



# **BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**LICENCIATURA EN BIOMEDICINA**

**“NUEVOS COMPUESTOS ORGÁNICOS PARA  
POSIBLE APLICACIÓN COMO BIOSENSORES.  
SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN.”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN BIOMEDICINA**

**PRESENTA:**

**OSCAR DE JESÚS RODRÍGUEZ MEZA**

**ASESORES:**

**DRA. M. JUDITH PERCINO ZACARÍAS**

**DR. ENRIQUE PÉREZ GUTIÉRREZ**



El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Polímeros del Centro de Química del Instituto de Ciencias (ICUAP) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, como un trabajo original de investigación dentro de la línea de generación y aplicación de conocimiento “Síntesis de compuestos de alto y bajo peso molecular” del Cuerpo Académico de Polímeros, BUAP-CAC-92.

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y al Laboratorio de Polímeros que por medio de los proyectos VIEP, PRODEP-SEP, me otorgaron todas las facilidades para el desarrollo de la presente tesis. Proyectos PEZM-NAT15-G, CHCV-NAT15-G y PEZM-NAT16-G y PEZJ-NAT17-G.

También agradezco a la BUAP, la oportunidad que tuve durante mi formación de realizar una estancia de investigación en el grupo del Dr. Ben Zhong Tang, en el laboratorio de la Universidad de Ciencia y Tecnología de Hong Kong (HKUST), en Hong Kong, China, del 29 de noviembre al 31 de diciembre del 2016.

## **Agradecimientos**

A la Dra. M. Judith Percino Zacarías por su guía durante estos tres años y por todo el tiempo dedicado en mi aprendizaje. Además, por todas las oportunidades de crecimiento profesional que me brindó.

Al Dr. Victor M. Chapela Castañares por compartir conmigo ese gran amor por la ciencia y por mostrarme que la investigación siempre se realiza con fascinación y en ocasiones con uno que otro chiste.

Al Dr. Enrique Pérez Gutiérrez por sus enseñanza y correcciones durante la realización del presente trabajo.

A la Dra. Margarita Cerón Rivera por sus consejos durante la realización de la síntesis de los compuestos y por la ayuda en la obtención de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN.

Al Dr. Guillermo Soriano Moro y a la Dra. M. Eugenia Castro Sánchez por sus consejos y ayudas durante la realización del presente trabajo.

A mis padres Margarita Meza Márquez y Oscar Rodríguez López, y a mis hermanos Osvaldo Rodríguez Meza y Guadalupe K. Rodríguez Meza que de manera indirecta me llevaron a escoger el camino de la investigación y que además sin su apoyo esto no hubiera sido posible.

A Lizeth Hernández Casas por todo el apoyo brindado hasta el día de hoy, por el cariño y amor que me ha dado sin importar nada y por intentar comprenderme.

A mis amigos Ismael Luna (bubú), Emilio Pastor, Josué Ramírez y Cristian Romero por acompañarme a lo largo de este trayecto.

*Para mi pequeño*

*Iker*

*“A poet once said, ‘The whole universe is in a glass of wine.’ We will probably never know in what sense he meant that, for poets do not write to be understood. But it is true that if we look at a glass of wine closely enough we see the entire universe. There are the things of physics: the twisting liquid which evaporates depending on the wind and weather, the reflections in the glass, and our imagination adds the atoms. The glass is a distillation of the earth’s rocks, and in its composition we see the secrets of the universe’s age, and the evolution of stars. What strange array of chemicals are in the wine? How did they come to be? There are the ferments, the enzymes, the substrates, and the products. There in wine is found the great generalization: all life is fermentation. Nobody can discover the chemistry of wine without discovering, as did Louis Pasteur, the cause of much disease. How vivid is the claret, pressing its existence into the consciousness that watches it! If our small minds, for some convenience, divide this glass of wine, this universe, into parts—physics, biology, geology, astronomy, psychology, and so on—remember that nature does not know it! So let us put it all back together, not forgetting ultimately what it is for. Let it give us one more final pleasure: drink it and forget it all!”*

*“Un poeta dijo una vez: ‘El universo entero está en un vaso de vino’. Probablemente nunca sabremos en qué sentido lo dijo, pues los poetas no escriben para ser comprendidos. Pero es cierto que si miramos a un vaso de vino lo suficientemente cerca, vemos el universo entero. Ahí están las cosas de la física: el líquido que se arremolina y se evapora dependiendo del viento y del tiempo, las reflexiones en el vidrio, y nuestra imaginación agrega los átomos. El vidrio es un destilado de las rocas terrestres y en su composición vemos los secretos de la edad del universo y la evolución de las estrellas. ¿Qué extraño arreglo de elementos químicos hay en el vino? ¿Cómo llegaron a ser? Están los fermentos, las enzimas, los sustratos y los productos. Allí en el vino se encuentra la gran generalización: toda vida es fermentación. Nadie puede descubrir la química del vino sin descubrir, como lo hizo Louis Pasteur, la causa de muchas enfermedades. ¡Cuán vívido es el clarete que imprime su existencia dentro de la conciencia de quien lo observa! ¡Si nuestras pequeñas mentes, por alguna conveniencia, dividen este vaso de vino, este universo, en partes -física, biología, geología, astronomía, psicología, etc.- recuerden que la naturaleza no lo sabe! Así, reunamos todo de nuevo sin olvidar en última instancia para qué sirve. Dejemos que nos dé un placer final más: ¡bébanlo y olvídense de todo.”*

Fragmento de “Feynman Lectures on Physics” Vol. I  
R. P. Feynman (1918-1988)

# Índice

1. Resumen .....	1
2. Introducción .....	2
3. Antecedentes .....	4
3.1. Compuestos Orgánicos como Biosensores .....	4
3.2. Absorción y Fluorescencia.....	6
3.2.1. Absorción y transiciones electrónicas. ....	6
3.2.2. Fluorescencia.....	8
3.3. Resonancia y Conjugación.....	11
3.3.1. Estructuras Resonantes. ....	11
3.3.2. Conjugación y su efecto en las propiedades ópticas de los materiales.....	11
3.3.3. Efecto de los grupos sustituyentes.....	13
3.3.3.1. Efecto Inductivo .....	13
3.3.3.2. Efecto resonancia .....	15
3.3.3.3. Estructura del tipo D- $\pi$ -A.....	17
3.4. Compuestos derivados de estilbena.....	19
3.5. Estirilpiridinas.....	20
3.6. Acrilonitrilos.....	21
3.7. Sales orgánicas fluorescentes.....	24
3.8. Equilibrio ácido-base en el organismo.....	25
3.9. Importancia de los iones metálicos en el organismo. ....	26
4. Hipótesis.....	28
5. Objetivos .....	28
5.1. Objetivo General.....	28
5.2. Objetivos Específicos. ....	28
6. Parte Experimental .....	29
6.1. Materiales.....	29
6.2. Metodología. ....	30
6.2.1. Síntesis.....	30
6.2.1.1. Síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A ....	30
6.2.1.2. Síntesis de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> . ....	31
6.2.2. Caracterización.....	34
6.2.2.1. Caracterización Espectroscópica.....	34
6.2.2.1.1. Espectroscopia FT-IR, <sup>1</sup> H-RMN y Espectrometría de masas .....	34
6.2.2.1.2. Espectroscopia de Absorción UV-vis y Fluorescencia .....	35

6.2.2.1.3.	Determinación del gap de energía óptico .....	35
6.2.2.2.	Caracterización electroquímica .....	37
6.2.3.	Potenciometría .....	38
6.2.3.1.	Estandarización de soluciones de Ácido Clorhídrico (HCl) e Hidróxido de Sodio (NaOH).....	38
6.2.3.2.	Potenciómetro.....	39
6.2.4.	Titulación ácido-base de los compuestos sintetizados. ....	40
6.2.5.	Absorción y emisión en presencia de $Zn^{2+}$ .....	40
7.	Resultados y Discusión. ....	41
7.1.	Síntesis. ....	41
7.1.1.	Síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A.....	41
7.1.2.	Síntesis de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> .....	42
7.2.	Caracterización. ....	43
7.2.1.	Caracterización de los compuestos derivados de acrilonitrilo.....	43
7.2.1.1.	Caracterización espectroscópica FT-IR, <sup>1</sup> H-RMN y masas de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A. ....	43
7.2.1.2.	Caracterización espectroscópica de Absorción UV-vis y Fluorescencia de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A.....	44
7.2.1.3.	Caracterización electroquímica por Voltamperometría Cíclica de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A. ....	47
7.2.2.	Caracterización de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> .....	49
7.2.2.1.	Caracterización espectroscópica FT-IR, <sup>1</sup> H-RMN y masas de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> .....	49
7.2.2.2.	Caracterización espectroscópica de Absorción UV-vis y Fluorescencia de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> .....	52
7.2.2.3.	Caracterización electroquímica por Voltamperometría Cíclica de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> .....	56
7.3.	Efecto del pH sobre las propiedades ópticas de los compuestos sintetizados. ....	59
7.3.1.	Efecto del pH sobre las propiedades ópticas de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A. ....	60
7.3.2.	Efecto del pH sobre las propiedades ópticas de las sales de cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> .....	70
7.4.	Efecto del ion metálico $Zn^{2+}$ sobre las propiedades ópticas de los compuestos derivados de acrilonitrilo. ....	78
8.	Conclusión.....	83
9.	Referencias.....	85

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Desplazamientos y cambios que ocurren en las bandas de los espectros de absorción y emisión. ....	4
<b>Figura 2.</b> Estructura química de los compuestos orgánicos comúnmente usados como biosensores. Fluoresceína (i), Rodamina B (ii), Cianina (iii), BODIPY (iv) y Cumarina (v). ....	5
<b>Figura 3.</b> Formación de dos orbitales moleculares a partir de la combinación de dos orbitales atómicos, basados en TOM. ....	7
<b>Figura 4.</b> Transición electrónica entre los orbitales frontera HOMO y LUMO. ....	7
<b>Figura 5.</b> Diagrama de energía de los diferentes orbitales moleculares y las transiciones electrónicas con la energía relativa requerida para cada una. ....	8
<b>Figura 6.</b> Diagrama de Jablonski. ....	9
<b>Figura 7.</b> Estructura química de los fluoróforos: Fenilalanina (i), Tirosina (ii), Triptófano (iii), NADH (iv), FMN (v), Pireno (vi), Quinolina (vii), Indol (viii), Imidazol (ix), Quinina (x), POPOP (xi), Naranja de acridina (xii) y Piridina 1 (xiii). ....	10
<b>Figura 8.</b> Emisión de algunos fluoróforos en la región UV-vis. Tomada y modificada de ref. 27 ..	10
<b>Figura 9.</b> Estructuras de resonancia (i) y el híbrido de resonancia (ii). ....	11
<b>Figura 10.</b> Superficie de potencial electrostático del benceno, representada en rojo la región negativa, en azul la región positiva y en verde la región neutra. ....	12
<b>Figura 11.</b> Efecto del aumento en la conjugación en los orbitales frontera HOMO y LUMO. Eteno, 1,3 butadieno, 1,3,5 hexatrieno. ....	13
<b>Figura 12.</b> Efecto inductivo electroattractor, en el clorobenceno, fenol y benzonitrilo y su correspondiente superficie de potencial electrostático. ....	14
<b>Figura 13.</b> Efecto inductivo electrodonador en metilbenceno y su superficie de potencial electrostático. ....	15
<b>Figura 14.</b> Efecto resonancia electroattractor del grupo -NO <sub>2</sub> en el nitrobenzoceno y su superficie de potencial electrostático. ....	16
<b>Figura 15.</b> Efecto resonancia electrodonador del grupo NH <sub>2</sub> en la anilina y su superficie de potencial electrostático. ....	17
<b>Figura 16.</b> Estructura del compuesto 4-(dimetilamino) benzonitrilo y su superficie de potencial electrostático ....	18
<b>Figura 17.</b> Fotoisomerización del estilbeno de conformación trans (i) a cis (ii) mediante la exposición a radiación de luz UV. ....	19
<b>Figura 18.</b> Estructura de isómeros estructurales de estilpiridina: orto (i), meta (ii) y para (iii). ....	20
<b>Figura 19.</b> Estructura de derivados de acrilonitrilo. Acrilonitrilo (i), 1,2- difenilacrilonitrilo (ii), 4-piridilfenilacrilonitrilo (iii). ....	21
<b>Figura 20.</b> Compuestos derivados de acrilonitrilo sintetizados y caracterizados en el Laboratorio de Polímeros. Estructura química de los compuestos (i). Fluorescencia en estado sólido y en solución de uno de los compuestos con sustituyente difenilamino (ii), Fluorescencia en solución y en estado sólido de uno de los compuestos con sustituyente dimetilamino (iii). Efecto del disolvente sobre la absorción (iv). Tomada y modificada de ref. 51. ....	23
<b>Figura 21.</b> Estructura del dye DASMPI. ....	24

<b>Figura 22.</b> Reacción para la obtención de sales derivadas de metilpiridinium. ....	25
<b>Figura 23.</b> Distribución espacial intracelular de los iones metálicos. Tomada y modificada de Ref. 74.....	27
<b>Figura 24.</b> Estructura química de las sales derivadas de metilpiridinium <b>I</b> , <b>II</b> y <b>III</b> .....	31
<b>Figura 25.</b> Gráficos de Tauc para la determinación del gap de energía óptico para transiciones directas <b>(i)</b> e indirectas <b>(ii)</b> . ....	36
<b>Figura 26.</b> Voltamperograma de ferroceno en el cual se muestra los valores del pico anódico ( $E^{\text{ánodo}}$ ), pico catódico ( $E^{\text{cátodo}}$ ) y el potencial medio ( $E_{1/2}$ ). ....	38
<b>Figura 27.</b> Curvas de titulación de pH de los compuestos <b>A</b> , <b>B</b> , <b>C</b> , <b>I</b> , <b>II</b> y <b>III</b> .....	40
<b>Figura 28.</b> Espectros de absorción de los compuestos <b>A</b> , <b>B</b> y <b>C</b> (0.5 mM) en MeCN. ....	45
<b>Figura 29.</b> Gráficos de energía para la determinación del gap de energía óptico de los compuestos <b>A (i)</b> , <b>B (ii)</b> y <b>C (iii)</b> .....	46
<b>Figura 30.</b> Espectros de emisión de los compuestos <b>A</b> , <b>B</b> y <b>C</b> (0.5 mM) en MeCN.....	47
<b>Figura 31.</b> Voltamperogramas de los compuestos <b>A</b> , <b>B</b> y <b>C</b> (1 mM) en TBAP/MeCN (0.1M). Velocidad de barrido 100 mV s <sup>-1</sup> . Un alambre de platino fue utilizado como electrodo de trabajo. 48	
<b>Figura 32.</b> Espectros de absorción de los compuestos <b>I</b> , <b>II</b> y <b>III</b> (0.5 mM) en MeCN <b>(i)</b> . Soluciones de los compuestos <b>III</b> , <b>II</b> y <b>I</b> de izquierda a derecha, en MeCN bajo luz blanca <b>(ii)</b> .....	53
<b>Figura 33.</b> Gráficos de energía para la determinación del gap de energía óptico de los compuestos <b>I (i)</b> , <b>II (ii)</b> y <b>III (iii)</b> . ....	54
<b>Figura 34.</b> Espectros de emisión de los compuestos <b>I</b> , <b>II</b> y <b>III</b> (0.5 mM) en MeCN. ....	55
<b>Figura 35.</b> Voltamperogramas de los compuestos <b>I</b> , <b>II</b> y <b>III</b> (1 mM) en TBAP/MeCN (0.1M). Velocidad de barrido 100 mV s <sup>-1</sup> . Un alambre de platino fue utilizado como electrodo de trabajo. 56	
<b>Figura 36.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>A</b> a pH inicial <b>(i)</b> , pH final=1.3 <b>(ii)</b> y a diferentes valores de pH ácido <b>(iii)</b> . ....	61
<b>Figura 37.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>A</b> a diferentes valores de pH básico.....	63
<b>Figura 38.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>B</b> a pH inicial <b>(i)</b> , pH final=1.3 <b>(ii)</b> y a diferentes valores de pH ácido <b>(iii)</b> . ....	64
<b>Figura 39.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>B</b> a diferentes valores de pH básico. ....	66
<b>Figura 40.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>C</b> en H <sub>2</sub> O/DMSO (95/5) a pH inicial <b>(i)</b> y en DMSO <b>(ii)</b> . ....	66
<b>Figura 41.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>C</b> a diferentes fracciones de H <sub>2</sub> O (fw). ....	67
<b>Figura 42.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>C</b> a diferentes valores de pH ácido ..... 68	
<b>Figura 43.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>C</b> a diferentes valores de pH básico..... 69	
<b>Figura 44.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>I</b> a pH inicial <b>(i)</b> , pH final=1.2 <b>(ii)</b> y a diferentes valores de pH ácido <b>(iii)</b> . .... 71	
<b>Figura 45.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>II</b> a pH inicial <b>(i)</b> , pH final=1.25 <b>(ii)</b> y a diferentes valores de pH ácido <b>(iii)</b> . .... 73	
<b>Figura 46.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>III</b> a pH inicial <b>(i)</b> , pH final=1.5 <b>(ii)</b> y a diferentes valores de pH ácido <b>(iii)</b> . .... 75	
<b>Figura 47.</b> Espectros de absorción <b>(i)</b> y emisión <b>(ii)</b> del compuesto <b>A</b> (100 μM) en presencia de Zn <sup>2+</sup> a diferentes concentraciones. .... 78	
<b>Figura 48.</b> Espectros de absorción <b>(i)</b> y emisión <b>(ii)</b> del compuesto <b>B</b> (100 μM) en presencia de Zn <sup>2+</sup> a diferentes concentraciones. .... 79	

<b>Figura 49.</b> Espectros de absorción del compuesto <b>C</b> (100 $\mu\text{M}$ ) en presencia de $\text{Zn}^{2+}$ a diferentes concentraciones. ....	80
<b>Figura 50.</b> Soluciones del compuesto <b>C</b> (100 $\mu\text{M}$ ) en presencia de $\text{Zn}^{2+}$ a diferentes concentraciones (0, 10, 50, 100 y 200 $\mu\text{M}$ , de izquierda a derecha respectivamente) bajo luz blanca. ....	80
<b>Figura 51.</b> Espectros de emisión del compuesto <b>C</b> (100 $\mu\text{M}$ ) en presencia de $\text{Zn}^{2+}$ a diferentes concentraciones. ....	81
<b>Figura 52.</b> Soluciones del compuesto <b>C</b> (100 $\mu\text{M}$ ) en presencia de $\text{Zn}^{2+}$ a diferentes concentraciones (0, 10, 50, 100 y 200 $\mu\text{M}$ , de izquierda a derecha respectivamente) bajo luz UV..	82

## Lista de Esquemas

<b>Esquema 1.</b> Síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilo A, B y C a partir de 4-(Dimetilamino) benzaldehído (4-DMABZ) con 2-piridilacetoniitrilo (2-PyCN), 3-piridilacetoniitrilo (3-PyCN) y Clorhidrato de 4-piridilacetoniitrilo (4-PyCN HCl) .....	30
<b>Esquema 2.</b> Ruta de síntesis para los compuestos II y III. ....	32
<b>Esquema 3.</b> Ruta de síntesis para la obtención del compuesto I. ....	33
<b>Esquema 4.</b> Equilibrio prototrópico del compuesto A en solución $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ (95/5). ....	61
<b>Esquema 5.</b> Equilibrio prototrópico del compuesto B en solución $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ (95/5).....	64
<b>Esquema 6.</b> Equilibrio prototrópico del compuesto C en solución $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ (95/5).....	69
<b>Esquema 7.</b> Equilibrio prototrópico del compuesto I en solución acuosa.....	72
<b>Esquema 8.</b> Equilibrio prototrópico del compuesto II en solución acuosa. ....	74
<b>Esquema 9.</b> Equilibrio prototrópico del compuesto III en solución acuosa. ....	76

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Características fisicoquímicas de los reactivos utilizados.....	29
<b>Tabla 2.</b> Disolventes utilizados y sus propiedades fisicoquímicas.....	29
<b>Tabla 3.</b> Rendimiento y propiedades fisicoquímicas de los compuestos A, B y C. ....	41
<b>Tabla 4.</b> Rendimientos y propiedades fisicoquímicas de los compuestos I, II y III. ....	42
<b>Tabla 5.</b> Longitud de onda máxima de absorción y emisión de compuestos A, B y C (0.5 mM) en MeCN .....	47
<b>Tabla 6.</b> Datos electroquímicos obtenidos a partir de Voltamperometría cíclica de los compuestos A, B y C.....	49
<b>Tabla 7.</b> Caracterización Espectroscópica de los compuestos I, II y III.....	51
<b>Tabla 8.</b> Longitud de onda de absorción y emisión de compuestos I, II y III (0.5 mM) en MeCN. ....	55
<b>Tabla 9.</b> Datos electroquímicos obtenidos a partir de Voltamperometría Cíclica de los compuestos I, II y III. ....	57
<b>Tabla 10.</b> Datos ópticos y electroquímicos de los 6 compuestos sintetizados.....	58
<b>Tabla 11.</b> Efecto del pH sobre las bandas del espectro de absorción en el compuesto A. ..	62
<b>Tabla 12.</b> Efecto del pH sobre las bandas del espectro de absorción en el compuesto B....	65
<b>Tabla 13.</b> Comportamiento en absorción de los diferentes compuestos a diferente pH.....	77

<b>Tabla 14.</b> Máximos de absorción y emisión del compuesto C a diferentes concentraciones de Zn <sup>2+</sup> .....	82
--	----

## Lista de Acrónimos, Abreviaciones y símbolos

<sup>1</sup> H-RMN	Resonancia magnética nuclear de protón
2-PyCN	2-piridilacetoniitrilo
3-PyCN	3-piridilacetoniitrilo
4-PyCN HCl	Clorhidrato de 4-piridilacetoniitrilo
4-DMABZ	4-dimetilamino benzaldehído
A	Aceptor
A	Absorbancia
AIE	Emisión inducida por agregación
BODIPY	Borodipirrometeno
<i>c</i>	Concentración
CHCl <sub>3</sub>	Cloroformo
CLOA	Combinación lineal de orbitales atómicos
CV	Voltamperometría Cíclica
D	Donador
DASMPI	Yoduro de (4-(dimetilamino) estiril)-1-metilpiridinium
DMABN	Dimetilamino benzonitrilo
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
eV	Electronvoltios
E <sub>1/2</sub>	Potencial medio
E <sub>ox</sub>	Potencial de oxidación

$E^{\text{ánodo}}$	Potencial anódico
$E^{\text{cátodo}}$	Potencial catódico
$E_{\text{onset}}^{\text{ox}}$	Potencial de inicio ( <i>onset</i> ) de la oxidación
$E_{\text{onset}}^{\text{red}}$	Potencial de inicio ( <i>onset</i> ) de la reducción
$E_{\text{pa}}$	Potencial del pico anódico
$E_{\text{pc}}$	Potencial del pico catódico
$E_{\text{red}}$	Potencial de reducción
EtOH	Etanol
FT-IR	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier
FMN	Mononucleótido de flavina
HOMO	Orbital molecular más alto ocupado
Hz	Hertz
<i>I</i> r (%)	Abundancia relativa (porcentaje)
KHP	Hidrógenoftalato de potasio
<i>l</i>	Paso óptico o ancho de la celda
LUMO	Orbital molecular más bajo desocupado
M+	Ion molecular
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
<i>m/z</i>	Masa/carga
<i>n</i>	Orbital molecular de electrones no enlazados
NADH	Dinucleótido de nicotinamida adenina
OFET	Transistor de efecto de campo orgánico
OLED	Diodo emisor de luz orgánico
OPV	Dispositivo fotovoltaico orgánico
pH	Potencial de hidrógeno
POPOP	1,4-bis(5-feniloxazol-2-il) benceno
ppm	Partes por millón
$S_0$	Estado electrónico basal singulete
$S_1$	Estado electrónico excitado singulete
TBAP	Perclorato de tetrabutilamonio
THF	Tetrahidrofurano
TICT	Transferencia de carga intramolecular por giro
TOM	Teoría de orbitales moleculares
UV-vis	Ultravioleta-visible
V	Voltio
+I	Efecto inductivo electrodonador
-I	Efecto inductivo electroatractor
- <i>o</i>	Posición <i>-orto</i>
- <i>m</i>	Posición <i>-meta</i>
- <i>p</i>	Posición <i>-para</i>
-X	Halógeno
°C	Grados Celsius
$\delta$	Desplazamiento químico
$\Delta E$	Diferencia de energía
$\Delta E_{\text{p}}$	Diferencia de energía potencial
$\varepsilon$	Coeficiente de extinción molar

$\lambda$	Longitud de onda
$\mu$	Momento dipolar
$\pi$	Orbital $\pi$ de enlace
$\pi^*$	Orbital $\pi$ de antienlace
$\sigma$	Orbital $\sigma$ de enlace
$\sigma^*$	Orbital $\sigma$ de antienlace
$\tilde{\nu}$	Número de onda

## 1. Resumen

En la presente tesis se reportan los resultados obtenidos a partir de la síntesis y caracterización (FT-IR,  $^1\text{H}$ -RMN, Espectrometría de masas, Voltamperometría cíclica, Espectroscopia de Absorción UV-vis y Fluorescencia) de compuestos derivados de acrilonitrilo, (Z)-3-(4-(dimetilaminofenil)-2-(piridin-2-il)acrilonitrilo (**A**), (Z)-3-(4-(dimetilaminofenil)-2-(piridin-3-il)acrilonitrilo (**B**) y (Z)-3-(4-(dimetilaminofenil)-2-(piridin-4-il)acrilonitrilo (**C**), y sales de metilpiridinium, Yoduro de 2-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil]etenil)-1-metilpiridin-1-ium (**I**), Yoduro de 3-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil]etenil)-1-metilpiridin-1-ium (**II**) y Yoduro de 4-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil]etenil)-1-metilpiridin-1-ium (**III**). Los compuestos (**II**) y (**III**) fueron sintetizados a partir de **B** y **C**, respectivamente, y el compuesto **I** fue sintetizado a partir de Yoduro de 2-(cianometil)-1-metilpiridin-1-ium (**IA**). El comportamiento en absorción de todos los compuestos sintetizados fue estudiado con respecto a diferente pH. Los seis compuestos presentaron cambios en los espectros de absorción en valores de pH ácido, pero en el caso del compuesto **C** la solución cambió de coloración de amarillo a naranja a pH 4, comparado a los otros compuestos los cuales no cambiaron de color de manera significativa. Esto puede ser debido a que el compuesto **C** tiene una alta sensibilidad a los iones hidronio. De igual modo, el compuesto **C** mostró una gran diferencia en los espectros de absorción y emisión en presencia de iones  $\text{Zn}^{2+}$  y ninguna diferencia significativa fue observada en el caso de los compuestos **A** y **B**. A partir de los resultados, el compuesto **C** es un buen candidato para uso como indicador colorimétrico de pH o como un biosensor de iones  $\text{Zn}^{2+}$ .

## 2. Introducción

El desarrollo de nuevos compuestos orgánicos con propiedades ópticas específicas ha sido un tema de gran importancia en los últimos años, debido a su alto impacto en diversos campos de la ciencia, desde el mejor entendimiento de fenómenos ópticos fundamentales como la fluorescencia,<sup>1</sup> hasta la fabricación de dispositivos opto-electrónicos (OLED's, OPV's, OFET's)<sup>2-4</sup> y su uso como biosensores.<sup>5</sup>

En la medicina, estos materiales han mostrado ser una alternativa a los métodos actuales de diagnóstico y tratamiento, ya que algunos de ellos además de su capacidad de reconocer elementos biológicos específicos, poseen efectos secundarios que potencian su utilización como “*theranostic agents*”, por ejemplo, pueden tener la capacidad de destruir células cancerígenas o presentar efectos antimicrobianos.

En este sentido, alrededor del mundo existe un gran interés por la síntesis de materiales novedosos con propiedades únicas que puedan ser aplicados en medios biológicos. Sin embargo, la mayoría presenta algún inconveniente al ser aplicados, desde poca sensibilidad o baja especificidad hasta alta toxicidad para células propias del organismo.<sup>5</sup>

Es por ello, que en este estudio se propone a una serie de compuestos orgánicos fluorescentes como posibles candidatos a ser aplicados en medios biológicos, ya que gracias a la estructura química que presentan, poseen la capacidad de ser sensibles a cambios en el medio en el que se encuentre. Además, es importante mencionar que el uso de este tipo de materiales fluorescentes es prometedor, ya que la fluorescencia es un tipo de emisión que es fácilmente detectable a simple vista o con el uso de un microscopio especializado (fluorescencia o confocal) y de manera más precisa a través de un detector que registra su espectro de emisión. Por lo que esta señal, puede ser fácilmente aplicada en la detección de analitos de importancia médica.<sup>5</sup>

Los compuestos que se proponen en la presente tesis como candidatos a biosensores, son derivados de acrilonitrilo, donde el grupo ciano se encuentra enlazado al doble enlace central de estructuras conocidas como 4-dimetilamino-estirilpiridina y 4-dimetilamino-estirilpiridinium (también llamado, dimetilamino-estilbazolium).

Estas estructuras pertenecen al grupo de compuestos del tipo *push-pull* ya que son compuestos orgánicos conjugados que se encuentran sustituidos por un grupo donador de electrones y uno o dos grupos aceptores de electrones. Esta característica permite una mayor

deslocalización de sus electrones en los orbitales  $\pi$ , lo que hace que sus transiciones electrónicas requieran de una menor energía y así ser activos en la región del UV-vis del espectro electromagnético.<sup>6</sup>

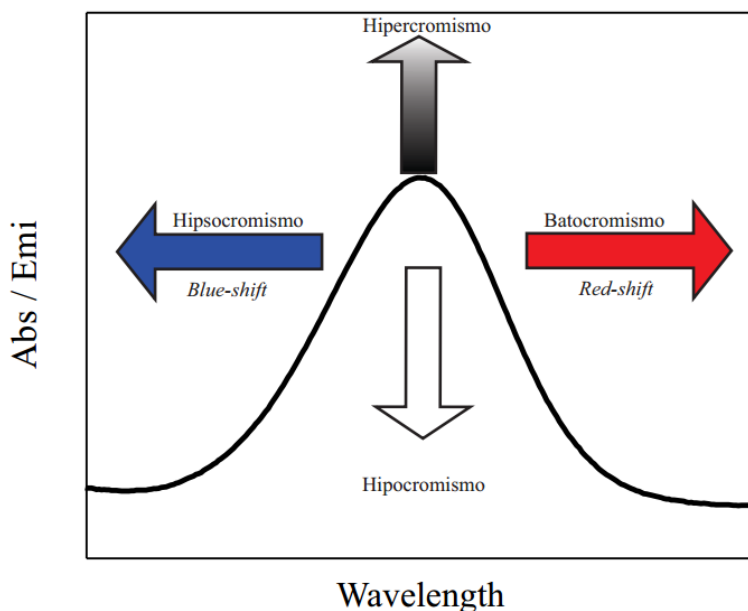
Adicionalmente, la presencia de pares libres de electrones no enlazados permite que estos compuestos puedan interactuar con iones o moléculas carentes de electrones, como iones hidronio (pH) y iones metálicos. De este modo, sus propiedades ópticas se verían afectadas por la presencia de ese tipo de iones lo que generaría un cambio en dichas propiedades.<sup>7</sup> Es por ello que pueden ser utilizados como sensores químicos o como biosensores ya que el analito de interés se encuentra en un medio biológico.

