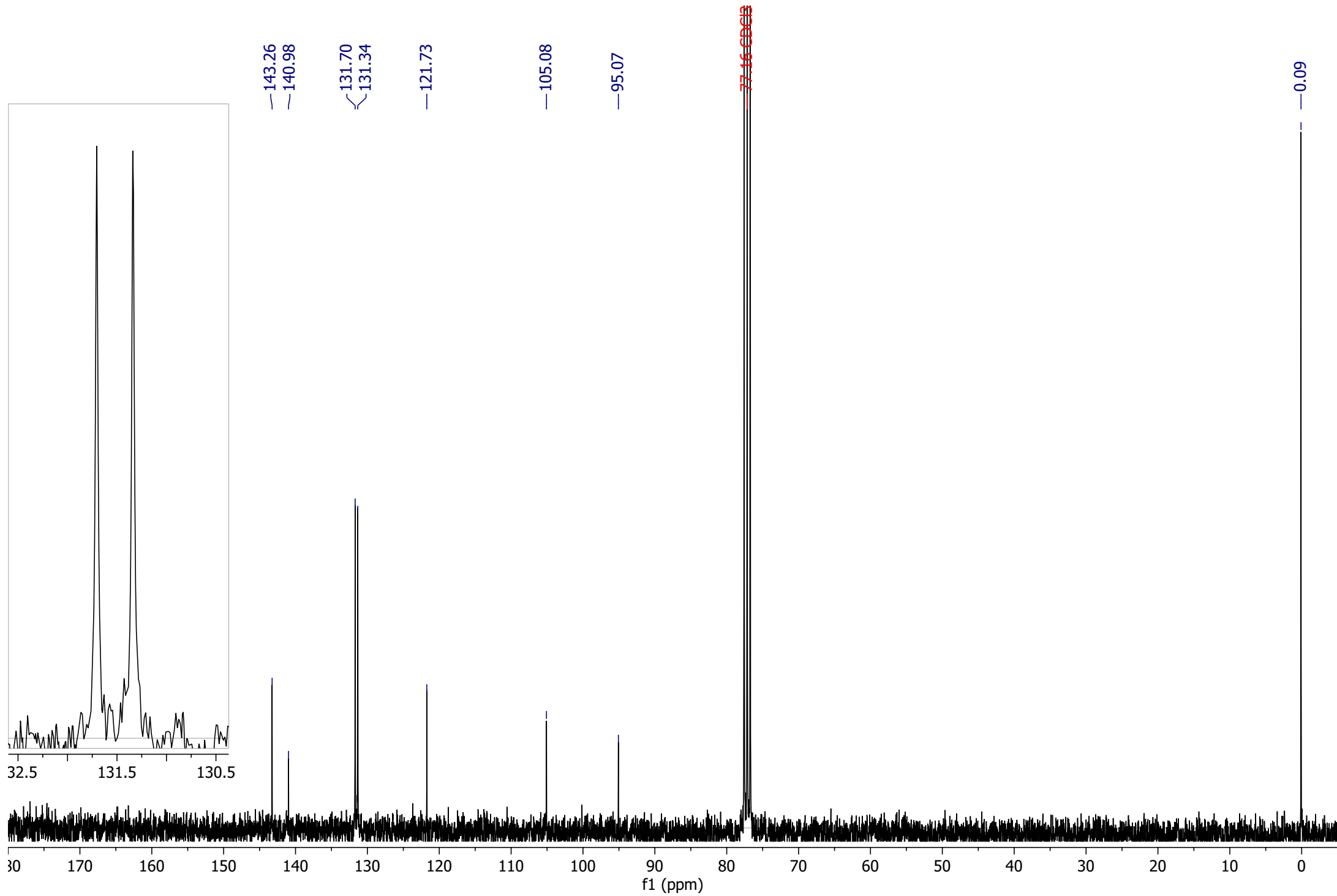
Compuesto 11 B ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.26 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 6.84 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H).



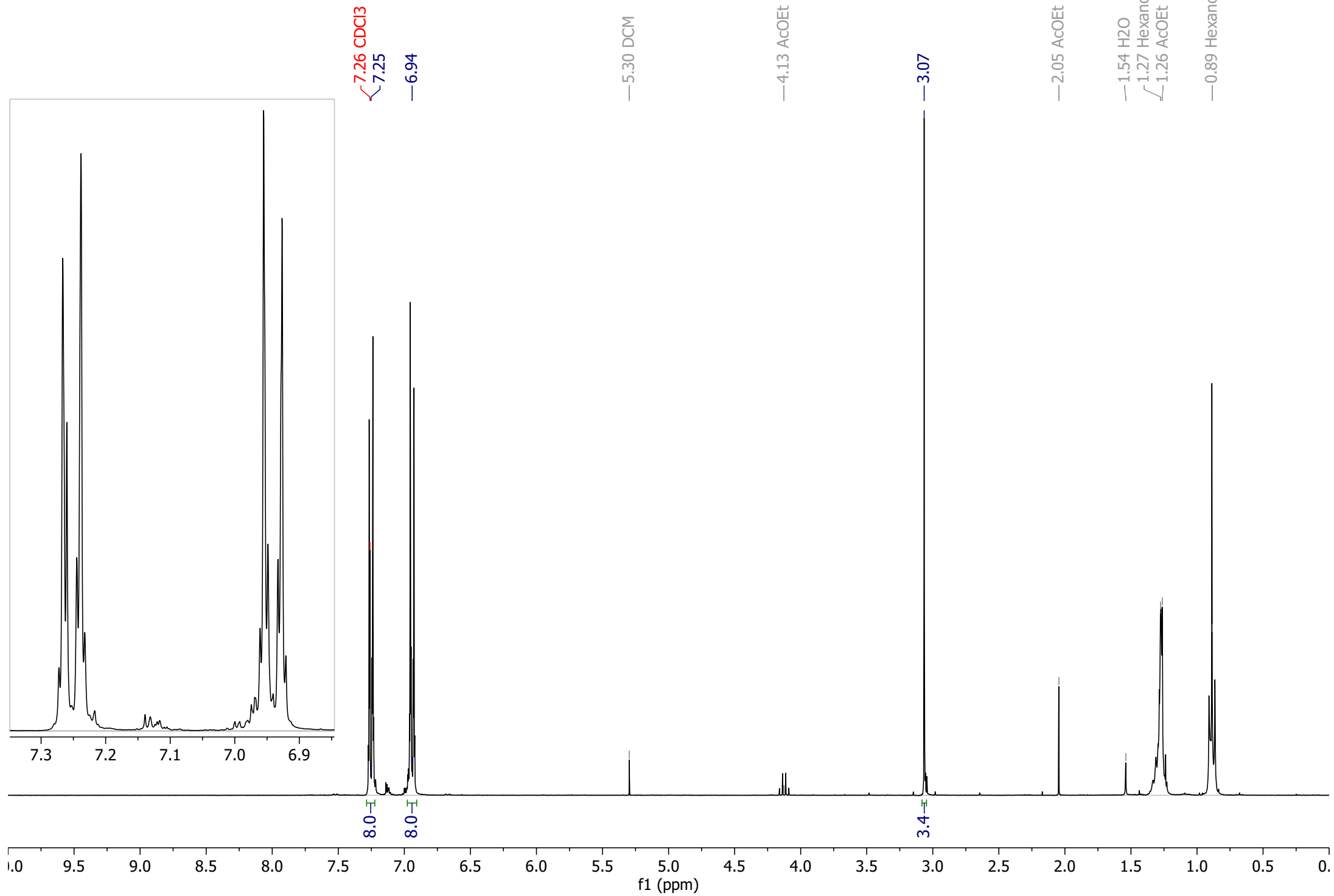
Compuesto 12 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.20 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 6.89 (d, $J = 8.5$ Hz, 8H), 0.23 (s, 36H).



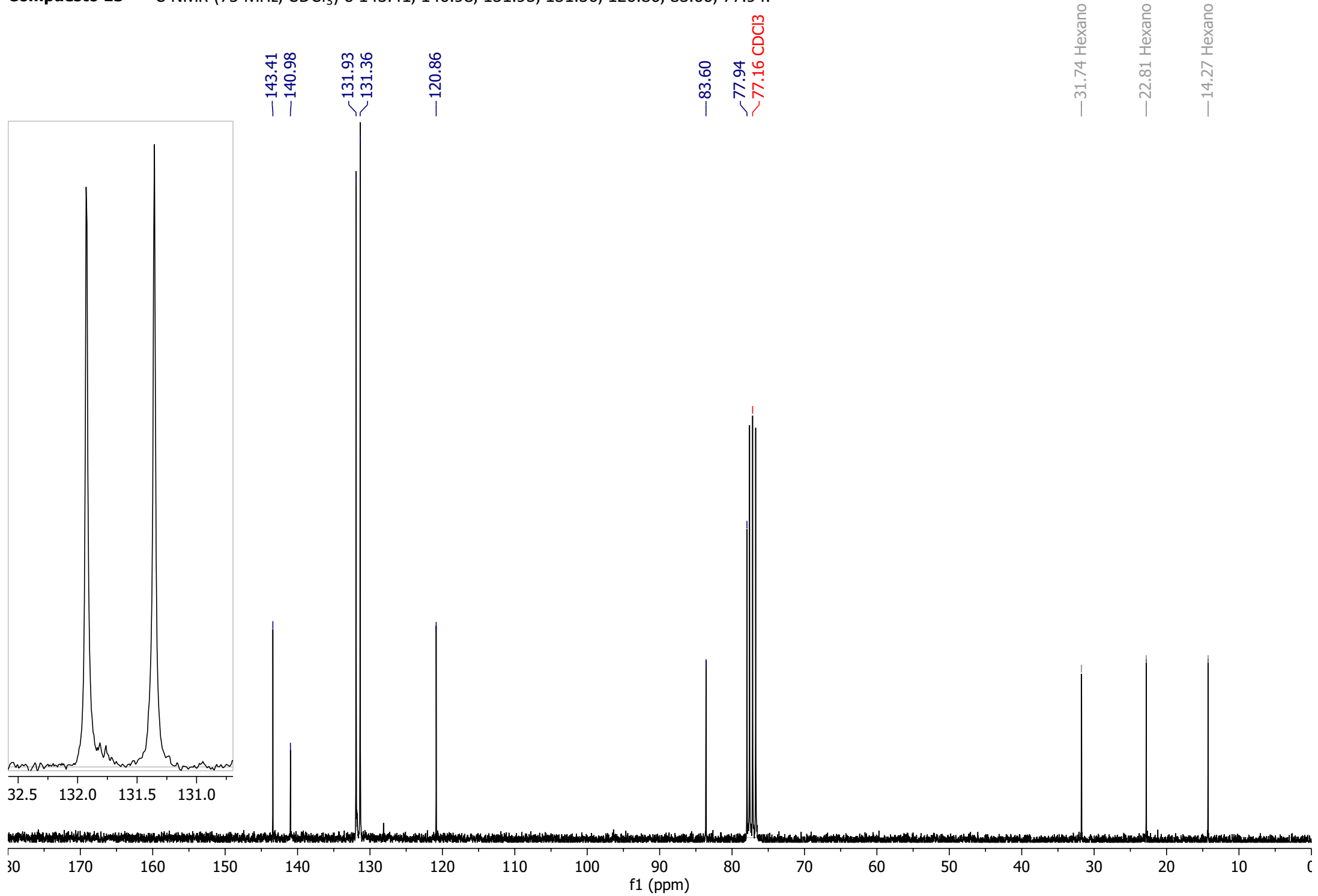
Compuesto 12 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 143.26, 140.98, 131.70, 131.34, 121.73, 105.08, 95.07, 0.09.



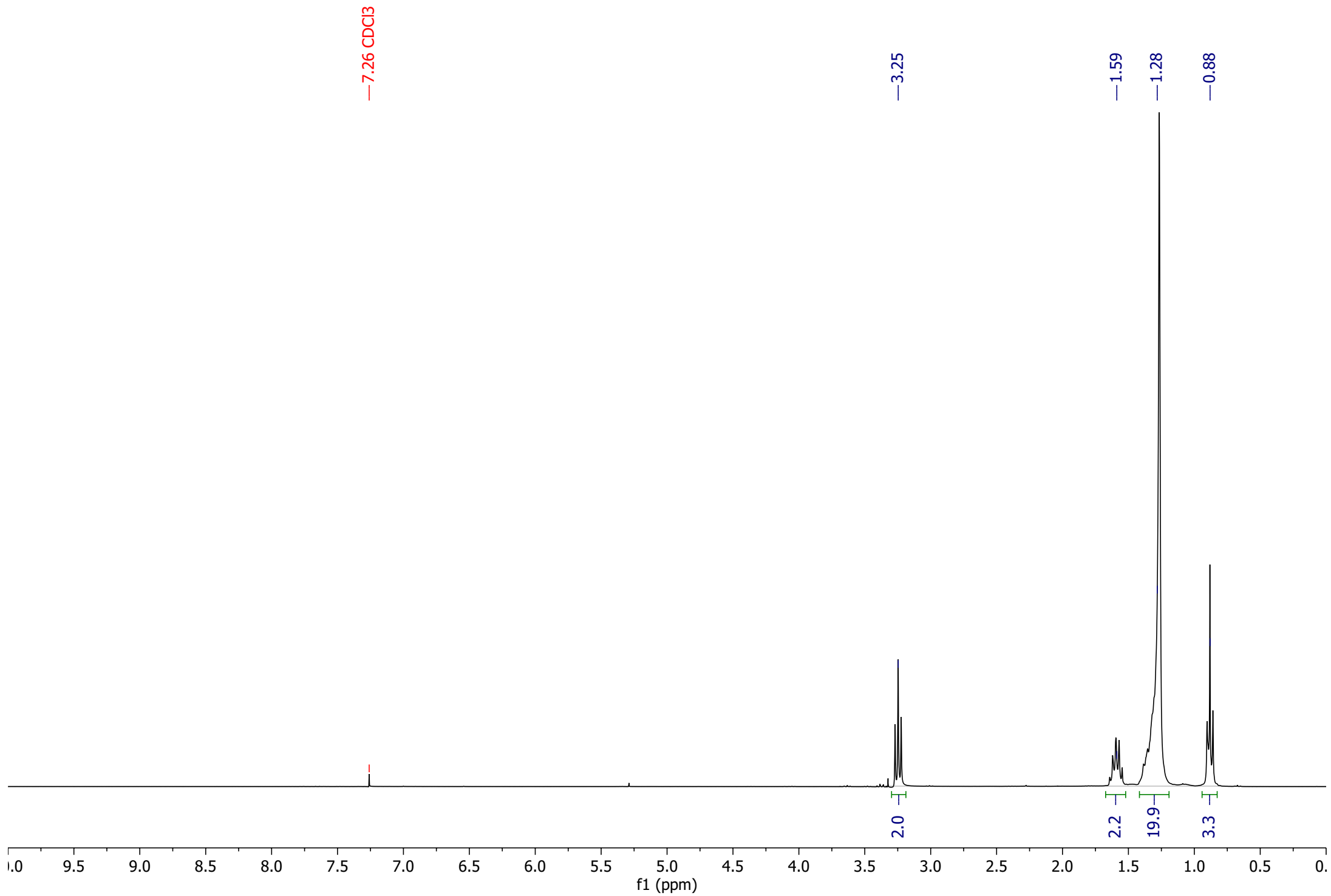
Compuesto 13 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.25 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 6.94 (d, $J = 8.6$ Hz, 8H), 3.07 (s, 4H).



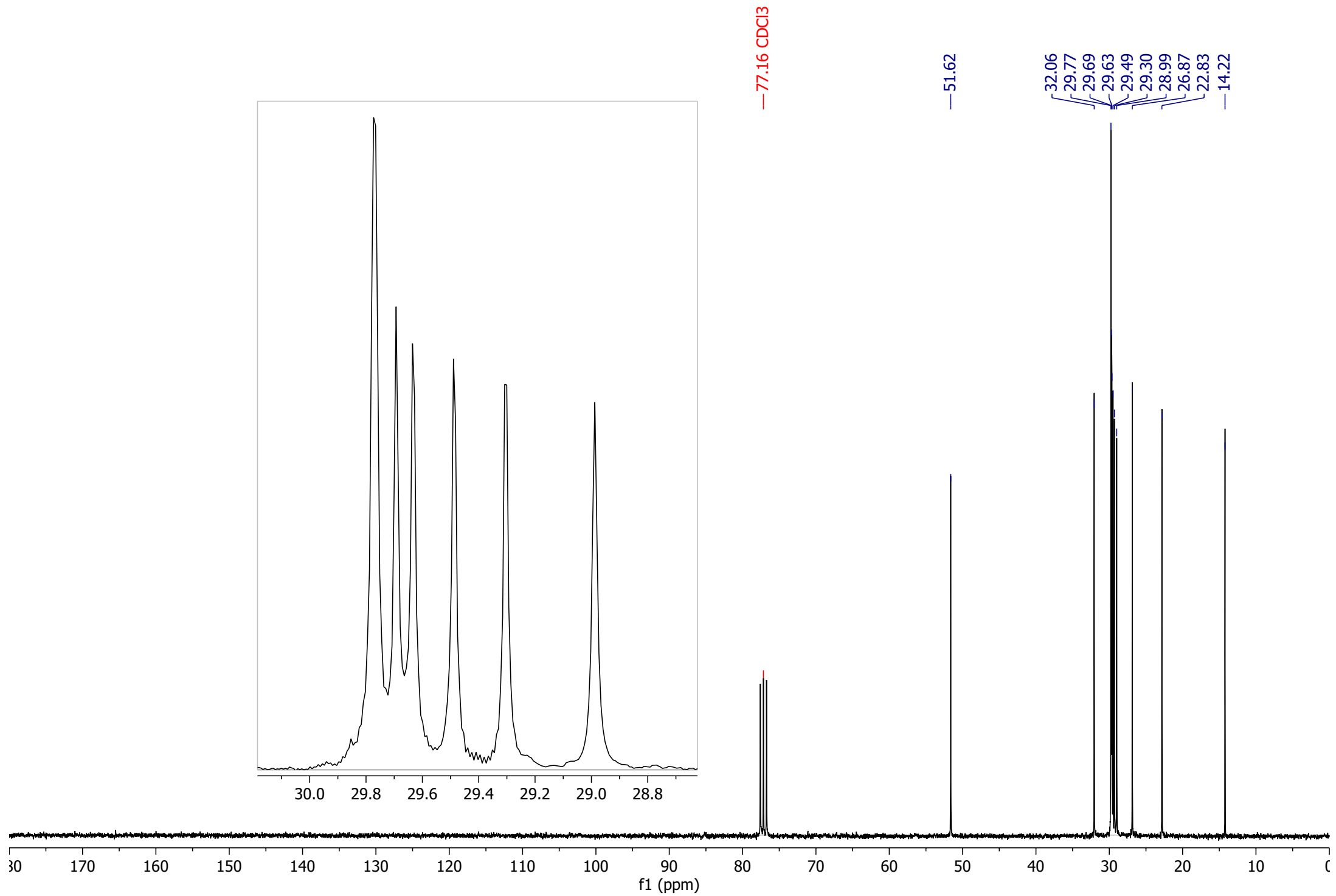
Compuesto 13 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 143.41, 140.98, 131.93, 131.36, 120.86, 83.60, 77.94.