### 3. Antecedentes

#### 3.1. Compuestos Orgánicos como Biosensores

Los sensores son dispositivos analíticos diseñados para medir una magnitud física a través de una señal que se puede observar, detectar y cuantificar.<sup>8</sup> Por otro lado, un sensor químico es un dispositivo que detecta un cambio provocado por una reacción química o interacción fisicoquímica, como puede ser la concentración de un analito específico, y genera una señal detectable. Para el caso de que el analito se encuentre en un sistema biológico se denomina como biosensor.<sup>9</sup>

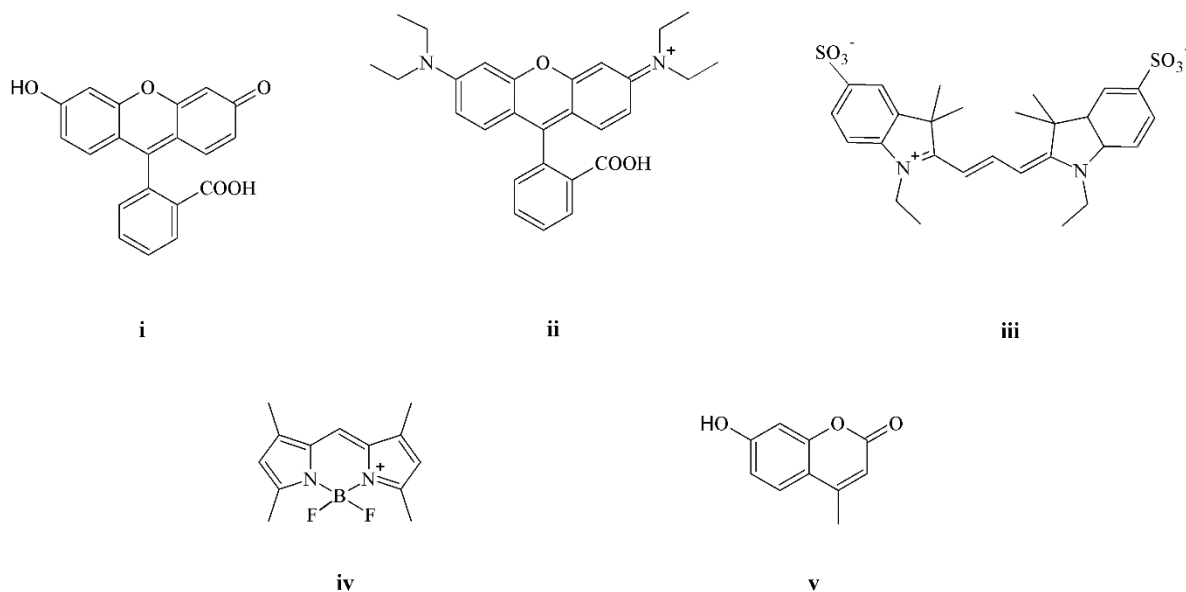
Existen diversos tipos de biosensores que se han utilizado y se diferencian por la naturaleza de la señal generada, de los cuales los electroquímicos y los ópticos han sido los más estudiados. Para el caso de los sensores ópticos, la señal generada puede ser detectada a través de cambios en la longitud de onda absorción ( $\lambda_{abs}$ ), colorimetría, o en la longitud de onda de emisión ( $\lambda_{PL}$ ), fluorescencia. Los cambios que se observan en un espectro de absorción se nombran como se observa en la **Figura 1**. Si el desplazamiento del máximo de absorción y/o emisión es hacia mayor longitud de onda se le conoce como batocromismo, en cambio si es a menor longitud de onda se le llama hipsocromismo. En cuanto a la intensidad de la señal, cuando se observa una disminución se le conoce como hipocromismo y si se detecta un aumento en la intensidad se le llama hiperromismo.<sup>10</sup>



**Figura 1.** Desplazamientos y cambios que ocurren en las bandas de los espectros de absorción y emisión.

Diversos biosensores ópticos están basados en compuestos orgánicos conocidos como “*dyes*”, los cuales son sustancias coloridas que absorben luz de diferentes longitudes de onda del espectro electromagnético de la región Ultravioleta-Visible (UV-vis).<sup>11</sup> El grupo de átomos responsable para la absorción de luz se le conoce como cromóforo, a su vez, si es una sustancia fluorescente se le llama fluoróforo.<sup>12</sup> Por ello, cuando ocurre un cambio en la longitud de onda de absorción o emisión de un fluoróforo al interactuar con un analito biológico se puede diseñar un biosensor.<sup>11</sup>

Los compuestos orgánicos que se han utilizado con este fin son los derivados de fluoresceína, que actualmente son usados en la práctica de cirugías ópticas<sup>13</sup>, neurocirugías<sup>14-16</sup> y en ensayos de inmunofluorescencia.<sup>17</sup> Otros compuestos comúnmente empleados son los derivados de Rodamina B, cianina, BODIPY (*borondipyrromethene*, borodipirrometeno) y cumarina.<sup>18</sup> **Figura 2.**



**Figura 2.** Estructura química de los compuestos orgánicos comúnmente usados como biosensores. Fluoresceína (i), Rodamina B (ii), Cianina (iii), BODIPY (iv) y Cumarina (v).

La importancia en el desarrollo de nuevos compuestos orgánicos fluorescentes, para utilizarse como biosensores radica en la necesidad de detectar y cuantificar analitos de importancia médica que se encuentran involucrados en diversos procesos fisiológicos y patológicos, como son iones metálicos, pH, proteínas, etc. Ya que se requiere que los

compuestos puedan ser sensibles a pequeños cambios del medio, específicos a ciertos iones, solubilidad en medios acuosos, estables, y principalmente de una baja o nula toxicidad.<sup>19</sup>

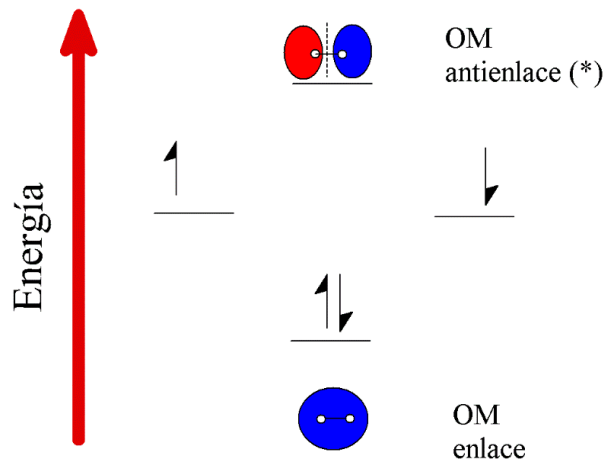
Asimismo, se sabe que diferentes factores determinan las propiedades fisicoquímicas del compuesto orgánico, como su estructura, las condiciones de síntesis, purificación, estado físico, pH, disolvente, temperatura e incluso pueden ser dependientes del tamaño y de la forma.<sup>20-23</sup> En este sentido, la síntesis y el estudio de las propiedades fisicoquímicas de materiales orgánicos fluorescentes es un tema de estudio actual, por su gran importancia para la fabricación de estos dispositivos a corto plazo.

## **3.2. Absorción y Fluorescencia.**

### **3.2.1. Absorción y transiciones electrónicas.**

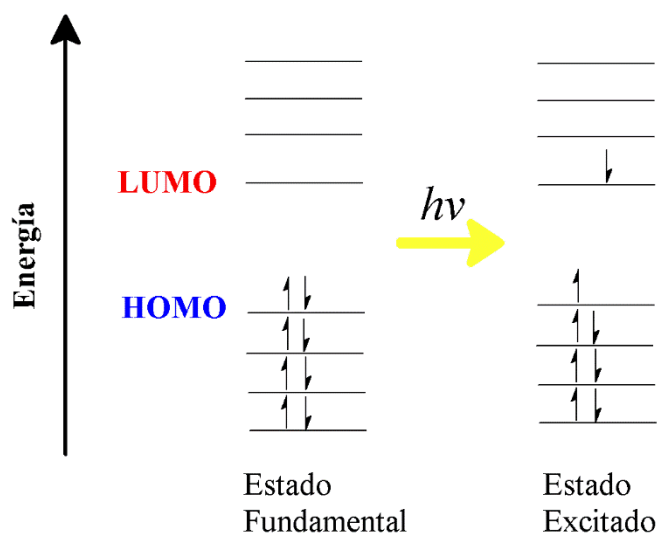
Una de las teorías que explica el enlace químico en los compuestos orgánicos, es la teoría de orbitales moleculares (TOM) la cual está basada en el método matemático de combinación lineal de orbitales atómicos (CLOA). Esta combinación lineal es efectiva si los orbitales atómicos se solapan considerablemente, son de energía comparable y poseen la misma simetría en torno al eje del enlace.<sup>24</sup>

A partir del traslape de dos orbitales atómicos *s* o de un *s* y un orbital *p*, se generarán dos orbitales moleculares, el orbital de enlace  $\sigma$  y el orbital de antienlace  $\sigma^*$ , siendo el orbital  $\sigma$  el de menor energía y donde se encuentran los electrones en el estado fundamental,<sup>24</sup> como se muestra en **Figura 3**. Por otra parte, los orbitales moleculares  $\pi$  y  $\pi^*$  se forman a partir del traslape de orbitales atómicos *p* que se encuentran perpendiculares al plano cuando se tienen la hibridación  $sp^2$ . Para el caso de moléculas que tienen átomos como oxígeno y nitrógeno, éstos poseen electrones no enlazados localizados en el orbital molecular conocido como orbital *n*.<sup>10</sup>



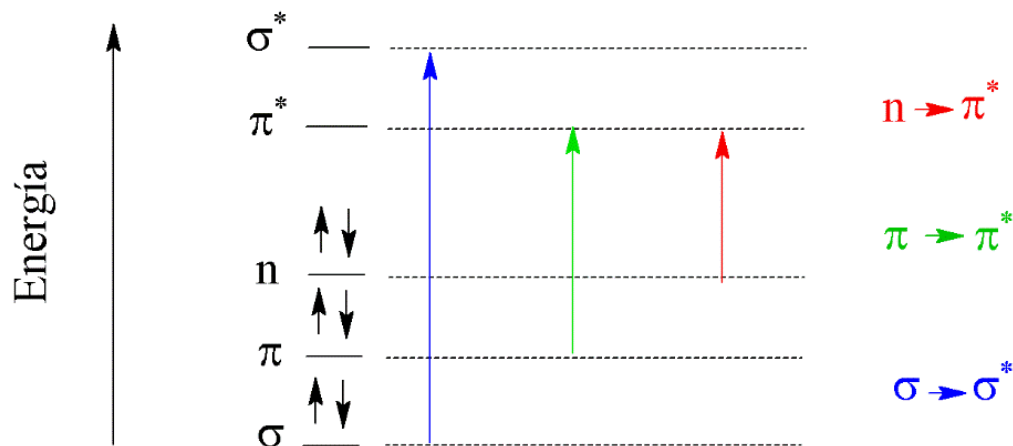
**Figura 3.** Formación de dos orbitales moleculares a partir de la combinación de dos orbitales atómicos, basados en TOM.

La TOM es importante porque explica cómo es que puede ocurrir una transición electrónica, y la describe como el paso de un electrón desde su estado fundamental (HOMO, *Highest Occupied Molecular Orbital*, orbital molecular más alto ocupado) a un orbital desocupado de mayor energía (LUMO, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*, orbital más bajo desocupado), mediante la absorción de un fotón de cierta energía ( $h\nu$ ) y se dice que la molécula está en un estado excitado (**Figura 4**). Estos orbitales HOMO y LUMO se les conoce como orbitales frontera.



**Figura 4.** Transición electrónica entre los orbitales frontera HOMO y LUMO

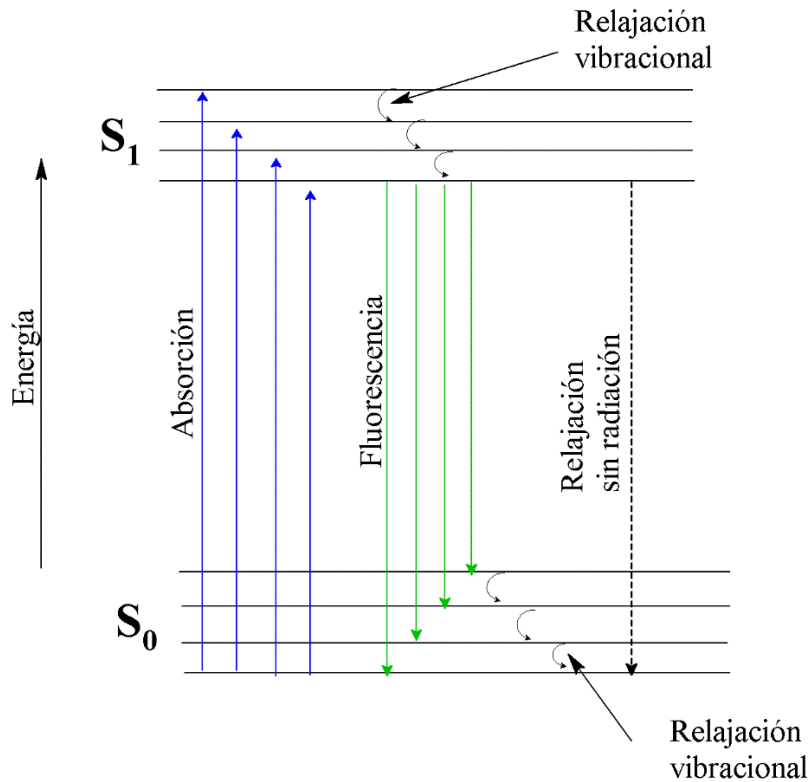
En la **Figura 5**, se muestran las posibles transiciones electrónicas que pueden llevarse a cabo entre los distintos tipos de orbitales moleculares y su diferencia relativa en energía. <sup>25</sup>



**Figura 5.** Diagrama de energía de los diferentes orbitales moleculares y las transiciones electrónicas con la energía relativa requerida para cada una.

### 3.2.2. Fluorescencia

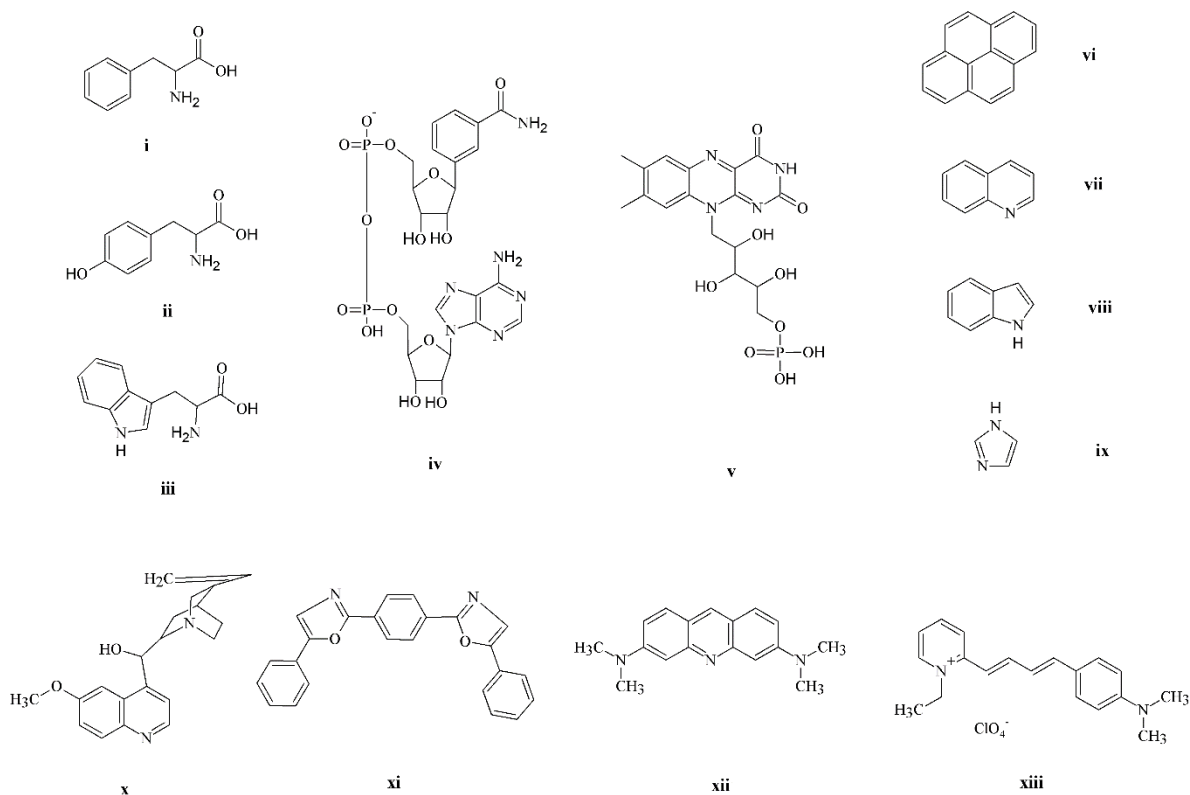
La fluorescencia es un tipo de luminiscencia que se describe como la emisión de fotones en la región de ultravioleta y visible a partir de especies electrónicamente excitadas. Para que este fenómeno se pueda presentar es necesaria la absorción de un fotón que estimula el paso de un electrón de su estado electrónico basal ( $S_0$ ) a un estado electrónico excitado ( $S_1$ ) y al relajarse produce la emisión de un fotón de mayor longitud de onda ( $\lambda$ ) que el absorbido (**Figura 6**).<sup>10</sup>



**Figura 6.** Diagrama de Jablonski.

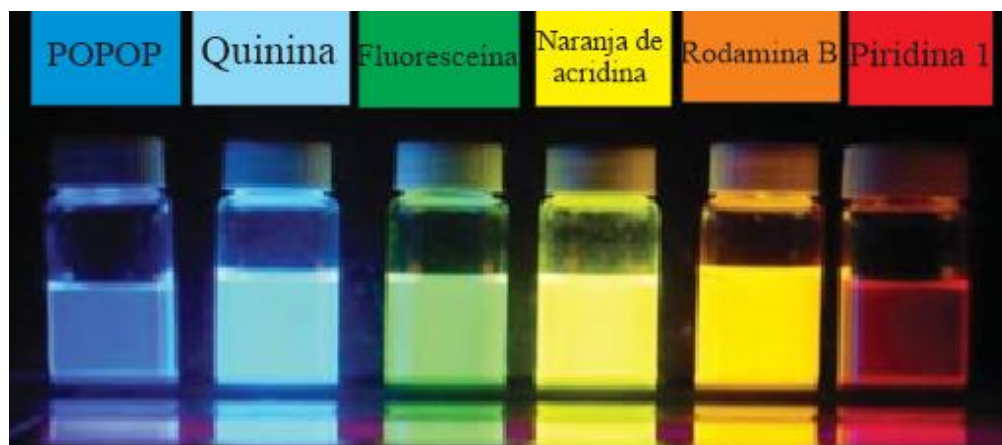
La primera observación reportada sobre fluorescencia fue realizada por el físico español Nicolás Monardes en 1565, e incluso fue estudiada por grandes personajes como Boyle y Newton, pero fue hasta 1852 que el matemático y físico Sir George Gabriel Stokes explicó cómo es que ocurre este fenómeno, y acuñó el término gracias a sus experimentos realizados con sulfato de quinina, siendo el primero en proponer el mecanismo que subyace a este tipo de luminiscencia, demostrando que este hecho se debía a una emisión de luz antecedida por una absorción de luz.<sup>10</sup>

A partir de esa fecha se han encontrado, sintetizado y comercializado nuevos fluoróforos, entre los que destacan los endógenos como fenilalanina, tirosina y triptófano, cofactores como NADH (dinucleótido de nicotinamida adenina) y FMN (mononucleótido de flavina), derivados de pireno, quinolinas, índoles, imidazoles, fluoresceína, rodamina, cianinas, cumarinas, quinina, naranja de acridina, POPOP (1,4-bis(5-feniloxazol-2-il) benceno), piridina 1, etc.<sup>26,27</sup> **Figura 2 y 7.**



**Figura 7.** Estructura química de los fluoróforos: Fenilalanina (i), Tirosina (ii), Triptófano (iii), NADH (iv), FMN (v), Pireno (vi), Quinolina (vii), Indol (viii), Imidazol (ix), Quinina (x), POPOP (xi), Naranja de acridina (xii) y Piridina 1 (xiii).

En **Figura 8** se observa la emisión de fluorescencia de algunos de los compuestos antes mencionados, los cuales emiten a distintas longitudes de onda de la región UV-vis del espectro electromagnético dependiendo de su estructura química.



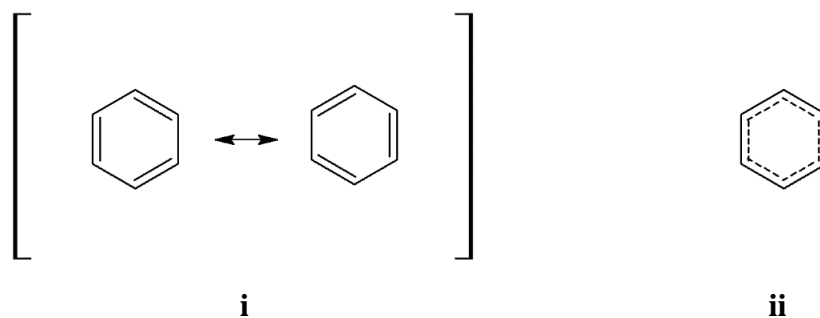
**Figura 8.** Emisión de algunos fluoróforos en la región UV-vis. Tomada y modificada de ref. 27

### 3.3. Resonancia y Conjugación.

#### 3.3.1. Estructuras Resonantes.

En química orgánica existen algunos compuestos con estructuras complejas, debido a que poseen electrones que no se encuentran ubicados en un solo enlace y se encuentran deslocalizados en toda la molécula, la cual puede ser representada a través de diferentes formas canónicas, y se les conoce como estructuras de resonancia o formas resonantes.<sup>28</sup>

El ejemplo más conocido para ilustrar este comportamiento es el benceno (**Figura 9**), que puede ser esquematizado de dos maneras diferentes. La primera es representando ambas estructuras resonantes (estructuras propuestas por Kekulé en 1865) entre corchetes (**Figura 9i**) y la otra es a través de una esquematización del híbrido de resonancia donde la carga se encuentra deslocalizada (**Figura 9ii**). Además, una característica importante de este tipo de compuestos es que esta deslocalización electrónica contribuye a una mayor estabilidad química.<sup>24</sup>

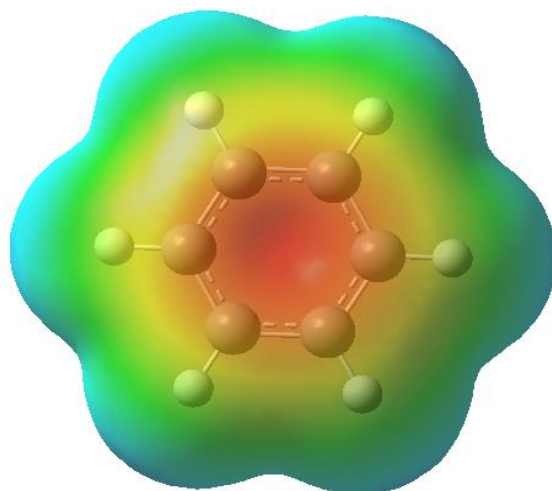


**Figura 9.** Estructuras de resonancia (i) y el híbrido de resonancia (ii).

#### 3.3.2. Conjugación y su efecto en las propiedades ópticas de los materiales.

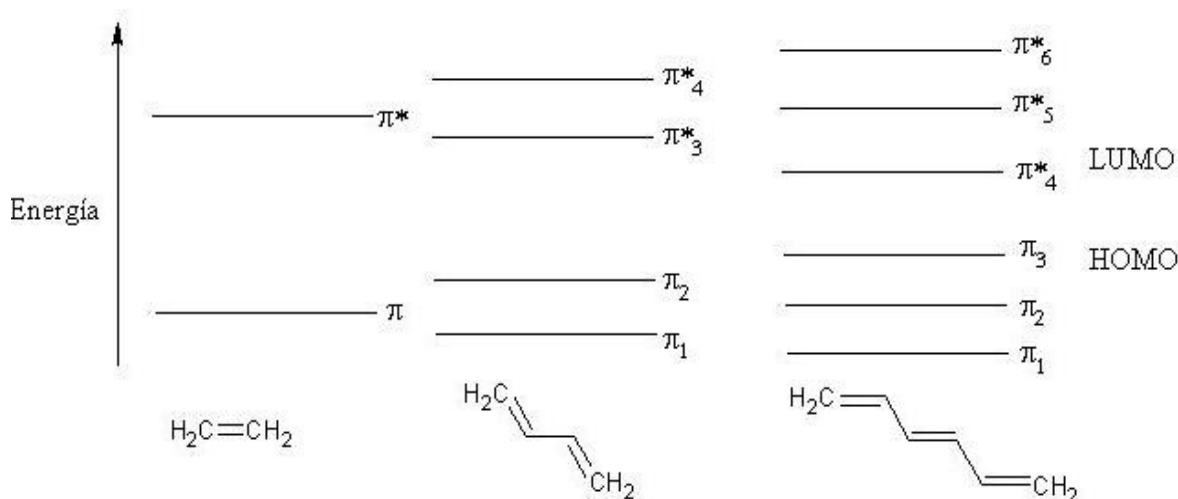
El benceno también forma parte de la clase de compuestos que se les conoce como compuestos orgánicos conjugados,<sup>10</sup> lo que indica que son sistemas con una estructura química que tiene una alternancia de enlaces dobles y sencillos. La presencia de dobles enlaces implica la formación de orbitales  $\pi$ , los cuales se encuentran de manera perpendicular al plano y esta ubicación espacial permite que los electrones se encuentren deslocalizados entre más de dos átomos.<sup>25,29</sup> Esta característica que se puede observar en **Figura 10**, donde se muestra la superficie de potencial electrostático del benceno representado en rojo y azul

las regiones negativa y positiva, respectivamente, mientras la zona en verde indica la región neutra. Claramente se muestra cómo la densidad electrónica (rojo) se encuentra deslocalizada en toda la molécula y que no posee enlaces dobles y sencillos bien definidos, sino todos los enlaces son iguales con características de ambos tipos de enlace.



**Figura 10.** Superficie de potencial electrostático del benceno, representada en rojo la región negativa, en azul la región positiva y en verde la región neutra.

Una característica importante de este tipo de compuestos es que, al aumentar la conjugación, la diferencia de energía entre los orbitales frontera HOMO y LUMO disminuye, esto se explica por el crecimiento de la cadena como se muestra en la **Figura 11**, que lleva a una mayor cantidad de orbitales  $\pi$  y de  $\pi^*$  y una disminución de energía entre el orbital  $\pi$  de enlace de mayor energía (HOMO) hacia el orbital  $\pi^*$  de antienlace de menor energía (LUMO). Esto se ve reflejado en los espectros de absorción como un corrimiento a mayor longitud de onda, conocido en espectroscopia como cambio batocrómico.



**Figura 11.** Efecto del aumento en la conjugación en los orbitales frontera HOMO y LUMO. Eteno, 1,3 butadieno, 1,3,5 hexatrieno.

### 3.3.3. Efecto de los grupos sustituyentes

La absorción de los compuestos orgánicos también se ve afectada por los diferentes sustituyentes en su estructura química, i.e. sus propiedades ópticas pueden cambiar por el tipo de grupo funcional y por la posición en la que se encuentren. Por ello, el diseño molecular de compuestos novedosos con propiedades ópticas específicas se basa en las características de la estructura central conjugada y de las propiedades de cada uno de los grupos funcionales que se encuentran como sustituyente.

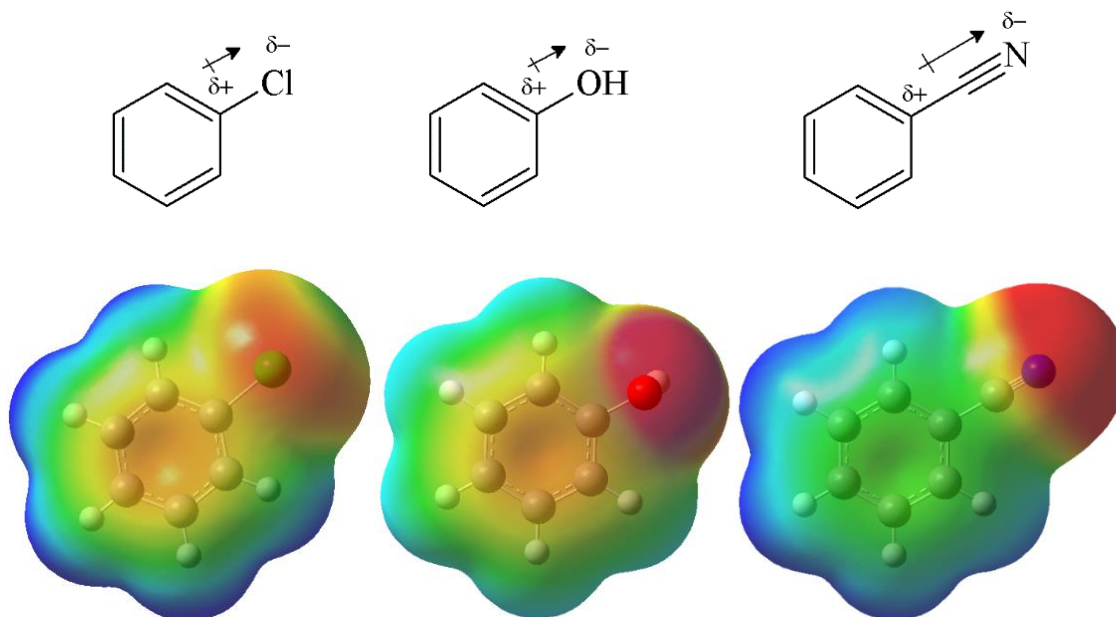
Estos grupos funcionales se pueden clasificar en donador (D) o aceptor de electrones (A), dependiendo de la estructura química y de las propiedades fisicoquímicas (electronegatividad, hibridación, pares libres de electrones, etc.) de los átomos que la conforman, el efecto donador y atractor puede ser tanto inductivo o por resonancia.