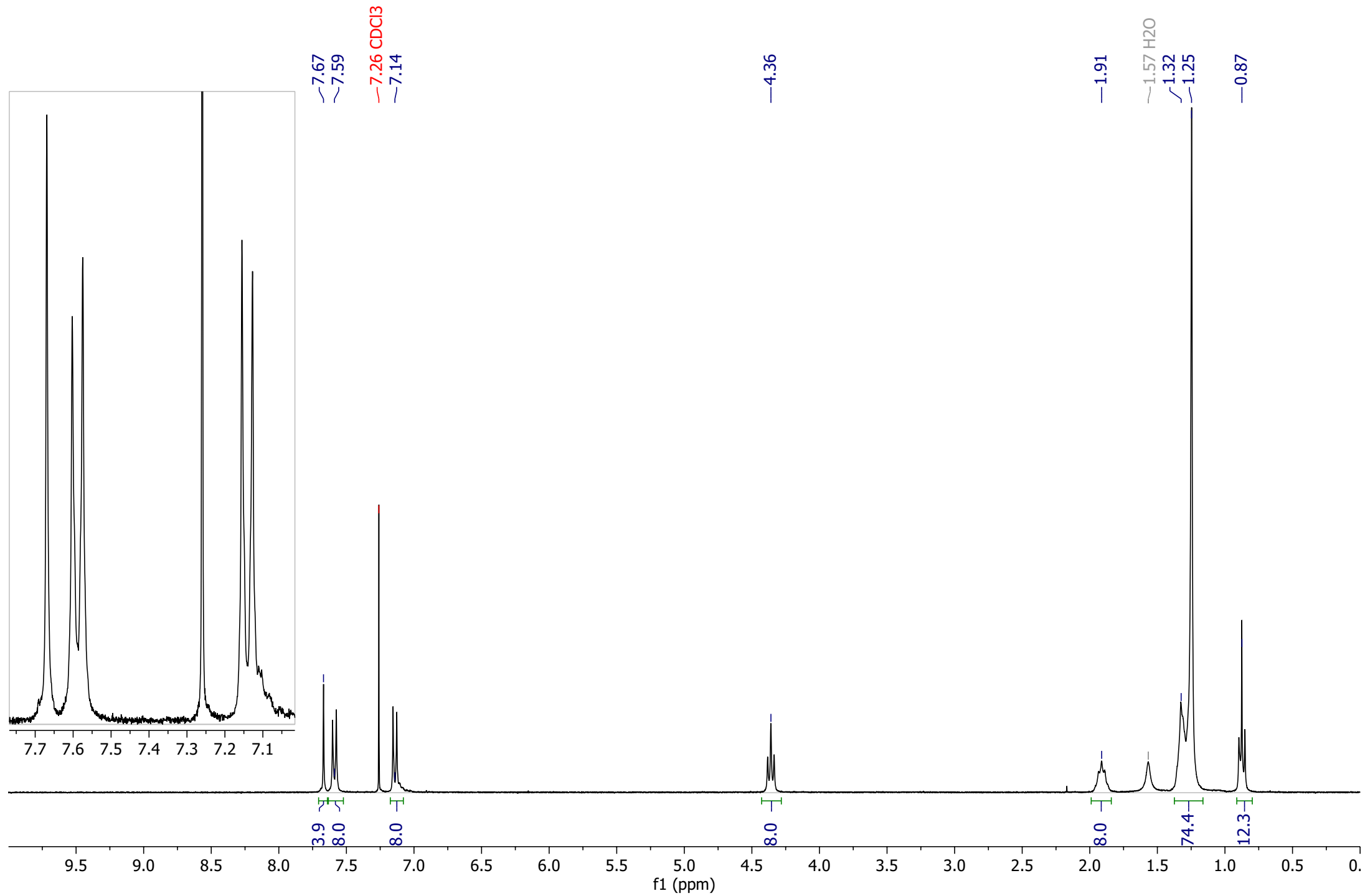
Compuesto 14 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.25 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.58 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.42 – 1.20 (m, 20H), 0.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H).



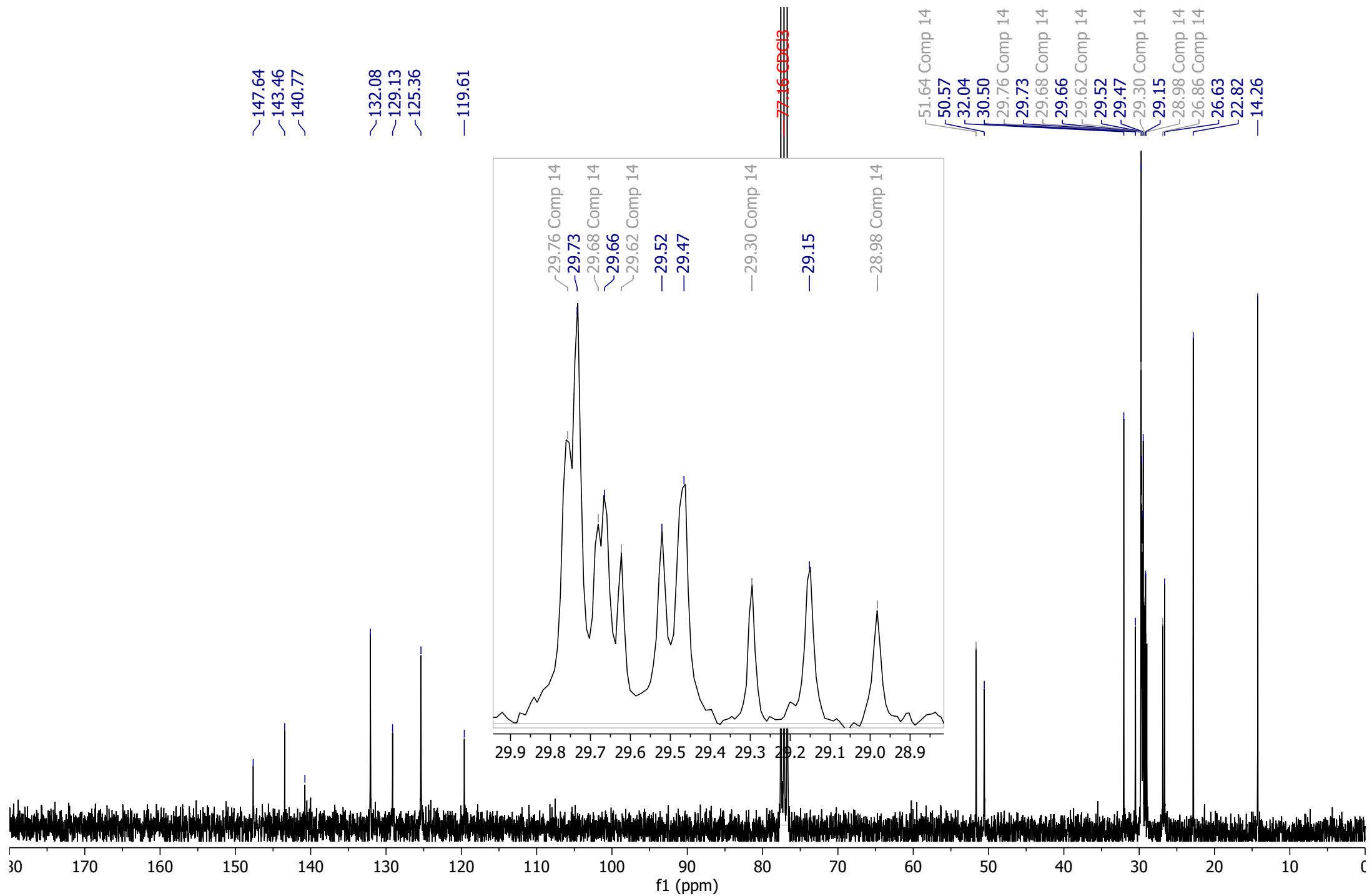
Compuesto 14 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 51.62, 32.06, 29.77, 29.69, 29.63, 29.49, 29.30, 28.99, 26.87, 22.83, 14.22.



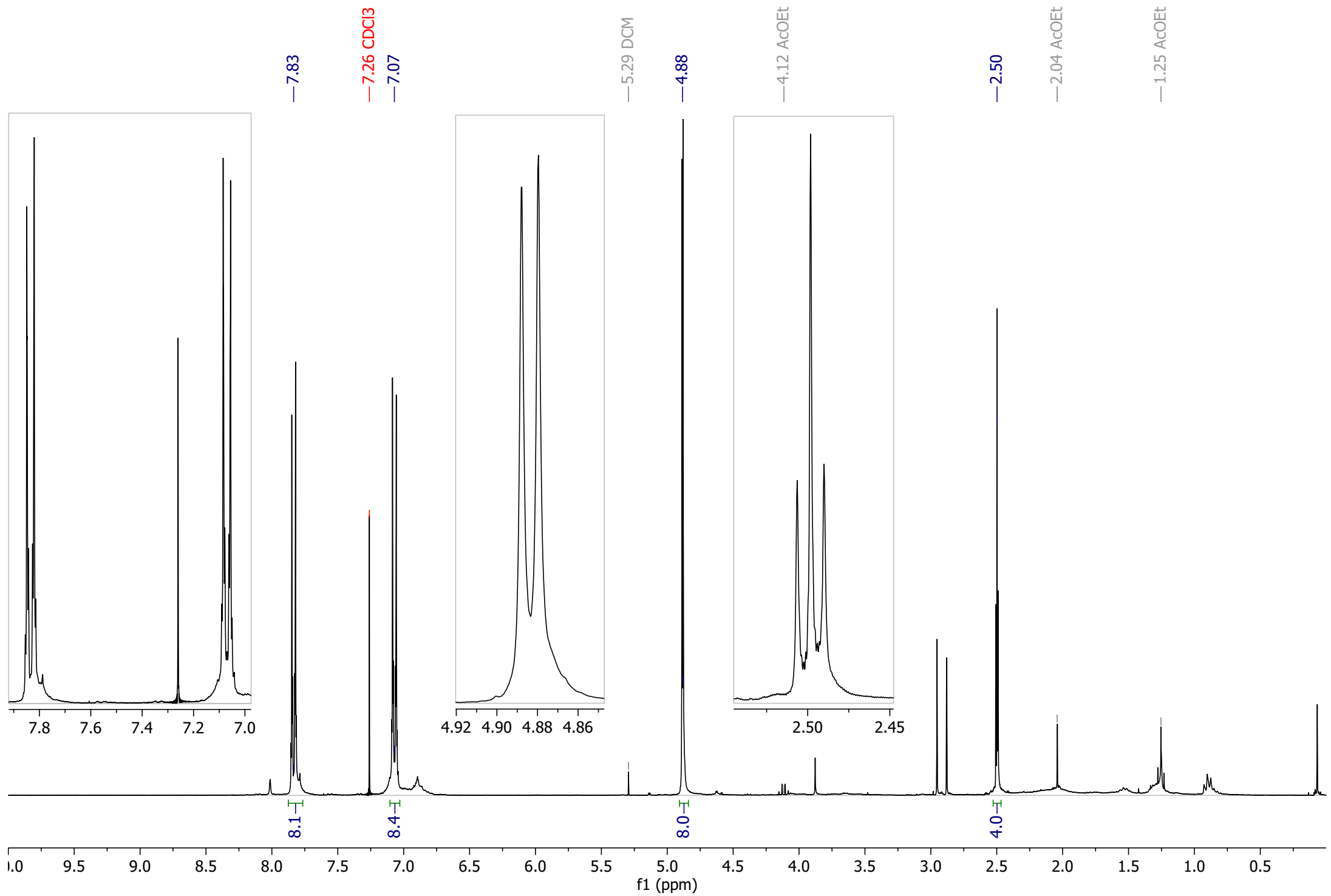
Compuesto 15 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.67 (s, 4H), 7.59 (d, $J = 8.3$ Hz, 8H), 7.14 (d, $J = 8.3$ Hz, 8H), 4.36 (t, $J = 7.2$ Hz, 8H), 1.91 (p, $J = 7.4$ Hz, 8H), 1.38 – 1.18 (m, 72H), 0.87 (t, $J = 6.9$ Hz, 12H).



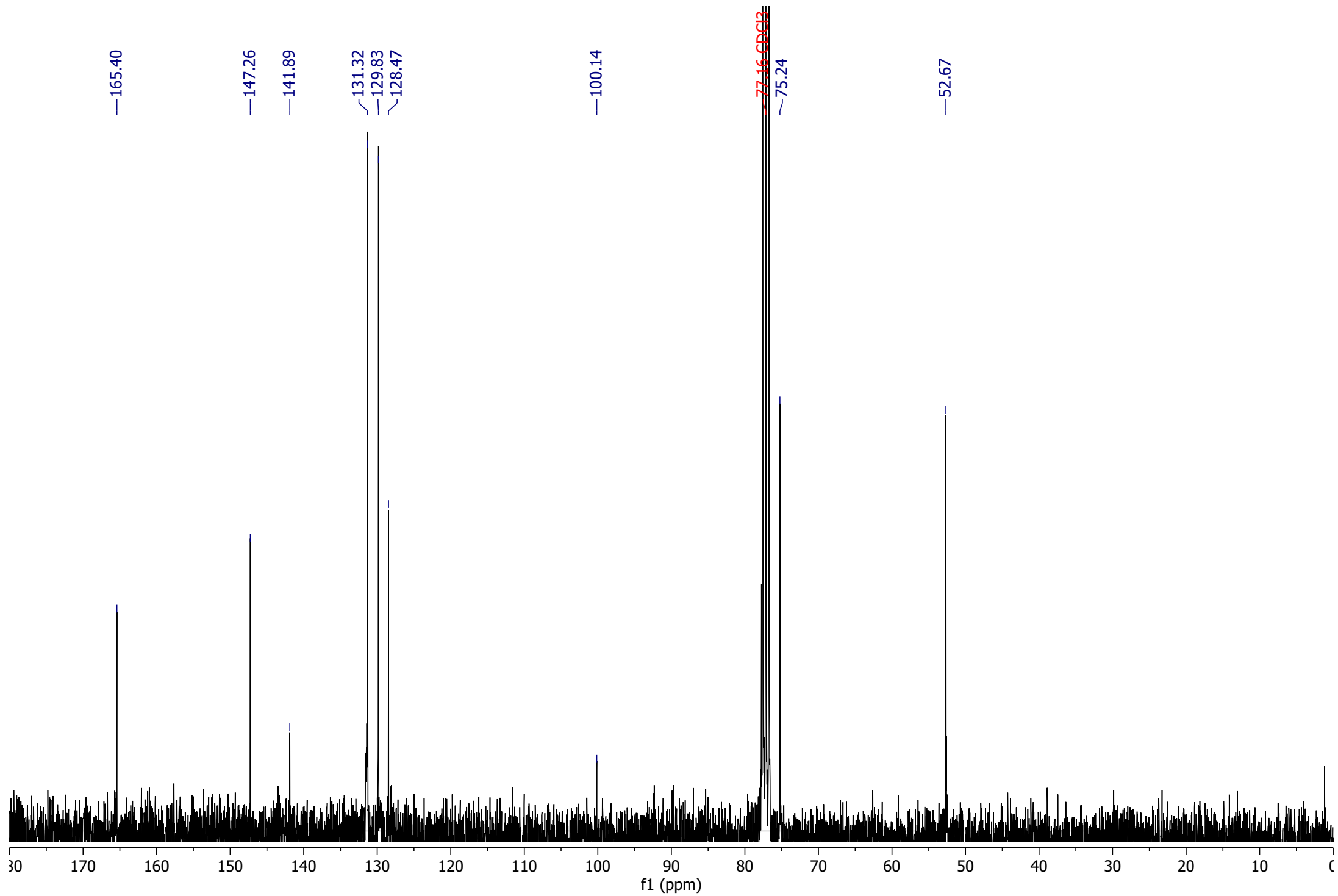
Compuesto 15 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 147.64, 143.46, 140.77, 132.08, 129.13, 125.36, 119.61, 50.57, 32.04, 30.50, 29.73, 29.66, 29.52, 29.47, 29.15, 26.63, 22.82, 14.26. (Espectro registrado antes de lavar con hexano).



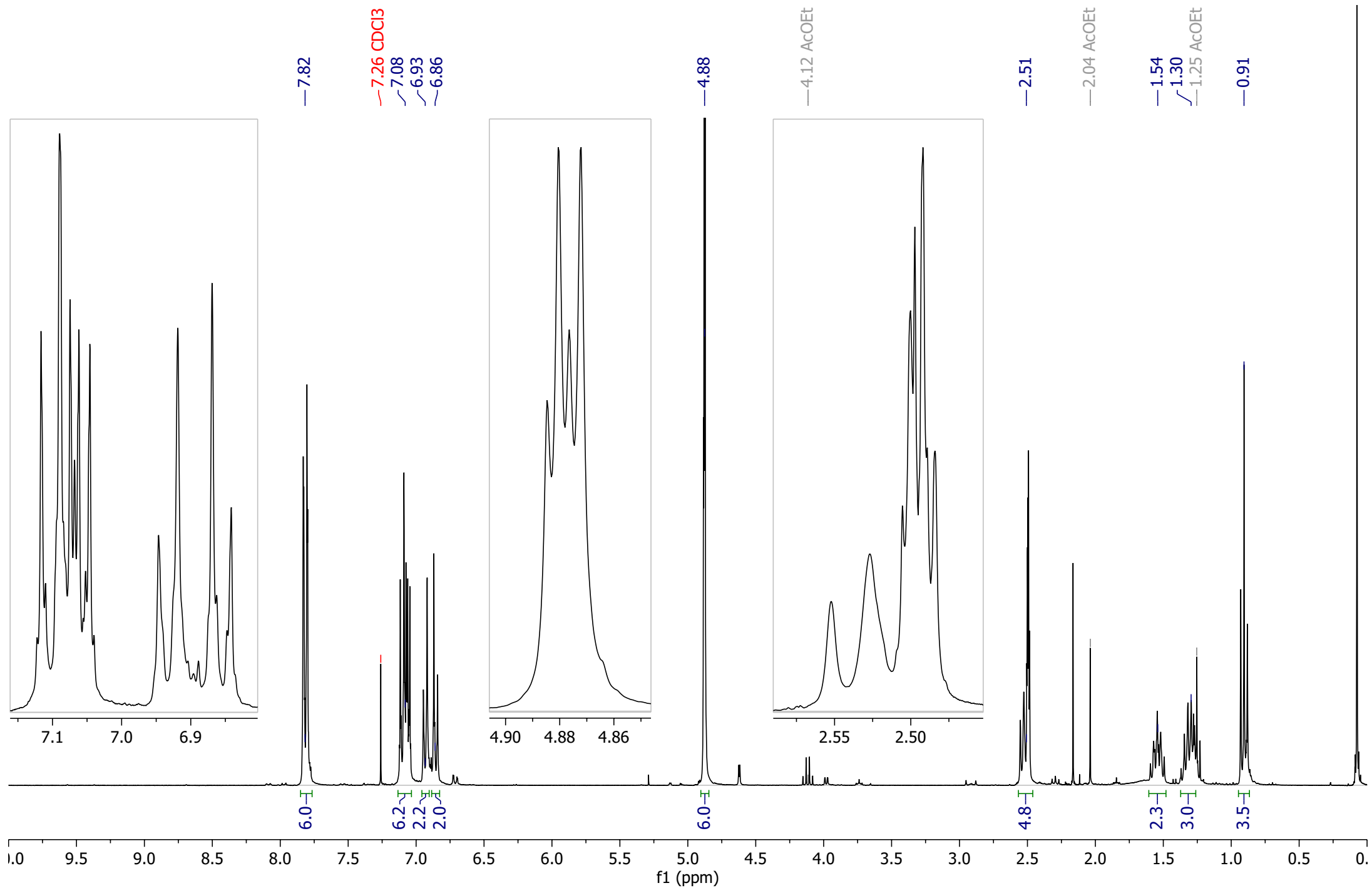
Compuesto 16 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.83 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 7.07 (d, $J = 8.7$ Hz, 8H), 4.88 (d, $J = 2.5$ Hz, 8H), 2.50 (t, $J = 2.4$ Hz, 4H).



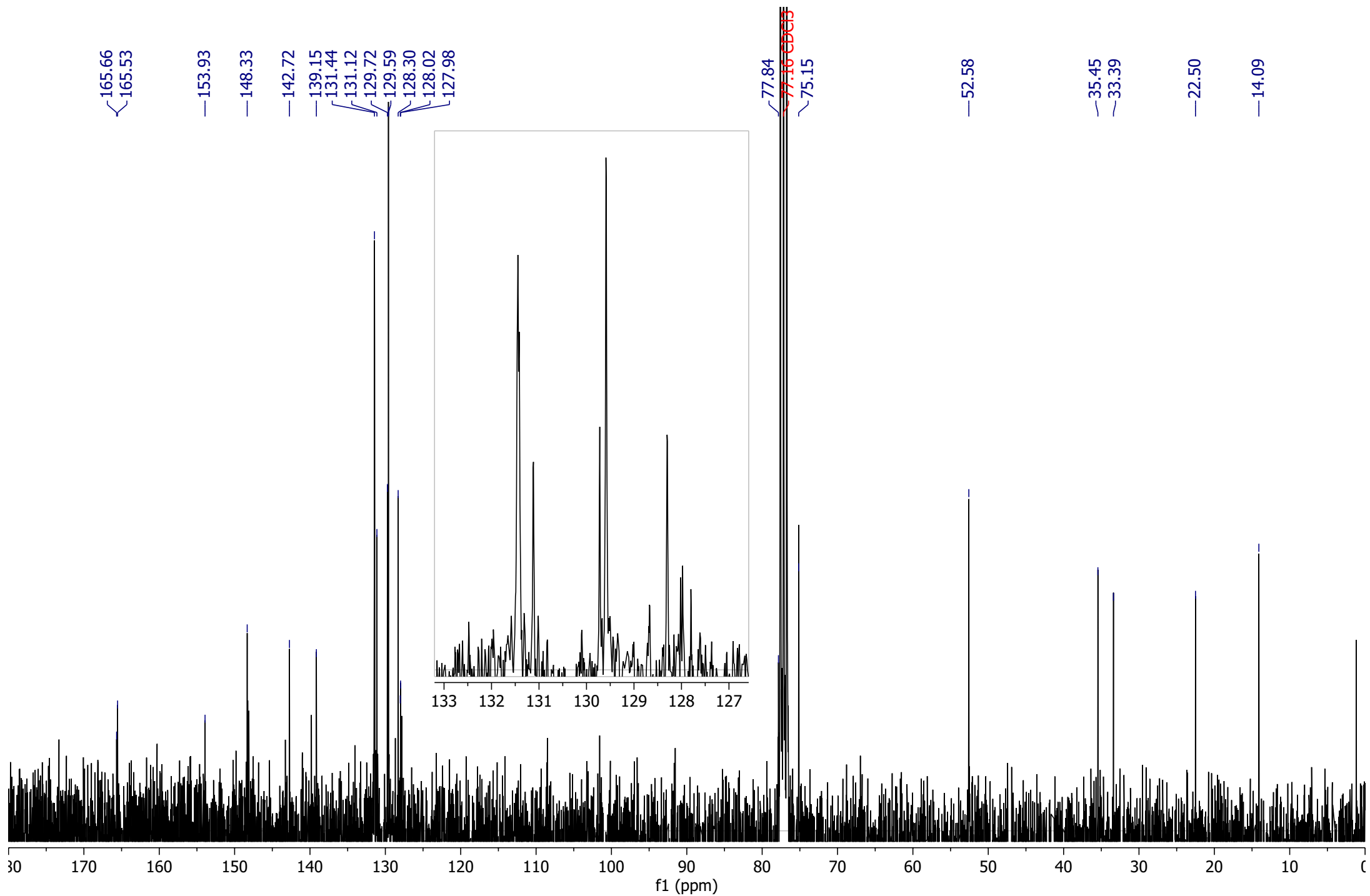
Compuesto 16 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 165.40, 147.26, 141.89, 131.32, 129.83, 128.47, 100.14, 75.24, 52.67.



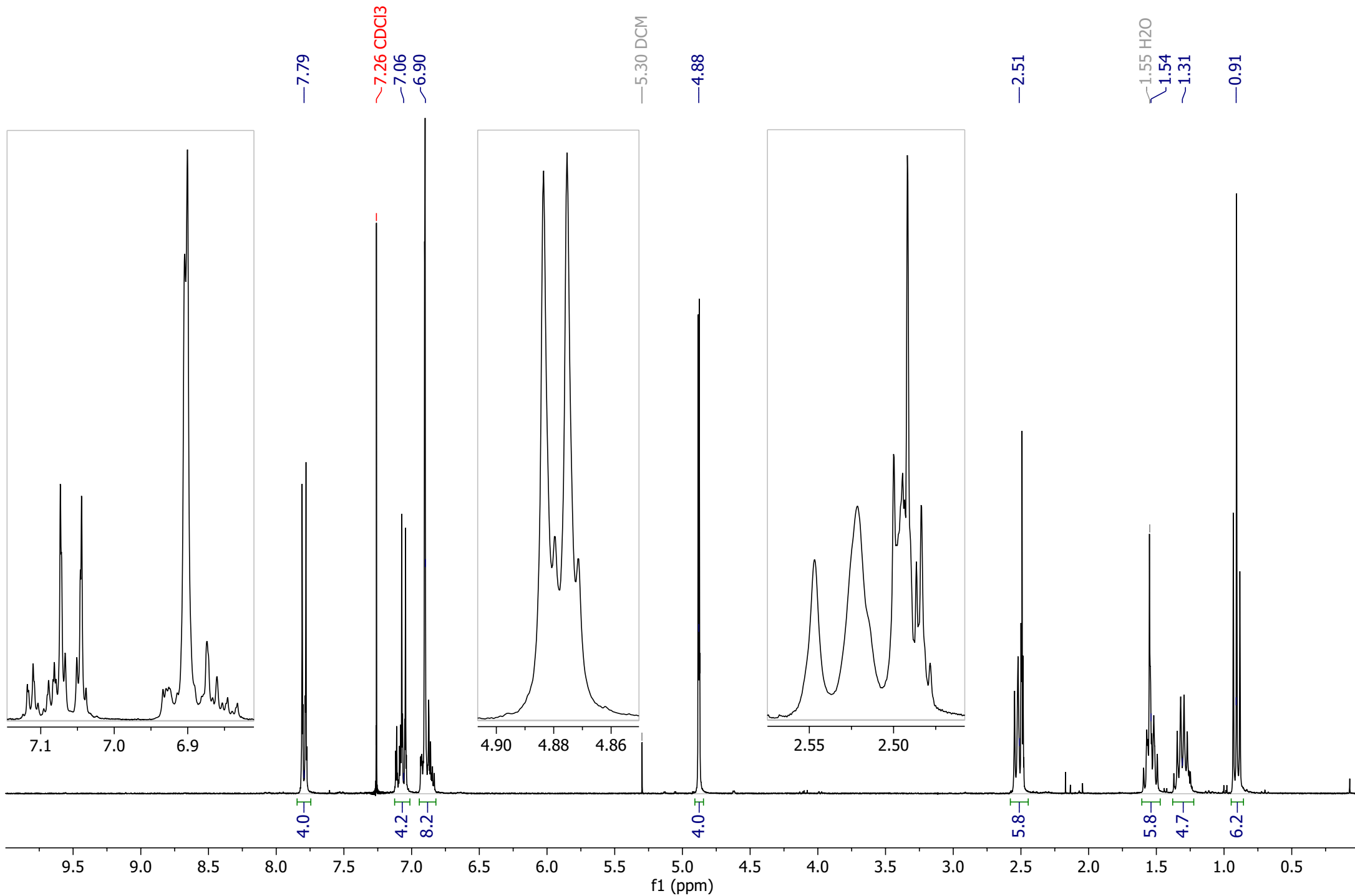
Compuesto 17 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.82 (d, $J = 8.0$ Hz, 6H), 7.17 – 6.99 (m, 6H), 6.93 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 4.88 (d, $J = 2.5$ Hz, 6H), 2.59 – 2.43 (m, 5H), 1.60 – 1.48 (m, 2H), 1.39 – 1.18 (m, 2H), 0.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H).



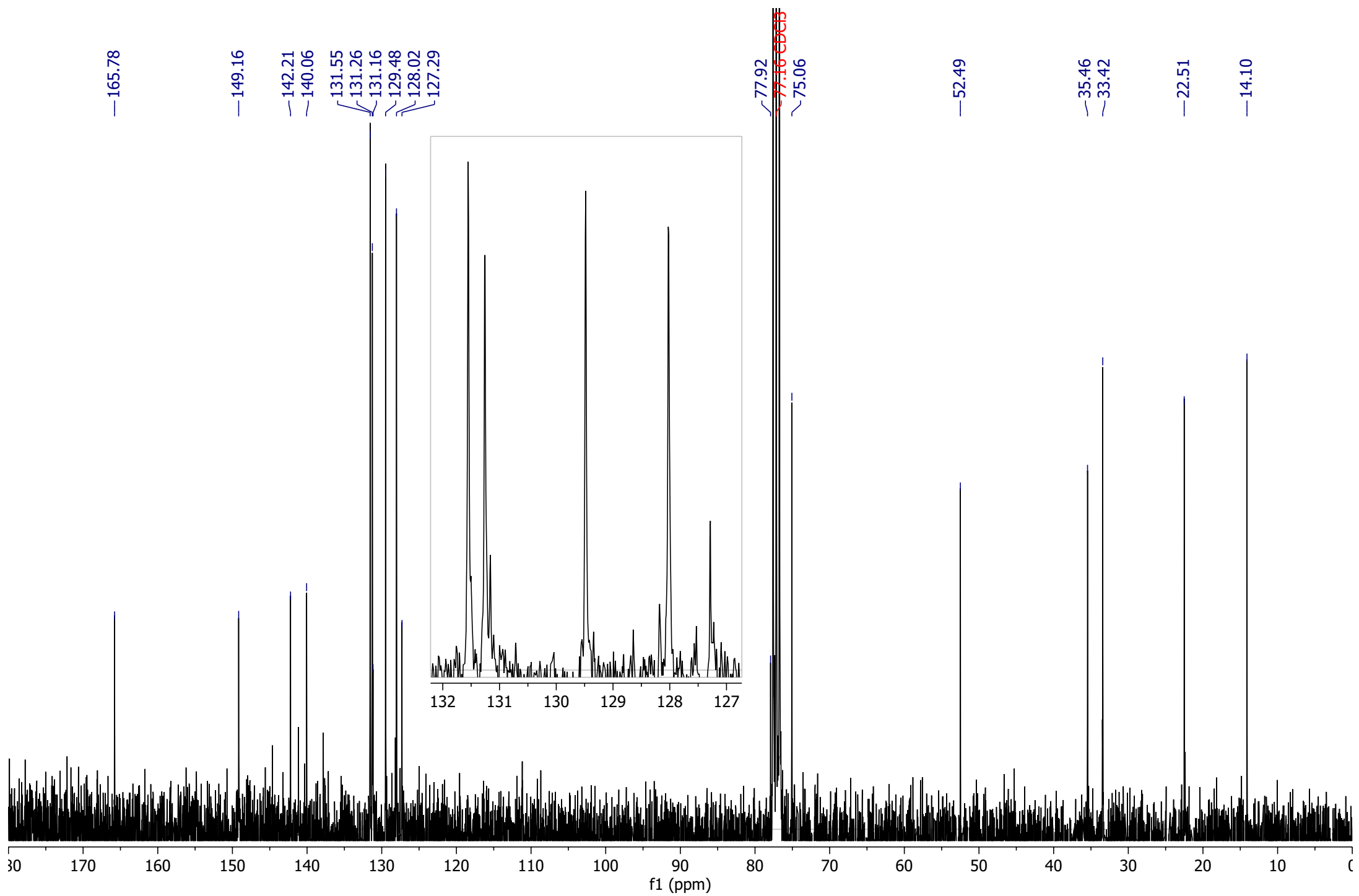
Compuesto 17 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 165.66, 165.53, 153.93, 148.33, 142.72, 139.15, 131.44, 131.12, 129.72, 129.59, 128.30, 128.02, 127.98, 77.84, 77.16, 75.15, 52.58, 35.45, 33.39, 22.50, 14.09.



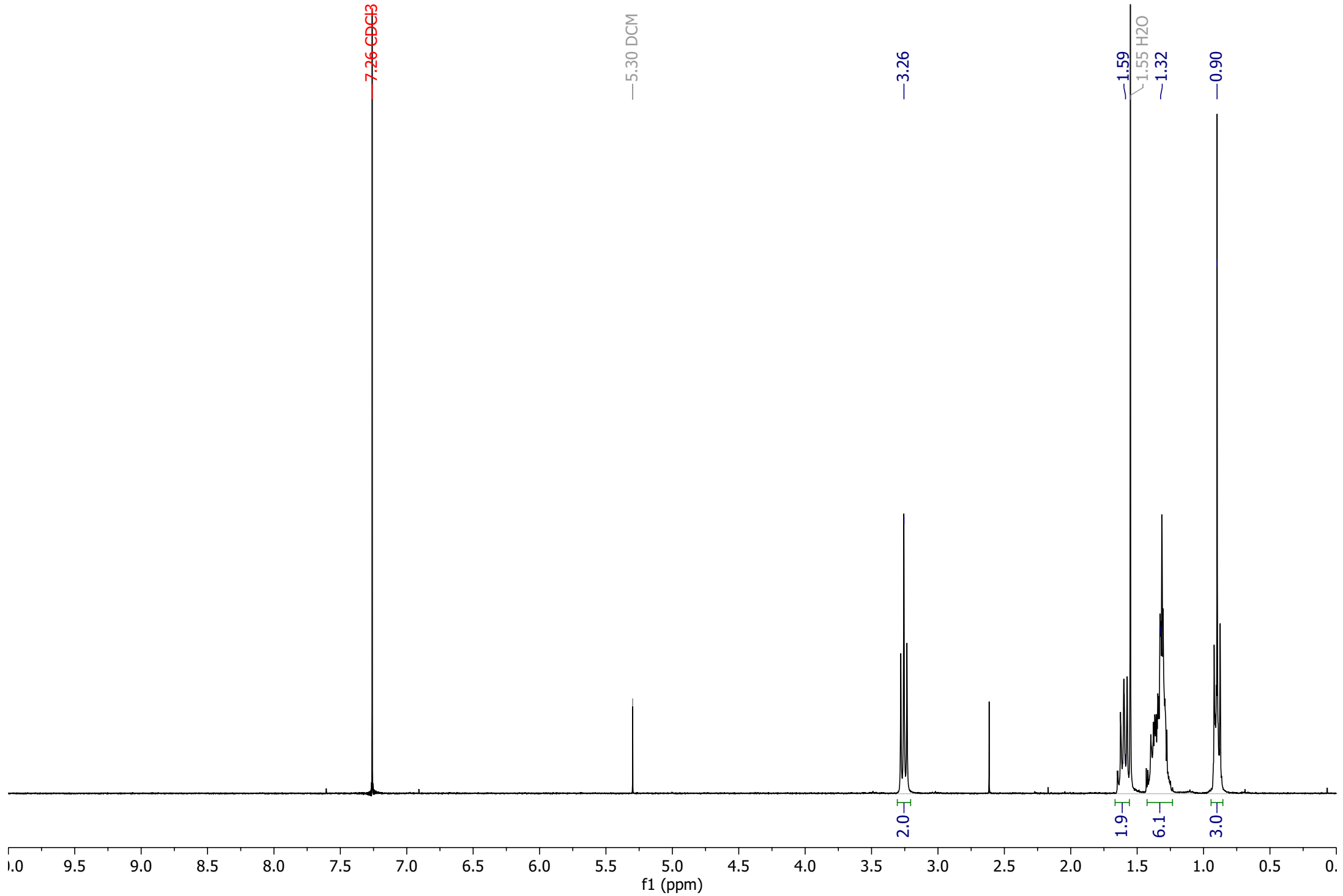
Compuesto 18 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.79 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H), 7.06 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H), 6.96 – 6.82 (m, 8H), 4.88 (d, $J = 2.5$ Hz, 4H), 2.57 – 2.46 (m, 6H), 1.61 – 1.48 (m, 4H), 1.31 (h, $J = 7.4$ Hz, 4H), 0.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H).



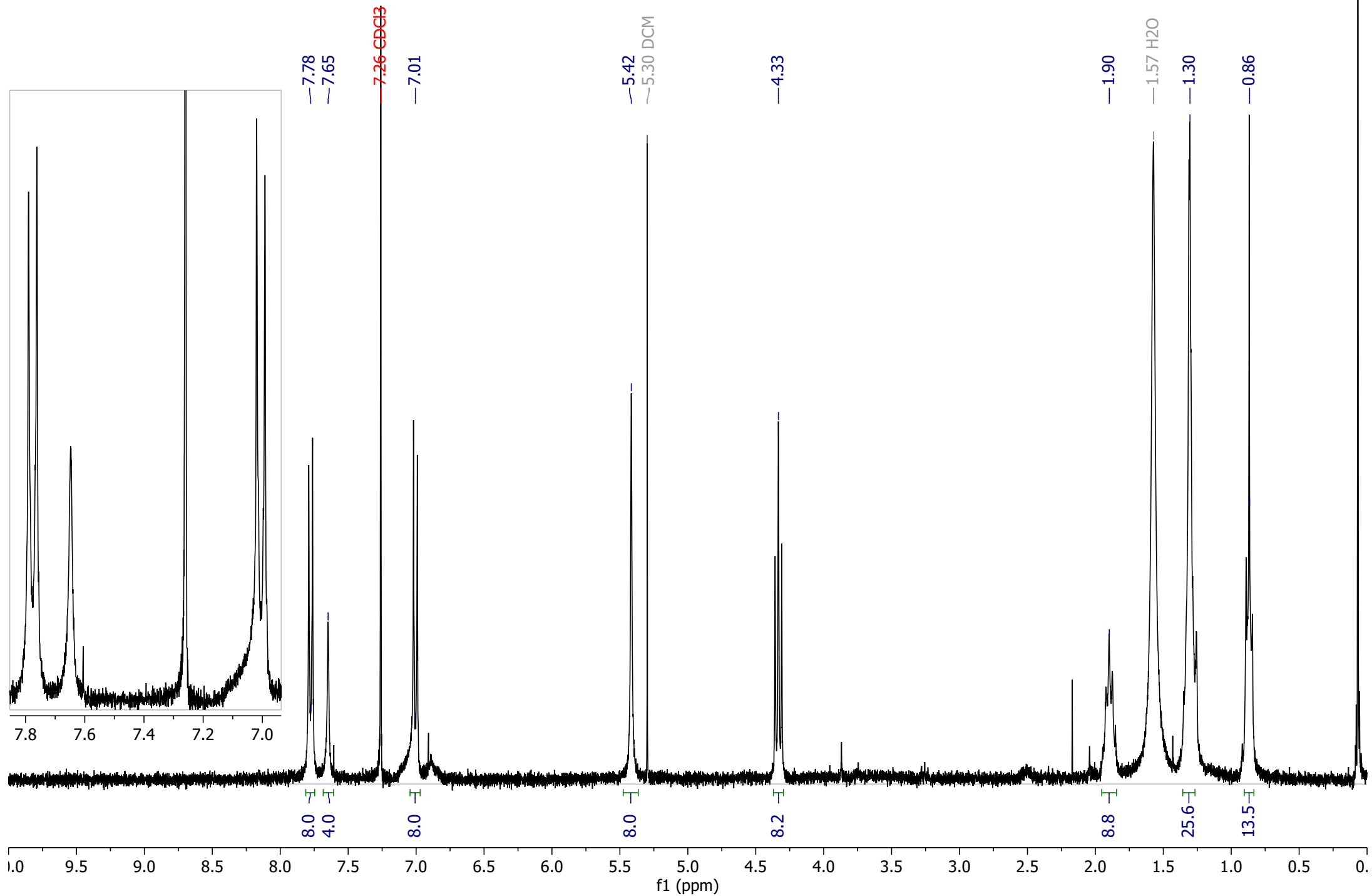
Compuesto 18 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 165.78, 149.16, 142.21, 140.06, 131.55, 131.26, 131.16, 129.48, 128.02, 127.29, 77.92, 75.06, 52.49, 35.46, 33.42, 22.51, 14.10.



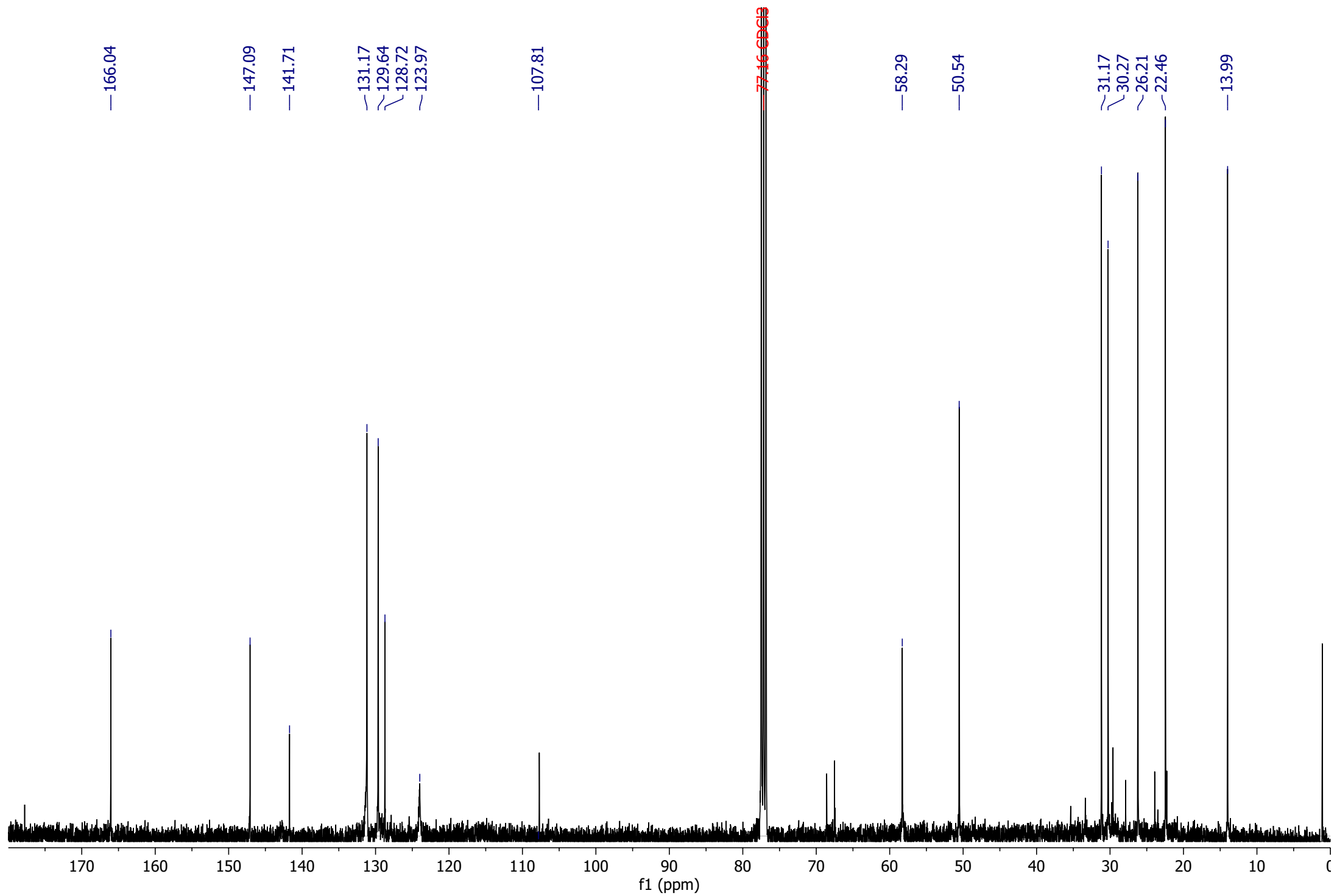
Compuesto 19 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.26 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.66 – 1.53 (m, 2H), 1.43 – 1.24 (m, 6H), 0.90 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H).