#### 3.3.3.1. Efecto Inductivo

Un concepto importante en química es la electronegatividad que fue originalmente descrito por Pauling como “el poder o la fuerza de un átomo en una molécula para atraer electrones a sí mismo”. Cuando dos átomos de diferente electronegatividad forman un enlace, se producen efectos de polarización en el enlace y por lo tanto la densidad electrónica estará distribuida al elemento más electronegativo, a esto se le conoce como efecto inductivo, es

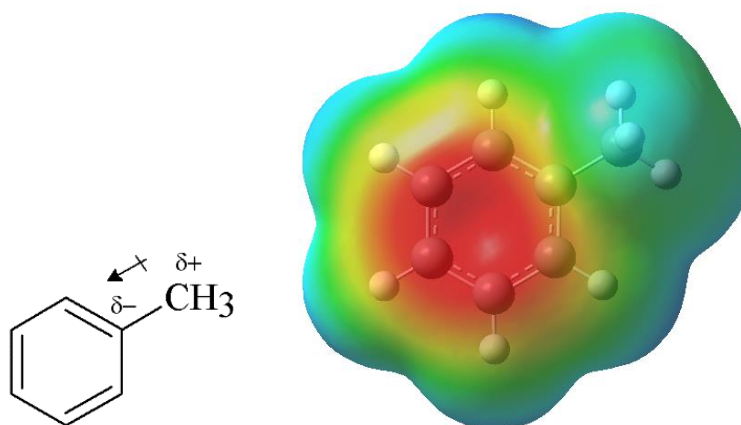
decir, es el fenómeno de retirar o atraer electrones a través de enlaces  $\sigma$  hacia el átomo o grupo más electronegativo.<sup>30</sup> Además, es importante mencionar que este efecto se debilita gradualmente con respecto a la distancia del sustituyente,<sup>31</sup> por lo que la posición donde se encuentre sustituido afectará de forma diferente a la molécula. El efecto inductivo puede ser tanto electrotractor (-I) como electrodonador (+I).<sup>25</sup>

La sustitución con átomos muy electronegativos como halógenos (F, Cl, Br y I), o con grupos hidroxilo (-OH) o ciano (CN), producirá enlaces polarizados, que para el caso de -C-X, el halógeno (X) tendrá una carga parcial negativa ( $\delta^-$ ) y el carbono una carga parcial positiva ( $\delta^+$ ). El efecto producido será inductivo electrotractor (-I). **Figura 12**



**Figura 12.** Efecto inductivo electrotractor, en el clorobenceno, fenol y benzonitrilo y su correspondiente superficie de potencial electrostático.

Por otro lado, cuando grupos alquilo como  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$  se encuentran como sustituyentes de la estructura conjugada, estos hacen un efecto contrario, es decir, donarán densidad electrónica a la estructura central mediante un efecto inductivo donador (+I), en el caso de la **Figura 13**, donan densidad electrónica al benceno.

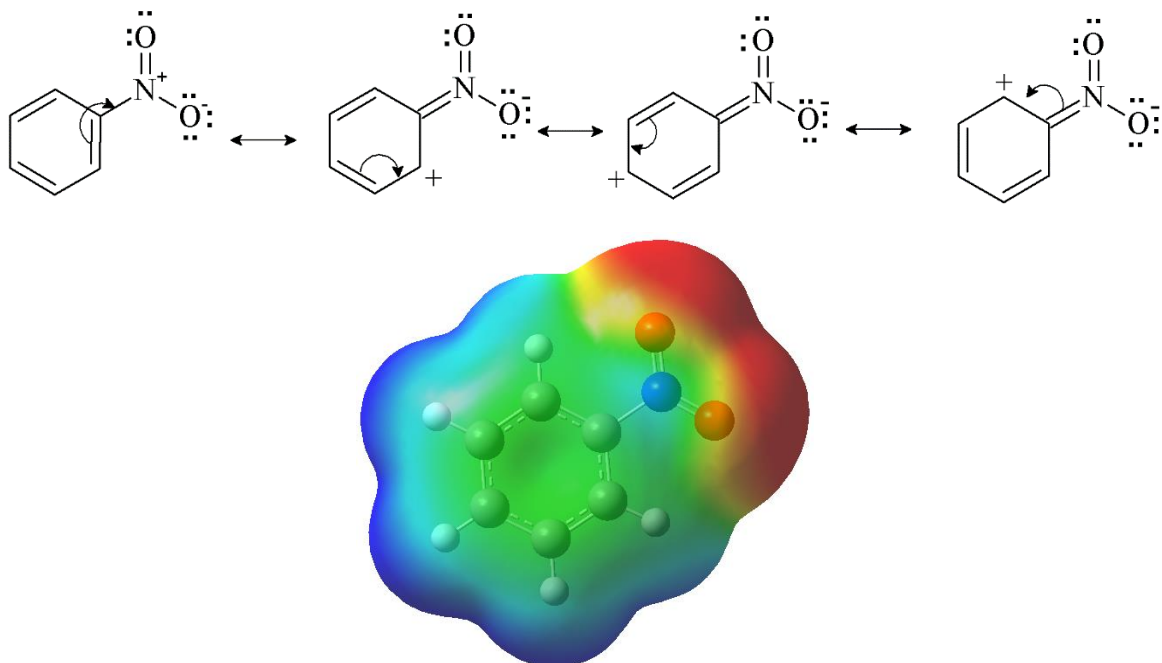


**Figura 13.** Efecto inductivo electrodonador en metilbenceno y su superficie de potencial electrostático.

### 3.3.3.2. Efecto resonancia

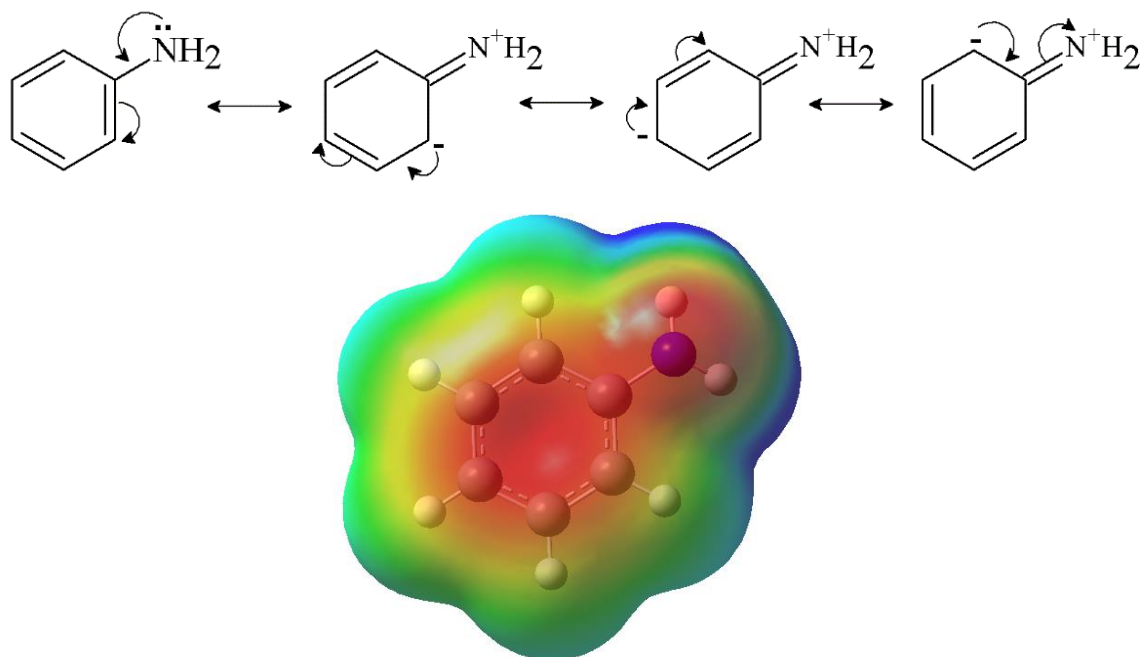
El efecto de resonancia ocurre cuando un anillo aromático se encuentra sustituido con grupos funcionales que contienen átomos con pares de electrones no enlazados y que por la hibridación del átomo permite que el par de electrones interactúen con los orbitales  $\pi$  de la estructura conjugada, como es el caso de grupos donadores como amino ( $-\text{NH}_2$ ) e hidroxilo ( $-\text{OH}$ ) o con grupos electroattractores como el nitro ( $-\text{NO}_2$ ).

Para el caso del grupo  $-\text{NO}_2$ , debido a que los átomos de nitrógeno y de oxígeno son electronegativos la densidad electrónica se distribuye hacia el grupo  $-\text{NO}_2$ ,<sup>25</sup> más aún, que el átomo de nitrógeno se encuentra altamente oxidado, hace que el grupo funcional sea un fuerte electrotractor, afectando la densidad electrónica del anillo aromático como se muestra en la **Figura 14.**<sup>31</sup>



**Figura 14.** Efecto resonancia electroatractor del grupo -NO<sub>2</sub> en el nitrobenzeno y su superficie de potencial electrostático.

En cuanto a los grupos electrodonadores como amino (-NH<sub>2</sub>) o hidroxilo (OH) cuando se encuentran como sustituyentes en el anillo aromático, estos grupos donan densidad electrónica por medio de los pares de electrones no enlazados, ya que debido a que los átomos de N y O poseen una hibridación del tipo sp<sup>3</sup> sus electrones no enlazados pueden interaccionar con los orbitales π de la estructura conjugada. En la **Figura 15**, se muestra cómo se produce el efecto donador del grupo amino en la anilina.



**Figura 15.** Efecto resonancia electrodonador del grupo  $\text{NH}_2$  en la anilina y su superficie de potencial electrostático.

### 3.3.3.3. Estructura del tipo D- $\pi$ -A

Un dipolo eléctrico está constituido por dos cargas de igual magnitud y de signo opuesto, separadas por una distancia  $d$ .

En el caso de un enlace con átomos de diferente electronegatividad, existe una polarización debido a que la carga se distribuye hacia el átomo más electronegativo formándose un dipolo de enlace. Este dipolo se describe como un momento localizado que está asociado con el enlace covalente polar. A su vez, un momento refleja la fuerza electrostática que sería ejercida por el enlace polar sobre una carga vecina.<sup>30</sup>

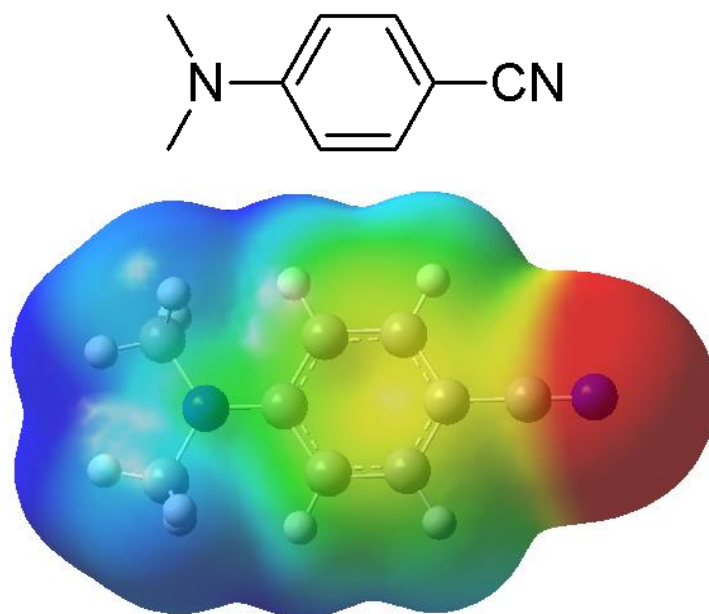
Para el caso de una molécula, posee un momento dipolar ( $\mu$ ) cuando el centro de la carga positiva no coincide con el centro de la carga negativa y se encuentran separadas por una distancia  $d$ , tal molécula constituye un dipolo. Además, cuando el momento dipolar es grande, se dice que la molécula es polar.<sup>31</sup>

La estructura tipo D- $\pi$ -A es una clase de dipolo y se forma cuando los sustituyentes son grupos donadores y aceptores unidos a estructuras conjugadas, además este tipo de estructuras garantiza que sean activas en la región UV-vis, debido a que existe una mayor

deslocalización electrónica en toda la estructura, ya sea por efecto inductivo o resonancia y se ve afectada por la fuerza del carácter electrotractor o electrodonador de los sustituyentes.<sup>32</sup>

La gran variedad de estructuras como D- $\pi$ -D (Donador- $\pi$ -Donador), D- $\pi$ -A (Donador- $\pi$ -Aceptor) o A- $\pi$ -A (Aceptor- $\pi$ -Aceptor) que se pueden obtener, hacen que la síntesis de este tipo de compuestos sea básica y de principal importancia para el diseño y la aplicación de nuevos materiales con propiedades ópticas específicas.<sup>32,33</sup>

Un ejemplo de este tipo de estructuras es el compuesto 4-(Dimetilamino) benzonitrilo (DMABN), el cual posee una estructura del tipo D- $\pi$ -A, donde el grupo dimetilamino es el electrodonador y el grupo ciano el electrotractor (**Figura 16**).

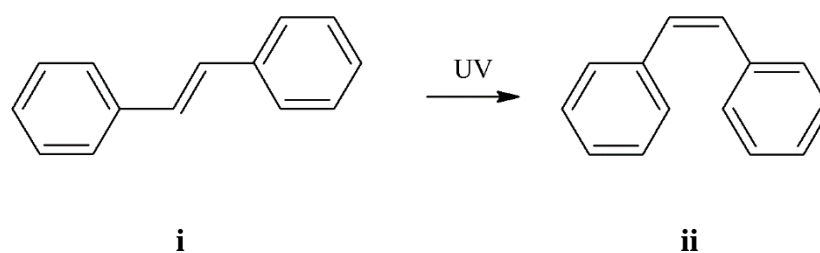


**Figura 16.** Estructura del compuesto 4-(dimetilamino) benzonitrilo y su superficie de potencial electrostático

Este compuesto presenta propiedades fisicoquímicas interesantes, en especial su fluorescencia dual que ha sido ampliamente estudiada generando varias teorías, siendo la más aceptada la explicación en términos de dos tipos de emisiones originadas por diferentes estados electrónicos excitados, una por el estado local excitado y otra por el estado de transferencia de carga intramolecular por giro o TICT (*Twisted Intramolecular Charge Transfer*).<sup>34</sup>

### 3.4. Compuestos derivados de estilbena.

Estilbena, es el nombre que se le da al compuesto formado por dos anillos fenilo unidos a través de un doble enlace, cuya estructura conjugada se muestra en **Figura 17**. Por el hecho de tener un doble enlace, existen dos tipos de isómeros del tipo *trans* (E) y *cis* (Z), con propiedades fisicoquímicas diferentes **Figura 17i y 17ii**. Para efectuar la conversión de un isómero a otro se realiza por exposición a luz ultravioleta (UV) y la reacción efectuada se le conoce como fotoisomerización.<sup>35</sup>



**Figura 17.** Fotoisomerización del estilbena de conformación *trans* (i) a *cis* (ii) mediante la exposición a radiación de luz UV.

Los compuestos derivados de estilbena han sido estudiados durante muchos años debido a que manifiestan propiedades ópticas importantes, y se han aplicado en el desarrollo de diversos dispositivos opto-electrónicos. Estos derivados de estilbena se pueden obtener por la adición de diferentes de grupos funcionales, los cuales pueden ser donadores como alcoholes (-R-OH), éteres (-OR) y las aminas (-NH<sub>2</sub>, NHR<sub>1</sub> y NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>) o grupos aceptores como los grupos nitro (-NO<sub>2</sub>), sulfonatos (-SO<sub>3</sub>H), ciano (-C≡N), y heterociclos como la piridina.<sup>36</sup>

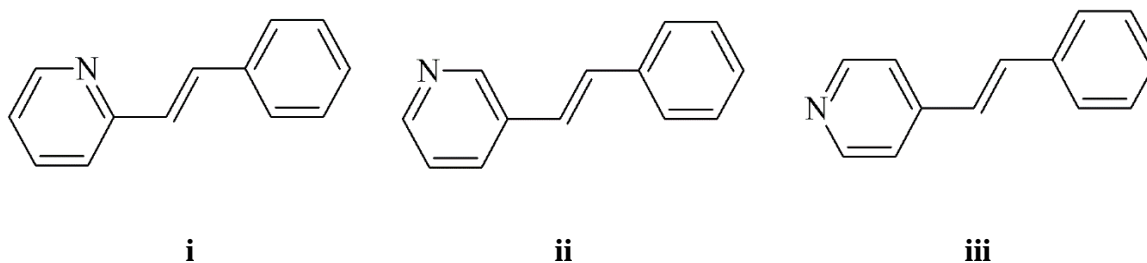
Para la síntesis de este tipo de compuestos conjugados, existen diversas vías entre las cuales se encuentran la reacción de Wittig,<sup>37</sup> entre un aldehído o cetona con un iluro, la reacción de Horner-Emmons,<sup>38</sup> aldehído o cetona con carbaniones estabilizados con grupos fosfatos, y la reacción de Knoevenagel,<sup>39</sup> derivada de una reacción de condensación aldólica que se lleva a cabo entre un aldehído o cetona y un compuesto que contiene un grupo metilo o metileno.

### 3.5. Estirilpiridinas.

Las estirilpiridinas, también conocidas como estilbazoles, presentan una estructura similar a la del estilbeno, donde en vez de un fenilo se tiene una piridina, su estructura se muestra en **Figura 18**. Estos compuestos se obtienen a partir de una reacción de condensación entre picolinas (metilpiridinas) con benzaldehído.

De igual modo que el estilbeno, las estirilpiridinas han sido extensamente estudiadas, debido a que presentan propiedades fisicoquímicas diferentes y únicas, a causa del carácter electroatractor de la piridina, y a la presencia del par libre de electrones en el átomo de nitrógeno que produce otra banda en el espectro de absorción correspondiente a la transición  $n-\pi^*$ , además puede interactuar con especies carentes de electrones que se encuentren en el medio y así han sido de gran utilidad en el desarrollo de sensores altamente específicos.<sup>40</sup>

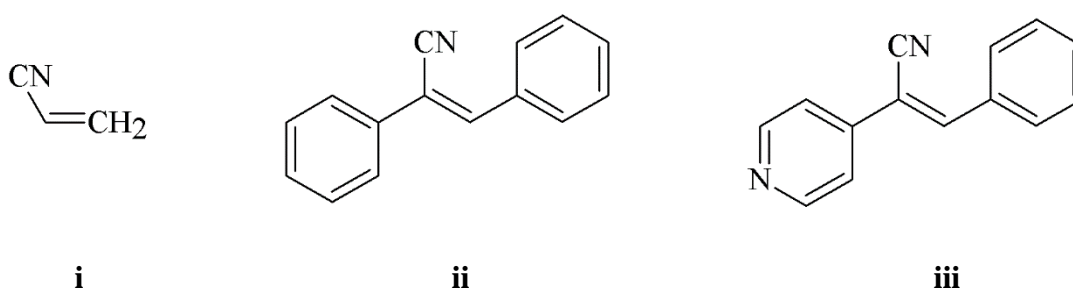
Como consecuencia de la presencia del heteroátomo, se pueden tener isómeros estructurales dependiendo de la posición en la cual se encuentre sustituida la piridina con respecto al nitrógeno, estas pueden ser en posición *-orto -o*, *-meta -m* o *-para -p*, **Figura 18i**, **18ii** y **18iii**, respectivamente. Estos isómeros presentan diferencias fisicoquímicas entre sí, ya que la conjugación no es la misma en ellos.



**Figura 18.** Estructura de isómeros estructurales de estirilpiridina: *orto* (i), *meta* (ii) y *para* (iii).

### 3.6. Acrilonitrilos.

Los acrilonitrilos son compuestos en el que el grupo ciano ( $-C\equiv N$ ) se encuentra enlazado a un carbono de un doble enlace (**Figura 19**). Específicamente el compuesto mostrado en **Figura 19i** ha sido utilizado ampliamente como monómero en la fabricación de poliacrilonitrilo, y copolímeros. Para el caso en el que el  $-CN$  se encuentra en la estructura de estilbeno o estirilpiridina (**Figura 19ii y 19iii**), se conocen como 1,2-difenilacrilonitrilo, 4-piridilfenilacrilonitrilo.



**Figura 19.** Estructura de derivados de acrilonitrilo. Acrilonitrilo (i), 1,2- difenilacrilonitrilo (ii), 4- piridilfenilacrilonitrilo (iii).

Además, el hecho que el  $-CN$  es un grupo electroattractor hace que las propiedades ópticas varíen drásticamente.<sup>41,42</sup>

En los últimos años, el grupo de Polímeros del Centro de Química de la BUAP ha reportado la síntesis de diversos compuestos derivados de acrilonitrilo con propiedades ópticas interesantes, los cuales han sido caracterizados por una gran variedad de técnicas espectroscópicas, electroquímicas, por difracción de rayos X, por microscopía electrónica y por cálculos teóricos.<sup>20,23,43-50</sup> Estos compuestos poseen una estructura central estilbeno y estirilpiridina, sustituida con un grupo donador de electrones formando una estructura del tipo D- $\pi$ -A (**Figura 20i**), donde el grupo sustituyente altera la distribución electrónica y se ve reflejado en las propiedades ópticas de los compuestos, como una intensa fluorescencia en solución y en estado sólido (**Figura 20ii**) y en otros casos con una intensa fluorescencia en estado sólido pero muy débil en solución (**Figura 20iii**), además este tipo de compuestos es sensible al medio en el que se encuentren, v.g. cloroformo. (**Figura 20iv**)<sup>51</sup>

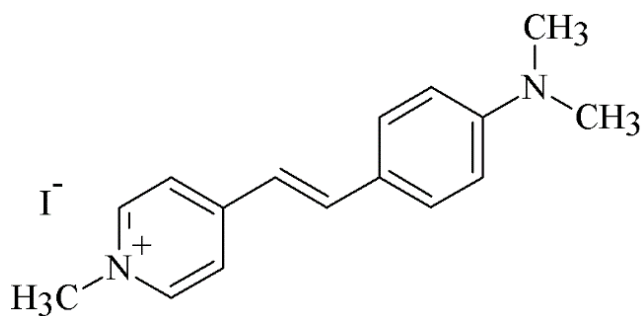
De igual modo, alrededor del mundo varios grupos han reportado la síntesis y caracterización de compuesto derivados de acrilonitrilo como aquellos basados en  $\alpha$ -cianoestilbena,<sup>52</sup> que han sido estudiados tanto de manera experimental como por cálculos teóricos,<sup>53</sup> presentando características ópticas interesantes como el fenómeno de Emisión Inducida por Agregación (AIE, *Aggregation Induced Emission*).<sup>54</sup> Además, se ha demostrado que pueden ser aplicados en la visualización de cambios en el pH intracelular<sup>55</sup> e incluso ser anticancerígeno mediante la inhibición de la polimerización de la tubulina<sup>56</sup> y además como foto-sensibilizadores en radiación ionizante para terapias anticancerígenas.<sup>57</sup>



### 3.7. Sales orgánicas fluorescentes.

Son compuestos del tipo  $D-\pi-A^+ X^-$ , donde el grupo aceptor (normalmente piridinas), se encuentra sustituido en alguno de sus heteroátomos, formando lo que se le conoce como una sal cuaternaria, esto crea un efecto atractor mayor que afecta sus propiedades electrónicas y ópticas, pero también sus propiedades de solubilidad son diferentes a causa de su carácter iónico, siendo solubles en disolventes muy polares como DMSO, DMF, Metanol y en especial pueden solubilizarse en  $H_2O$ , lo que es conveniente para una aplicación en medios biológicos.

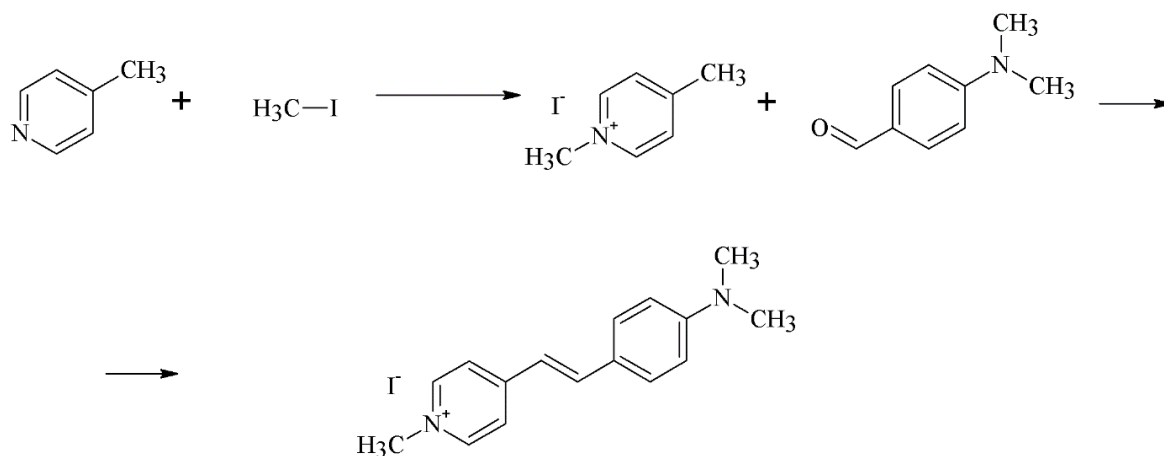
Como consecuencia, desde hace ya varios años han sido estudiados y aplicados como sensores, principalmente debido a que presentan características específicas dependiendo del ambiente en el que se encuentren, ya que su estructura química permite que sean sensibles a cambios en la polaridad del disolvente, pH, viscosidad, temperatura e incluso diferencia de potencial, lo que los convierte en candidatos ideales para ser implementados como biosensores.<sup>58-62</sup> Un ejemplo es el yoduro de 2-(4-(dimetilamino)estiril)-1-metilpiridinium (*dye* DASMPI)<sup>63</sup> utilizado en la detección del potencial de membrana mitocondrial, el cual posee una estructura conjugada en donde el sustituyente dimetilaminofenil es un donador (D) y el ion metilpiridinium el aceptor (A), con una estructura tipo  $D-\pi-A^+ X^-$ . **Figura 21.**



**Figura 21.** Estructura del *dye* DASMPI.

Existen varios métodos para la síntesis de este tipo de compuestos, siendo el más común iniciando con la formación de la sal de metilpiridinium a partir de la materia prima, como reportan Bajorek et al.<sup>64</sup> Este grupo sintetizó el yoduro de N-metil(4-metil) piridinium,

para después ser usado en reacción de condensación con 4-(N, N-dimetilamino) benzaldehído, para obtener el producto final con la estructura del tipo D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup> **Figura 22**.



**Figura 22.** Reacción para la obtención de sales derivadas de metilpiridinium.

### 3.8. Equilibrio ácido-base en el organismo.

La concentración de los iones hidronio es un proceso altamente regulado en el ser humano,<sup>65</sup> ya que pequeñas desviaciones pueden producir severos daños celulares. En el organismo, el pH es responsable de diversas funciones como son endocitosis, quimiotaxis, adhesión celular, transducción de señales mediada por receptor, transporte iónico, proliferación, diferenciación celular y apoptosis.<sup>66-68</sup> Asimismo, en todo el cuerpo humano existen diferencias en el pH dependiendo del órgano o de la ubicación, siendo las secreciones gástricas las que posee la mayor concentración de estos iones con un pH de 1.0 (o hasta 0.7), seguido de los lisosomas (4.5-5.5) y piel con 5.5, 6.0 para orina, 6.81 agua neutra a 37°C, 7.2 en citosol, 7.3 líquido cefalorraquídeo, 7.365 en sangre (considerado como pH fisiológico), 7.5 en matriz mitocondrial interna, y 8.1 en secreciones pancreáticas.<sup>7,69</sup>

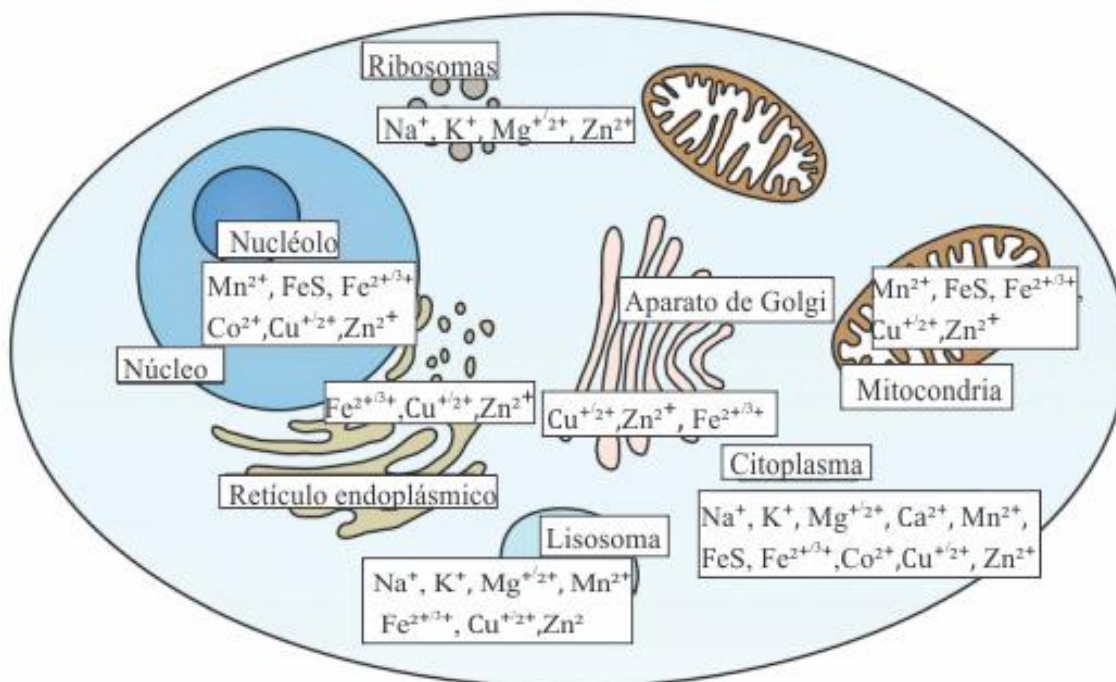
A causa de ello, en diversas patologías como el cáncer y Alzheimer, existe una alteración en el pH específico a determinado organelo lo que puede ser utilizado como un “*hallmark*” de este medio, permitiendo una discriminación satisfactoria contrastando a los elementos que permanecen inalterados.<sup>66</sup>

### 3.9. Importancia de los iones metálicos en el organismo.

Dentro de todos los organismos existen concentraciones específicas de varios elementos de la naturaleza, para el caso de los iones metálicos, su distribución depende del tipo celular que se esté analizando, pero se puede establecer de manera general cantidades relativas de los elementos metálicos. Iones como  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , están presentes en cantidades dentro del intervalo de los miligramos/Litro (mg/L), y se sabe que juegan un papel muy importante en la producción del potencial de acción, y en el mantenimiento del potencial de membrana, osmolaridad y control del volumen celular, y el transporte de solutos a través de la membrana celular.<sup>7</sup> Otros iones tales como el  $\text{Ca}^{2+}$ , son esenciales en procesos fisiológicos como la contracción muscular, y también a nivel celular ya que puede funcionar como molécula de señalización en diversos procesos de comunicación intercelular, y a pesar de que se encuentra en cantidades menores ( $\mu\text{g/L}$ ), es posible cuantificarlo con gran exactitud.

Por el contrario, los elementos traza (como su nombre lo indica), se encuentran en cantidades mínimas, lo que imposibilita una exacta cuantificación con las técnicas actuales, entre ellos se encuentran los iones  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ .