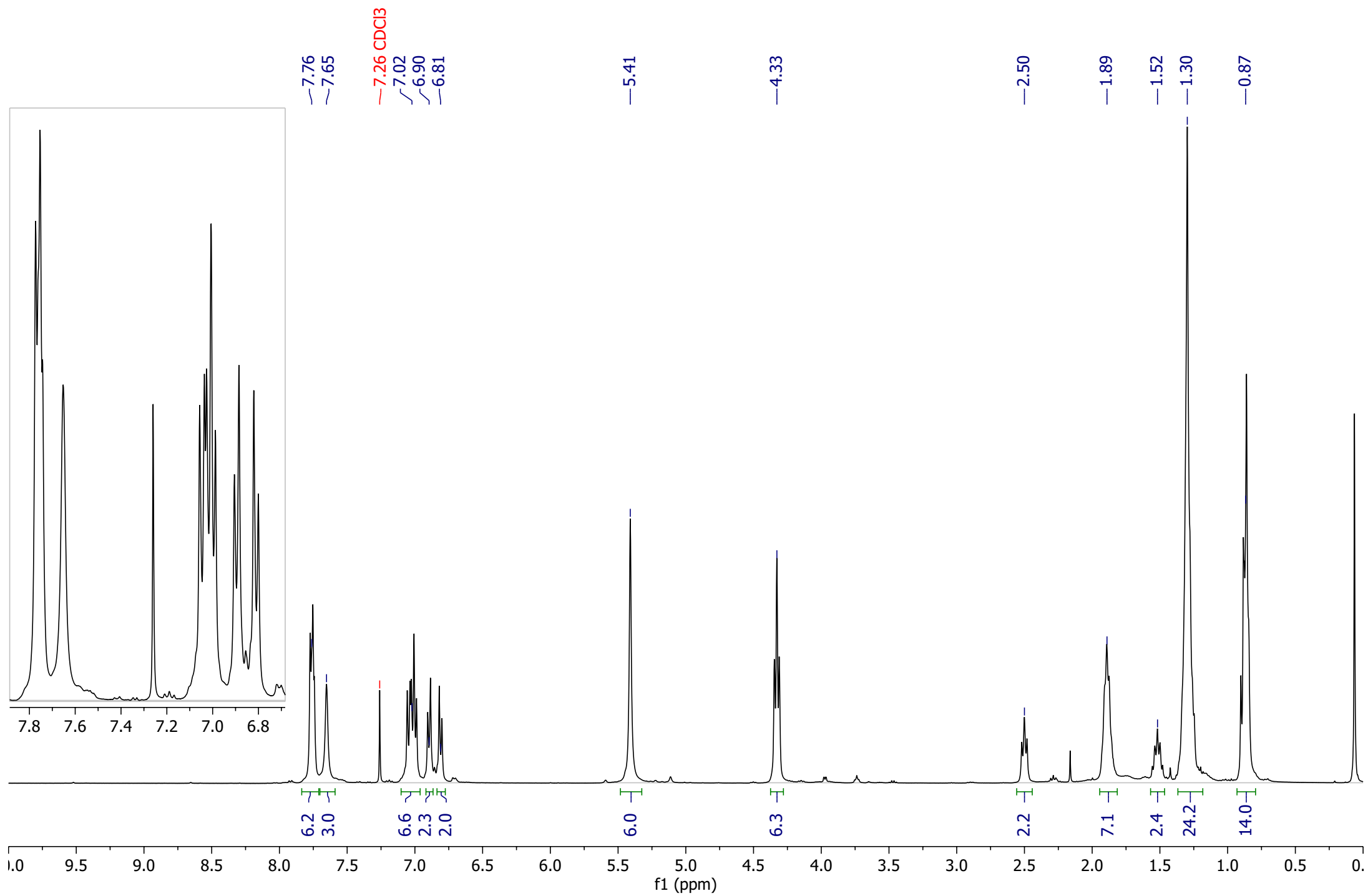
Compuesto 20 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 7.78 (d, $J = 8.3$ Hz, 8H), 7.65 (s, 4H), 7.01 (d, $J = 8.3$ Hz, 8H), 5.42 (s, 8H), 4.33 (t, $J = 7.3$ Hz, 8H), 1.90 (p, $J = 7.0$ Hz, 8H), 1.40 – 1.17 (m, 24H), 0.87 (t, $J = 6.9$ Hz, 12H).



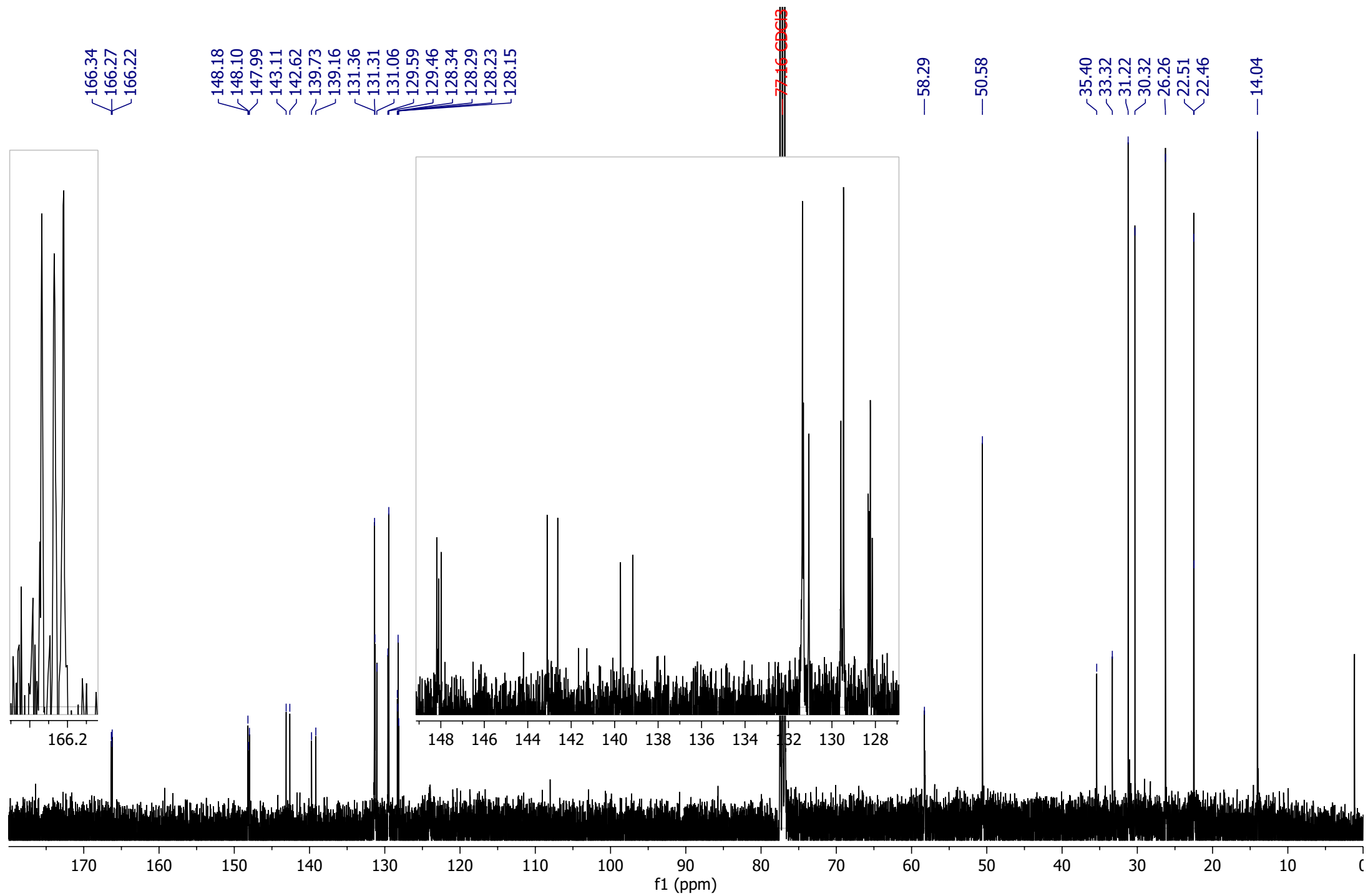
Compuesto 20 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 166.04, 147.09, 141.71, 131.17, 129.64, 128.72, 123.97, 107.81, 58.29, 50.54, 31.17, 30.27, 26.21, 22.46, 13.99.



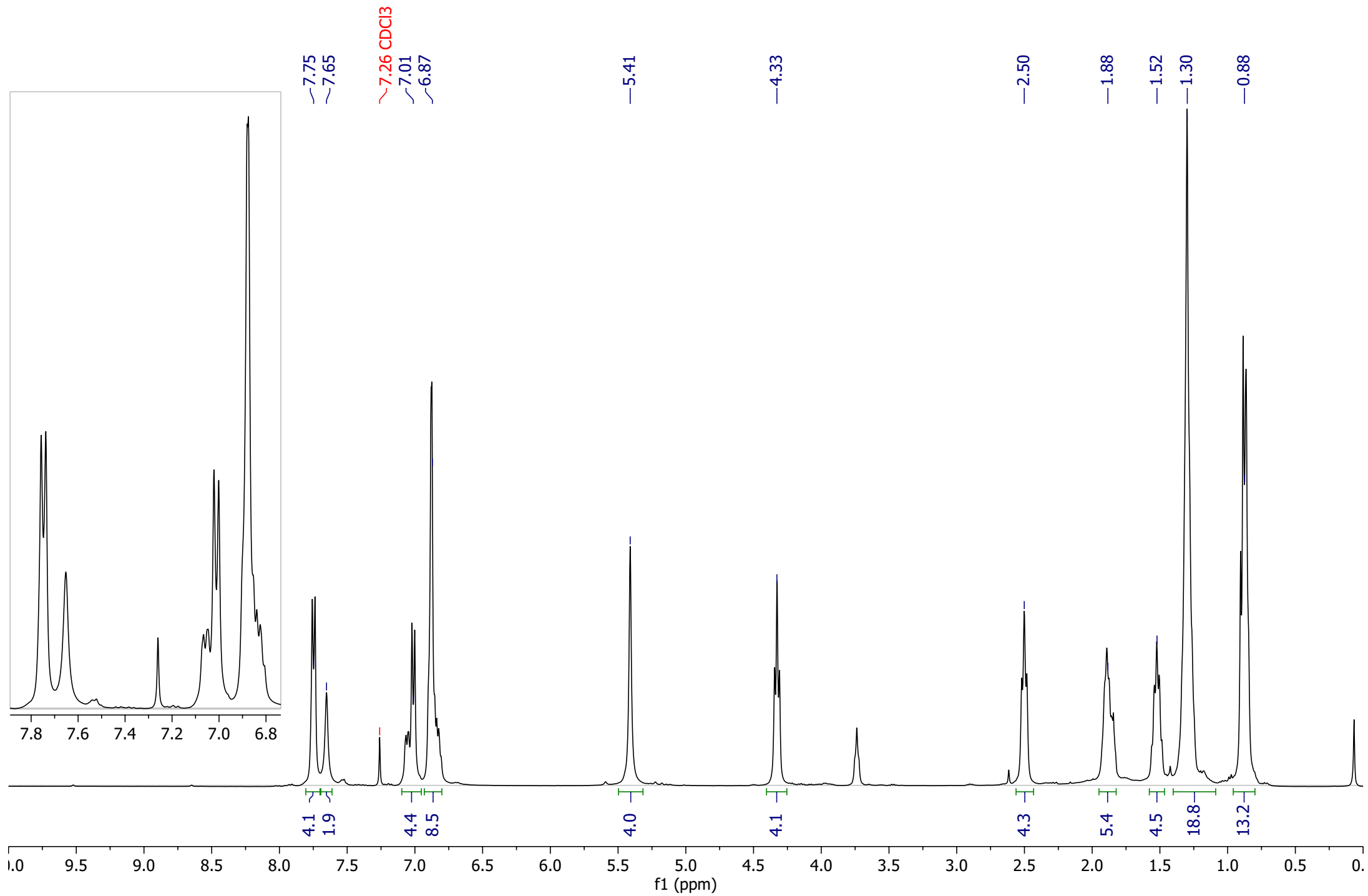
Compuesto 21 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.87 – 7.70 (m, 6H), 7.65 (s, 3H), 7.13 – 6.95 (m, 6H), 6.90 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.81 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 5.41 (s, 6H), 4.33 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 2.50 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 1.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H), 1.52 (p, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.41 – 1.18 (m, 20H), 0.94 – 0.78 (m, 12H).



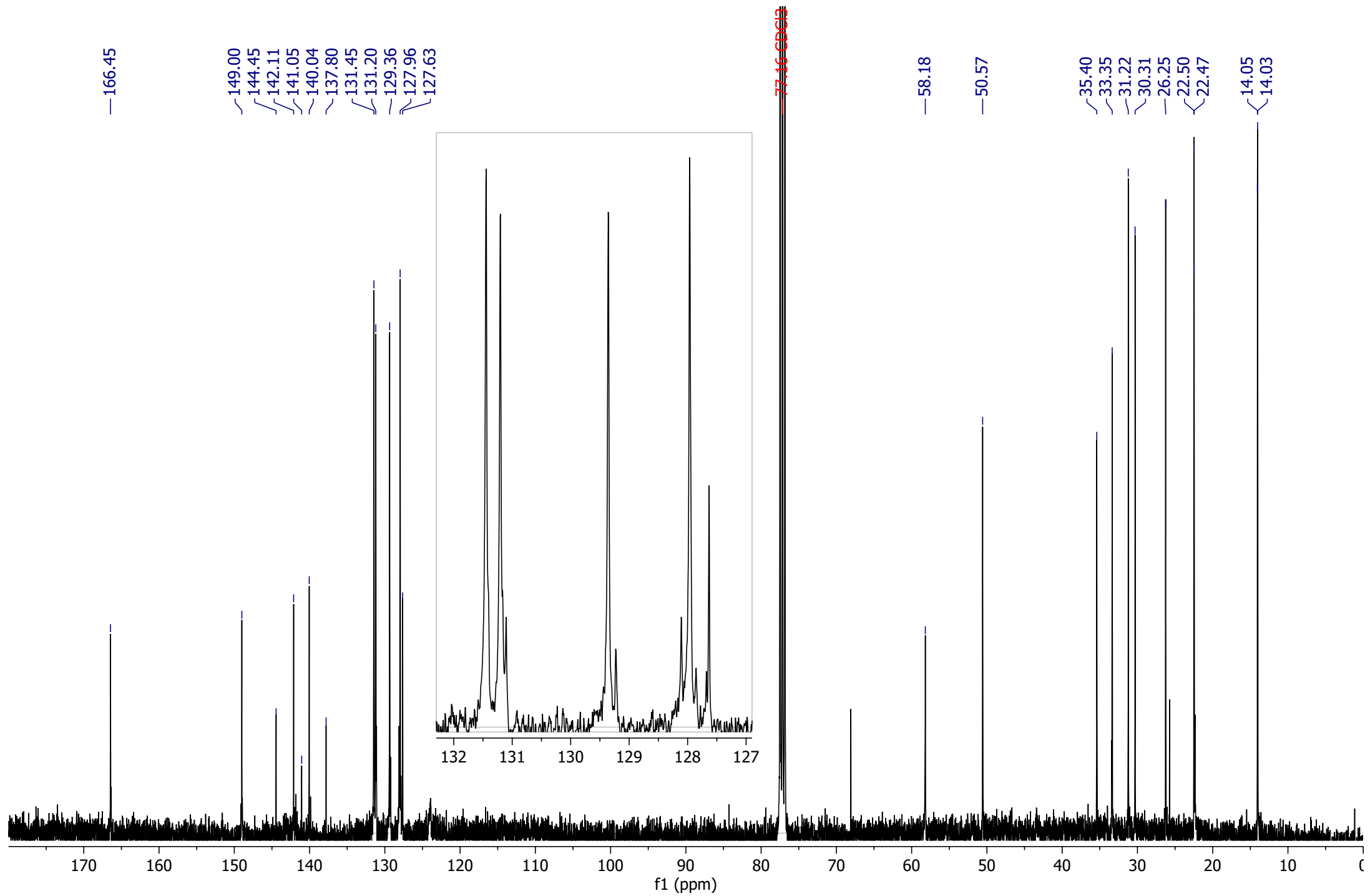
Compuesto 21 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 166.34, 166.27, 166.22, 148.18, 148.10, 147.99, 143.11, 142.62, 139.73, 139.16, 131.36, 131.31, 131.06, 129.59, 129.46, 128.34, 128.29, 128.23, 128.15, 58.29, 50.58, 35.40, 33.32, 31.22, 30.32, 26.26, 22.51, 22.46, 14.04.



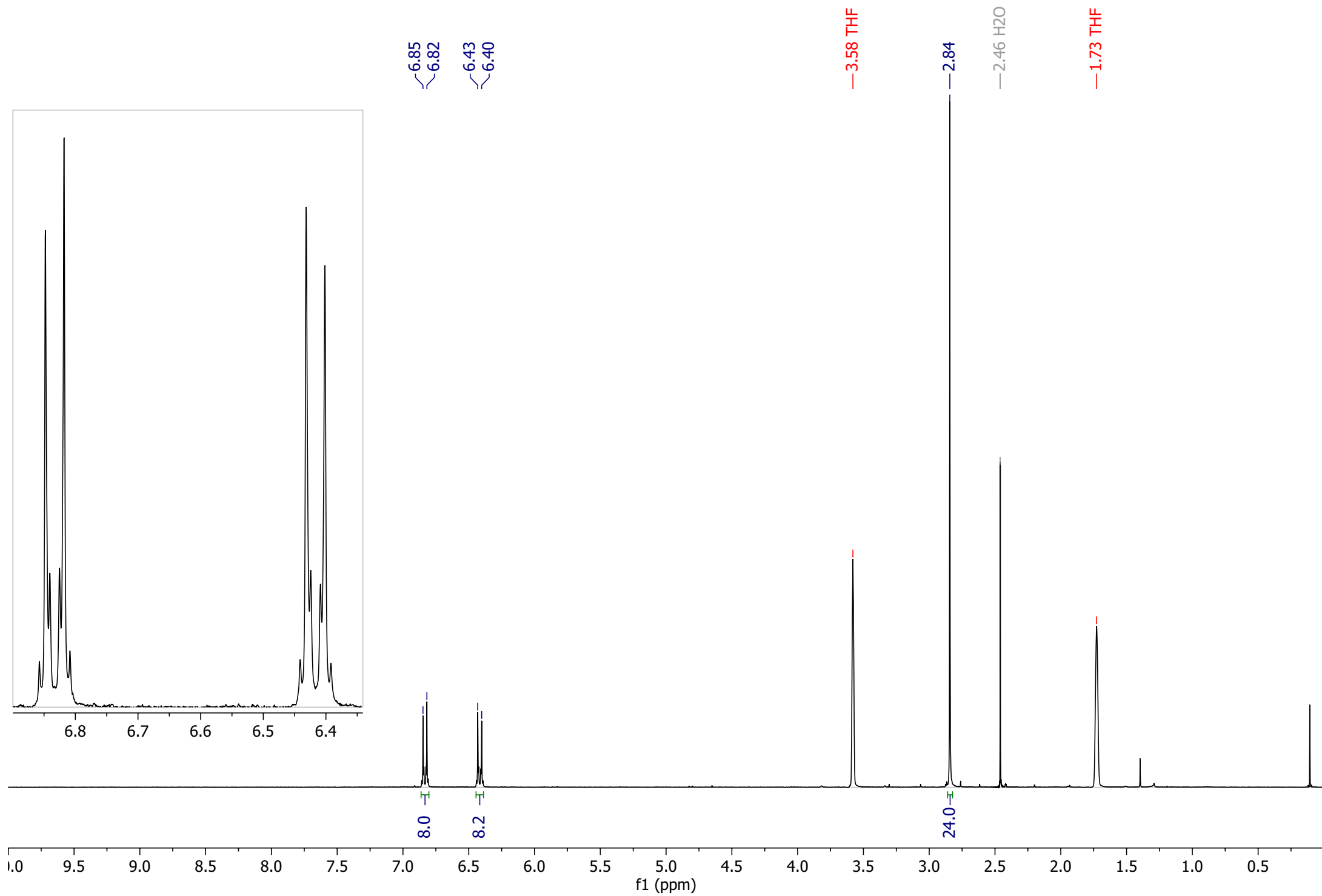
Compuesto 22 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.75 (d, $J = 8.0$ Hz, 4H), 7.65 (s, 2H), 7.01 (d, $J = 8.1$ Hz, 4H), 6.93 – 6.80 (m, 8H), 5.41 (s, 4H), 4.33 (t, $J = 7.3$ Hz, 4H), 2.50 (t, $J = 7.8$ Hz, 4H), 1.94 – 1.82 (m, 4H), 1.52 (p, $J = 7.6$ Hz, 4H), 1.40 – 1.21 (m, 16H), 0.96 – 0.80 (m, 12H).