En suma, la presencia de iones metálicos en los organismos es de vital importancia ya que juegan papeles muy importantes en diversos procesos fisiológicos y cualquier desbalance puede llevar a efectos negativos. Además, estos iones poseen especificidad a distintos ambientes intracelulares, como se muestra en la **Figura 23**, y se encuentran involucrados en funciones fundamentales para la supervivencia celular, incluyendo eritropoyesis, desarrollo neuronal, transcripción, regulación enzimática, transmisión de señales neuronales, síntesis de neurotransmisores, respiración celular, modificación peptídica, apoptosis celular, etc.<sup>70-74</sup>



**Figura 23.** Distribución espacial intracelular de los iones metálicos. Tomada y modificada de Ref. 74.

Cuando se ve afectado su estado de homeostasis, se pueden presentar diversas anomalías celulares, estrés oxidativo y toxicidad,<sup>75</sup> que se reflejan en la aparición de alguna enfermedad, entre las cuales sobresalen patologías como el Alzheimer, Enfermedad de Parkinson, Enfermedad de Wilson, Enfermedad de Menkes, Esclerosis Lateral Amiotrófica, Enfermedad de Huntington, Síndrome de Down, Enfermedades priónicas, Cáncer y Diabetes.<sup>72, 73, 76-81</sup>

Por ello la búsqueda de nuevos compuestos orgánicos fluorescente sensibles a pH y/o a iones metálicos es de gran relevancia en la actualidad, ya que su aplicación en medios biológicos puede brindar información que hasta la fecha se desconoce o que sólo es parcialmente obtenida con otras técnicas.

## 4. Hipótesis

Al unirse o interaccionar los compuestos orgánicos con el analito correspondiente, la absorción y/o emisión cambiará de forma notable, ya que esta interacción puede generar una distribución electrónica diferente en la estructura del compuesto que modificará sus propiedades ópticas a mayor o menor longitud de onda, o producir un cambio en la intensidad.

## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivo General.

- Sintetizar y caracterizar distintos compuestos con estructura D- $\pi$ -A y D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup>, y evaluar el comportamiento que presentan al interaccionar con iones metálicos Zn<sup>2+</sup> y a distintos intervalos de pH.

### 5.2. Objetivos Específicos.

- Sintetizar nuevos compuestos orgánicos con estructura D- $\pi$ -A derivados de acrilonitrilo y D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup> derivados de metilpiridinium.
- Caracterizar los compuestos sintetizados mediante espectroscopia FT-IR, <sup>1</sup>H-RMN y espectrometría de masas y por voltamperometría cíclica.
- Determinar las propiedades de absorción de los compuestos sintetizados en solución y a diferente pH.
- Determinar la emisión de los compuestos en solución.
- Evaluar el comportamiento de los compuestos en presencia de ion Zn<sup>2+</sup>.
- Determinar si algún compuesto puede ser candidato para aplicación como biosensor.

## 6. Parte Experimental

### 6.1. Materiales.

Las características fisicoquímicas de los reactivos utilizados en el presente trabajo se muestran en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Características fisicoquímicas de los reactivos utilizados.

	Fórmula	Marca	P.M. (g/mol)	p. f. (°C)	p. e. (°C)	Estado físico a t. a.	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )
2- piridilacetoniitrilo	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	Sigma- Aldrich	118.14	23- 25	76- 77	Líquido	1.059
3- piridilacetoniitrilo	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	Sigma- Aldrich	118.14	37- 38	101- 109	Líquido	1.108
Clorhidrato de 4- piridilacetoniitrilo	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> · HCl	Sigma- Aldrich	154.6	267	290	Sólido	Indet.
4-dimetilamino benzaldehído	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CHO	Sigma- Aldrich	149.19	72- 75	176- 177	Sólido	1.1
Hidróxido de Potasio	KOH	J.T. Baker	56.11	360	1327	Sólido	2.12
Yoduro de Metilo	CH <sub>3</sub> I	J.T. Baker	141.91	-64	41- 43	Líquido	2.28
Bromuro de Potasio	KBr	Fluka Analytical	119	734	1435	Sólido	2.75
Hidróxido de Sodio	NaOH	J.T. Baker	40	323	1388	Sólido	2.13
Hidrogenoftalato de potasio	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> KO <sub>4</sub>	J.T. Baker	204.22	297	Indet.	Sólido	1.64

Los disolventes empleados en la síntesis y en la caracterización espectroscópica de los compuestos de interés del presente estudio se muestran en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Disolventes utilizados y sus propiedades fisicoquímicas.

	Fórmula	Marca	P.M. (g/mol)	p. f. (°C)	p. e. (°C)	Densidad (g/ml)
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	Fermont	32.04	-97.7	64.7	0.791
Acetona	CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>	Fermont	58.08	-94.7	56.05	0.785
Etanol	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	Fermont	46.07	-114.1	78.5	0.789
Acetonitrilo	CH <sub>3</sub> CN	Merck (ACS)/ Sigma-Aldrich (HPLC)	41.05	-43.8	81.6	0.786
Dimetilsulfóxido deuterado	DMSO-d <sub>6</sub>	Sigma-Aldrich	84.17	20.2	189	1.19
Ácido Clorhídrico	HCl	Fermont	36.46 Sol. 37.2%	~ -25	~108	Indet.

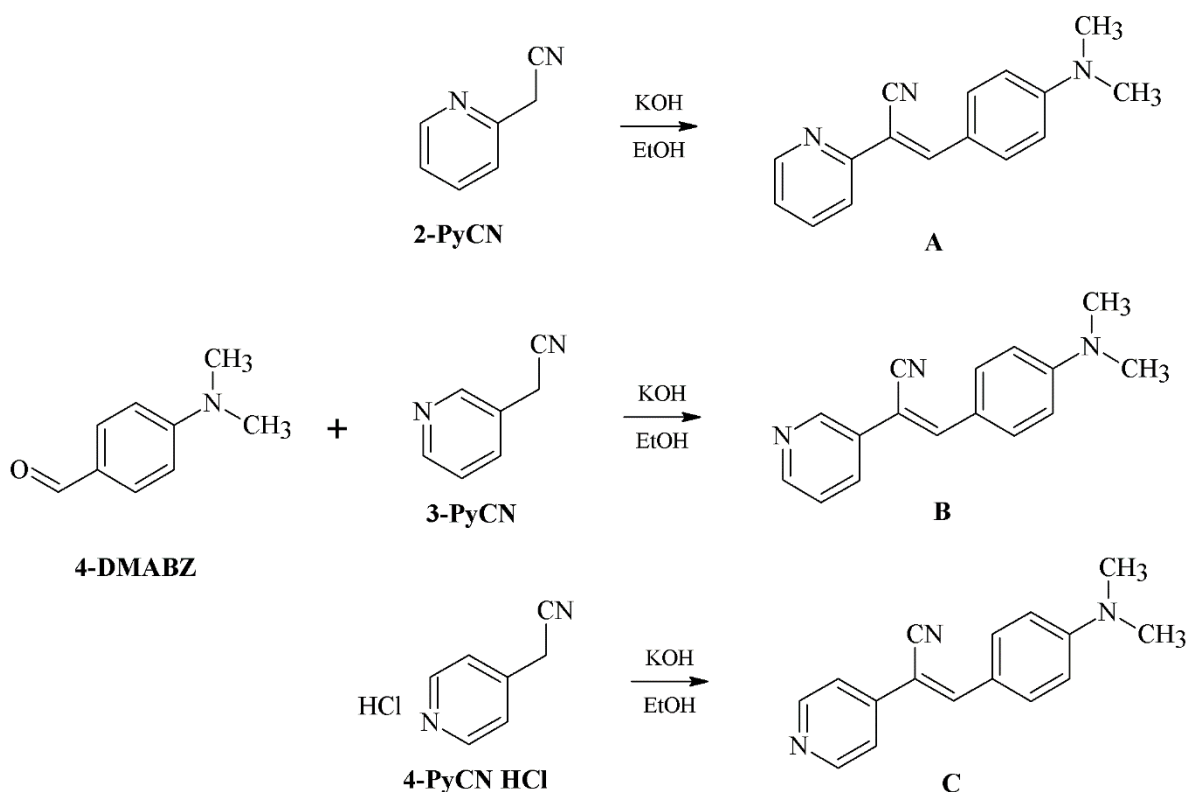
## 6.2. Metodología.

### 6.2.1. Síntesis

#### 6.2.1.1. Síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A

La síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilos se realizó en base a la metodología ya reportada por Percino et al.<sup>43</sup> usando etanol como disolvente y KOH como catalizador a temperatura ambiente con un tiempo de reacción de 24 horas.

En el **Esquema 1** se muestra la ruta de síntesis para la obtención de estos tres productos. (Z)-3-(4-(dimetilaminofenil)-2-(piridin-2-il) acrilonitrilo (**A**), (Z)-3-(4-(dimetilaminofenil)-2-(piridin-3-il) acrilonitrilo (**B**) y (Z)-3-(4-(dimetilaminofenil)-2-(piridin-4-il) acrilonitrilo (**C**).



**Esquema 1.** Síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilo **A**, **B** y **C** a partir de 4-(Dimetilamino) benzaldehído (**4-DMABZ**) con 2-piridilacetoniitrilo (**2-PyCN**), 3-piridilacetoniitrilo (**3-PyCN**) y Clorhidrato de 4-piridilacetoniitrilo (**4-PyCN HCl**)

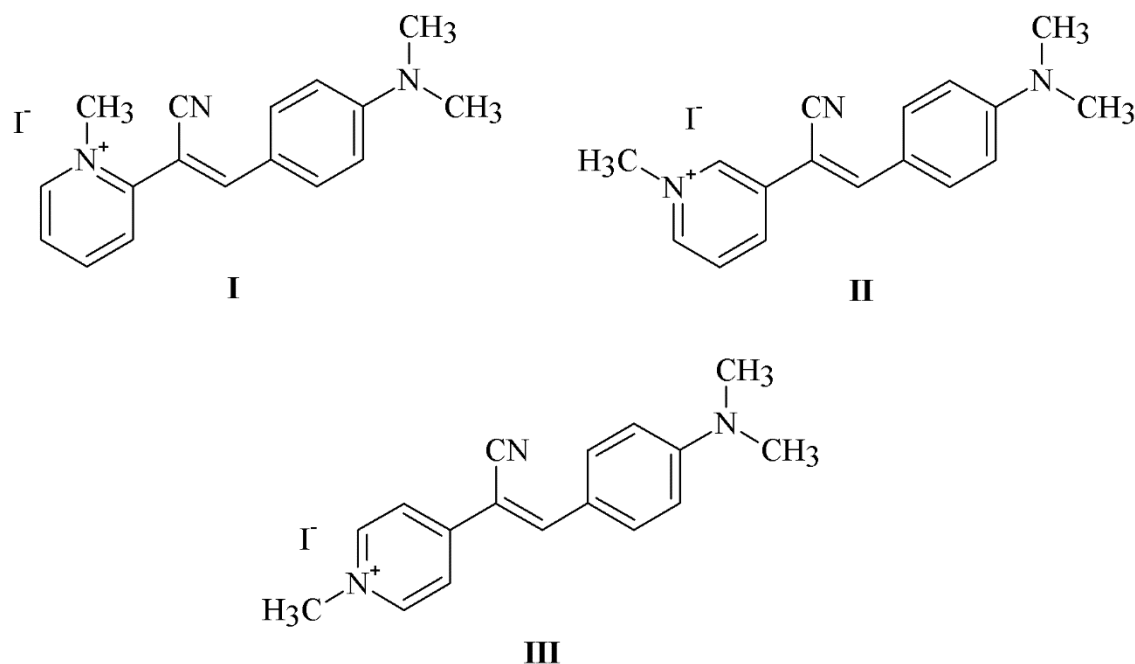
En un matraz de bola se colocó el reactivo 4-dimetilamino benzaldehído y el correspondiente piridilacetónitrilo en una relación molar 1:1, y se disolvieron en etanol a temperatura ambiente y en agitación. Para el caso del reactivo clorhidrato de 4-piridilacetónitrilo se calentó previamente debido a su baja solubilidad.

Una vez homogénea la solución, se agregó KOH (en relación molar 1:1:1). De inmediato la mezcla de reacción cambió de coloración y se observó la formación de precipitado. Posteriormente fueron recristalizados en etanol.

Los datos obtenidos del análisis de estos compuestos como apariencia física, punto de fusión, solubilidad, entre otras, corresponden a los datos ya reportados.<sup>43</sup>

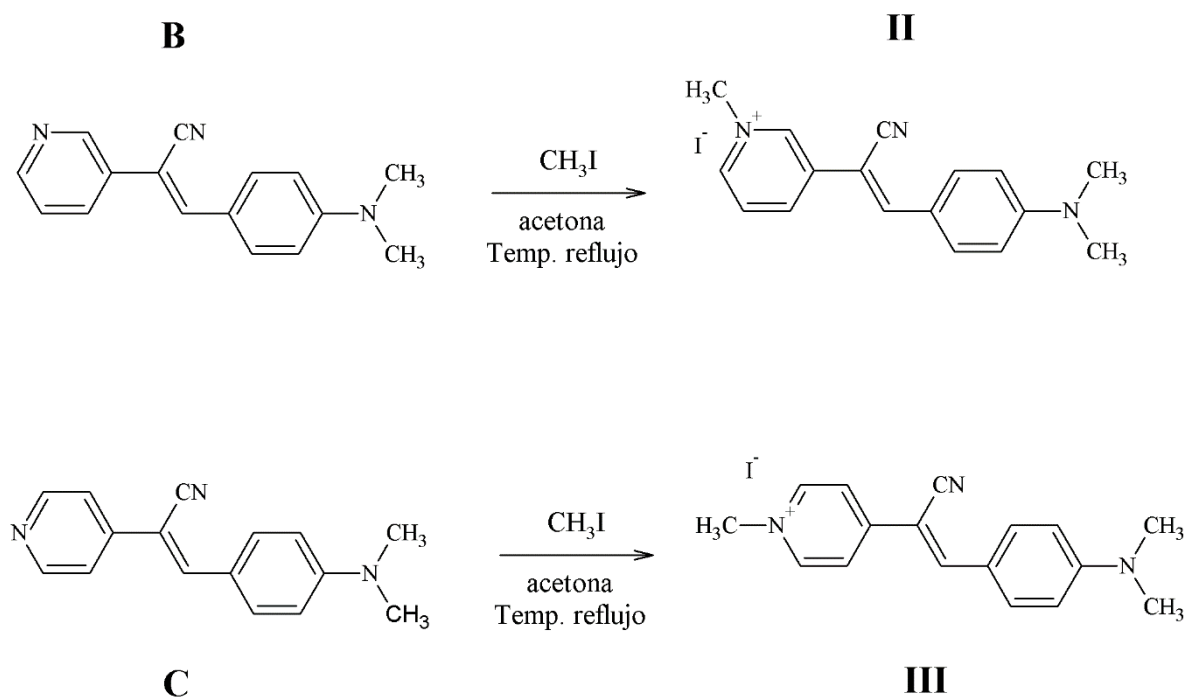
#### 6.2.1.2. Síntesis de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup>.

La estructura de los compuestos del tipo D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup>, Yoduro de 2-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil)etenil]-1-metilpiridin-1-ium) (I), Yoduro de 3-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil)etenil]-1-metilpiridin-1-ium) (II), Yoduro de 4-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil)etenil]-1-metilpiridin-1-ium) (III), se muestra en **Figura 24**.



**Figura 24.** Estructura química de las sales derivadas de metilpiridinium I, II y III.

La síntesis de los compuestos **II** y **III** se llevó a cabo en base al **Esquema 2**, donde el derivado de acrilonitrilo previamente sintetizado (**B** y **C**, respectivamente) reaccionó con Yoduro de Metilo ( $\text{CH}_3\text{I}$ ) en acetona, a temperatura de reflujo y agitación por 3 horas, en ausencia de catalizador.



**Esquema 2.** Ruta de síntesis para los compuestos **II** y **III**.

Las condiciones de reacciones fueron las siguientes:

**(II)** Yoduro de 3-((*Z*)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil)etenil]-1-metilpiridin-1-ium).

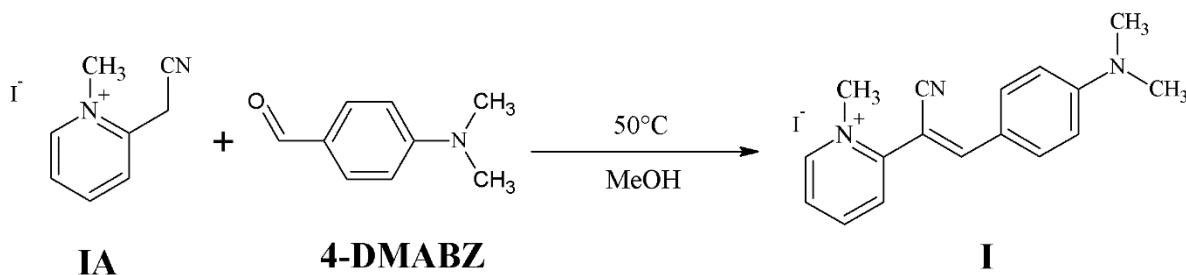
120mg ( $4.82 \times 10^{-4}$  mol) del compuesto **B** fueron disueltos en acetona (13 mL) en un matraz de bola a temperatura ambiente y 0.4 mL (0.228g,  $6.43 \times 10^{-3}$  mol) de yoduro de metilo ( $\text{CH}_3\text{I}$ ) se agregaron cuando la mezcla de reacción alcanzó la temperatura de reflujo ( $56^\circ\text{C}$ ) y se mantuvo en agitación durante tres horas. Durante el transcurso de la reacción, la solución cambió de coloración de amarillo a rojo-naranja, además una pequeña cantidad de precipitado apareció a los 30min, el cual incremento durante el curso de la reacción. Finalmente, fue filtrado y lavado con acetona fría, y recristalizado en metanol.

(III) Yoduro de 4-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil)etenil]-1-metilpiridin-1-ium).

120mg ( $4.82 \times 10^{-4}$  mol) del compuesto **C** se disolvieron en 20 mL de acetona en un matraz de bola a temperatura ambiente y 0.4 mL (0.228g,  $6.43 \times 10^{-3}$  mol) de yoduro de metilo ( $\text{CH}_3\text{I}$ ) se agregaron cuando la mezcla de reacción alcanzó la temperatura de reflujo y se mantuvo en agitación, e inmediatamente se observó la formación de un material sólido rojo, estas condiciones se mantuvieron por 3 horas y en ausencia de catalizador. Durante el transcurso de la reacción, la mezcla de reacción cambio de coloración de amarillo a rojo, y al término del tiempo de reacción la solución presentaba turbidez y un abundante precipitado. Posteriormente, la mezcla de reacción fue filtrada y lavada con acetona fría. Finalmente, fue recristalizado en metanol.

Para el caso del compuesto **I**, esta ruta de síntesis no fue adecuada para la obtención del producto, probablemente debido a efectos estéricos que imposibilitaron la metilación del nitrógeno de la piridina sustituida en posición *orto*.

Por lo tanto, para la obtención del compuesto **I** se siguió otra vía de síntesis, mostrada en **Esquema 3**, una reacción de condensación entre el yoduro de 2-(cianometil)-1-metilpiridin-1-ium (**IA**) con 4-dimetilamino benzaldehído (4-DMABZ).



**Esquema 3.** Ruta de síntesis para la obtención del compuesto **I**.

Las condiciones de reacción se describen a continuación:

(I) Yoduro de 2-((Z)-1-ciano-2-[4-(dimetilaminofenil)etenil]-1-metilpiridin-1-ium).

130mg (0.5 mmol) del compuesto **IA** fueron colocados en un matraz de bola y disueltos en 8 mL de metanol a  $50^\circ\text{C}$  y en agitación durante unos minutos. Después 0.075g (0.5 mmol) de 4-dimetilamino benzaldehído (4-DMABZ) fueron agregados a la solución. Inmediatamente, la mezcla de reacción cambió de coloración, de café claro a amarillo-

naranja y después de una hora fue totalmente roja. Las condiciones se mantuvieron por 2 horas más y subsecuentemente fue almacenado a 4°C por 16 horas. Posteriormente fue filtrado y recristalizado en metanol.

## **6.2.2. Caracterización**

La caracterización de los compuestos obtenidos se realizó a través de técnicas espectroscópicas y técnicas electroquímicas. Esto con el fin de corroborar la estructura y determinar las propiedades fisicoquímicas de los productos.

Para determinar propiedades físicas como su punto de fusión y solubilidad, se realizaron pruebas de solubilidad en varios disolventes de diferente polaridad, y el punto de fusión de cada uno de los productos fue determinado mediante un equipo SEV-Prendo modelo PF-300, en un intervalo de 0-300°C.

### **6.2.2.1. Caracterización Espectroscópica**

La caracterización espectroscópica de los compuestos se llevó a cabo por Espectroscopia Infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR), Resonancia Magnética Nuclear de protón (<sup>1</sup>H-RMN), Espectrometría de masas de impacto electrónico, Espectroscopia de Absorción UV-vis y Fluorescencia.

#### **6.2.2.1.1. Espectroscopia FT-IR, <sup>1</sup>H-RMN y Espectrometría de masas**

Los espectros de FT-IR de los compuestos fueron obtenidos a partir del uso de un Espectrofotómetro Bruker Vertex 70 por la técnica de reflectancia difusa. El espectro fue adquirido en un intervalo de 4000-400 cm<sup>-1</sup> usando el software OPUS para su procesamiento. Todas las mediciones se realizaron en estado sólido, usando Bromuro de Potasio (KBr) como referencia.

Los espectros de <sup>1</sup>H-RMN fueron obtenidos con un espectrómetro Bruker 500-MHz en DMSO-d<sub>6</sub>.

El espectro de masas por impacto electrónico fue adquirido con un espectrómetro de masas Jeol MStation 700-D

### 6.2.2.1.2. Espectroscopia de Absorción UV-vis y Fluorescencia

Los espectros de absorción fueron adquiridos con un espectrofotómetro Cary 300 de la marca Agilent, equipado con una lámpara de deuterio y una de halógeno. El rango de longitud de onda de detección para todas las mediciones fue de 200-700 nm. Para las mediciones en solución, el disolvente usado (acetonitrilo) fue grado HPLC. Se emplearon celdas de cuarzo de 1 mm de grosor.

Para el cálculo del coeficiente de extinción molar ( $\epsilon$ ), se utilizó la ecuación de Beer-Lambert:

$$A(\lambda) = \epsilon(\lambda)lc$$

Donde  $A(\lambda)$  es la absorbencia a determinada longitud de onda en unidades arbitrarias,  $l$  es el paso óptico o grosor de la celda utilizada en cm, y  $c$  es la concentración de la muestra.

El coeficiente de extinción molar ( $\epsilon$ ) se determinó en la longitud de onda ( $\lambda$ ) donde la absorbencia ( $A$ ) fue máxima, es decir, en el máximo de absorción ( $\lambda_{\text{máx}}$ ).

Los espectros de emisión de fluorescencia fueron adquiridos con un detector QE-Pro-FL de la marca Ocean Optics. Como fuente de excitación se utilizó un láser con emisión a 405 nm. Para las mediciones se empleó un tubo de vidrio y una esfera integradora donde el haz del láser incidió a  $90^\circ$  con respecto a la ubicación del detector.

### 6.2.2.1.3. Determinación del gap de energía óptico

Para la estimación de la energía requerida para una transición electrónica entre el estado fundamental y el estado excitado, se utilizaron los gráficos de Tauc, tomando  $\hbar\nu$ , es decir, la energía en eV versus  $(\alpha\hbar\nu)^2$  para transiciones directas y  $(\alpha\hbar\nu)^{1/2}$  para transiciones indirectas.<sup>82</sup>

Donde  $\alpha$  es el coeficiente de absorción,  $\hbar$  es la constante de Planck y  $\nu$  es la frecuencia del fotón.

Para ello existen dos fórmulas que nos ayudan a calcular las transiciones.

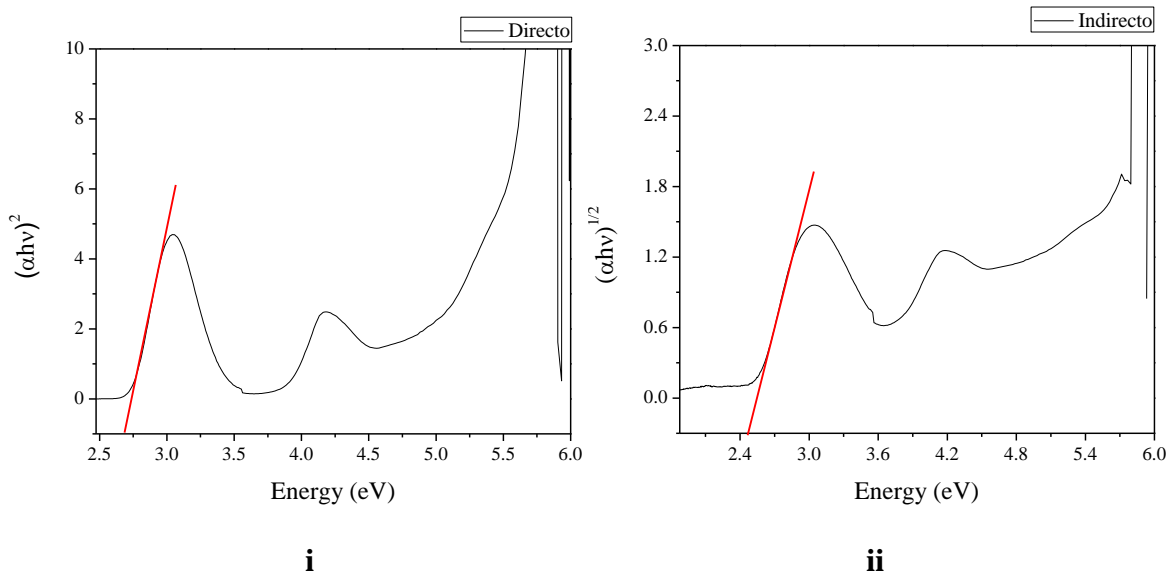
Indirecta:

$$(\alpha\hbar\nu)^{1/2} = (\hbar\nu - E_g)$$

Directa:

$$(\alpha\hbar\nu)^2 = (\hbar\nu - E_g)$$

Donde  $E_g$  es la energía de banda prohibida o band gap, pero es importante mencionar que esta relación sólo es válida en un determinado intervalo, ya que posee una dependencia lineal, por lo que al graficar se prolonga la línea recta del intervalo lineal hasta cortar el eje de las abscisas, como se muestra en **Figura 25**.



**Figura 25.** Gráficos de Tauc para la determinación del gap de energía óptico para transiciones directas (i) e indirectas (ii).

En el punto donde la línea recta cruza con el eje de las abscisas es el valor de energía mínima necesaria para que una transición electrónica ocurra.

### 6.2.2.2. Caracterización electroquímica

La caracterización electroquímica se llevó a cabo a través de la técnica de Voltamperometría Cíclica, la cual hace un barrido de voltaje de manera cíclica, de ahí su nombre, y se mide la corriente generada.

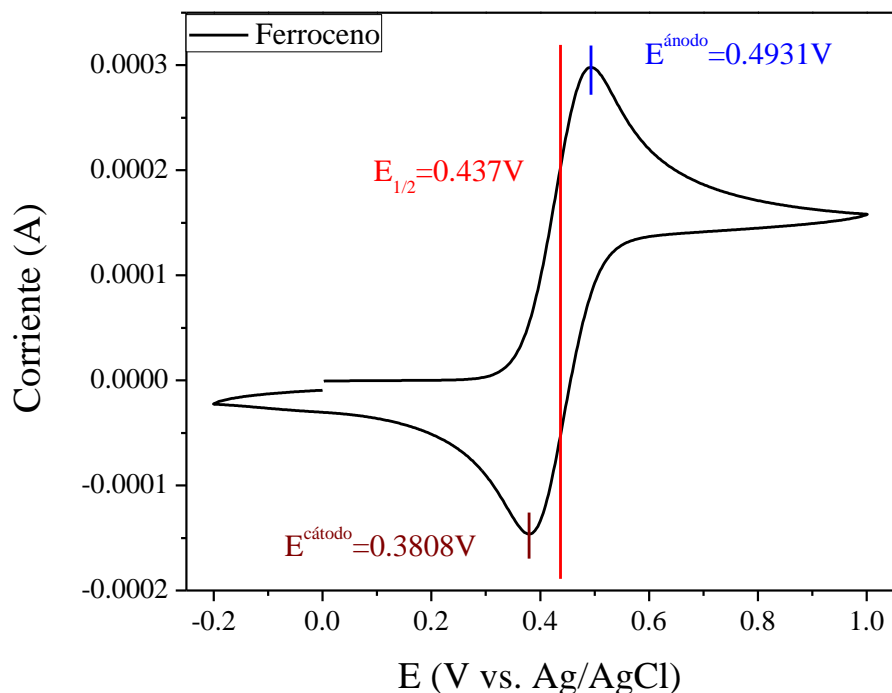
Todas las mediciones electroquímicas se llevaron a cabo a 20°C con un potenciostato de la marca Metrohm, usando un sistema de tres electrodos, donde un electrodo de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) en solución 3M de cloruro de potasio (KCl) fue empleado como electrodo de referencia, y dos alambres de platino, uno como electrodo de trabajo y el otro como electrodo auxiliar o contra-electrodo. Como electrolito de soporte se usó una solución 0.05M de la sal Perclorato de tetrabutilamonio (TBAP) en acetonitrilo (MeCN). Las mediciones se realizaron a una concentración de 0.5 mM de cada compuesto con una velocidad de barrido de 100 mV/s.

Para la estimación de la energía de los niveles HOMO y LUMO, ferroceno fue usado como estándar externo y las siguientes ecuaciones fueron aplicadas <sup>83</sup>:

$$HOMO = -(E_{ox} - E_{1/2(ferroceno)} + 4.8eV)$$

$$LUMO = -(E_{red} - E_{1/2(ferrocene)} + 4.8eV)$$

Para la obtención del potencial medio del ferroceno se realizó una medición de este compuesto a las mismas condiciones que los compuestos sintetizados, y a partir del promedio de potencial del pico anódico y pico catódico se obtuvo el valor de  $E_{1/2}$  (**Figura 26**).



**Figura 26.** Voltamperograma de ferroceno en el cual se muestra los valores del pico anódico ( $E^{\text{ánodo}}$ ), pico catódico ( $E^{\text{cátodo}}$ ) y el potencial medio ( $E_{1/2}$ ).

Los potenciales *onset* de oxidación y reducción ( $E_{\text{ox}}$  y  $E_{\text{red}}$ ) en las ecuaciones, corresponden a los valores de las muestras que fueron determinados a través de la intersección de dos líneas rectas, una dibujada en la línea base y otra tangente a la curva ascendente o descendente en los procesos de oxidación y reducción.

### 6.2.3. Potenciometría

#### 6.2.3.1. Estandarización de soluciones de Ácido Clorhídrico (HCl) e Hidróxido de Sodio (NaOH).

A partir de una solución de HCl concentrado al 37.2 % (Fermont) se preparó una solución al 0.1N. En un matraz aforado de 500 mL se colocaron 4.9 mL de la solución de HCl concentrado, y se diluyeron en  $H_2O$ .