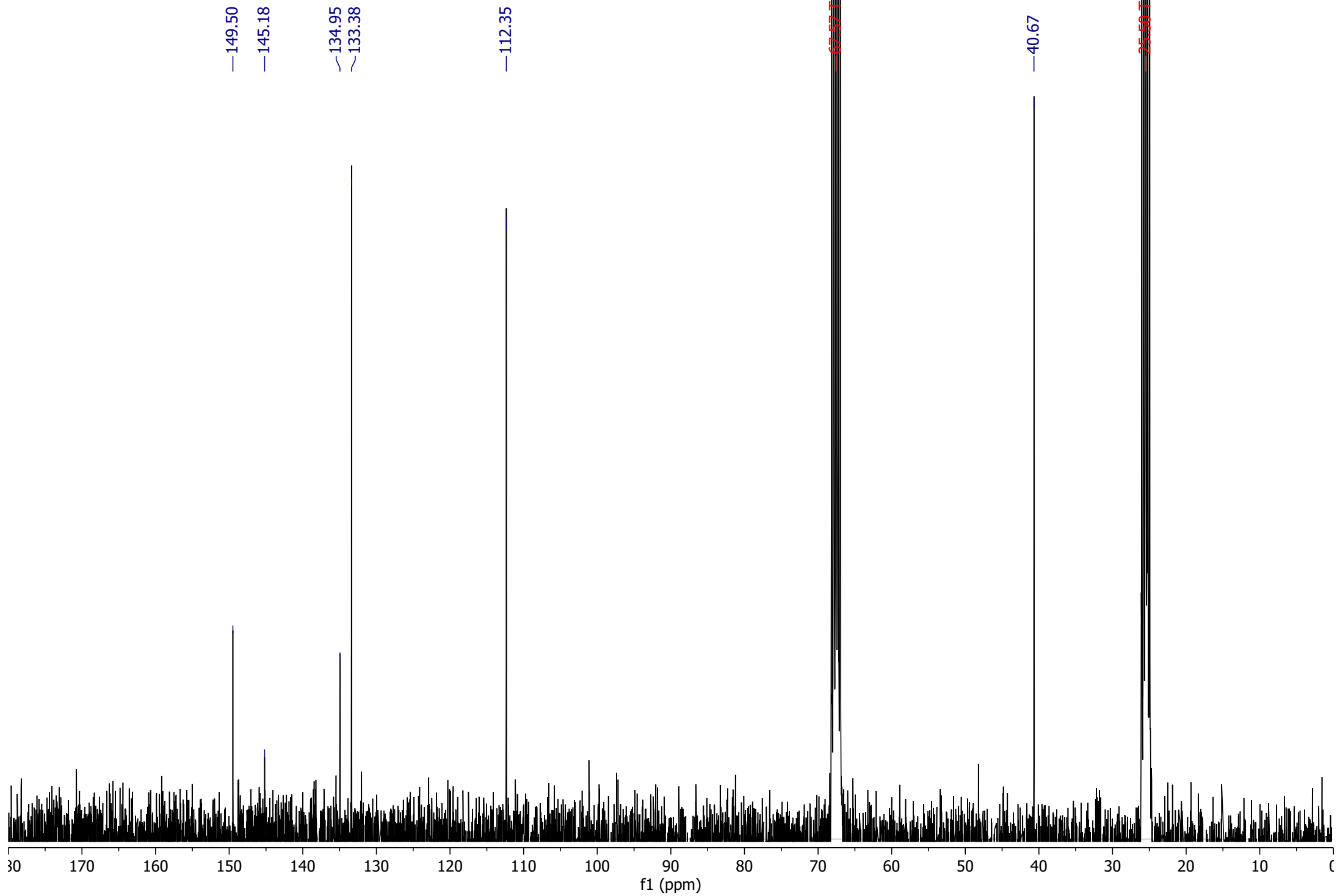
Compuesto 22 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 166.45, 149.00, 144.45, 142.11, 141.05, 140.04, 137.80, 131.45, 131.20, 129.36, 127.96, 127.63, 77.16, 58.18, 50.57, 35.40, 33.35, 31.22, 30.31, 26.25, 22.50, 22.47, 14.05, 14.03.



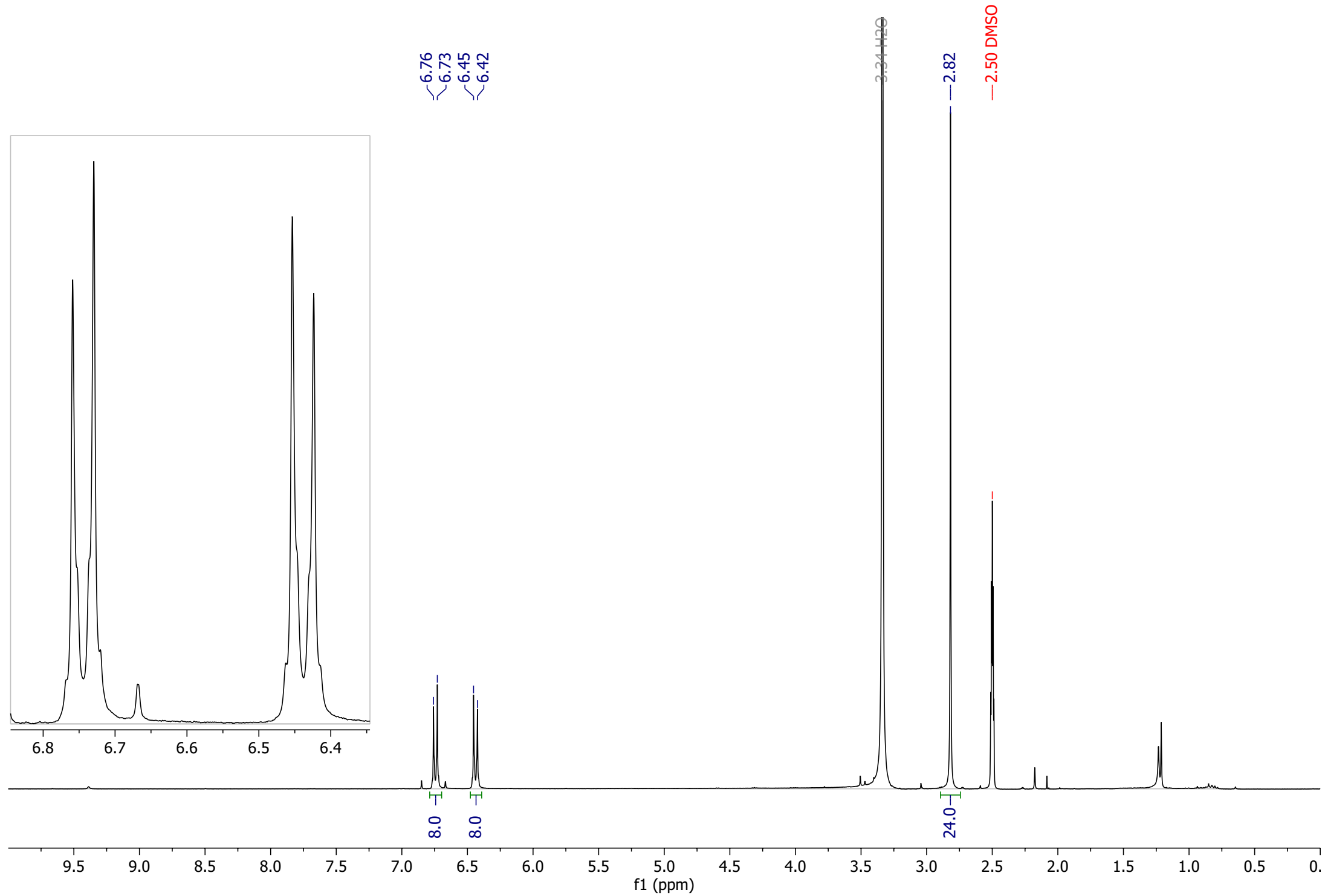
Compuesto 23 A ^1H NMR (300 MHz, THF- d_8) δ 6.84 (d, $J = 8.9$ Hz, 8H), 6.42 (d, $J = 9.0$ Hz, 8H), 2.85 (s, 24H).



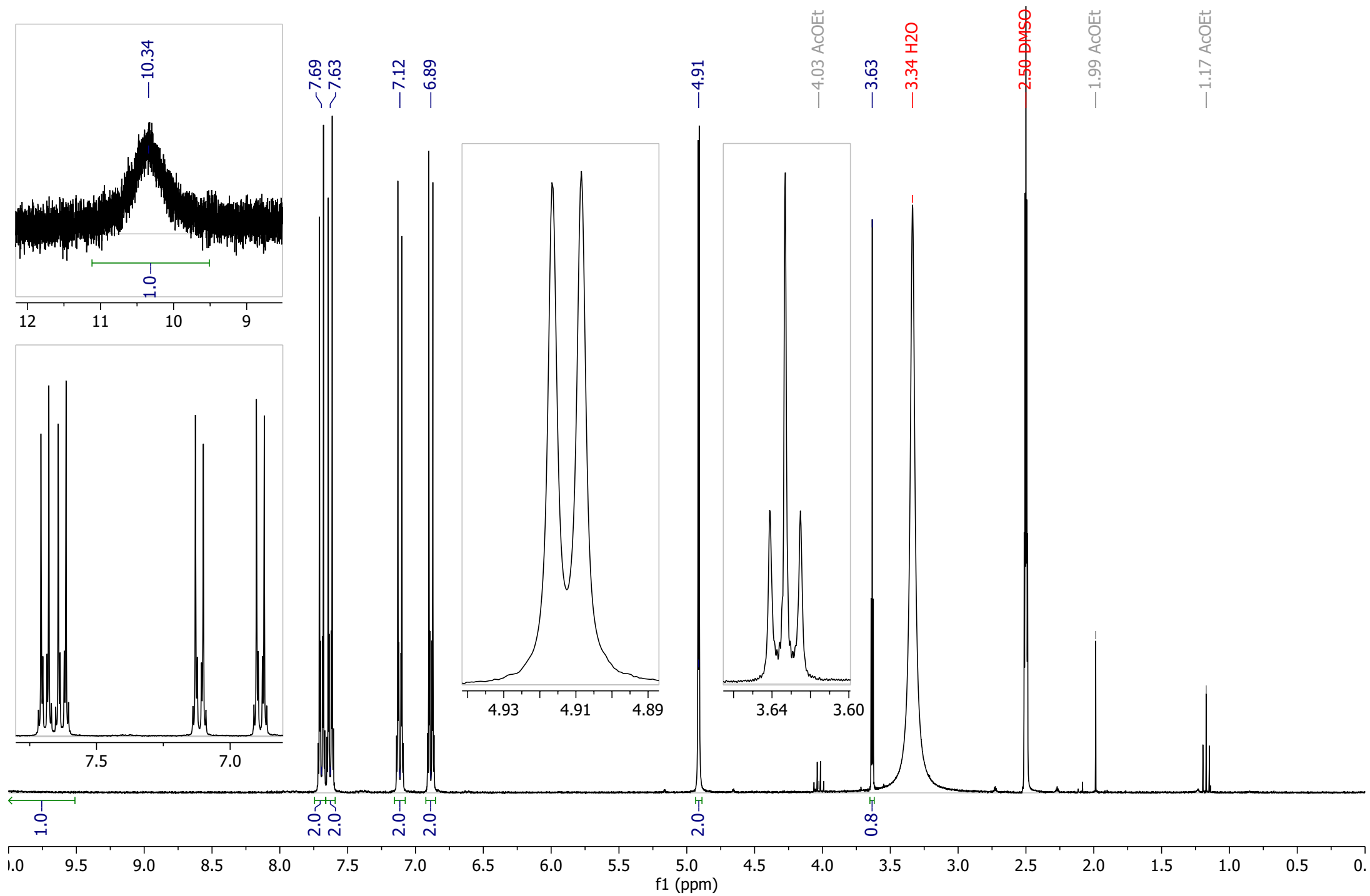
Compuesto 23 A ^{13}C NMR (75 MHz, THF) δ 149.49, 145.18, 134.95, 133.38, 112.35, 40.67.



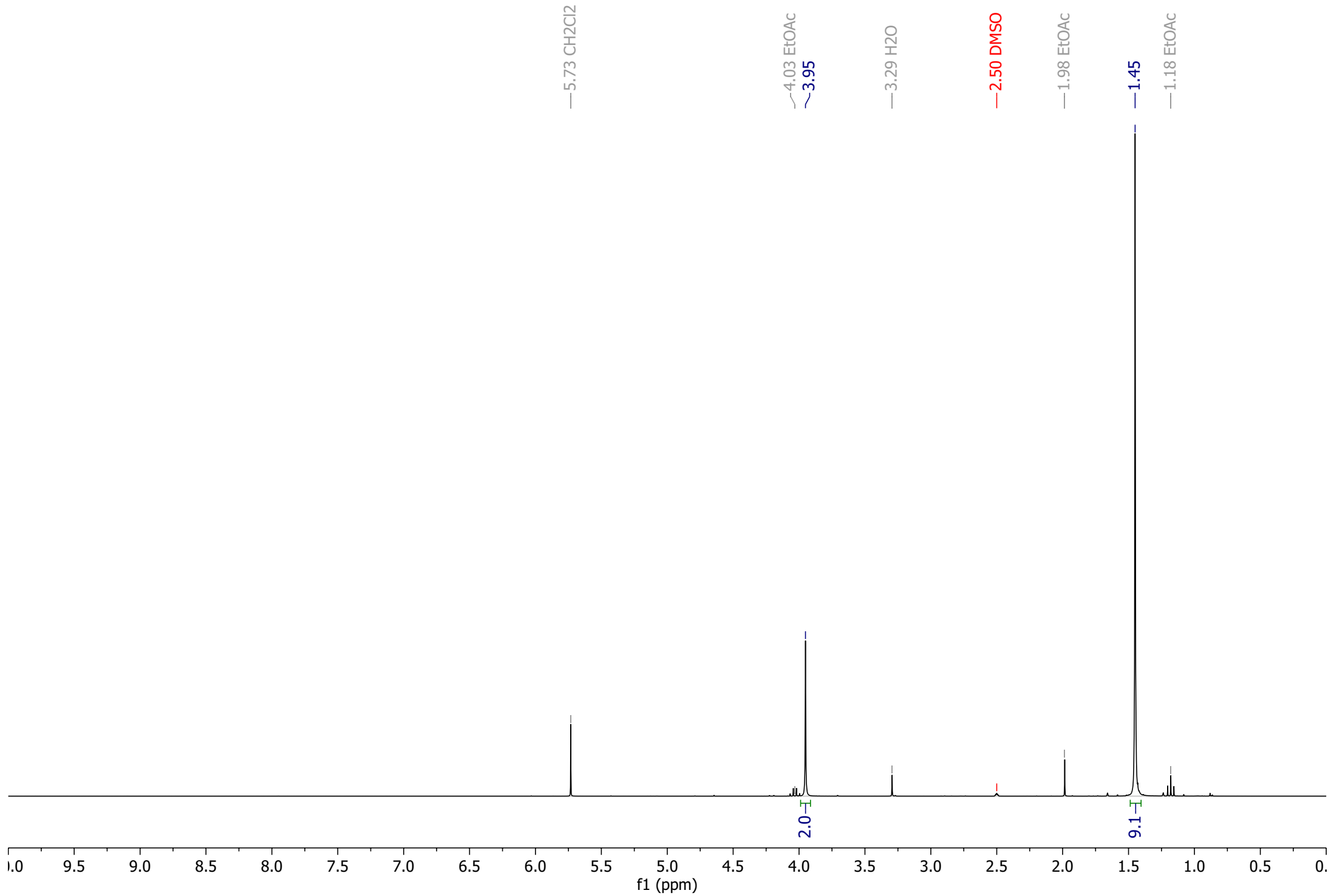
Compuesto 23 B ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.74 (d, $J = 8.8$ Hz, 8H), 6.44 (d, $J = 8.8$ Hz, 8H), 2.82 (s, 24H).



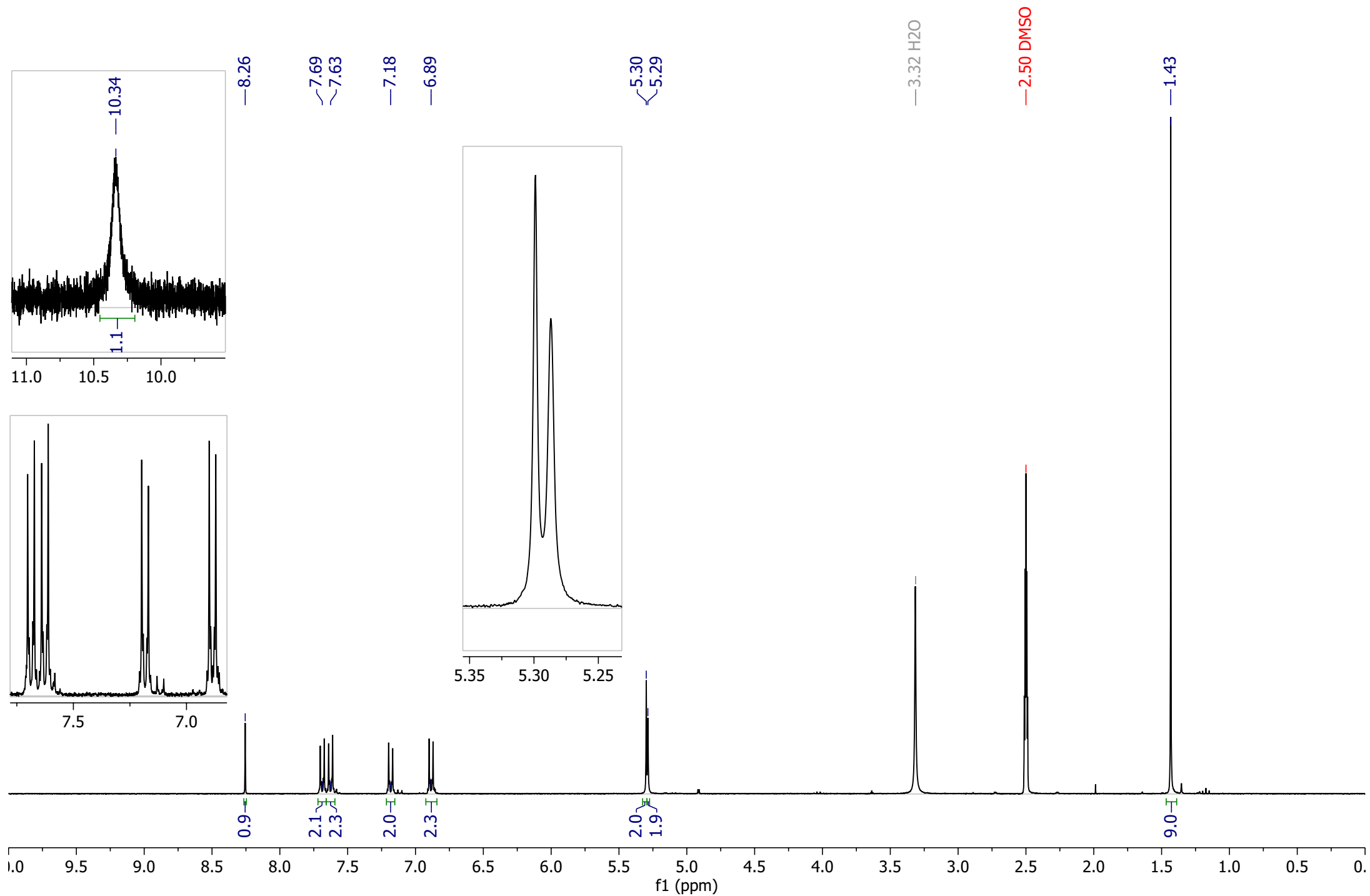
Compuesto 24 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.34 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.91 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 3.63 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H).



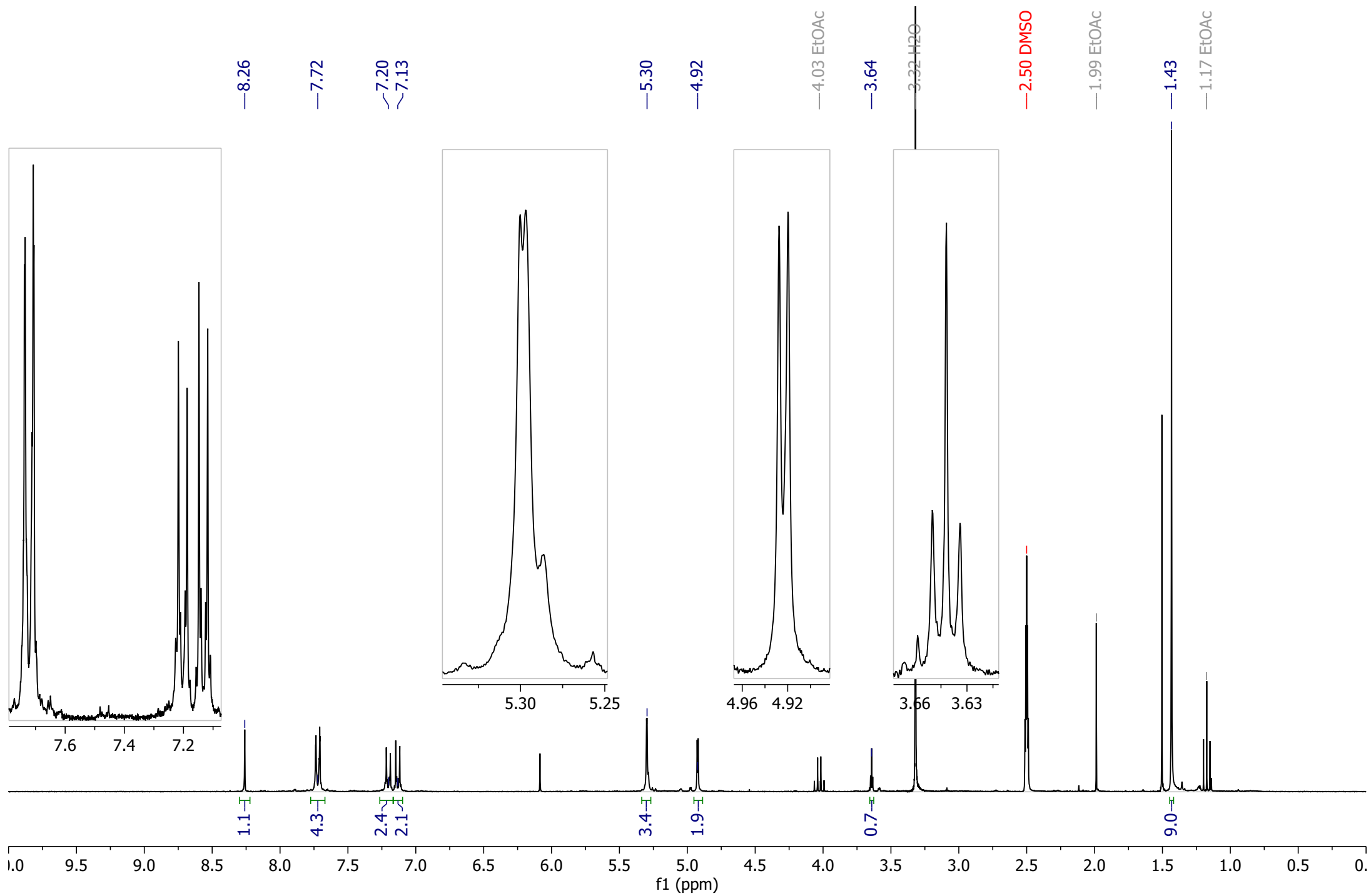
Compuesto 25 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 3.95 (s, 2H), 1.45 (s, 9H).



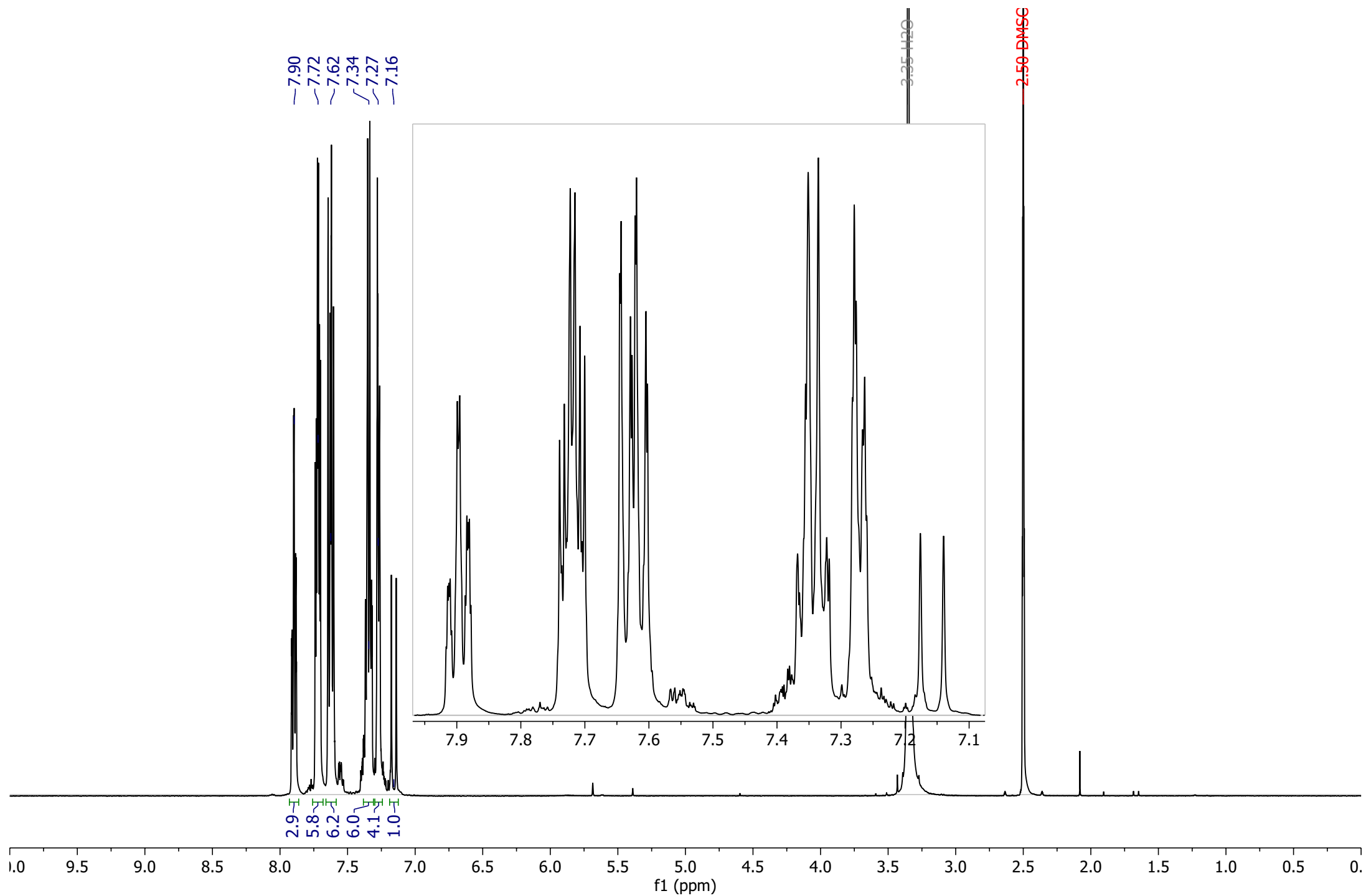
Compuesto 26 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.34 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.18 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.30 (s, 2H), 5.29 (s, 2H), 1.43 (s, 9H).



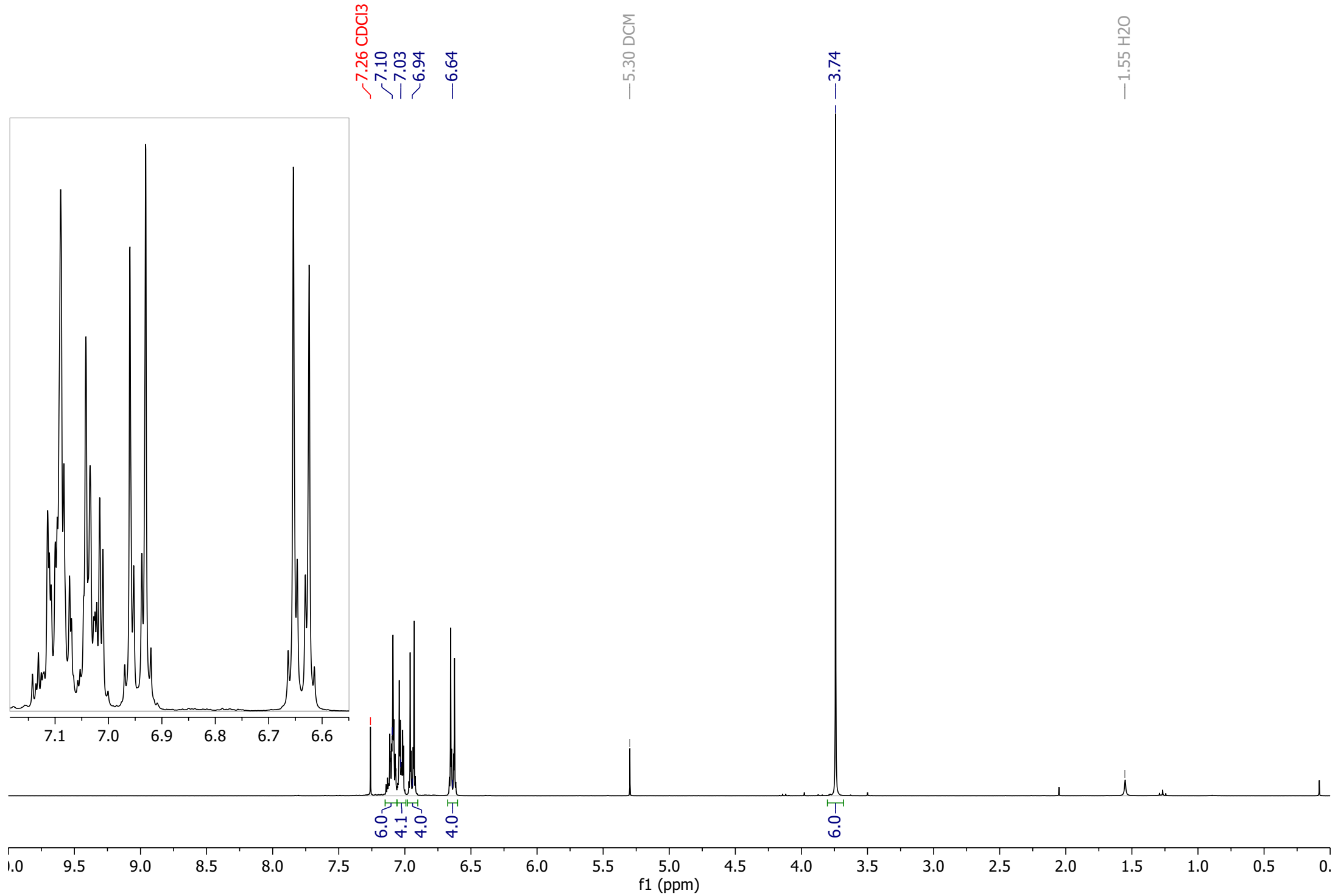
Compuesto 27 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.26 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 9.0$ Hz, 4H), 7.20 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 5.30 (m, 4H), 4.92 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 3.64 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 1.43 (s, 9H).



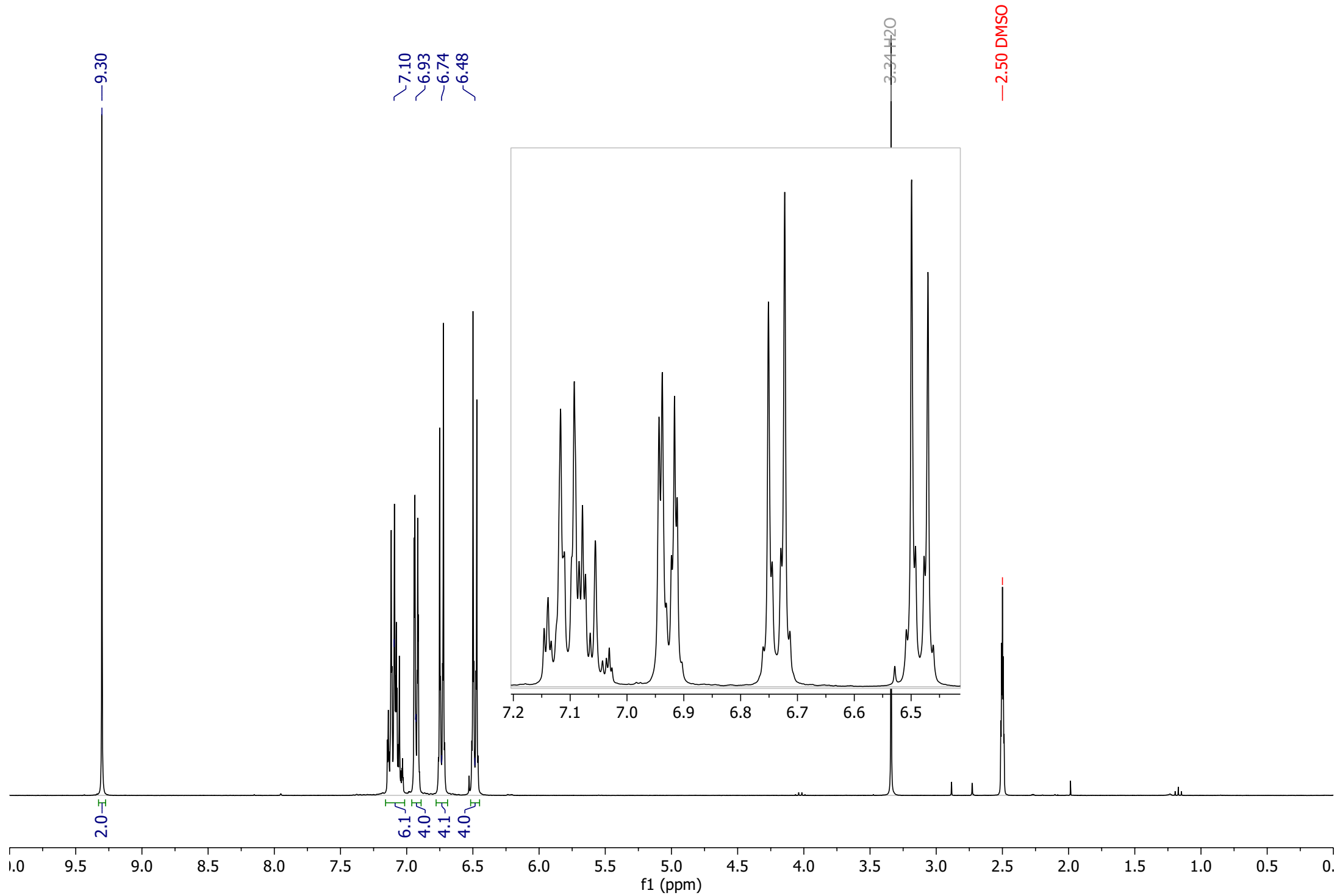
Compuesto 28 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.92 – 7.87 (m, 3H), 7.75 – 7.69 (m, 6H), 7.66 – 7.59 (m, 6H), 7.38 – 7.31 (m, 6H), 7.29 – 7.25 (m, 4H), 7.16 (d, $J = 18.2$ Hz, 1H).



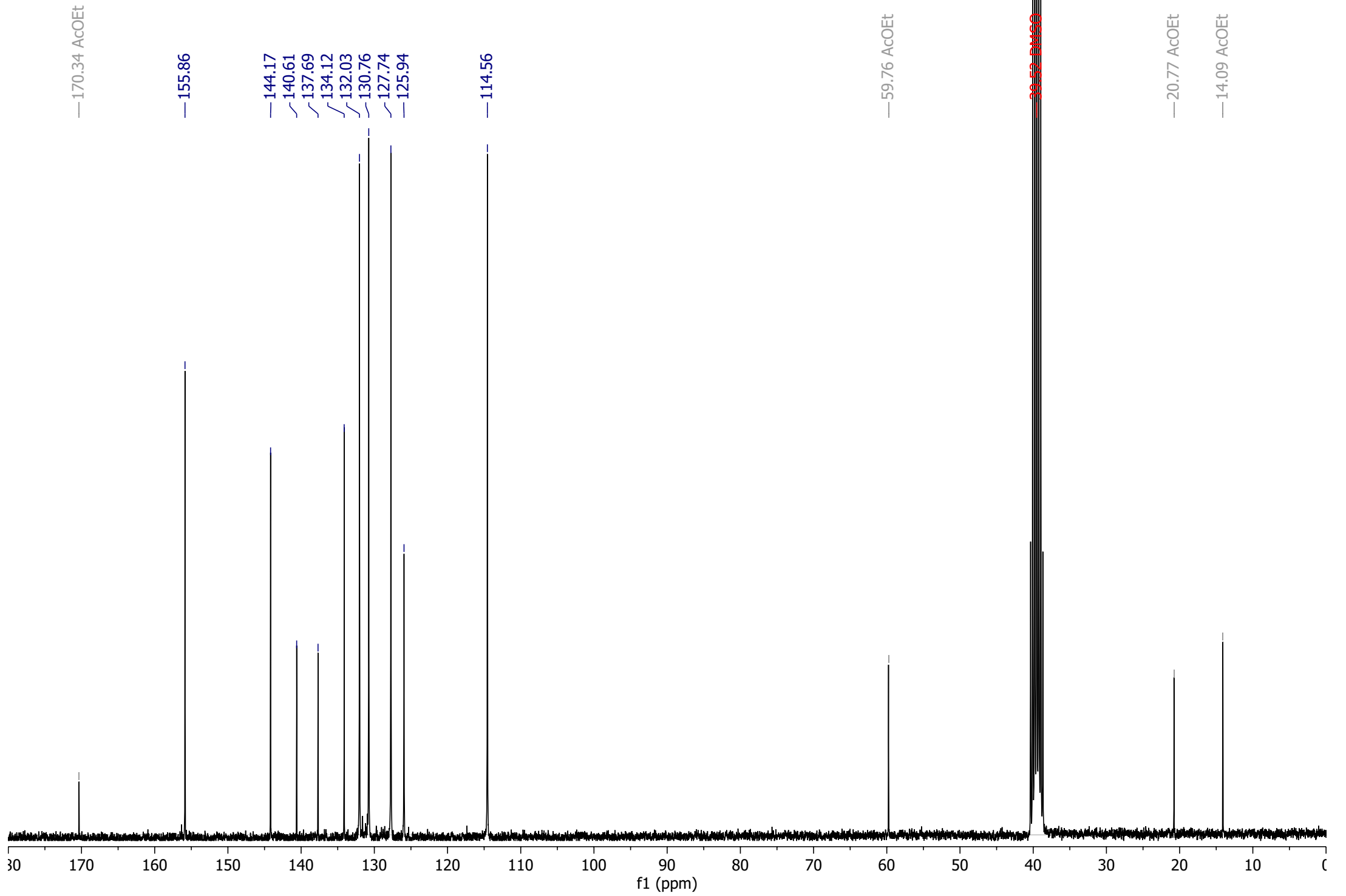
Compuesto 30 ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.15 – 7.06 (m, 6H), 7.06 – 7.00 (m, 4H), 6.95 (d, $J = 8.9$ Hz, 4H), 6.64 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H), 3.74 (s, 6H).