Por otro lado, para preparar la solución de NaOH 0.1N se utilizaron 2 gramos de este compuesto (perlas) en un matraz aforado de 500 mL y se disolvieron en  $H_2O$ .

Debido a que, tanto el NaOH como el HCl no son estándares primarios, la concentración sólo es aproximada, fue necesario usar estándares primarios para conocer la concentración exacta de las soluciones titulantes. Los patrones primarios utilizados fueron, biftalato de potasio (también conocido como hidrogeno ftalato de potasio, KHP) para la estandarización de la solución de NaOH, y carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) para el HCl.

La estandarización de las soluciones se llevó a cabo mediante titulaciones o valoraciones con el ácido y la base correspondiente usando como indicadores soluciones de fenolftaleína al 0.1% en etanol y naranja de metilo al 0.1% en  $\text{H}_2\text{O}$ , este procedimiento se realizó 3 veces y se obtuvo la normalidad exacta de las soluciones de HCl (0.1222N) e NaOH (0.0869N).

#### **6.2.3.2. Potenciómetro.**

Para la determinación del pH de las soluciones, se utilizó un potenciómetro de la marca Metrohm modelo Titrino DMS 716, equipado con un electrodo de referencia de Ag/AgCl, el cual fue calibrado con 2 buffers de diferente pH, uno de fosfatos de sodio y potasio con un pH de 7.02 y el otro de hidrogeno ftalato de potasio con un pH de 4.00, ambos de la marca J.T. Baker. Todas las mediciones se realizaron a una temperatura de 20°C.

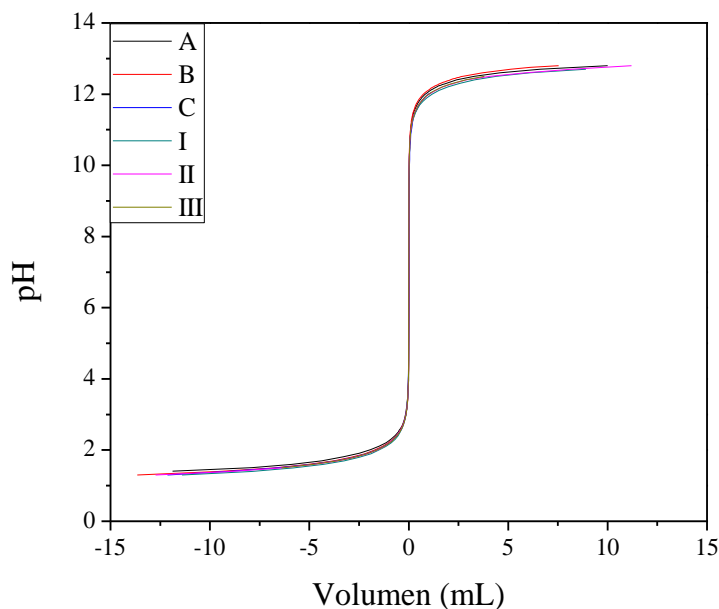
Se prepararon soluciones stock 1 mM de los compuestos de interés, en DMSO para los derivados de acrilonitrilo y en  $\text{H}_2\text{O}$  para las sales cuaternarias de amonio. Las muestras evaluadas fueron soluciones a concentraciones de 50  $\mu\text{M}$  (excepto compuesto **III**, 10  $\mu\text{M}$ ), preparadas mediante dilución de las soluciones stock con  $\text{H}_2\text{O}$ .

Además, como referencia se determinó el pH de las soluciones blanco de  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$  (95/5) los cuales estuvieron en un intervalo de 6.1 a 6.4. Mismos valores que presentaron las soluciones con los compuestos de interés.

Para las mediciones de absorción UV-vis se utilizó una celda de cuarzo de 1 cm de diámetro para obtener una absorbancia entre 1 y 2 unidades arbitrarias (u.a.). Esto debido a que al utilizar la celda de 1 mm (como en las mediciones iniciales) el espectro de absorción de la mayoría de las muestras presentó mucho ruido debido a la baja intensidad de absorbancia (~0.2 u.a.), a causa de la baja concentración de las muestras.

#### 6.2.4. Titulación ácido-base de los compuestos sintetizados.

Las curvas de titulación de los 6 compuestos se muestran en la **Figura 27**, los valores negativos indican el volumen agregado en mL de HCl, a su vez, los valores positivos muestran el volumen en mL de NaOH que se agregó, finalmente el 0 es el promedio de los valores de pH inicial para cada una de las muestras.



**Figura 27.** Curvas de titulación de pH de los compuestos **A, B, C, I, II y III**.

Como se pueden observar en el gráfico anterior, los 6 compuestos muestran un comportamiento muy similar, sin embargo, existen ligeras diferencias en los extremos de la curva que pueden indicar cambios en el comportamiento a pH muy alcalinos o muy ácidos.

#### 6.2.5. Absorción y emisión en presencia de $Zn^{2+}$

Se prepararon soluciones stock 0.5 mM de los compuestos **A, B y C** en acetonitrilo a partir de las cuales se prepararon varias soluciones 100  $\mu$ M de estos compuestos difiriendo en la concentración de  $Zn^{2+}$  desde 0 hasta 200  $\mu$ M utilizando cloruro de zinc ( $ZnCl_2$ ). Se midió su espectro de absorción y emisión para cada una de las soluciones usando los espectrofotómetros ya mencionados en secciones anteriores.

## 7. Resultados y Discusión.

### 7.1. Síntesis.

#### 7.1.1. Síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A.

La síntesis de los compuestos derivados de acrilonitrilo **A**, **B** y **C** se realizó por medio de la reacción de condensación Knoevenagel, entre el reactivo 4-dimetilamino benzaldehído y el correspondiente (2, 3 o 4)-piridilacetoneitrilo en etanol en presencia del catalizador KOH, en agitación y a temperatura ambiente.

En relación a previos reportes,<sup>43</sup> donde la síntesis de estos compuestos se llevó a cabo usando piperidina como disolvente y catalizador, a una temperatura de 100°C, los rendimientos de reacción fueron mayores para el compuesto **B** y muy similares para el caso de **A** y **C**.

En la **Tabla 3** se muestran los rendimientos para cada una de las reacciones, y los datos obtenidos, tal como apariencia física, punto de fusión, y solubilidad, de los productos **A**, **B** y **C**.

**Tabla 3.** Rendimiento y propiedades fisicoquímicas de los compuestos **A**, **B** y **C**.

	Rendimiento (%)	Apariencia	p. f. (°C)	Solubilidad*
<b>A</b>	62	Polvo amarillo	128-130	CHCl <sub>3</sub> , THF, EtOH, MeOH, DMSO, DMF
<b>B</b>	62	Polvo amarillo	135-137	CHCl <sub>3</sub> , THF, EtOH, MeOH, DMSO, DMF
<b>C</b>	49	Polvo naranja	173-175	CHCl <sub>3</sub> , THF, EtOH, MeOH, DMSO, DMF

\*ver sección de abreviaturas

Estos resultados demuestran que la obtención de estos productos puede llevarse a cabo a temperatura ambiente, y a tiempos de reacción similares a los reportados, siempre y cuando se realicen en presencia de KOH y en etanol.

### 7.1.2. Síntesis de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup>.

Los compuestos **II** y **III** fueron obtenidos a partir de los derivados de acrilonitrilo (**B** y **C**) previamente sintetizados, mediante una reacción con yoduro de metilo (CH<sub>3</sub>I). La misma ruta de síntesis fue empleada para la obtención del producto **I**, sin embargo, no dio buenos resultados, probablemente debido a efectos estéricos del sustituyente en posición *orto* de la piridina.

Por lo tanto, la síntesis del compuesto **I** se llevó a cabo por una vía diferente, una reacción de condensación entre el compuesto 2-(cianometil)-1-metilpiridin-1-ium (**IA**) con 4-dimetilamino benzaldehído (4-DMABZ). Este procedimiento es el método general para la obtención de este tipo de compuestos, el cual es reportado por varios grupos, por ejemplo, Bajorek et al.<sup>64</sup> en 2011 reportó la síntesis de una serie de sales derivadas de estirilquinolinium y de estirilpiridinium, mediante una reacción de condensación entre metilpiridinium y metilquinolinium y 4-dimetilamino benzaldehído y 4-dimetilamino naftaldehído en metanol usando piperidina como catalizador.

En la **Tabla 4** se muestran los rendimientos para cada una de las reacciones, y los datos obtenidos, tal como apariencia física, punto de fusión, y solubilidad, de los productos **I**, **II** y **III**.

**Tabla 4.** Rendimientos y propiedades fisicoquímicas de los compuestos **I**, **II** y **III**.

	Rendimiento (%)	Apariencia	p. f. °C	Solubilidad
<b>I</b>	44	Cristal verde	168-170	DMSO, DMF, MeCN, MeOH*, H <sub>2</sub> O*, CHCl <sub>3</sub>
<b>II</b>	40	Polvo naranja-rojo	215-218	H <sub>2</sub> O, DMSO, DMF, MeCN, MeOH*, CHCl <sub>3</sub>
<b>III</b>	81	Polvo rojo	253-255	H <sub>2</sub> O, DMSO, DMF, MeCN, MeOH*, CHCl <sub>3</sub>

\* $\Delta$ Temperatura.

Para el caso del compuesto **I**, similares condiciones de reacción han sido reportadas,<sup>84</sup> usando piperidina como catalizador en la reacción de condensación. En contraste, en este trabajo fue obtenido sin el empleo de catalizador y en tiempos de reacción relativamente

cortos (3 horas), y con un buen rendimiento (44%) en relación a los datos reportados, donde el rendimiento es de 80% en presencia de una base (tiempo de reacción no reportado).

Estos resultados concuerdan con previos reportes,<sup>43</sup> donde una serie de derivados de acrilonitrilos fue sintetizada por reacción de condensación Knoevenagel libre de catalizador y de disolvente, donde Cl-, F- o dimetilamino- benzaldehído reaccionó con el apropiado piridilacetónitrilo. De este modo, este trabajo provee más evidencia con respecto al mecanismo dependiente de temperatura ahí propuesto. Además, una especial característica en reacción para la obtención de los productos dimetilamino sustituidos, siendo el cianometil-metilpiridinium más reactivo que el correspondiente piridilacetónitrilo, atribuido al fuerte carácter electro-atractor del catión piridinium, lo que intensifica la naturaleza del metileno activado.

## **7.2. Caracterización.**

La caracterización de los compuestos sintetizados **A**, **B**, **C**, **I**, **II** y **III** se realizó mediante diversas técnicas espectroscópicas como son Espectroscopia Infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR), Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de protón (<sup>1</sup>H-RMN), Espectrometría de masas de impacto electrónico, Espectroscopia de Absorción UV-vis, Fluorescencia, y por la técnica electroquímica de Voltamperometría Cíclica.

### **7.2.1. Caracterización de los compuestos derivados de acrilonitrilo.**

#### **7.2.1.1. Caracterización espectroscópica FT-IR, <sup>1</sup>H-RMN y masas de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D-π-A.**

Los espectros de infrarrojo (en cm<sup>-1</sup>) de los compuestos **A**, **B** y **C** presentaron bandas similares entre sí y consistentes con las ya reportadas,<sup>43</sup> a 1612 cm<sup>-1</sup> para **A** y **C** y a 1613 cm<sup>-1</sup> en **B**, se mostró una banda de fuerte intensidad correspondiente a la vibración del doble enlace C=C, el cual indica el éxito en la reacción de condensación y así la formación de la estructura esperada. Además, se observaron otras bandas importantes a 2210, 2203 y 2206 cm<sup>-1</sup> en **A**, **B** y **C**, respectivamente, las cuales fueron asignadas a la vibración del enlace C≡N

A partir de las señales (en ppm) obtenidas en los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN se confirmó la estructura de los compuestos, debido a la presencia de un singulete a 8.33, 7.45 y 7.61 ppm en **A**, **B** y **C**, respectivamente, correspondientes al protón unido al doble enlace. Además, la diferencia en la presencia de señales en forma de singuletes y dobletes corroboró la estructura de cada isómero sintetizado.

Finalmente, el espectro de masas indicó que el ion molecular ( $M^+$ ) fue de 249 m/z para los tres isómeros sintetizados, **A**, **B** y **C**, lo que concuerda con la estructura de las moléculas.

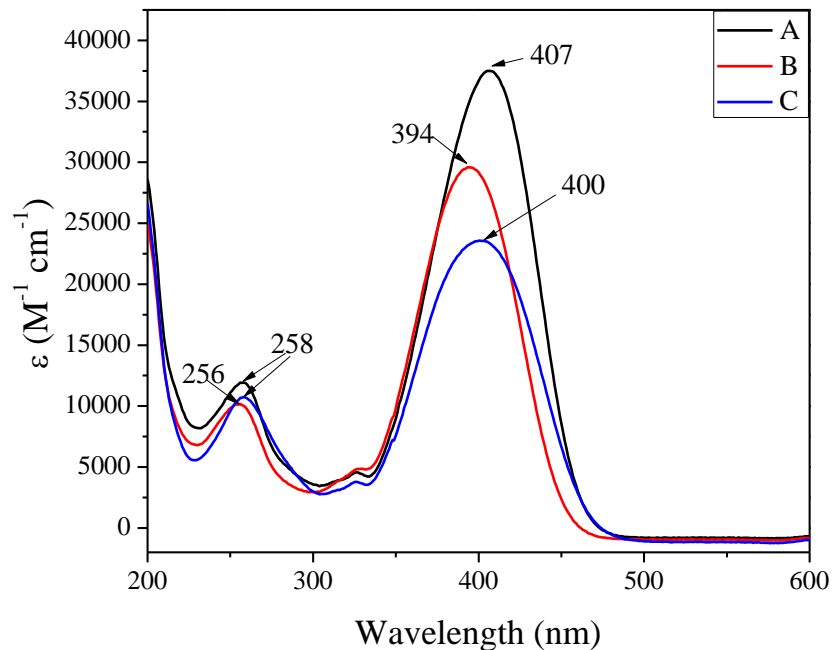
#### **7.2.1.2. Caracterización espectroscópica de Absorción UV-vis y Fluorescencia de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A.**

La caracterización espectroscópica de Absorción UV-vis y de Fluorescencia de los compuestos derivados de acrilonitrilo en solución se llevó a cabo en MeCN a una concentración 0.5 mM.

En la **Figura 28** se observan los espectros de absorción cada uno de los compuestos y la longitud de onda del máximo de absorción. Los tres espectros son muy similares y presentan dos principales bandas de absorción, la primera entre 255 y 260 nm es atribuida a la transición  $n-\pi^*$ , y la otra banda alrededor de 400 nm corresponde a la transición  $\pi-\pi^*$  la cual es la de menor energía.

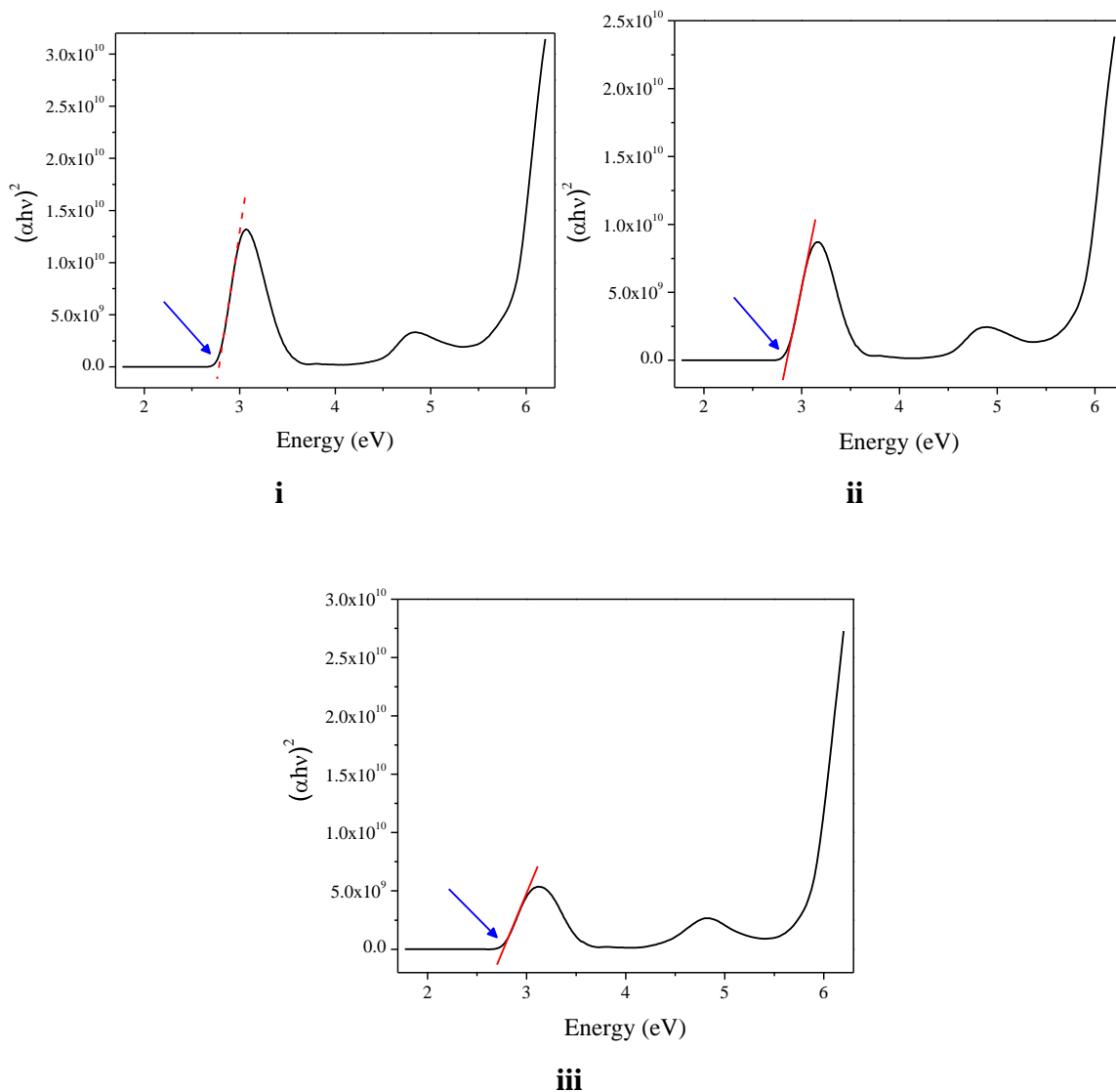
Una característica observada fue que el valor del coeficiente de extinción molar para cada uno de los compuestos fue decreciendo del compuesto **A** al **C** (ver **Tabla 5**). A diferencia de los datos reportados en  $\text{CHCl}_3$ , donde el compuesto **A** presenta el valor más bajo de coeficiente de extinción molar. Sin embargo, todos mostraron un valor en el orden de  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , por lo que se considera que poseen absorciones de intensidad alta.<sup>12</sup>

Además, la longitud de onda del máximo de absorción para esta serie de compuestos se encontró en la región de 394 a 407 nm, los cuales son valores muy cercanos entre sí, siendo congruente con lo reportado para el compuesto donde la piridina se encuentra sustituida en posición *-para*, ya que sólo se presenta el corrimiento batocrómico en cloroformo.<sup>51</sup>



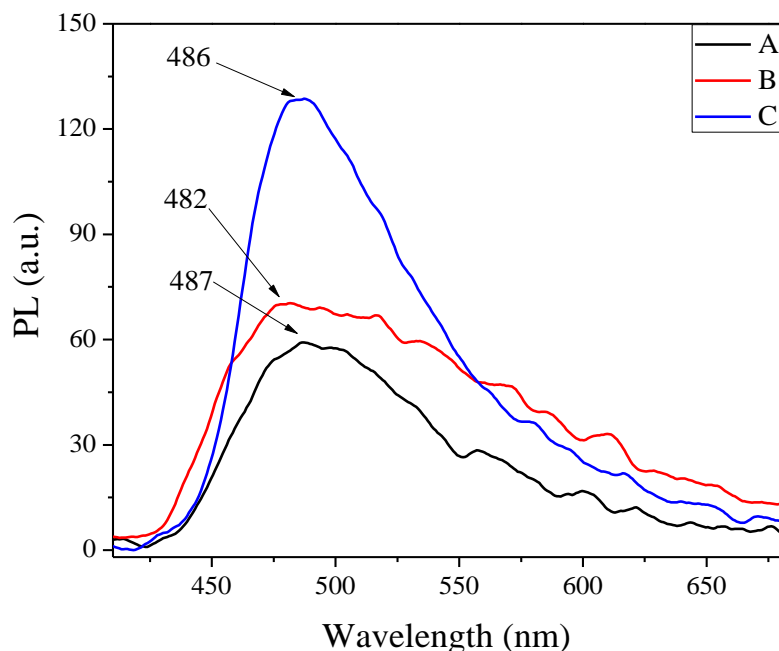
**Figura 28.** Espectros de absorción de los compuestos **A**, **B** y **C** (0.5 mM) en MeCN.

A partir de los espectros de absorción, se obtuvo el gap de energía o diferencia de energía, el cual fue de 2.78, 2.85 y 2.76 eV para **A**, **B** y **C**, respectivamente. En la **Figura 29** se muestran los gráficos a partir de los cuales se obtuvo el gap de energía de cada uno de los compuestos para transiciones directas.



**Figura 29.** Gráficos de energía para la determinación del gap de energía óptico de los compuestos A (i), B (ii) y C (iii).

Por otra parte, estos compuestos muestran una intensidad débil a simple vista cuando se encuentran en solución. Sin embargo, fue posible detectar su espectro de emisión, que se muestra en la **Figura 30**. Los máximos de emisión de los tres compuestos son muy cercanos entre sí y se encuentran en el intervalo de 482-487 nm y con valores de *Stokes shift* muy similares (80-88 nm) mostrados en la **Tabla 5**.



**Figura 30.** Espectros de emisión de los compuestos **A**, **B** y **C** (0.5 mM) en MeCN

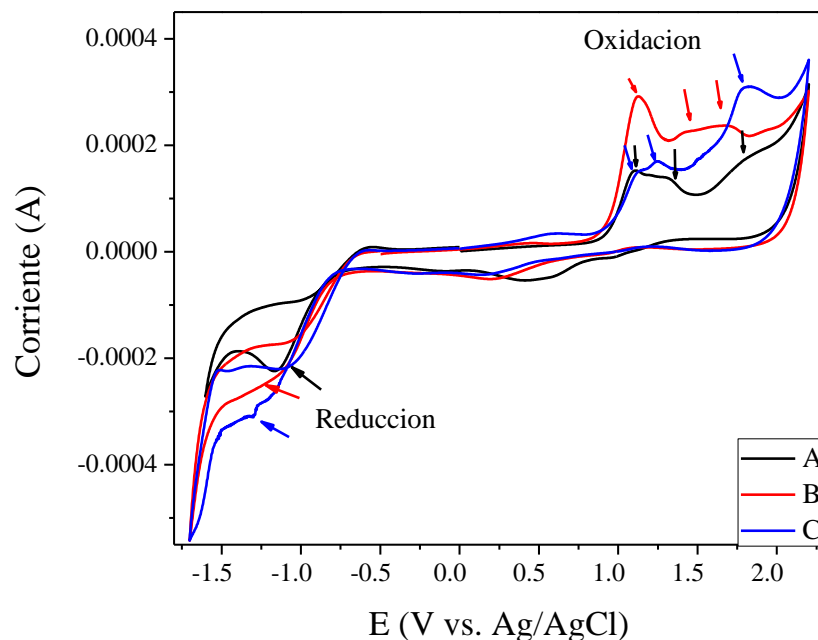
**Tabla 5.** Longitud de onda máxima de absorción y emisión de compuestos **A**, **B** y **C** (0.5 mM) en MeCN

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{PL}}$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )	Stoke shift (nm)	$\Delta E_{\text{óptico}}$ (eV)
<b>A</b>	407	487	$3.75 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	80	2.78
<b>B</b>	394	482	$2.96 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	88	2.85
<b>C</b>	400	486	$2.36 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	86	2.76

### 7.2.1.3. Caracterización electroquímica por Voltamperometría Cíclica de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A.

La determinación de las propiedades electroquímicas de los compuestos derivados de acrilonitrilo se realizó a partir de la técnica de Voltamperometría Cíclica mediante el uso de un potenciostato.

Los voltamperogramas de cada compuesto presentaron diferencias en los procesos redox, con procesos totalmente irreversibles, tres de oxidación y uno de reducción (**Figura 31**).



**Figura 31.** Voltamperogramas de los compuestos **A**, **B** y **C** (1 mM) en TBAP/MeCN (0.1M). Velocidad de barrido 100 mV s<sup>-1</sup>. Un alambre de platino fue utilizado como electrodo de trabajo.

Reversibilidad en electroquímica, significa que una reacción es lo suficientemente rápida para mantener las concentraciones de las formas oxidadas y reducidas en equilibrio en la superficie del electrodo.<sup>85</sup> El número de electrones transferidos ( $n$ ) en la reacción en el electrodo para un par redox reversible puede ser determinado a partir de la separación entre los picos de potencial ( $\Delta E_p$ ):

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} \cong \frac{0.059}{n}$$

Así procesos redox de un electrón exhiben un  $\Delta E_p$  de 0.059 V, mientras que una lenta transferencia de electrón en la superficie del electrodo causa que la separación entre los picos aumente, provocando irreversibilidad.<sup>86</sup>

Por otro lado, a partir del potencial de inicio de la primera oxidación ( $E_{\text{onset}}^{\text{ox}}$ ) se determinó el valor de energía del orbital HOMO, los cuales son mostrados en la **Tabla 6**. El compuesto **C** presentó el valor más alto de la serie, -5.1865 eV, lo que indica una tendencia

mayor a donar un electrón que los otros dos compuestos con valores -5.23 y -5.2029 eV para **B** y **A**, respectivamente.

Para el caso del LUMO, se tomaron los valores del inicio del único proceso de reducción ( $E_{\text{onset}}^{\text{red}}$ ), mostrados en **Tabla 6**. Los compuestos **B** y **C** presentaron un valor muy cercano, alrededor de -3.44 eV, y para el compuesto **A** fue de -3.4155 eV, donde este último posee una menor tendencia a aceptar un electrón.

La diferencia de energía entre los orbitales frontera mostró que el compuesto **C** requiere de una menor energía para la transición electrónica entre estos dos orbitales ( $\Delta E=1.7443$  eV), lo que es congruente con una mayor conjugación para el anillo de la piridina con sustituyente en posición *-para*.

**Tabla 6.** Datos electroquímicos obtenidos a partir de Voltamperometría cíclica de los compuestos **A**, **B** y **C**.

	$E_{\text{onset}}^{\text{ox}}$ (V)	HOMO (eV)	$E_{\text{onset}}^{\text{red}}$ (V)	LUMO (eV)	$\Delta E_{\text{electroquímico}}$ (eV)
<b>A</b>	0.9389	- 5.2029	-0.8485	-3.4155	1.7874
<b>B</b>	0.966	- 5.23	-0.8187	-3.4453	1.7847
<b>C</b>	0.9225	- 5.1865	-0.8218	-3.4422	1.7443

## 7.2.2. Caracterización de las sales cuaternarias del tipo $D-\pi-A^+ X^-$ .

### 7.2.2.1. Caracterización espectroscópica FT-IR, $^1\text{H}$ -RMN y masas de las sales cuaternarias del tipo $D-\pi-A^+ X^-$ .

Las frecuencias ( $\text{cm}^{-1}$ ) de las principales bandas de FT-IR y todas las señales detectadas mediante  $^1\text{H}$ -NMR (en ppm) de los compuestos **I-III** son mostradas en **Tabla 7**. Las bandas en 2204, 2209 y 2209  $\text{cm}^{-1}$  para **I-III**, respectivamente, fueron asignadas a las vibraciones de estiramiento del enlace  $\text{C}\equiv\text{N}$ . Para esta serie, bandas en la región entre 2100-1650  $\text{cm}^{-1}$  fueron atribuidas a las vibraciones de estiramiento del enlace  $\text{N}^+-\text{C}$ , donde el compuesto **II** exhibió sólo una banda en 1739  $\text{cm}^{-1}$ , mientras que para el caso de **I** y **III** se observaron dos bandas en esa región, 1948 y 1894  $\text{cm}^{-1}$  para **I** y en 1946 y 1735  $\text{cm}^{-1}$  para **III**. Además, el compuesto **III** también presentó otra banda de menor energía alrededor de 1642  $\text{cm}^{-1}$ , la cual puede agruparse con las otras dos.

El espectro del compuesto **I** confirmó la formación de la estructura esperada debido a la presencia de una banda en  $1613\text{ cm}^{-1}$  atribuida a la vibración de estiramiento en el doble enlace C=C. Esta banda también se mostró en los compuestos **II** y **III** en  $1611$  y  $1609\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

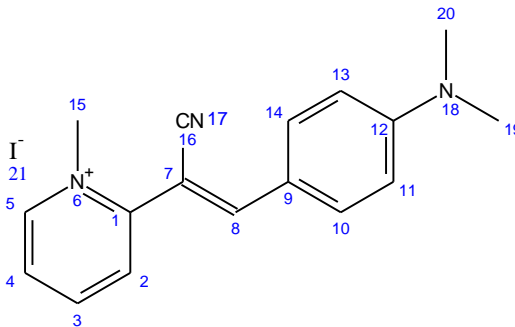
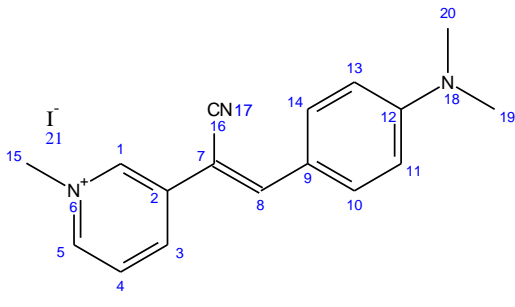
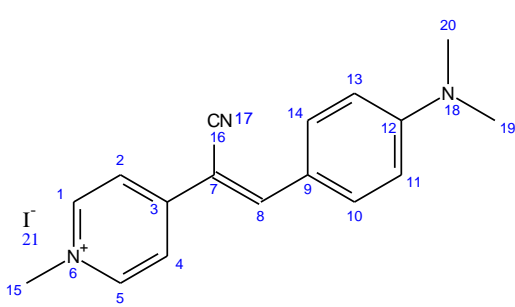
Las señales detectadas en el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  en 4.37, 4.41 y 4.25 ppm de los compuestos **I-III**, respectivamente, fueron asociadas con el grupo metilo enlazado al átomo de nitrógeno de la piridina, soportando el éxito de la reacción de sustitución nucleofílica y como principal evidencia para las estructuras **II** y **III**. La señal más importante relacionada al compuesto **I** fue el singulete encontrado a  $\delta$  de 7.82, el cual fue causado por el protón asociado al doble enlace C=C.

Los datos de  $^1\text{H-RMN}$  para los protones aromáticos de la piridina de los compuestos **I-III** aparecen con un mayor desplazamiento químico que los protones aromáticos de la piridina en los compuestos derivados de acrilonitrilo **A**, **B** y **C**. Este resultado concuerda perfectamente con el efecto desapantallante causado por el amonio cuaternario, produciendo señales a un campo más bajo.

Por otra parte, a partir de las señales de espectrometría de masas se obtuvieron los pesos moleculares de los compuestos **I-III**. Debido a la naturaleza iónica de los compuestos, los pesos moleculares no se obtuvieron directamente a partir del llamado ion molecular, ya que este arrojaba la masa de la molécula sin el yodo, por lo que la señal del yodo se detectó de manera separada. Para la serie **I-III** el ion molecular fue de  $265\text{ m/z} + \text{I}$ . Lo que arrojaba el valor esperado para cada uno de los compuestos.

Otra característica importante a partir del espectro de masas fue la abundancia relativa (*I<sub>r</sub>*) del ion molecular, ya que era demasiado baja, de 1-2% para los compuestos **I-III**. Esto indica la baja estabilidad del grupo metilo enlazado al átomo de nitrógeno de la piridina.

**Tabla 7.** Caracterización Espectroscópica de los compuestos **I**, **II** y **III**.

Compuesto	Caracterización espectroscópica
<p style="text-align: center;"><b>I</b></p> 	<p>IR (KBr), <math>\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}</math>: 2996(m) (C-H Ar), 2204(m) (C<math>\equiv</math>N), 1948(w), 1894(w) (N<sup>+</sup>-C), 1613(s) (C=C), 1515(s), 1378(s) (C-N).</p> <p><sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, <math>\delta</math>, ppm): 9.05-9.04 (d, 1H, H-5), 8.62-8.59 (t, 1H, H-3), 8.27-8.25 (d, 1H, H-2), 8.09-8.06 (t, 1H, H-4), 7.97-7.95 (d, 2H, H-10, H-14), 7.82 (s, 1H, H-8), 6.90-6.88 (d, 2H, H-11, H-13), <b>4.37 (s, 3H, H-15)</b>, 3.10 (s, 6H, H-19, H-20).</p> <p>MS, <math>m/z</math> (<math>I_r/\%</math>): <b>265 (1) (M - I)<sup>+</sup></b>, 249 (79), 248 (100), 232 (23), 205 (9), 149 (18), 142 (65), 127 (26), 78 (10), 32 (12), 28 (24), 18 (37).</p>
<p style="text-align: center;"><b>II</b></p> 	<p>IR (KBr), <math>\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}</math>: 3023(m) (C-H Ar), 2209(m) (C<math>\equiv</math>N), 1739(w) (N<sup>+</sup>-C), 1611(m) (C=C), 1570(s) (C-C Ar), 1376(s) (C-N).</p> <p><sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, <math>\delta</math>, ppm): 9.29 (s, 1H, H-1), 8.89-8.88 (d, 1H, H-5), 8.73-8.71 (d, 1H, H-3), 8.17-8.15 (m, 2H, H-8, H-4), 7.96-7.94 (d, 2H, H-10, H-14), 6.89-6.88 (d, 2H, H-11, H-13), <b>4.41 (s, 3H, H-15)</b>, 3.09 (s, 6H, H-19, H-20).</p> <p>MS, <math>m/z</math> (<math>I_r/\%</math>): <b>265 (1) (M - I)<sup>+</sup></b>, 249 (100), 248 (55), 234 (26), 206 (22), 205 (19), 177 (7), 142 (35), 127 (13), 103 (3), 28 (5), 15 (2).</p>
<p style="text-align: center;"><b>III</b></p> 	<p>IR (KBr), <math>\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}</math>: 3083(m), 3013(m), 2917(m) (C-H Ar), 2209(m) (C<math>\equiv</math>N), 1946 (w), 1735 (w), 1642(m) (N<sup>+</sup>-C), 1609(m) (C=C), 1556(s) (C-C Ar), 1374(s) (C-N).</p> <p><sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, <math>\delta</math>, ppm): 8.85-8.83 (d, 2H, H-1, H-5), 8.49 (s, 1H, H-8), 8.22-8.20 (d, 2H, H-11, H-13), 8.07-8.06 (d, 2H, H-2, H-4), 6.93-6.91 (d, 2H, H-10, H-14), <b>4.25 (s, 3H, H-15)</b>, 3.13 (s, 6H, H-19, H-20).</p> <p>MS, <math>m/z</math> (<math>I_r/\%</math>): <b>265 (2) (M - I)<sup>+</sup></b>, 249 (60), 248 (41), 234 (8), 206 (10), 205 (9), 177 (4), 142 (12), 127 (5), 32 (22), 28 (100), 18 (73).</p>

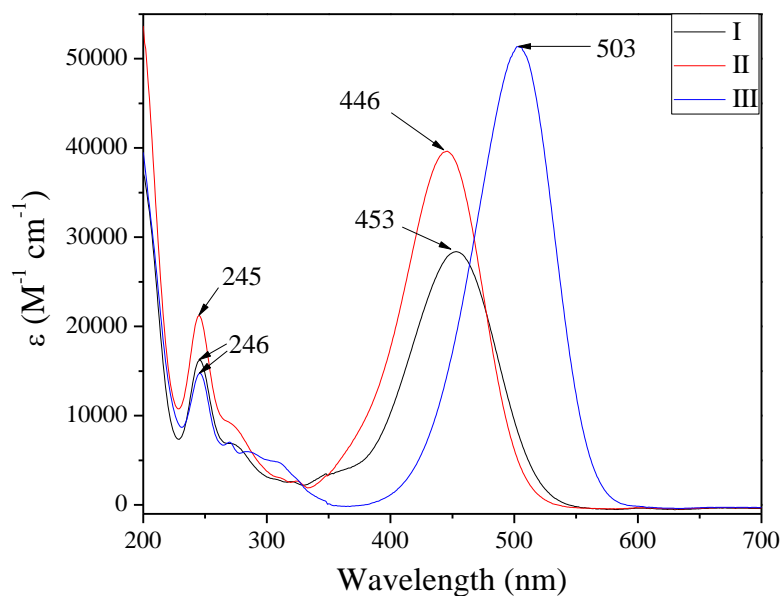
### 7.2.2.2. Caracterización espectroscópica de Absorción UV-vis y Fluorescencia de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup>..

Con el objetivo de evaluar las propiedades físicas de estos compuestos, mediciones de absorción UV-vis y Fluorescencia fueron llevadas a cabo en soluciones 0.5 mM en acetonitrilo (MeCN). Los compuestos mostraron buena solubilidad en disolventes polares, excepto **I** en H<sub>2</sub>O, por lo que acetonitrilo fue elegido para las mediciones ópticas.

En los espectros de absorción de la serie de **I-III** (**Figura 32i**) se observó una banda en 245-246 nm atribuida a la transición n- $\pi^*$  correspondiente a la transferencia del par libre de electrones del átomo de nitrógeno del grupo amino a la estructura de estilbazolio. Además, es evidente la dependencia de la transición  $\pi$ - $\pi^*$  sobre la posición del sustituyente en el catión piridinium, donde en posición *para*- exhibió el máximo a mayor longitud de onda (503 nm), mientras que para las posiciones *o*- y *m*- el máximo fue detectado a longitudes de onda menores, 453 y 446 nm, respectivamente. Esto debido a una extensión de la conjugación y una mayor deslocalización electrónica para el compuesto **III**, lo que intensifica el carácter *push-pull* y produce un *red-shift* o desplazamiento batocrómico en el espectro de absorción.

Las soluciones se presentan en **Figura 32ii**, donde se observa la apariencia de cada una de las muestras, el compuesto **III** con una coloración roja, **II** amarillo mostaza y **I** con un color naranja oscuro. Lo que es congruente con los espectros de absorción obtenidos anteriormente, ya que el compuesto **III** es el que absorbe a una mayor longitud de onda, seguido de **I** y finalmente **II**, donde la conjugación es menor.

Al mismo tiempo, el compuesto **III** exhibió el coeficiente de extinción molar más alto en esta serie,  $5.14 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , seguido por **II** con  $3.96 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , y finalmente **I** con  $2.84 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (**Tabla 8**). En comparación con la serie anterior de los compuestos derivados de acrilonitrilo, estas sales de metilpiridinium resultan ser más eficientes, excepto para la posición *orto*- donde el derivado de acrilonitrilo **A** presenta un mayor coeficiente de extinción molar ( $3.75 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) que la sal de metilpiridinium **I**.



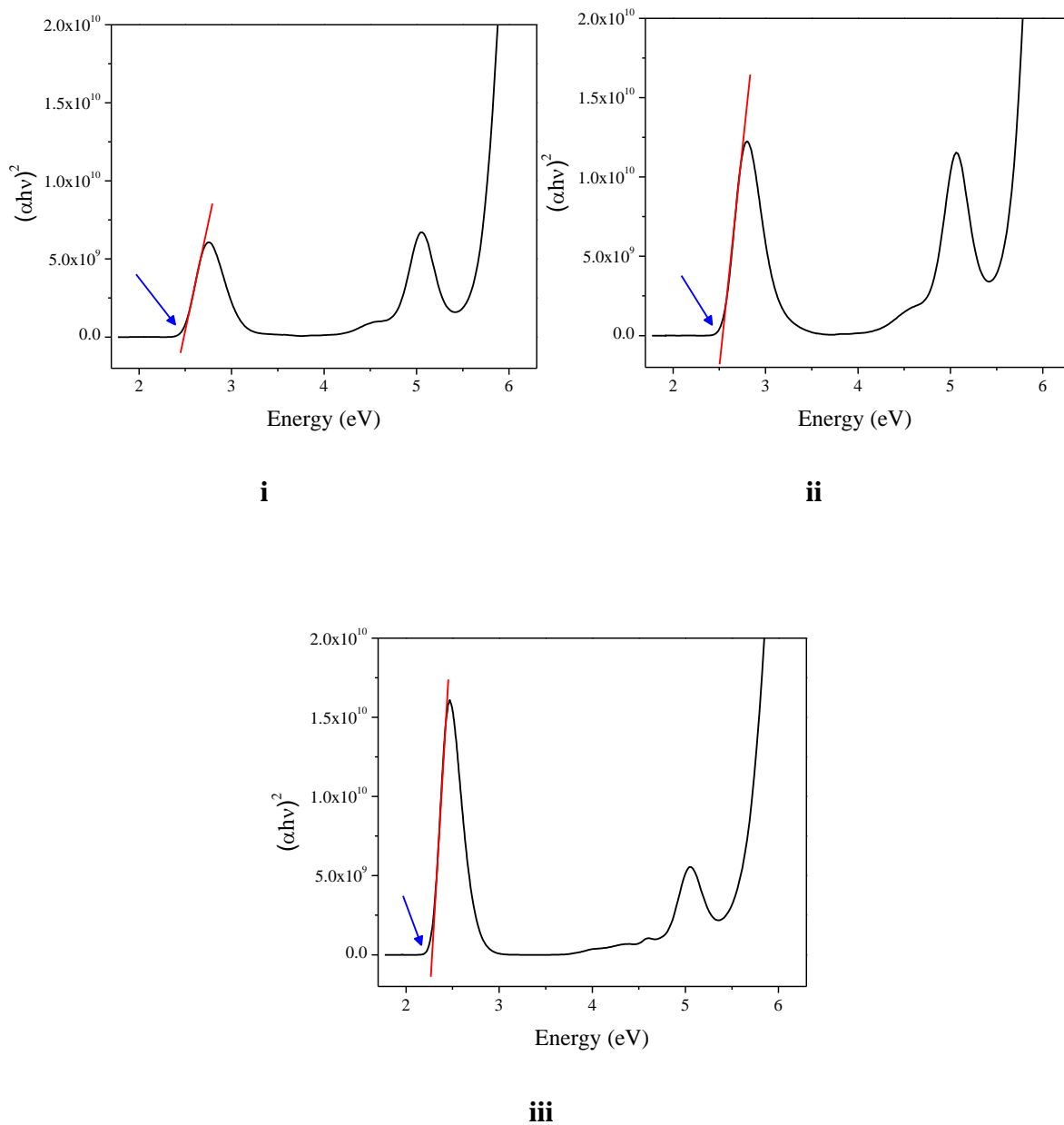
i



ii

**Figura 32.** Espectros de absorción de los compuestos **I**, **II** y **III** (0.5 mM) en MeCN (**i**). Soluciones de los compuestos **III**, **II** y **I** de izquierda a derecha, en MeCN bajo luz blanca (**ii**).

A partir de las mediciones de absorción UV-vis, se pudo calcular el valor del gap de energía para las transiciones electrónicas de estos compuestos, el cual fue de 2.48, 2.55 y 2.28 eV para **I**, **II** y **III**, respectivamente. En la **Figura 33** se observan los gráficos a partir de los cuales se obtuvo el gap de energía de cada uno de los compuestos **I**, **II** y **III** para transiciones directas.

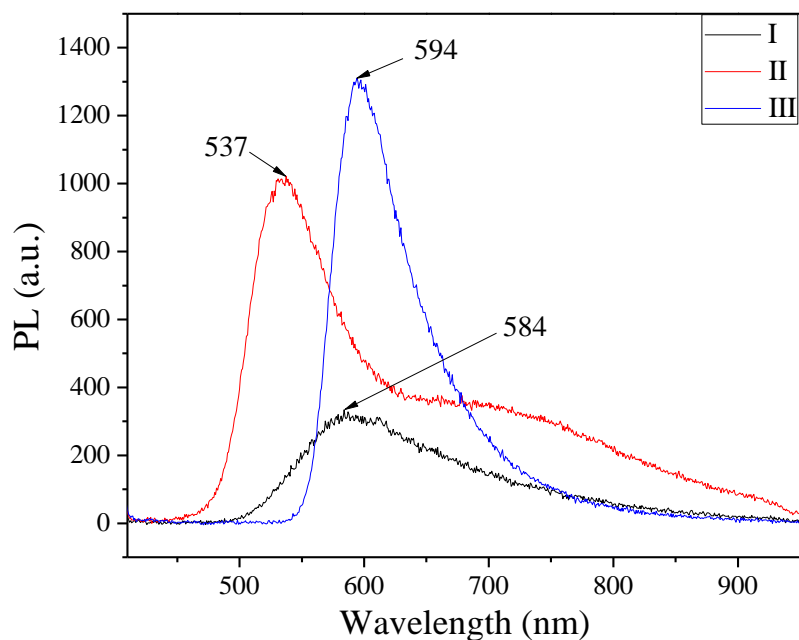


**Figura 33.** Gráficos de energía para la determinación del gap de energía óptico de los compuestos **I (i)**, **II (ii)** y **III (iii)**.

De igual forma que para la serie de derivados de acrilonitrilo, estos compuestos **I-III** presenta a simple vista una emisión débil en solución. Sin embargo, también fue posible detectar los espectros de emisión de cada uno de ellos.

En **Figura 34** se muestran los espectros de emisión de estos compuestos, el primero de ellos **I** exhibió el *Stokes shift* más grande (131 nm, ver **Tabla 8**), con un máximo de emisión en 584 nm.

Para los compuestos **II** y **III** el valor de *Stokes shift* fue el mismo (91 nm), con sus correspondientes máximos de emisión en 537 y 594 nm, respectivamente.



**Figura 34.** Espectros de emisión de los compuestos **I**, **II** y **III** (0.5 mM) en MeCN.

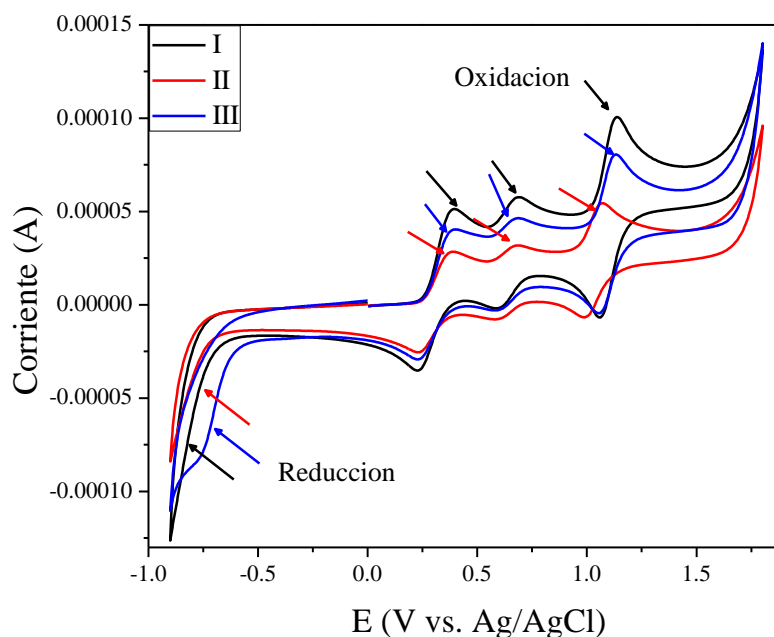
**Tabla 8.** Longitud de onda de absorción y emisión de compuestos **I**, **II** y **III** (0.5 mM) en MeCN.

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{PL}}$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )	Stoke shift (nm)	$\Delta E_{\text{óptico}}$ (eV)
<b>I</b>	453	584	$2.84 \times 10^4$	131	2.48
<b>II</b>	446	537	$3.96 \times 10^4$	91	2.55
<b>III</b>	503	594	$5.14 \times 10^4$	91	2.28

### 7.2.2.3. Caracterización electroquímica por Voltamperometría Cíclica de las sales cuaternarias del tipo D- $\pi$ -A<sup>+</sup> X<sup>-</sup>.

Las propiedades electroquímicas de la serie **I-III** fueron determinadas mediante la técnica de Voltamperometría Cíclica, con el fin de estimar los niveles de energía de sus orbitales frontera.

Todos los voltamperogramas de la serie **I-III** mostraron forma similar, presentados en **Figura 35**, donde claramente se distingue la cercanía entre los picos de potencial de los diferentes acoples redox, por lo que se infiere que son procesos son completamente reversibles, mostrando tres procesos de oxidación sucesivos, indicando la formación del catión estable con máximos entre 0.2 y 1.3 V (vs. Ag/AgCl), lo que nos dice que son fácilmente oxidables. Como se mencionó anteriormente, al ser procesos redox reversibles, la transferencia de electrones en la superficie del electrodo es lo suficientemente rápida para que exista un equilibrio entre las especies oxidadas y reducidas.



**Figura 35.** Voltamperogramas de los compuestos **I**, **II** y **III** (1 mM) en TBAP/MeCN (0.1M). Velocidad de barrido 100 mV s<sup>-1</sup>. Un alambre de platino fue utilizado como electrodo de trabajo.

De igual modo que para los compuestos **A**, **B** y **C**, a partir del *onset* o inicio del primer proceso de oxidación ( $E_{\text{onset}}^{\text{ox}}$ ) de los voltamperogramas de **I-III** mostrados en la **Tabla 9**, la

energía de los niveles HOMO fue determinada, siendo -4.646, -4.625 y -4.628 eV para **I-III**, respectivamente. Los compuestos **II** y **III** presentaron valores muy cercanos, pero con una ligera mayor energía que el compuesto **I**, lo que indica que son más fácilmente oxidables.

Por otro lado, los tres compuestos presentaron un solo proceso de reducción el cual es irreversible, y a partir del *onset* del potencial de reducción ( $E_{\text{onset}}^{\text{red}}$ , **Tabla 9**) se calculó la energía de los niveles LUMO, y la diferencia de energía o *band gap* ( $\Delta E$ ) fue determinada.

El compuesto **III** fue el que presentó una menor energía correspondiente al LUMO, con un valor de -3.735 eV, lo que indica una mayor tendencia a aceptar un electrón. Además, este mismo compuesto presentó el valor más bajo de  $\Delta E$ , indicando que la sustitución en posición *para*- del grupo metilpiridinium aumenta la conjugación en toda la molécula. En contraste, el compuesto **II** mostró el valor de energía de LUMO y de  $\Delta E$  más alto de la serie, lo que concuerda con una conjugación menor.

**Tabla 9.** Datos electroquímicos obtenidos a partir de Voltamperometría Cíclica de los compuestos **I**, **II** y **III**.

	$E_{\text{onset}}^{\text{ox}}$ (V)	HOMO (eV)	$E_{\text{onset}}^{\text{red}}$ (V)	LUMO (eV)	$\Delta E_{\text{electroquímico}}$ (eV)
<b>I</b>	0.283	- 4.646	-0.711	-3.652	0.994
<b>II</b>	0.262	- 4.625	-0.744	-3.619	1.006
<b>III</b>	0.265	- 4.628	-0.629	-3.735	0.893

Los datos más importantes obtenidos a partir de la caracterización óptica y electroquímica son mostrados en la **Tabla 10**. Se observa que en los compuestos **A**, **B** y **C** la diferencia en las longitudes de onda de absorción y emisión en MeCN es muy poca, ya que sólo difieren por pocos nanómetros (13 nm en absorción y sólo 5 nm en emisión). En contraste, las sales cuaternarias **I**, **II** y **III**, presenta un claro corrimiento batocrómico en comparación con **A**, **B** y **C**, respectivamente, siendo el compuesto **III** el que muestra un mayor desplazamiento con más de 50 nm respecto a sus isómeros y más de 100 nm comparado al compuesto **C** el cual se encuentra sin el grupo metilo. Esto indica que la metilación, produce una mayor deslocalización electrónica en este tipo de compuestos, debido al carácter electroatractor más fuerte del grupo metilpiridinium que la piridina, al

mismo tiempo que la sustitución en posición *-para* permite una mayor deslocalización debido a la propia geometría molecular.

Asimismo, los valores electroquímicos muestran que las propiedades de óxido-reducción son muy similares para la serie **A**, **B** y **C**, ya que la energía de los orbitales HOMO y LUMO difieren aproximadamente por 0.05 eV, donde el compuesto **A** es ligeramente más fácilmente oxidable, y en el caso de las propiedades de reducción, **B** y **C** presentan casi la misma capacidad por aceptar un electrón.

Para el caso de la serie **I-III**, presenta valores cercanos entre sí para la energía del HOMO, con diferencias alrededor de 0.02 eV, siendo los compuestos **II** y **III** ligeramente más fácilmente oxidables que **I**. En cambio, la energía estimada para el orbital LUMO de esta serie discrepa en mayor proporción, ya que el compuesto **III** es el que más fácilmente acepta un electrón, seguido de **I** y finalmente **II**.

Además, se observa que la energía del HOMO para **I-III** es mayor que para la serie **A**, **B** y **C**, mientras que el LUMO es de energía inferior. Esto se ve reflejado en una menor energía del *band gap* para las sales de metilpiridinium.

Aunque el *gap* óptico determinado por los gráficos de Tauc no coincide con los valores de energía el *gap* estimado electroquímicamente, se observa que una tendencia hacia una menor energía para los compuestos sustituidos en posición *-para* de cada serie (**C** y **III**), consistente con una mayor deslocalización electrónica comparados a sus respectivos isómeros.

**Tabla 10.** Datos ópticos y electroquímicos de los 6 compuestos sintetizados.

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{PL}}$ (nm)	$\Delta E_{\text{óptico}}$ (eV)	HOMO (eV)	LUMO (eV)	$\Delta E_{\text{electroquímico}}$ (eV)
<b>A</b>	407	487	2.78	- 5.2029	-3.4155	1.7874
<b>B</b>	394	482	2.85	- 5.23	-3.4453	1.7847
<b>C</b>	400	486	2.76	- 5.1865	-3.4422	1.7443
<b>I</b>	453	584	2.48	- 4.646	-3.652	0.994
<b>II</b>	446	537	2.55	- 4.625	-3.619	1.006
<b>III</b>	503	594	2.28	- 4.628	-3.735	0.893

### 7.3. Efecto del pH sobre las propiedades ópticas de los compuestos sintetizados.

Con el fin de evaluar el comportamiento de estos compuestos como posibles candidatos a biosensores, se realizaron mediciones de absorción a diferentes intervalos de pH. Esto como un primer análisis de su sensibilidad a medios de diferente concentración de iones hidronio, ya que a partir de los cambios observados en el espectro de absorción se pueden proponer otras metodologías, tales como, la realización de las mediciones de fluorescencia, toxicidad, especificidad, estabilidad, etc., para su futura aplicación como biosensores o como indicadores colorimétricos y posiblemente identificar características que ayuden para ser utilizados como *theranostic agents*.

Ya que es bien conocido que grupos como la piridina, dimetilamino pueden interactuar con los  $H^+$  del medio y alterar las propiedades ópticas de las moléculas, debido al par libre de electrones que poseen en sus heteroátomos, se propuso que estos compuestos presentarían cambios en los espectros de absorción en presencia de diferentes concentraciones de iones hidronio y posiblemente manifestar algún cambio en su color y/o emisión.

Además, se estudió el efecto del pH sobre los espectros de absorción para determinar el intervalo en el cuál pueden ser aplicados en un medio biológico y para saber si presenta estabilidad a pH fisiológico.

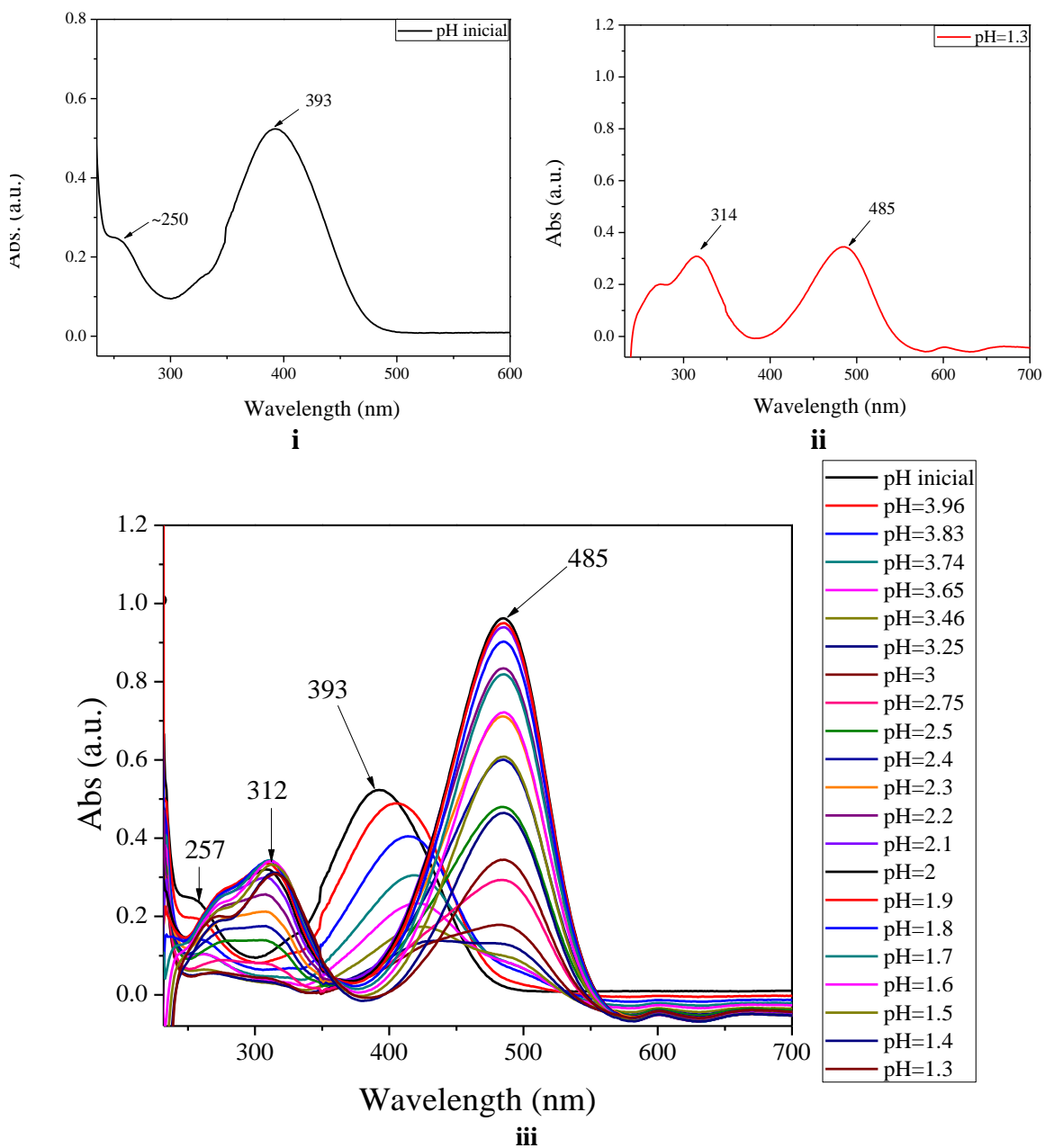
Los espectros de absorción de los 6 compuestos sintetizados presentaron una alta sensibilidad al pH del medio donde se encontraban, principalmente a valores de pH ácidos. Ya que debido a la presencia de pares libres de electrones no enlazados en los átomos de nitrógenos de la piridina (sólo en **A**, **B** y **C**) y del grupo dimetilamino, pueden interactuar con los protones del medio y dependiendo de su ubicación espacial esta interacción podrá llevarse a cabo con mayor o menor facilidad.

### 7.3.1. Efecto del pH sobre las propiedades ópticas de los compuestos derivados de acrilonitrilo del tipo D- $\pi$ -A.

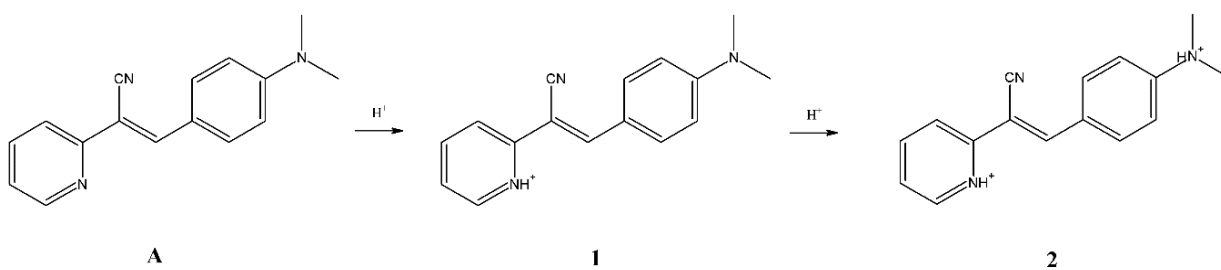
Se preparó una solución 50  $\mu$ M del compuesto **A** en DMSO/H<sub>2</sub>O (5/95) la cual presenta una tonalidad amarillo-verde, homogénea y sin turbidez. Sin embargo, bajo luz UV se observan puntos verdes fluorescentes inmersos en la solución, aunque el espectro de absorción no se vio afectado por esas pequeñas partículas (**Figura 36i**).

Al agregar la solución titulante de HCl, el espectro de absorción sufrió un corrimiento batocrómico y una nueva banda en 485 nm apareció (**Figura 36iii**), la cual fue asignada a la protonación del nitrógeno de la piridina (**Esquema 4 A-1**). Además, la solución cambió de coloración paulatinamente de amarillo-verde a amarillo-naranja. Posteriormente, al ir agregando más HCl, la banda en 485 nm aumentó en intensidad, incluso mayor que la banda en 393 nm a pH inicial, esto posiblemente a un aumento en la solubilidad a pH más ácidos, donde no se observaron partículas verdes fluorescentes como a pH inicial. Más adelante, a partir de pH 3 apareció una banda alrededor de 312 nm, posiblemente debido a la protonación del nitrógeno del grupo dimetilamino (**Esquema 4 1-2**), la cual aumentó en intensidad conforme se agregaba más HCl, mientras que la banda en 257 nm fue desplazándose gradualmente hasta llegar aproximadamente a 280 nm. Finalmente, a pH 1.3 el espectro de absorción presentó dos principales bandas a 485 y 314 nm (**Figura 36ii**).