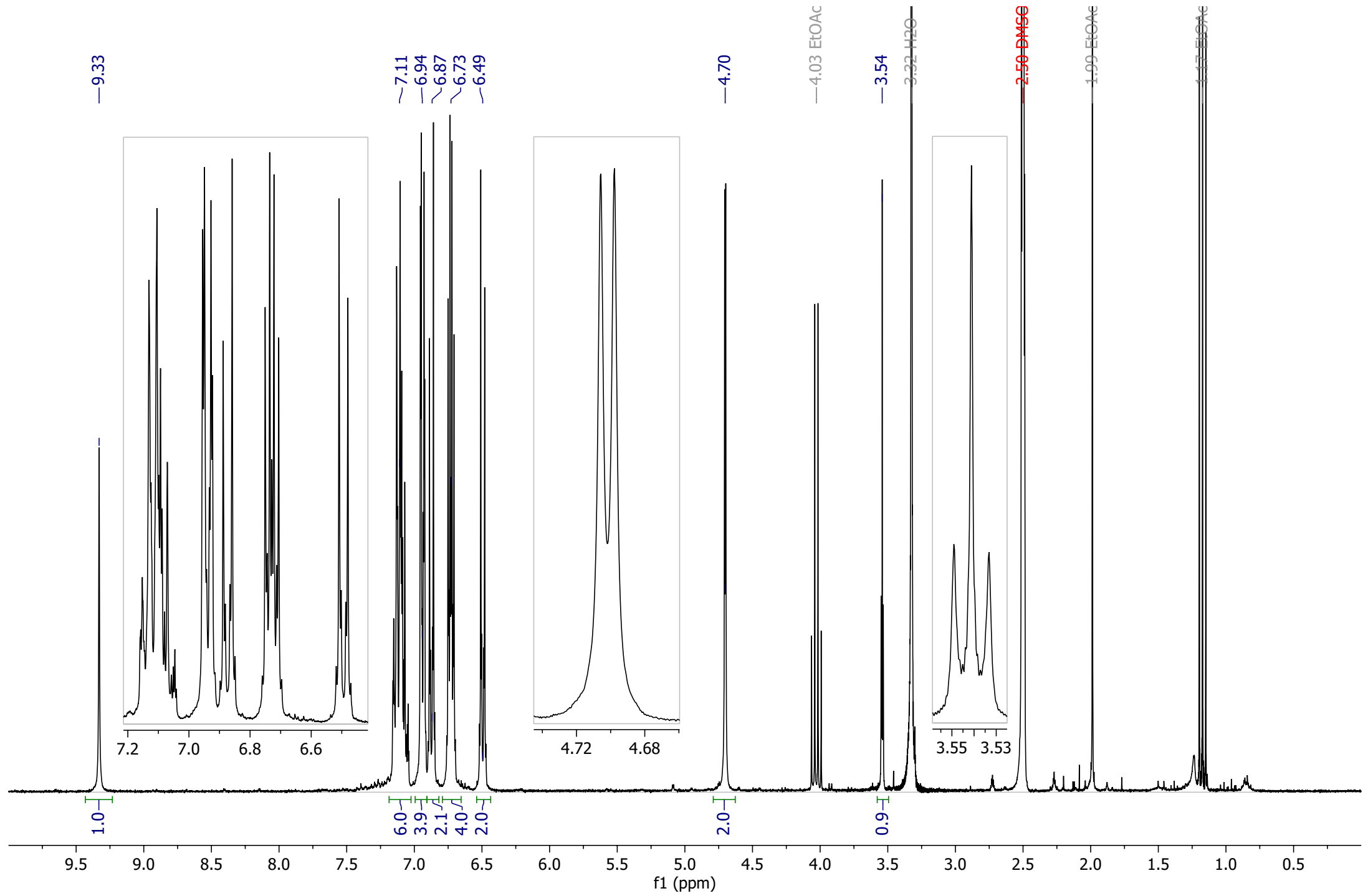
Compuesto 31 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.30 (s, 2H), 7.17 – 7.02 (m, 6H), 6.95 – 6.91 (m, 4H), 6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 4H), 6.48 (d, $J = 8.6$ Hz, 4H).



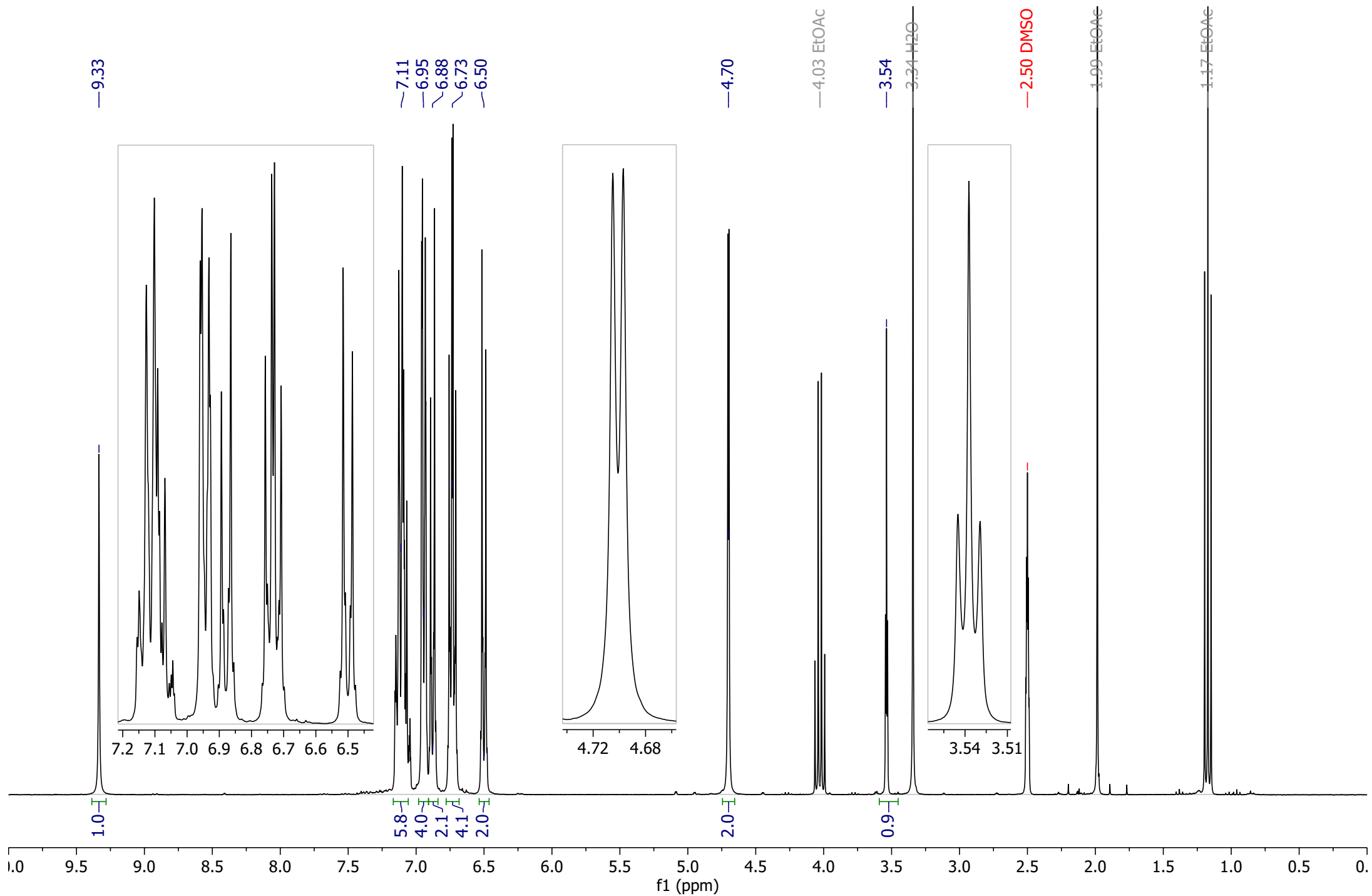
Compuesto 31 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 155.86, 144.17, 140.61, 137.69, 134.12, 132.03, 130.76, 127.74, 125.94, 114.56.



Compuesto 32 A ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.33 (s, 1H), 7.17 – 7.04 (m, 6H), 6.97 – 6.91 (m, 4H), 6.87 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.76 – 6.69 (m, 4H), 6.49 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.70 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 3.54 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H).

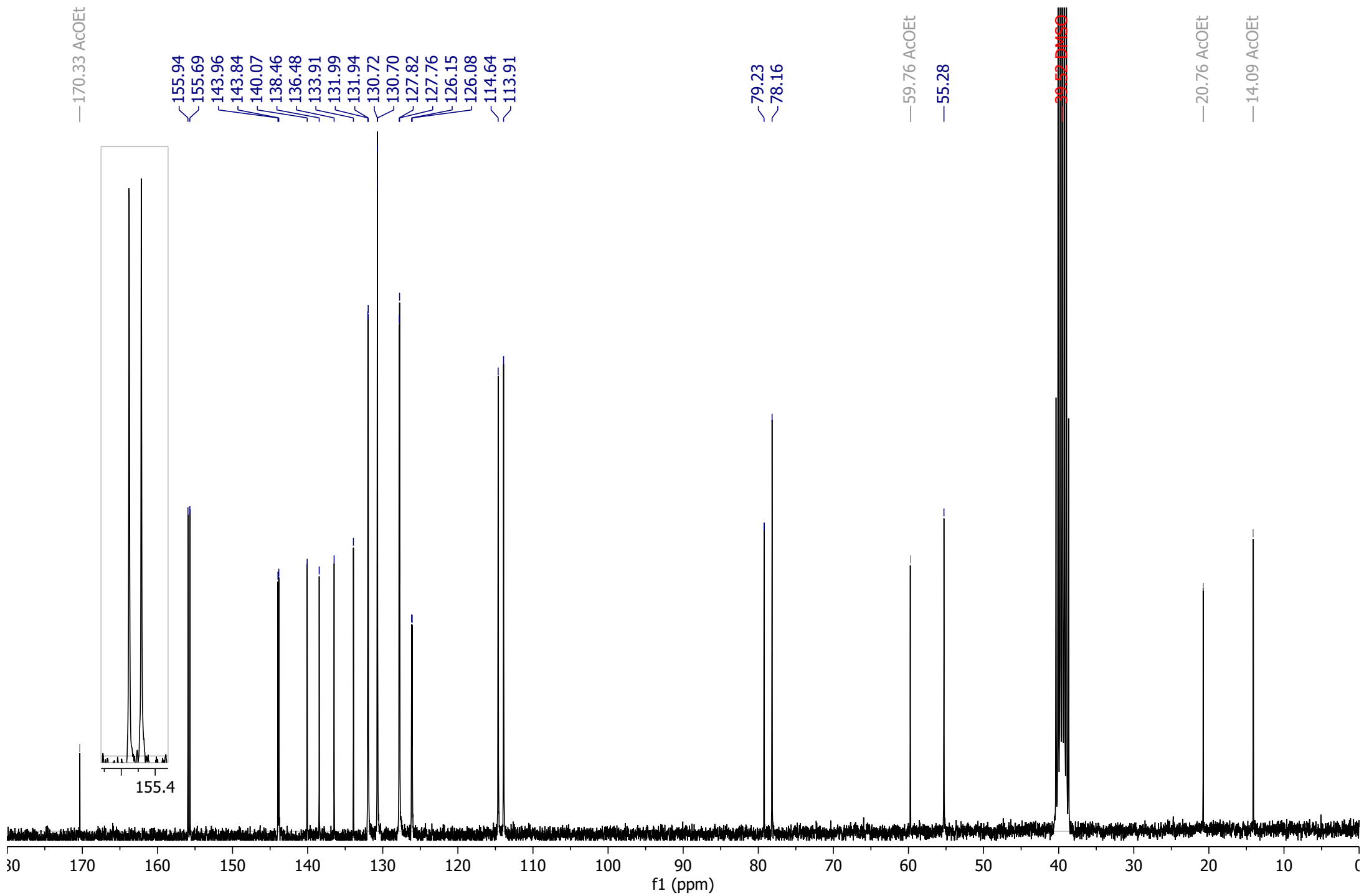


Compuesto 32 B ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.33 (s, 1H), 7.17 – 7.06 (m, 6H), 6.98 – 6.91 (m, 4H), 6.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.78 – 6.68 (m, 4H), 6.50 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 4.70 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 3.54 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H).

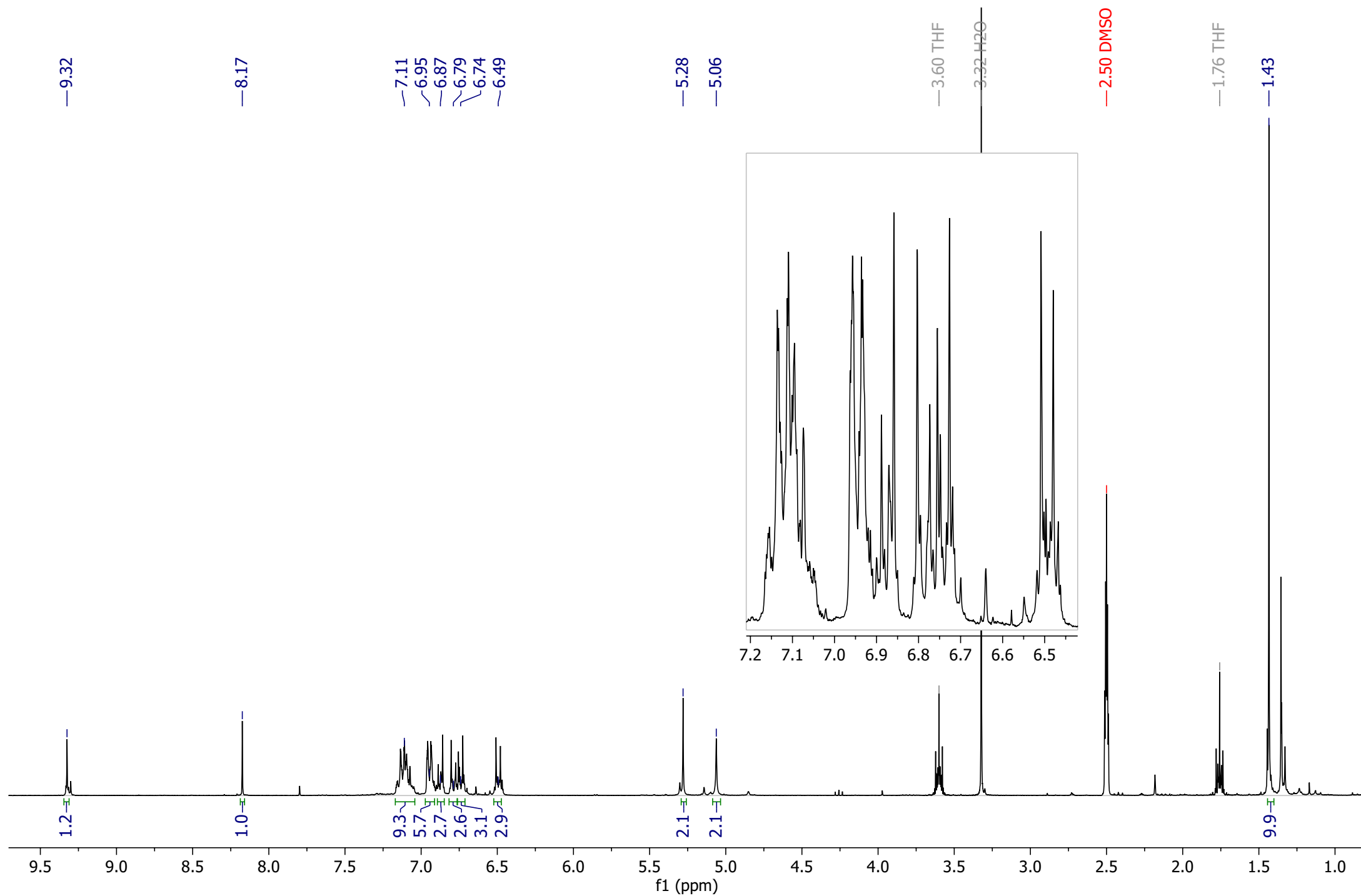


Compuesto 32 B

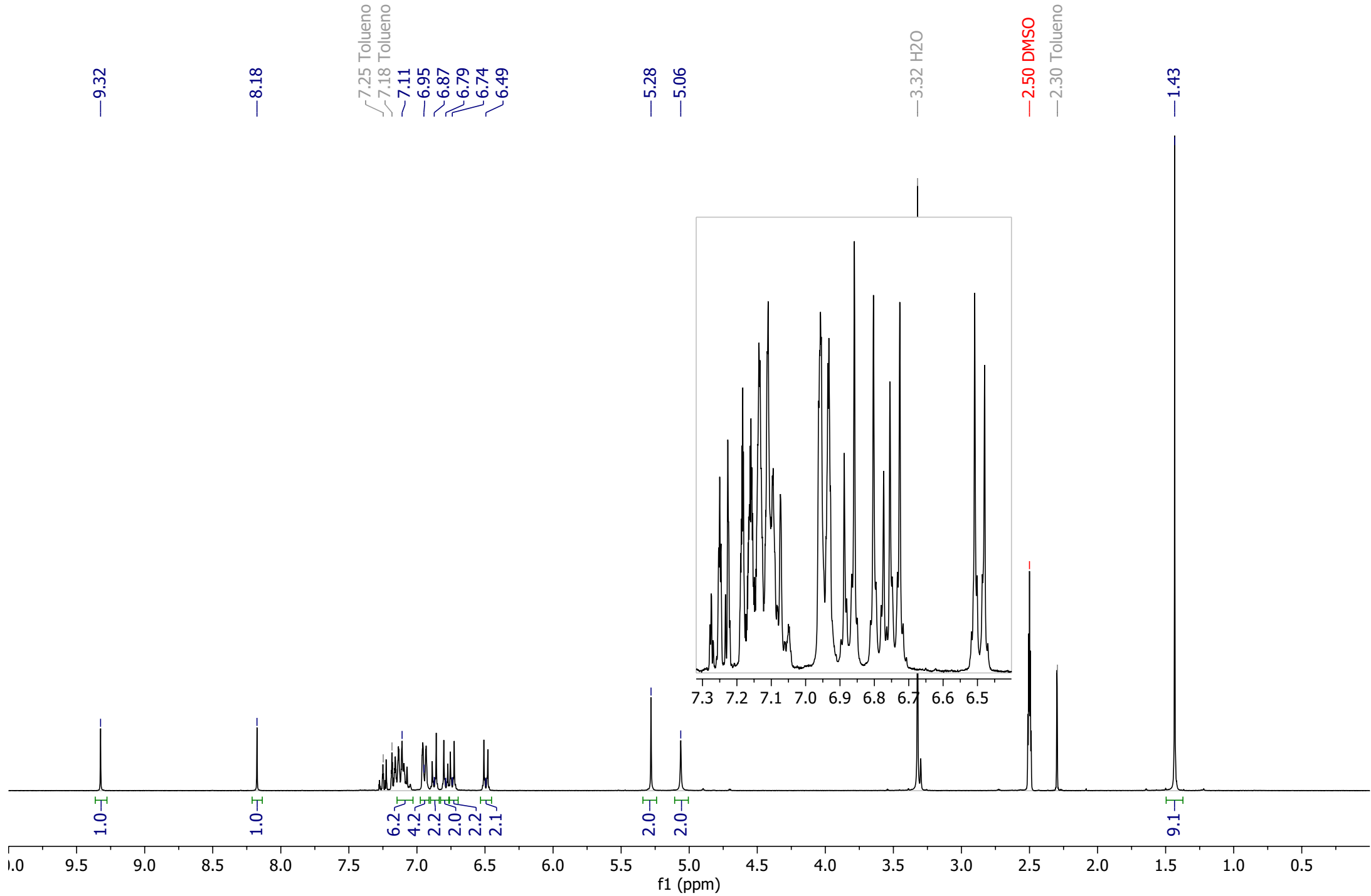
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 155.94, 155.69, 143.96, 143.84, 140.07, 138.46, 136.48, 133.91, 131.99, 131.94, 130.72, 130.70, 127.82, 127.76, 126.15, 126.08, 114.64, 113.91, 79.23, 78.16, 55.28, 20.76, 14.09.