En la **Tabla 11** se muestran los valores de pH al ir agregando la solución titulante de HCl y la longitud de onda del máximo de absorción de las principales bandas.



**Figura 36.** Espectros de absorción del compuesto A a pH inicial (i), pH final=1.3 (ii) y a diferentes valores de pH ácido (iii).

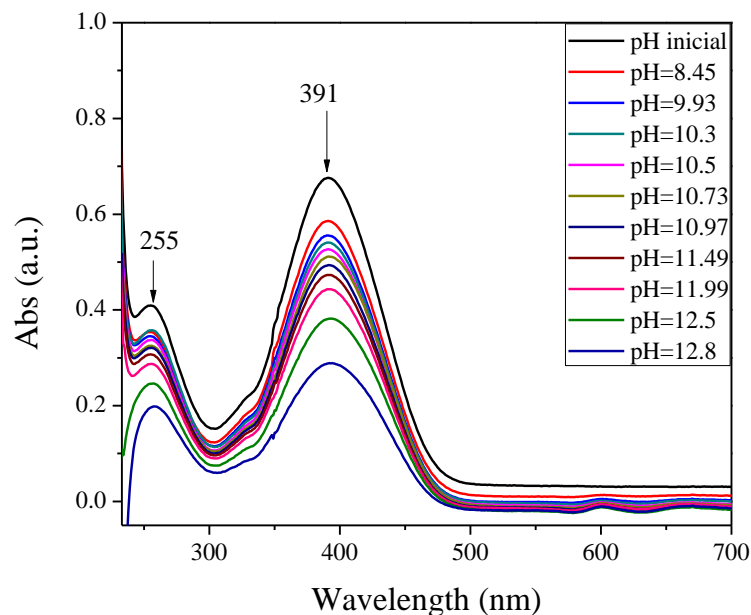


**Esquema 4.** Equilibrio prototrópico del compuesto A en solución  $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$  (95/5).

**Tabla 11.** Efecto del pH sobre las bandas del espectro de absorción en el compuesto **A**.

Volumen de HCl agregado ( $\mu\text{L}$ )	pH	$(\lambda)_{\text{máxAbs}}$ 393-485 (nm)	$(\lambda)_{\text{máxAbs}}$ 250-312 (nm)
0	6.06	393	~253
10	3.96	405	~254
20	3.83	414	257
30	3.74	418	260
40	3.65	420	262
60	3.46	425	262
100	3.25	438	267
160	3	481	272
280	2.75	483	278
530	2.5	485	303
680	2.4	485	308
880	2.3	485	308
1130	2.2	485	308
1480	2.1	485	308
1930	2	485	308
2480	1.9	485	308
3280	1.8	485	310
4380	1.7	485	312
5880	1.6	485	312
7880	1.5	485	312
11880	1.4	485	314
17380	1.3	485	314

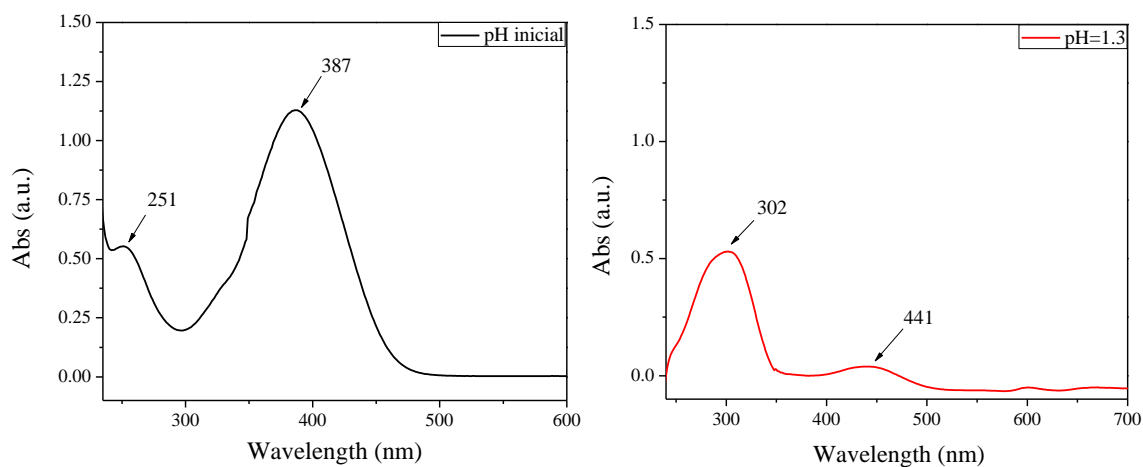
Por otro lado, no hubo diferencias en el espectro de absorción a diferentes valores de pH básico, solamente la intensidad disminuyó por efecto de la dilución (**Figura 37**).



**Figura 37.** Espectros de absorción del compuesto **A** a diferentes valores de pH básico.

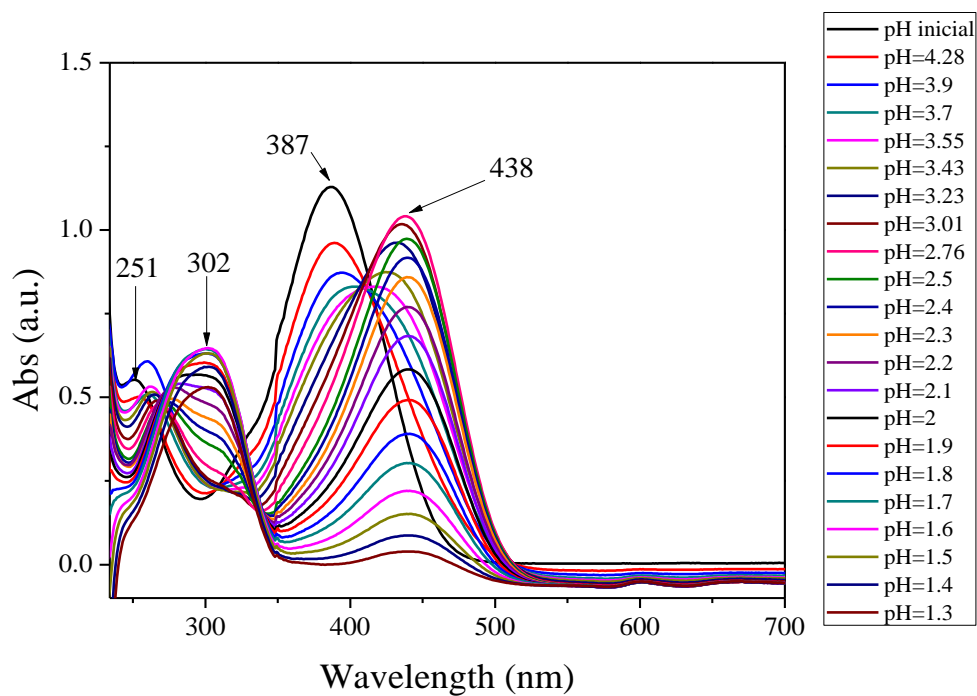
Se preparó una solución 50  $\mu\text{M}$  del compuesto **B** en DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$  (5/95) la cual presenta una tonalidad amarillo-verde, esta solución es totalmente homogénea, sin turbidez ni material sólido visible bajo luz blanca y luz UV. Su espectro de absorción a pH inicial se muestra en **Figura 38i**.

Al agregar la solución de HCl, se observó un corrimiento batocrómico en el espectro de absorción, de aproximadamente 50 nm hasta un valor de pH de 2.76 (**Figura 38iii**). Asignada a la protonación del nitrógeno de la piridina (**Esquema 5 B-1**). Además, la solución pasó de amarillo-verde a una coloración amarillo-naranja. Al continuar agregando más HCl, apareció una banda en 302 nm al mismo tiempo que la banda alrededor de 250 nm desaparecía, probablemente debido a la protonación del nitrógeno del grupo dimetilamino (**Esquema 5 1-2**), y al llegar a pH 1.3 se observaron dos bandas de absorción 441 y 302 nm (**Figura 38ii**). En la **Tabla 12** se muestra cómo cambió el pH y la absorción al agregar la solución de HCl.



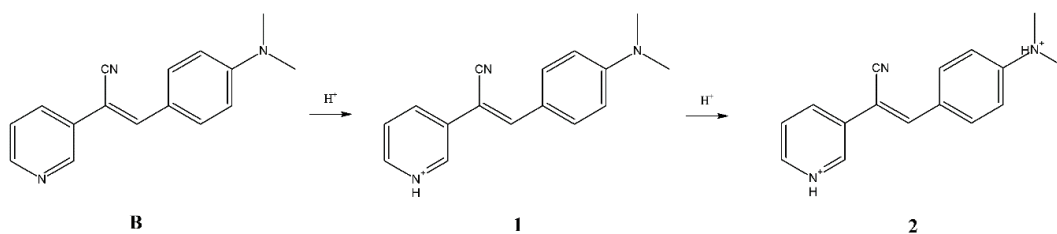
**i**

**ii**



**iii**

**Figura 38.** Espectros de absorción del compuesto **B** a pH inicial (**i**), pH final=1.3 (**ii**) y a diferentes valores de pH ácido (**iii**).

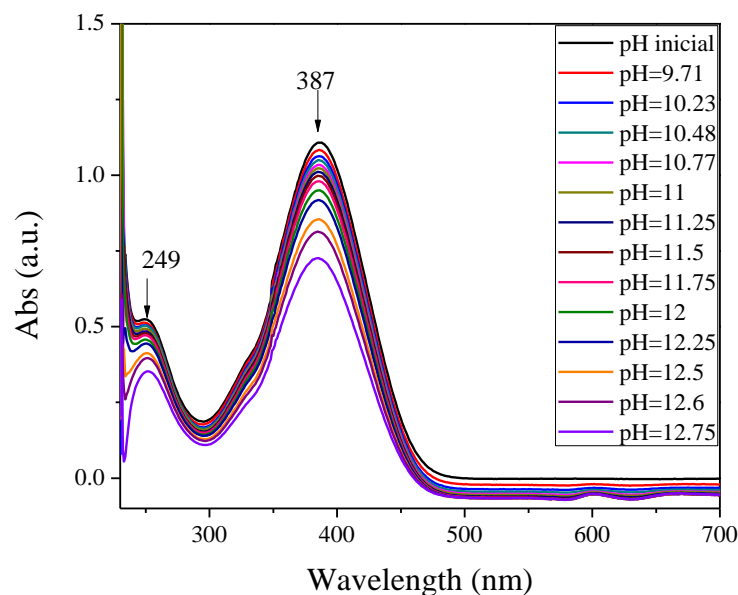


**Esquema 5.** Equilibrio prototrópico del compuesto **B** en solución  $H_2O/DMSO$  (95/5).

**Tabla 12.** Efecto del pH sobre las bandas del espectro de absorción en el compuesto **B**.

Volumen de HCl agregado ( $\mu\text{L}$ )	pH	( $\lambda$ ) $\lambda_{\text{máxAbs}}$ 385-440 (nm)	( $\lambda$ ) $\lambda_{\text{máxAbs}}$ 250-300 (nm)
0	6.3	387	251
10	4.28	389	254
20	3.9	393	260
30	3.7	402	260
40	3.55	417	261
50	3.43	424	264
80	3.23	433	265
140	3.01	436	267
260	2.76	438	268
490	2.5	439	272
630	2.4	439	274
800	2.3	439	276
1030	2.2	439	278
1330	2.1	441	285
1710	2	439	290
2210	1.9	439	299
2910	1.8	441	301
3760	1.7	441	300
5060	1.6	441	302
6760	1.5	441	302
9560	1.4	439	299
13660	1.3	441	302

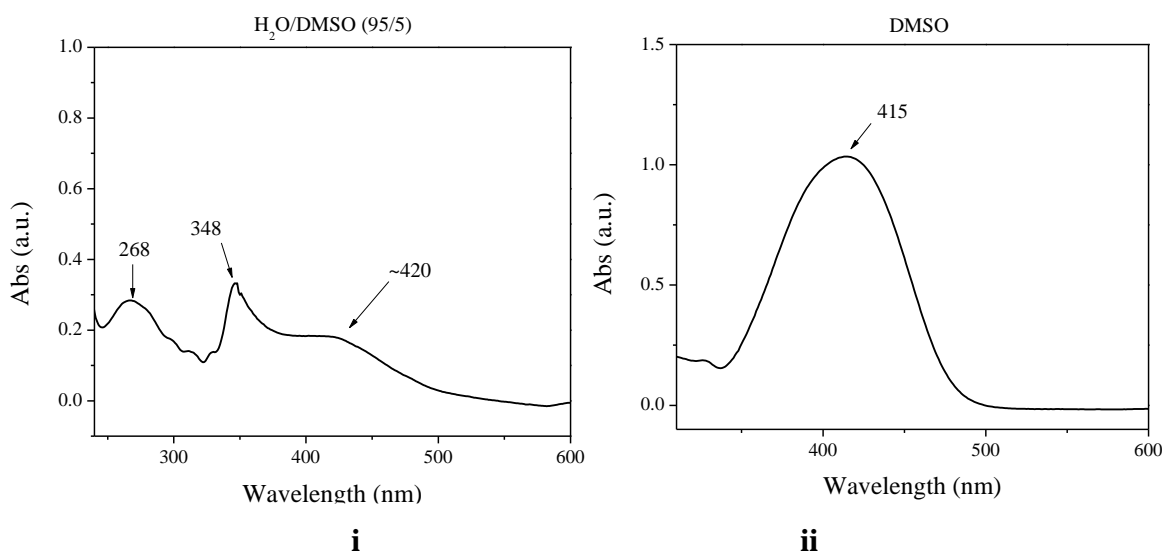
Por el contrario, al titular la solución del compuesto **B** con NaOH, el espectro de absorción no presentó ningún cambio, sólo se observó una disminución en la intensidad de absorción debido al efecto de la dilución (**Figura 39**).



**Figura 39.** Espectros de absorción del compuesto **B** a diferentes valores de pH básico.

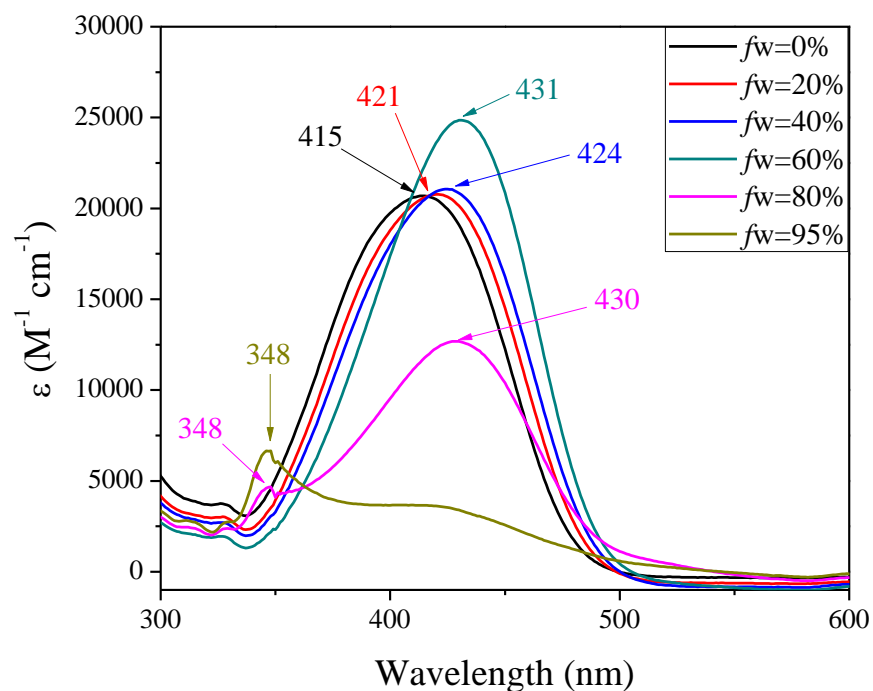
Se preparó una solución 50  $\mu\text{M}$  del compuesto **C** en DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$  (5/95), la cual presentó una coloración amarillo-verde con turbidez y material sólido visible bajo luz blanca y luz UV.

Antes de realizar la titulación se observó que el espectro inicial de la solución presentaba un comportamiento diferente al obtenido en la solución de **C** en DMSO (**Figura 40**).



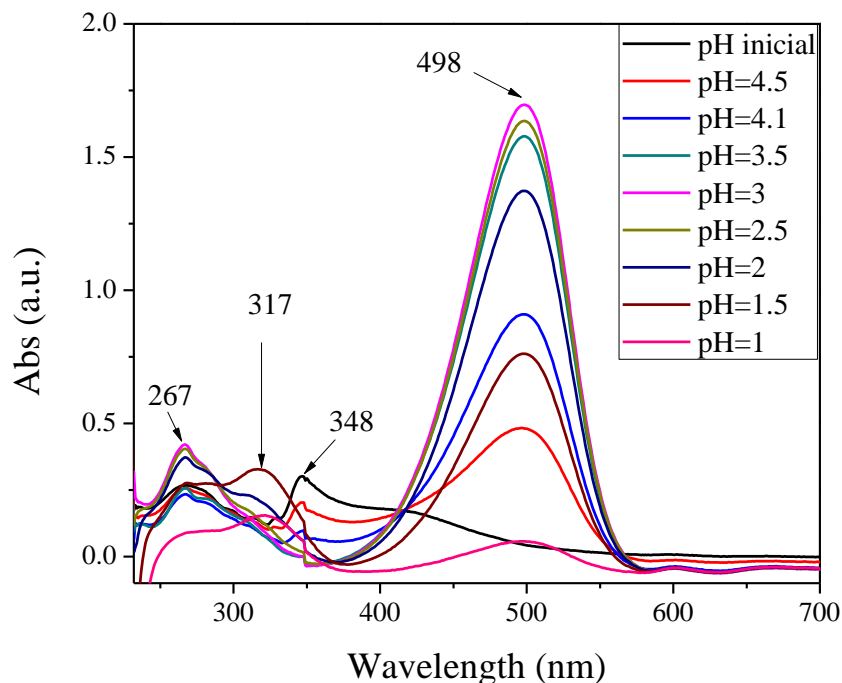
**Figura 40.** Espectros de absorción del compuesto **C** en  $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$  (95/5) a pH inicial (i) y en DMSO (ii).

Por ello se realizaron mediciones de Absorción UV-vis a diferentes relaciones de la mezcla de DMSO/H<sub>2</sub>O (**Figura 41**). En DMSO ( $fw=0$ ) el máximo de absorción se encontró en 415 nm, mientras la fracción de agua ( $fw$ ) incrementó hubo un desplazamiento batocrómico de 16 nm hasta que la  $fw$  fue igual al 60%, de igual modo el coeficiente de Absorción incrementó. Posteriormente, al 80% de  $fw$  la banda en 430 nm descendió drásticamente y una banda apareció en 348 nm y finalmente al 95% de  $fw$  la banda alrededor de 430 nm fue muy débil y el máximo se ubicó en 347 nm. Este efecto puede ser debido a la dispersión de la luz por la formación de partículas en la solución.<sup>87</sup>



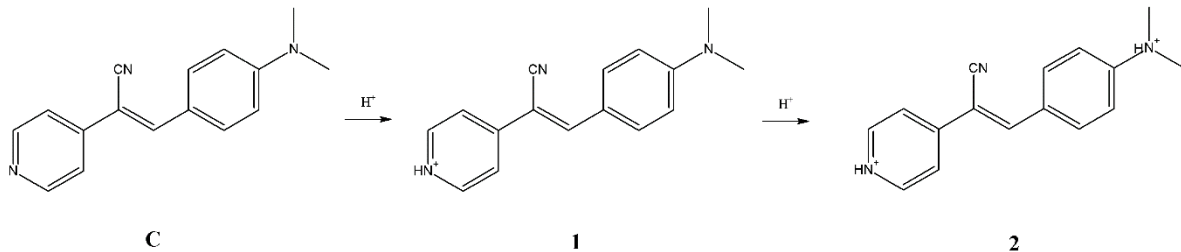
**Figura 41.** Espectros de absorción del compuesto **C** a diferentes fracciones de H<sub>2</sub>O ( $fw$ ).

Posteriormente la solución se tituló usando la solución de HCl (0.122N) preparada anteriormente, y se midió su espectro de Absorción UV-vis a diferentes valores de pH, **Figura 42**.



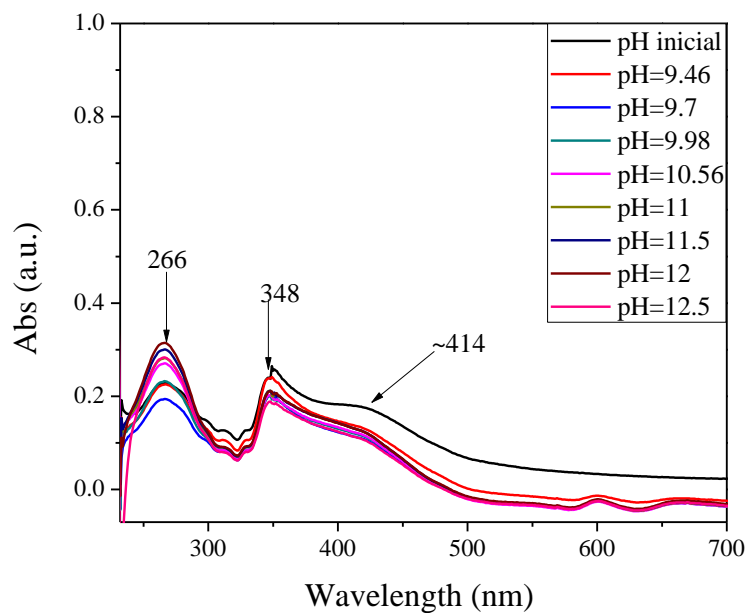
**Figura 42.** Espectros de absorción del compuesto **C** a diferentes valores de pH ácido

Al agregar los primeros 10  $\mu\text{L}$  el pH descendió desde 6.41 hasta 4.54, y una banda en 498 nm apareció en el espectro de absorción, debido a la protonación del nitrógeno de la piridina (**Esquema 6 C-1**), mientras la solución de inmediato cambió a amarillo-naranja, congruente con una intensificación del efecto *push-pull* de la molécula. Posteriormente se fue agregando un mayor volumen de HCl para descender su pH, 20  $\mu\text{L}$  para pH 4.1, 50  $\mu\text{L}$  para 3.5, 140  $\mu\text{L}$  para un valor de pH 3, siendo en este último valor donde la banda en 498 nm presentó su máximo de Absorbancia, y donde la solución fue totalmente naranja intenso. Se continuó con la titulación de la siguiente manera, 470  $\mu\text{L}$  para pH de 2.5, 1.62 mL para pH 2, y 6.64 mL para pH 1.5, en donde apareció una banda en 317 nm, posiblemente debido a la protonación del nitrógeno del grupo dimetilamino (**Esquema 6 1-2**). Finalmente, a pH=1 la banda en 317 nm fue más intensa que la de 438 nm, sin embargo, debido al efecto de la dilución (60 mL) el espectro de absorción fue muy débil en intensidad.



**Esquema 6.** Equilibrio prototrópico del compuesto **C** en solución H<sub>2</sub>O/DMSO (95/5).

Por otro lado, al usar NaOH (0.869N) como titulante, el compuesto **C** no muestra cambios notables a pH básico, ya que su espectro de absorción no presenta diferencias significativas (**Figura 43**).

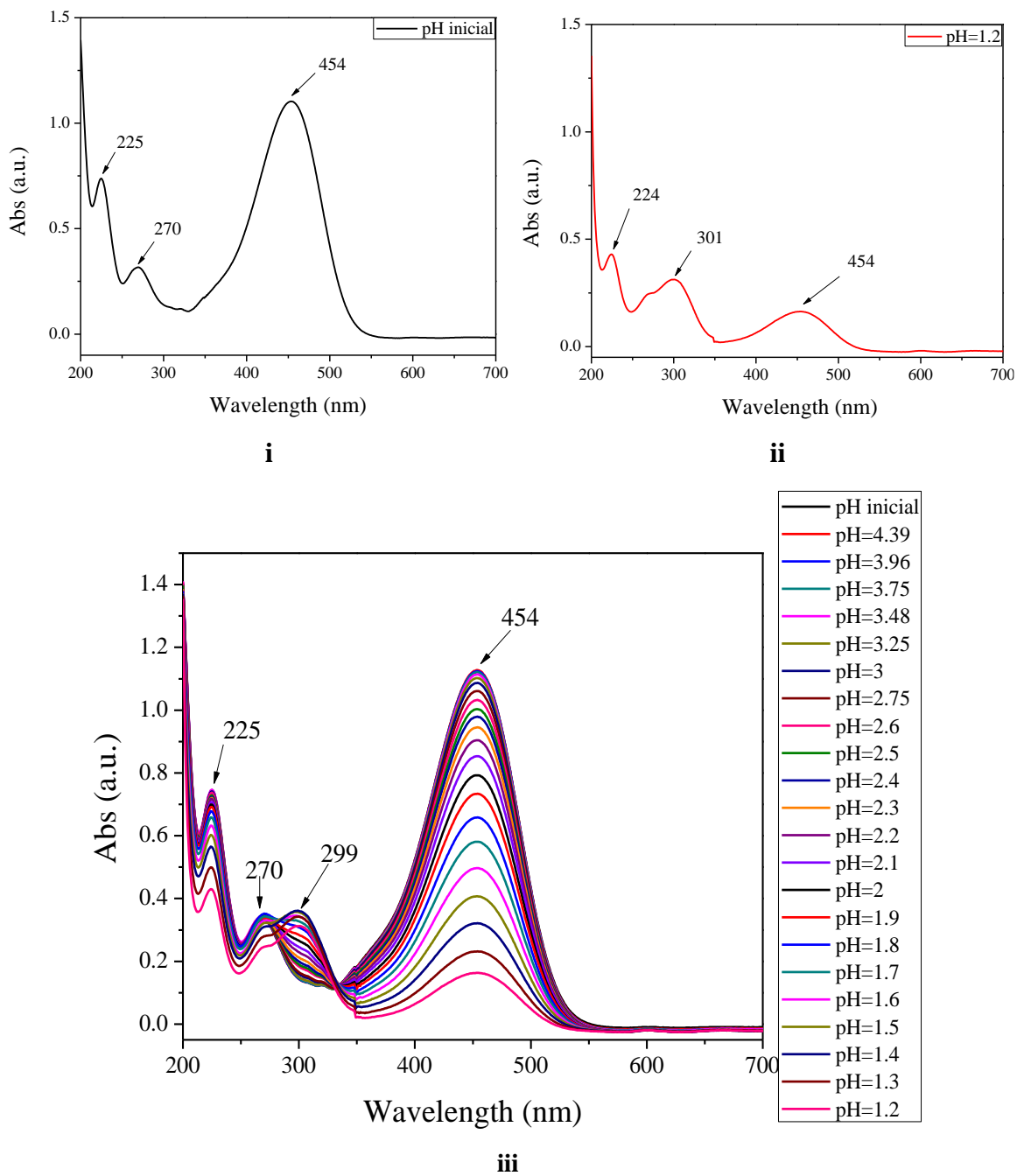


**Figura 43.** Espectros de absorción del compuesto **C** a diferentes valores de pH básico.

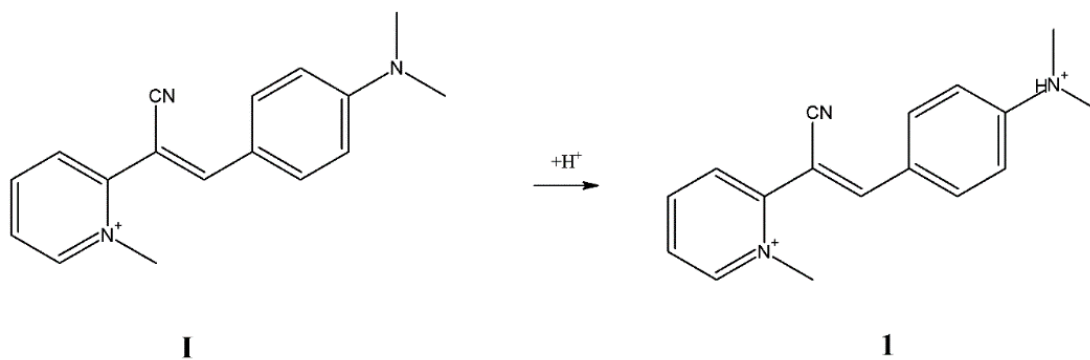
### 7.3.2. Efecto del pH sobre las propiedades ópticas de las sales de cuaternarias del tipo $D-\pi-A^+ X^-$ .

Se preparó una solución de **I** en  $H_2O$  a una concentración  $50 \mu M$ , en la cual debido a la poca solubilidad del compuesto se tardó algunos minutos en desaparecer todo el material sólido agregado, pero al final se mostró como una solución con una coloración naranja totalmente homogénea. A partir de esta solución se realizó la titulación de pH de este compuesto, con su espectro de absorción a pH inicial mostrado en **Figura 44i**, teniendo un máximo de absorción en  $454 \text{ nm}$ , asignada a la transición  $\pi-\pi^*$ , con dos bandas secundarias en  $270$  y  $225 \text{ nm}$ , atribuidas a las transiciones  $n-\pi^*$  del dimetilamino y de la piridina.

Al comienzo de la titulación con la solución de  $HCl$  ( $0.122N$ ), el espectro de absorción no mostró cambios a pH  $4.39$  ( $19 \mu L$ ),  $3.96$  ( $20 \mu L$ ),  $3.75$  ( $30 \mu L$ ),  $3.48$  ( $50 \mu L$ ) y  $3.25$  ( $80 \mu L$ ). Sin embargo, al llegar a pH  $3$  ( $140 \mu L$ ) una banda alrededor de  $300 \text{ nm}$  apareció y fue incrementando conforme el pH fue más ácido, al mismo tiempo que la banda en  $454 \text{ nm}$  disminuía (**Figura 44iii**). Esta banda alrededor de  $300 \text{ nm}$  se asignó a la protonación del nitrógeno del grupo dimetilamino (**Esquema 7**). Finalmente, a pH  $1.2$  el espectro de absorción presentó tres bandas en  $454$ ,  $301$  y  $224 \text{ nm}$  (**Figura 44ii**).