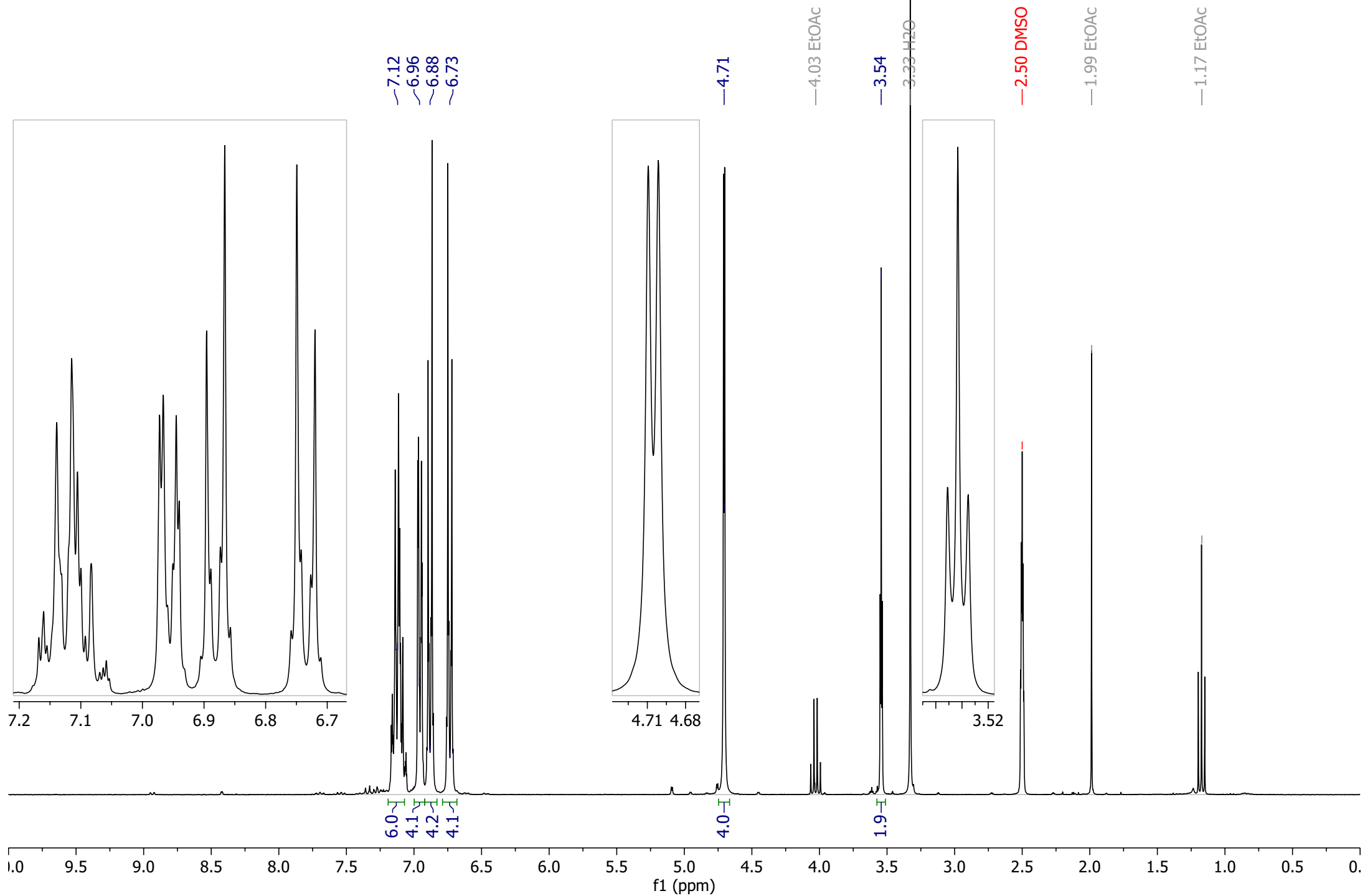
Compuesto 33 A ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.32 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.17 – 7.03 (m, 6H), 6.97 – 6.91 (m, 4H), 6.87 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 6.79 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.49 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.28 (s, 2H), 5.06 (s, 2H), 1.43 (s, 9H).



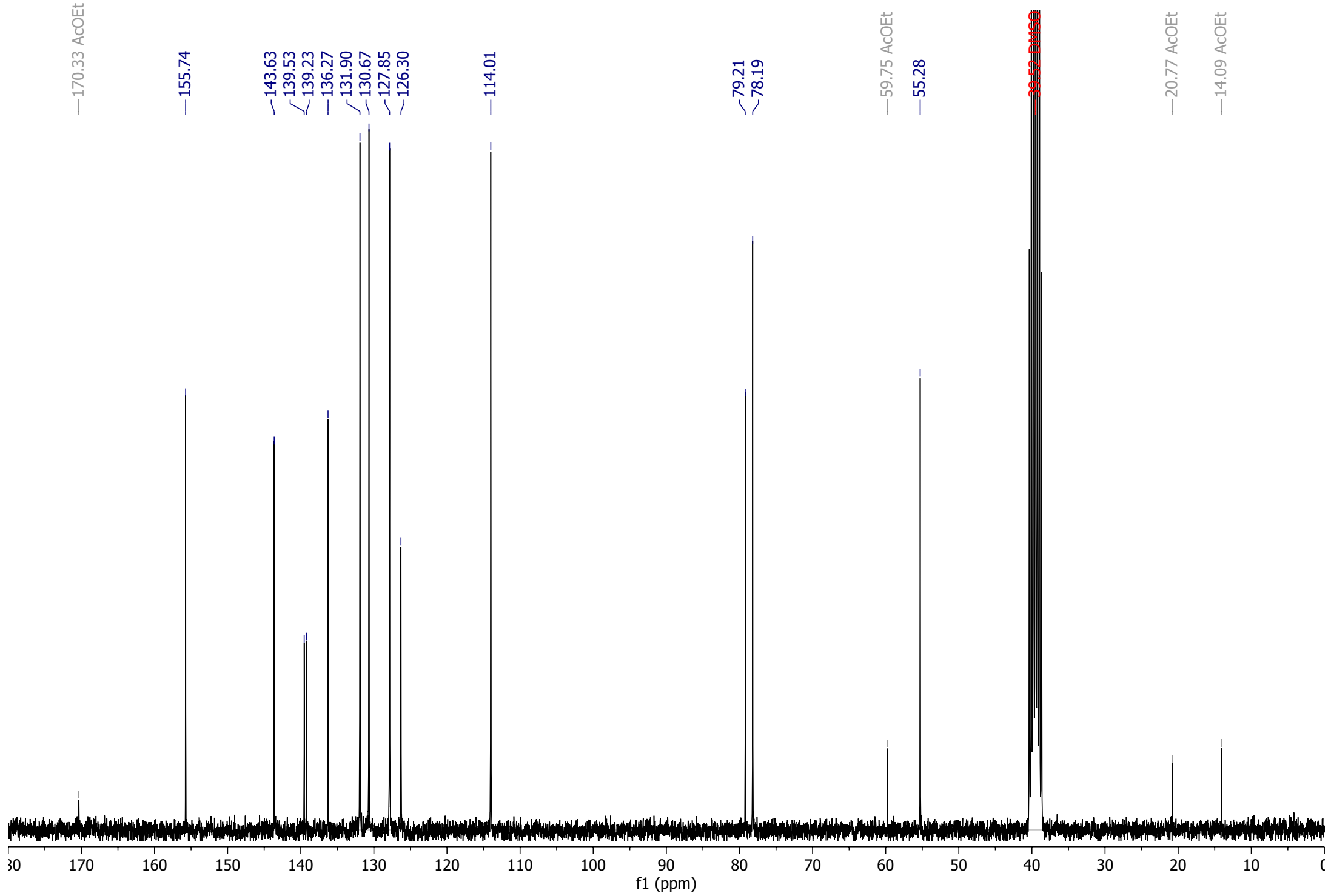
Compuesto 33 B ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.32 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.15 – 7.04 (m, 6H), 6.98 – 6.91 (m, 4H), 6.87 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.79 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.49 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.28 (s, 2H), 5.06 (s, 2H), 1.43 (s, 9H).



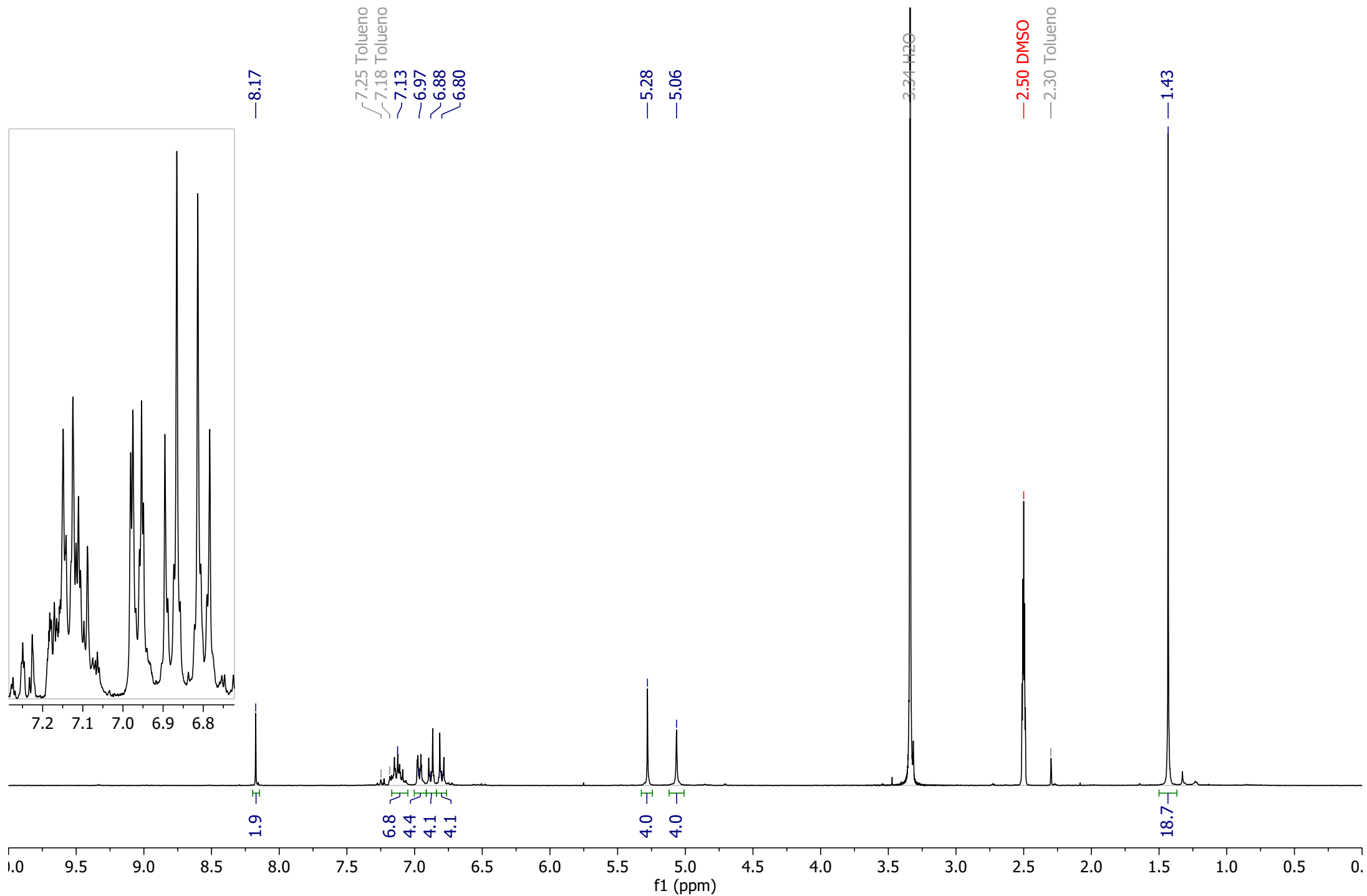
Compuesto 34 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.19 – 7.07 (m, 6H), 7.00 – 6.92 (m, 4H), 6.88 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H), 6.73 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H), 4.71 (d, $J = 2.4$ Hz, 4H), 3.54 (t, $J = 2.3$ Hz, 2H).



Compuesto 34 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 155.74, 143.63, 139.53, 139.23, 136.27, 131.90, 130.67, 127.85, 126.30, 114.01, 79.21, 78.19, 59.75, 55.28, 20.77, 14.09.

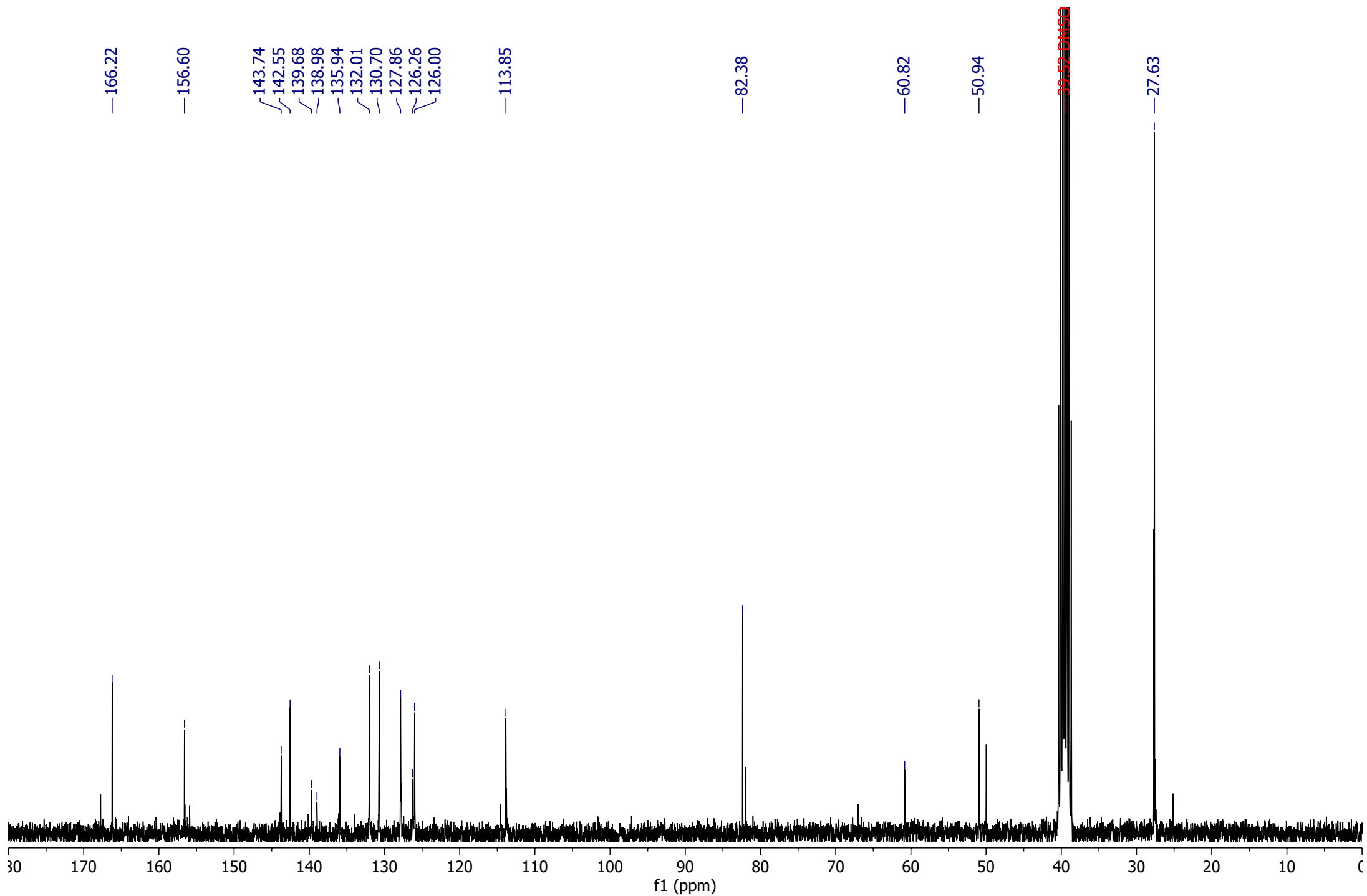


Compuesto 35 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.17 (s, 2H), 7.17 – 7.05 (m, 6H), 6.99 – 6.94 (m, 4H), 6.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H), 6.80 (d, $J = 8.9$ Hz, 4H), 5.28 (s, 4H), 5.06 (s, 4H), 1.43 (s, 18H).

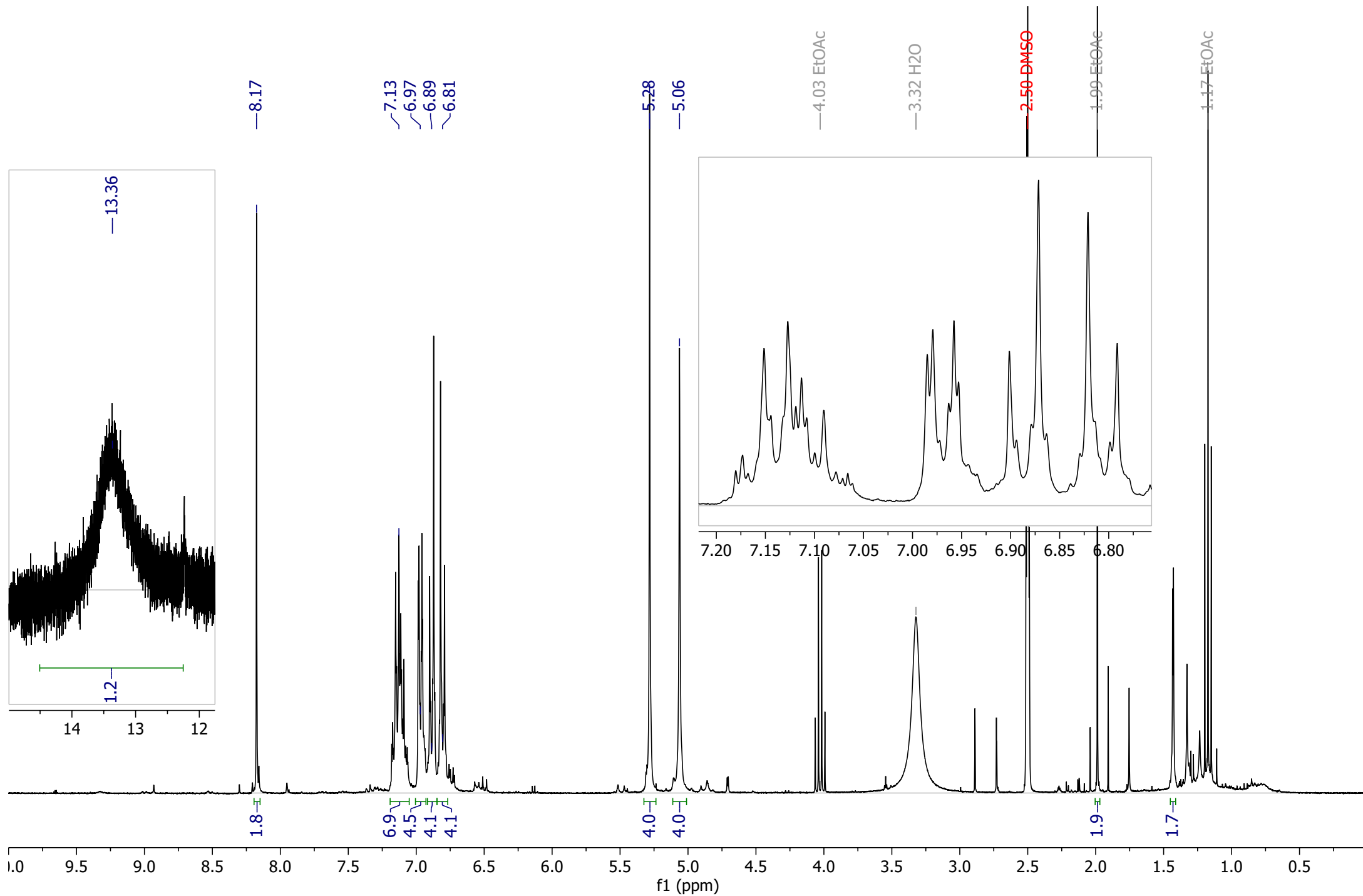


Compuesto 35

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 166.22, 156.60, 143.74, 142.55, 139.68, 138.98, 135.94, 132.01, 130.70, 127.86, 126.26, 126.00, 113.85, 82.38, 60.82, 50.94, 39.52, 37.52, 34.52, 27.63.



Compuesto 36 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.36 (s, 2H), 8.17 (s, 2H), 7.19 – 7.04 (m, 6H), 7.00 – 6.94 (m, 4H), 6.89 (d, $J = 8.8$ Hz, 4H), 6.81 (d, $J = 8.9$ Hz, 4H), 5.28 (s, 4H), 5.06 (s, 4H).



Compuesto 36 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 168.60, 156.63, 143.75, 142.48, 139.70, 138.99, 135.95, 132.03, 130.71, 127.88, 125.99, 113.87, 60.86, 59.77 AcOEt, 50.55, 27.63 Comp 35, 20.78 AcOEt, 14.10 AcOEt.