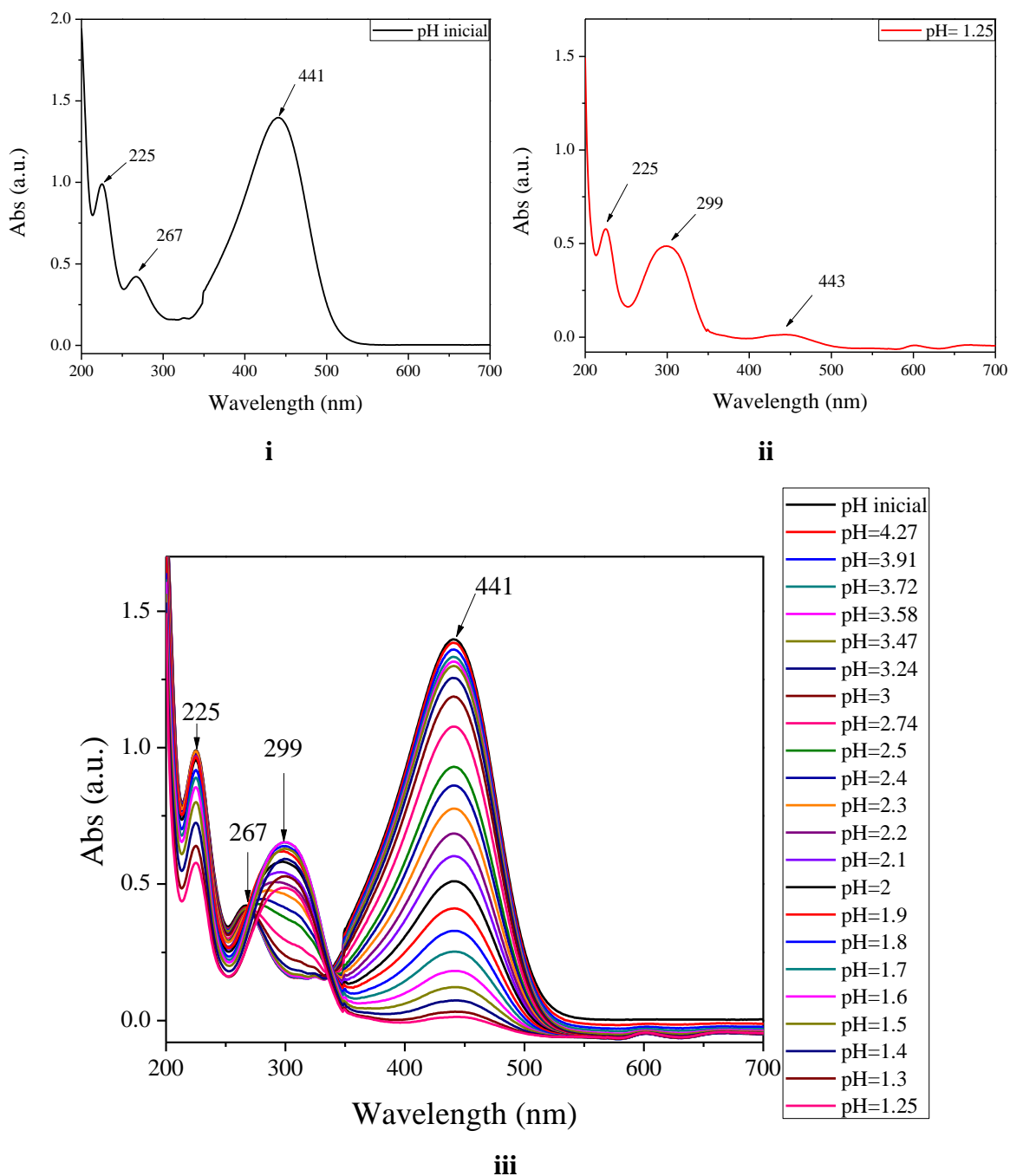
**Figura 44.** Espectros de absorción del compuesto **I** a pH inicial (**i**), pH final=1.2 (**ii**) y a diferentes valores de pH ácido (**iii**).



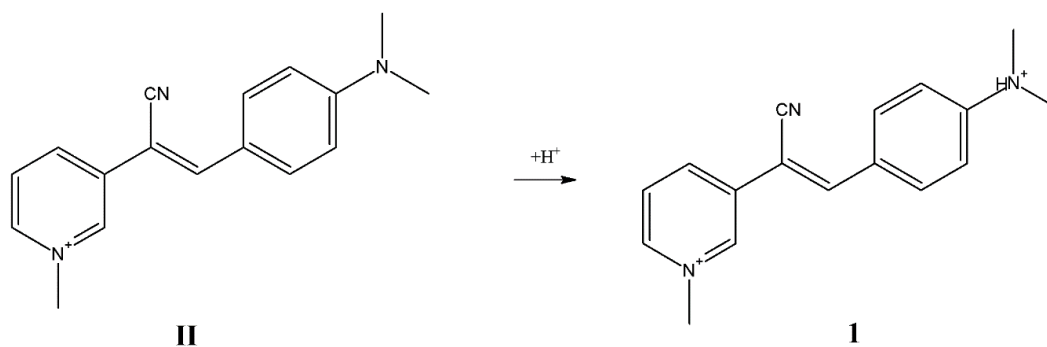
**Esquema 7.** Equilibrio prototrópico del compuesto **I** en solución acuosa.

Se preparó una solución 50  $\mu\text{M}$  del compuesto **II** en  $\text{H}_2\text{O}$  a partir de una solución stock 1 mM en  $\text{H}_2\text{O}$ . La solución presentó una coloración amarilla totalmente homogénea, con su espectro de absorción mostrado en **Figura 45i**.

Al realizar la titulación con la solución de HCl, el espectro de Absorción no sufrió cambios notables a pH 4.27 (10  $\mu\text{L}$ ), 3.91 (20  $\mu\text{L}$ ), 3.72 (30  $\mu\text{L}$ ), 3.58 (40  $\mu\text{L}$ ) y 3.47 (50  $\mu\text{L}$ ), pero a partir de pH igual a 3.24 (80  $\mu\text{L}$ ) una banda alrededor de 300 nm apareció y creció conforme iba aumentando la cantidad de HCl agregado, mientras que la banda en 441 nm disminuía a pH cada vez más ácido (**Figura 45iii**). Esta banda final en 299 nm corresponde a la protonación del nitrógeno del grupo dimetilamino (**Esquema 8**). Al final, el espectro de absorción a pH 1.25 presentó tres bandas en 443, 299 y 225 nm (**Figura 45ii**)



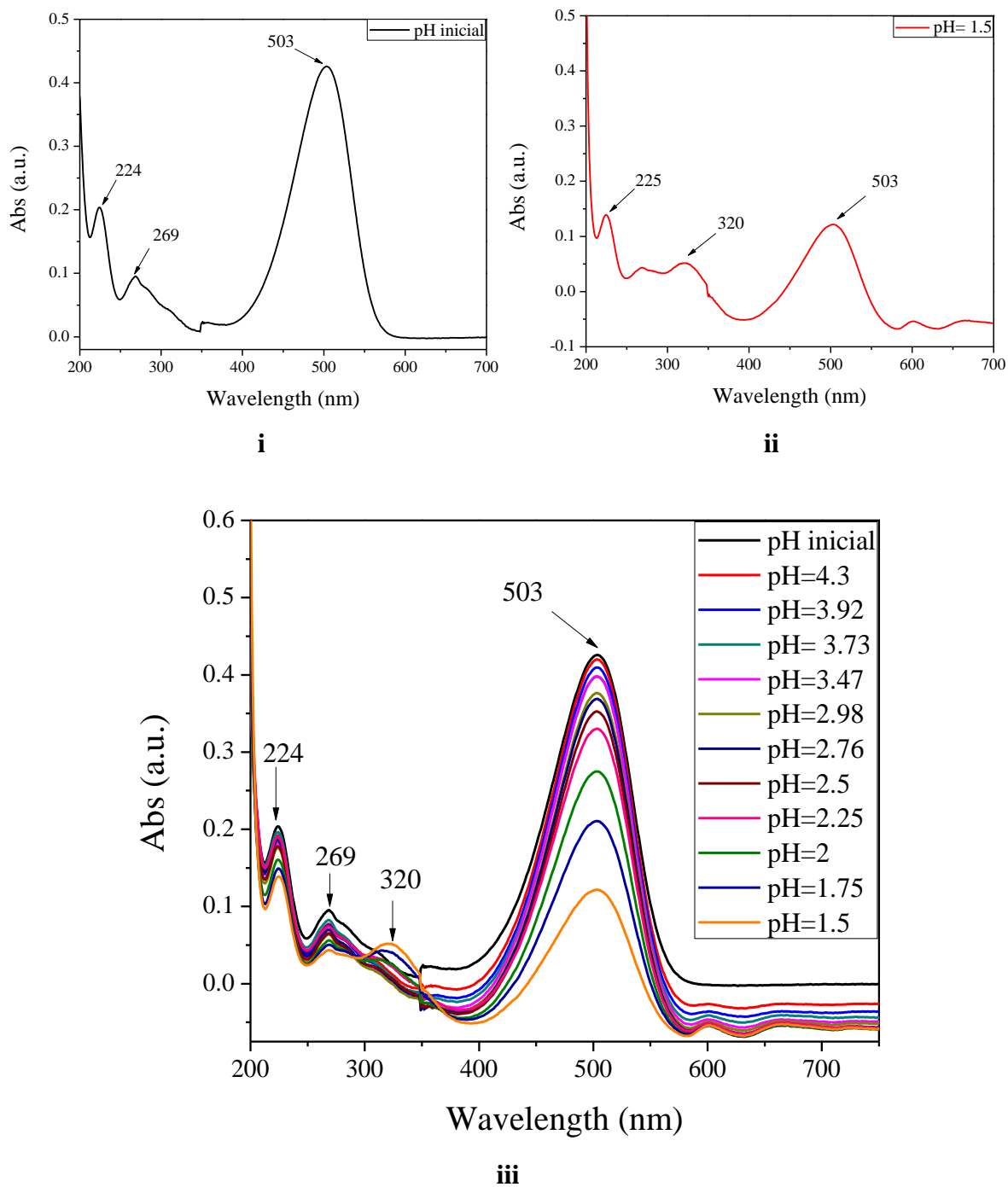
**Figura 45.** Espectros de absorción del compuesto **II** a pH inicial (**i**), pH final=1.25 (**ii**) y a diferentes valores de pH ácido (**iii**).



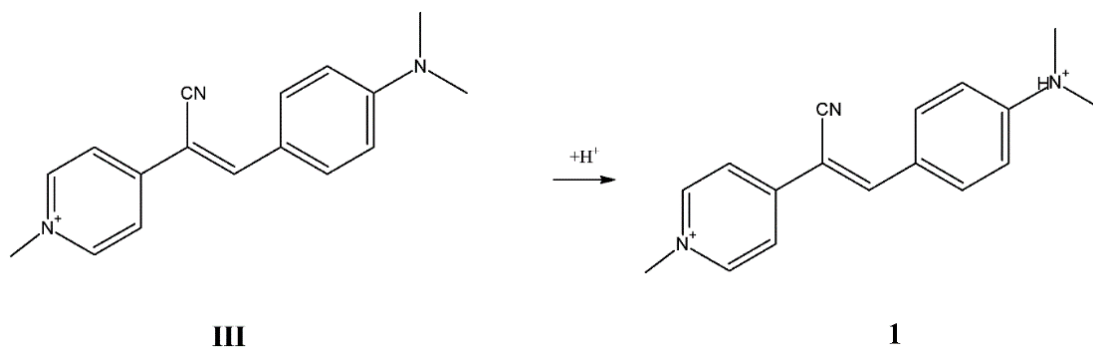
**Esquema 8.** Equilibrio prototrópico del compuesto **II** en solución acuosa.

Se preparó una solución 50  $\mu\text{M}$  de **III** en  $\text{H}_2\text{O}$  a partir de 1 mL de una solución stock 1 mM en  $\text{H}_2\text{O}$ . Sin embargo, al realizar la titulación, el espectro de absorción se saturó, por lo que fue necesario realizar las mediciones con una solución de menor concentración. La concentración utilizada para la titulación ácido-base fue de 10  $\mu\text{M}$ , una solución rojo-naranja, homogénea. Su espectro de absorción antes de la titulación se muestra en **Figura 46i**.

La titulación se llevó a cabo con las mismas soluciones titulantes ya estandarizadas. Al agregar 10  $\mu\text{L}$  de HCl el pH fue de 4.3, pero no hubo cambios en el espectro de absorción (**Figura 46iii**). Del mismo modo, al descender más el pH a 3.92 (20  $\mu\text{L}$ ), 3.73 (30  $\mu\text{L}$ ), 3.47 (50  $\mu\text{L}$ ), 2.98 (140  $\mu\text{L}$ ), 2.76 (240  $\mu\text{L}$ ) y 2.5 (460  $\mu\text{L}$ ) el espectro de absorción no cambió, solo la intensidad de las bandas disminuyó ligeramente, posiblemente debido a efecto de la dilución. Al llegar a pH de 2.25 (850  $\mu\text{L}$ ), se observó la aparición de nueva banda alrededor de 320 nm, asignada a la protonación del nitrógeno del grupo dimetilamino (**Esquema 9**), la cual creció paulatinamente conforme el pH fue más ácido, mientras la banda en 503 nm disminuía, hasta llegar a pH 1.5 (**Figura 46ii**).



**Figura 46.** Espectros de absorción del compuesto **III** a pH inicial (**i**), pH final=1.5 (**ii**) y a diferentes valores de pH ácido (**iii**).



**Esquema 9.** Equilibrio prototrópico del compuesto **III** en solución acuosa.

Con base en los datos obtenidos a partir de los espectros de absorción de los 6 compuestos sintetizados a diferentes vales de pH (**Tabla 13**) se observó que la protonación del compuesto **A** resulta en un mayor desplazamiento batocrómico del máximo de absorción que el compuesto **I**, el cual se encuentra enlazado a un grupo metilo, ya que en la especie protonada la banda de absorción correspondiente a la transición  $\pi$ - $\pi^*$  se encuentra en 485 nm, mientras que el compuesto **I** presenta un máximo a 454 nm, esto puede atribuirse al mayor tamaño del grupo metilo que podría estar provocando efectos secundarios en la estructura, posiblemente un cambio en la conformación que disminuya la fuerza de atracción de densidad electrónica. En contraste, las especies protonadas de **B** y **C** presentaron un máximo de absorción muy cercano al de los compuestos con un sustituyente metilo **II** y **III**, a 441 nm para la dupla **B** y **III** y a 498 y 503 nm para **C** y **III**, respectivamente. En estos últimos dos casos, se percibe que no existe diferencia significativa en los espectros de absorción entre los compuestos que se encuentren protonados o con un grupo metilo enlazado a la piridina.

Por otro lado, a pH menor a 3, todos mostraron una banda de absorción con un máximo entre 300 y 320 nm, al mismo tiempo que la solución se aclaraba o perdía su coloración, esto atribuido a una eliminación del efecto *push-pull*<sup>88</sup>, ya que el par libre de electrones del grupo donador se encuentra en interacción con los protones del medio, evitando la transferencia de carga desde el donador al grupo aceptor de la molécula.<sup>89</sup> Esto es congruente con previos reportes, donde se han analizado espectroscópicamente diversos compuestos con el grupo dimetilamino como donador y piridina, metilpiridinium o metilquinolinium como aceptores, y su sensibilidad al pH del medio.<sup>88-90</sup>

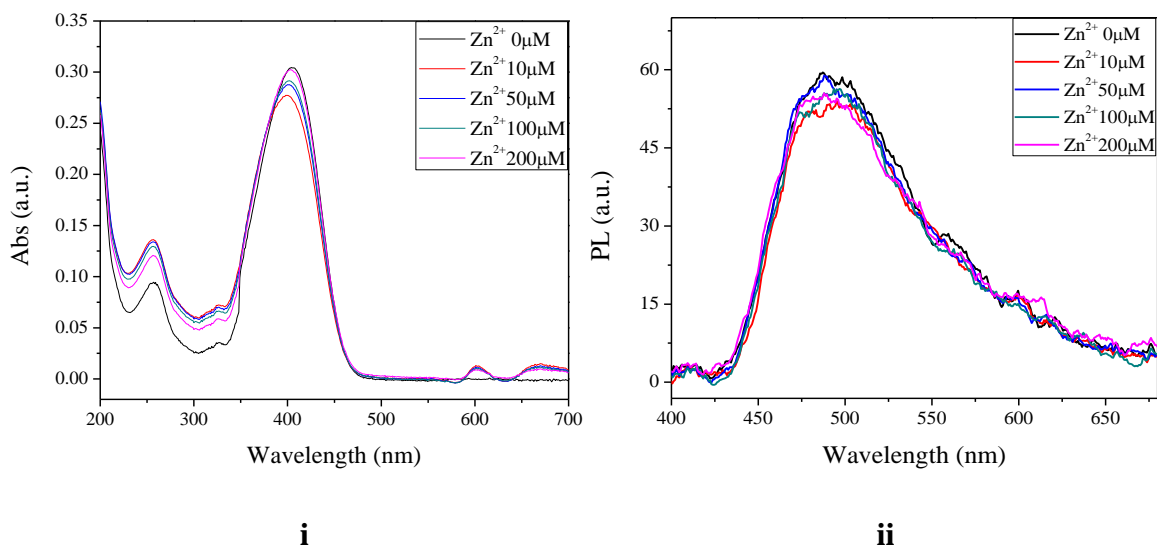
**Tabla 13.** Comportamiento en absorción de los diferentes compuestos a diferente pH.

	$\lambda_{\text{Abs}}$ pH inicial	$\lambda_{\text{Abs1}}$	pH (aprox.) de Abs1	$\lambda_{\text{Abs2}}$	pH (aprox.) de Abs2
<b>A</b>	393	485	3.74	312	2.75
<b>B</b>	387	441	2.76	302	2.76
<b>C</b>	348	498	4.5	317	2
<b>I</b>	454	N/A	N/A	299	2.6
<b>II</b>	441	N/A	N/A	299	3
<b>II</b>	503	N/A	N/A	320	2.25

#### 7.4. Efecto del ion metálico $Zn^{2+}$ sobre las propiedades ópticas de los compuestos derivados de acrilonitrilo.

Los espectros de absorción del compuesto **A** con diferentes concentraciones de  $Zn^{2+}$  no presentaron diferencias considerables, teniendo un máximo de absorción alrededor de 404 nm, además la intensidad de absorción fue muy similar en todos los casos (**Figura 47i**).

De igual modo, los espectros de emisión no presentaron diferencias notables en la longitud de onda de emisión, al mismo tiempo que la intensidad a simples vista fue muy débil en todos los casos (**Figura 47ii**).

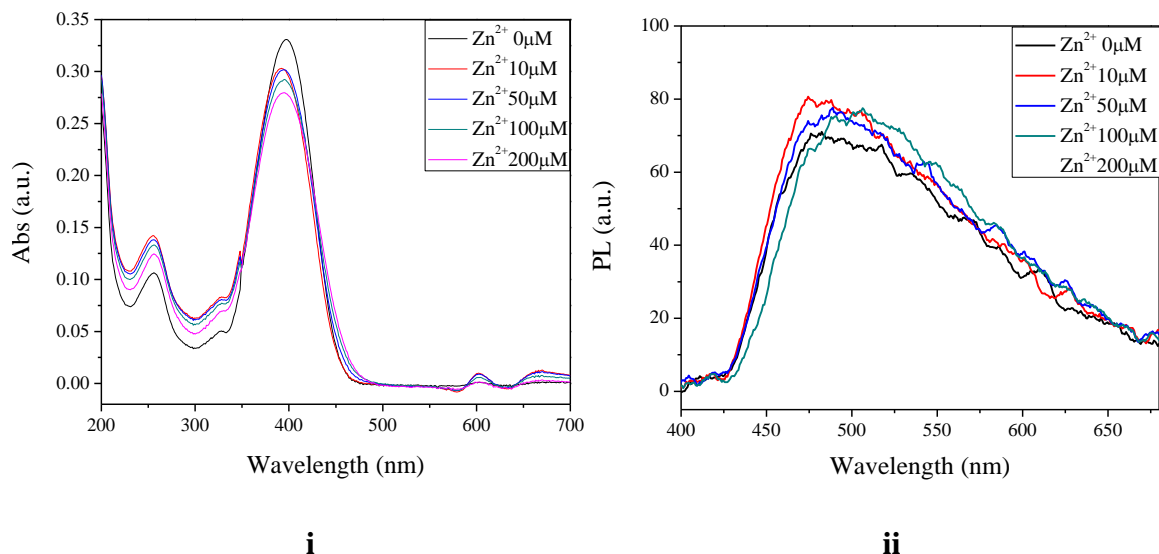


**Figura 47.** Espectros de absorción (i) y emisión (ii) del compuesto **A** (100 μM) en presencia de  $Zn^{2+}$  a diferentes concentraciones.

Caso similar fue el encontrado en los espectros de absorción del compuesto **B** ya que no mostraron cambios significativos en la longitud de onda del máximo de absorción (<10 nm de diferencia entre ellos), mostrado en la **Figura 48i**. Además, la intensidad solo varía ligeramente, lo cual puede atribuirse a errores experimentales.

A su vez, los espectros de emisión presentan un ligero *red-shift* de aproximadamente 23 nm, sin embargo, los espectros se muestran muy ruidosos debido a la baja intensidad de

emisión que se percibe a simple vista, por lo que no se puede afirmar un cambio real en la presencia de iones  $Zn^{2+}$ , como se observa en la **Figura 48ii**.



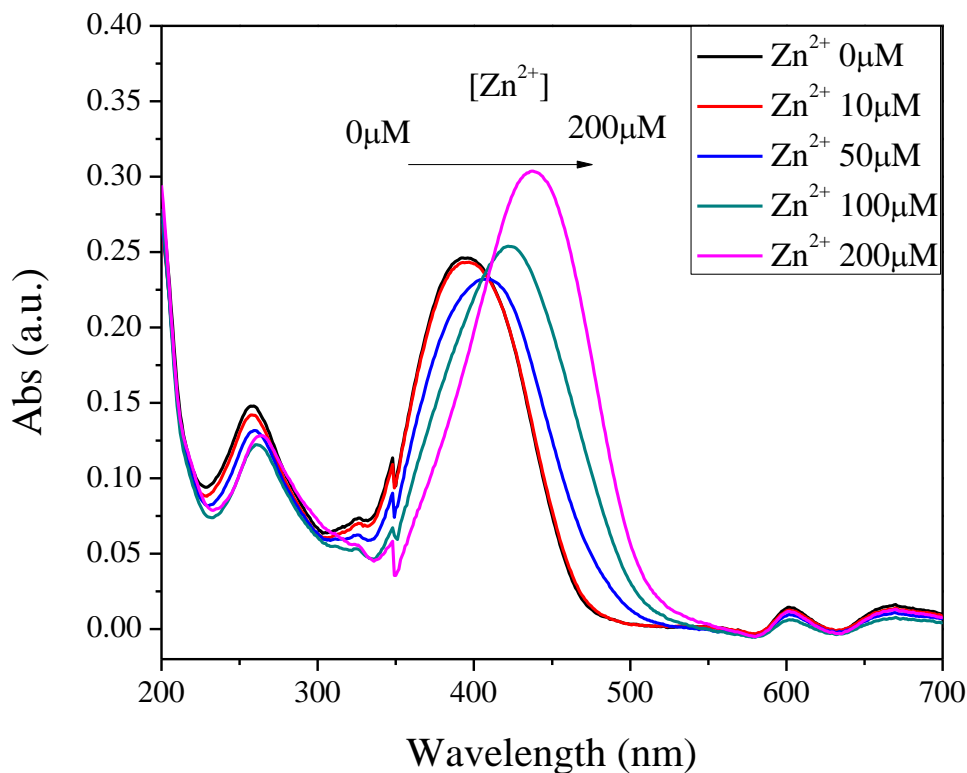
**Figura 48.** Espectros de absorción (i) y emisión (ii) del compuesto **B** (100  $\mu$ M) en presencia de  $Zn^{2+}$  a diferentes concentraciones.

Finalmente, el compuesto **C** fue el único de los tres que fue sensible a la presencia de iones  $Zn^{2+}$ , ya que presentó una clara diferencia en sus espectros de absorción a diferentes concentraciones de  $Zn^{2+}$ .

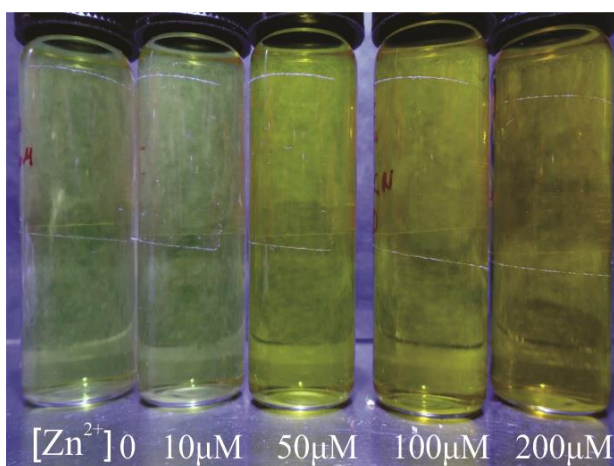
El máximo de absorción en ausencia  $Zn^{2+}$  se encontró a 396 nm, y de igual modo en presencia de iones  $Zn^{2+}$  a baja concentración (10  $\mu$ M) el espectro se mantuvo prácticamente sin cambios ya que el máximo de absorción fue en 397 nm. Sin embargo, para el caso de las muestras de mayor concentración de iones  $Zn^{2+}$  evidentemente se observó un desplazamiento batocrómico del máximo de absorción hacia 410 nm (50  $\mu$ M), 422 nm (100  $\mu$ M) y 437 nm (200  $\mu$ M), además de un aumento en la intensidad de absorción para las últimas dos soluciones de 100 y 200  $\mu$ M de iones  $Zn^{2+}$  (**Figura 49**).

También, es importante mencionar que las soluciones de **C** cambiaron de coloración de amarillo a amarillo-naranja al agregar  $Zn^{2+}$ . En la **Figura 50** se observa un cambio indiscutible en la coloración de las muestras de diferente concentración de iones  $Zn^{2+}$ , donde a partir de una concentración de 50  $\mu$ M, existe esa transformación de color, que se intensifica

conforme se aumenta la concentración; lo que es completamente congruente con los espectros de absorción de las diferentes muestras, ya que a esa misma concentración se observó el primer desplazamiento hacia mayor longitud de onda del máximo de absorción.



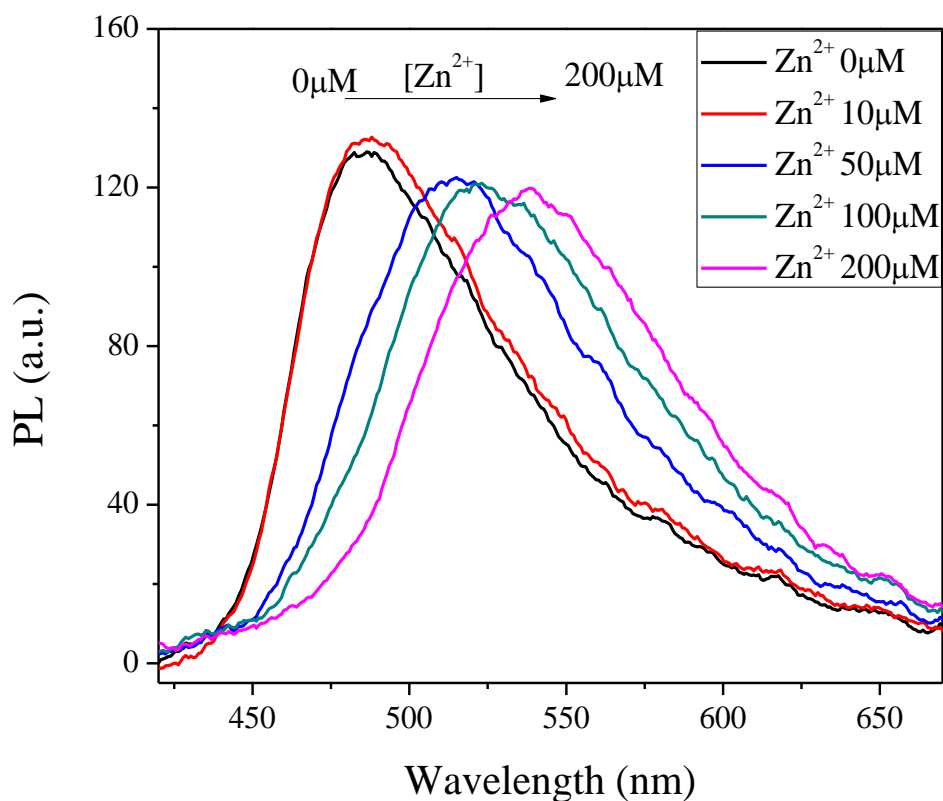
**Figura 49.** Espectros de absorción del compuesto C (100 μM) en presencia de Zn<sup>2+</sup> a diferentes concentraciones.



**Figura 50.** Soluciones del compuesto C (100 μM) en presencia de Zn<sup>2+</sup> a diferentes concentraciones (0, 10, 50, 100 y 200 μM, de izquierda a derecha respectivamente) bajo luz blanca.

Del mismo modo, los espectros de emisión de las soluciones presentan diferencias dependiendo de la concentración de  $Zn^{2+}$ . Inicialmente, en ausencia de iones  $Zn^{2+}$  el espectro de emisión presentó un máximo a 486 nm, y a baja concentración de  $Zn^{2+}$  (10  $\mu M$ ) el espectro se mantiene casi idéntico al anterior, ya que su máximo de absorción se encontró en 488 nm. Por el contrario, al aumentar a 50  $\mu M$ , ocurrió un *red-shift* muy notorio el cual fue de 27 nm, asimismo las soluciones de mayor concentración (100 y 200  $\mu M$ ) mostraron un corrimiento del máximo de emisión hacia mayor longitud de onda (**Figura 51**).

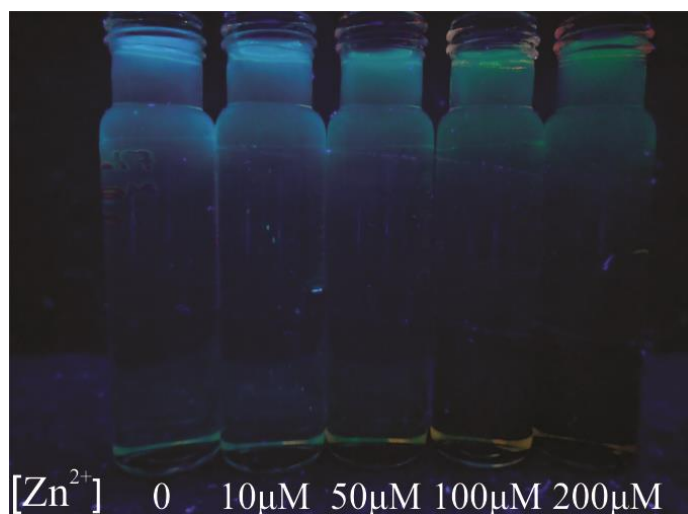
Sin embargo, aunque fue posible detectar los espectros de emisión, las soluciones del compuesto **C** siguen presentando una fluorescencia débil a simple vista, siendo casi independiente de la concentración de iones  $Zn^{2+}$ . Esto puede verse más claro en la **Figura 52**, donde la fluorescencia cambia entre las diferentes soluciones, pero prácticamente la intensidad es la misma o incluso cualitativamente menor.



**Figura 51.** Espectros de emisión del compuesto **C** (100  $\mu M$ ) en presencia de  $Zn^{2+}$  a diferentes concentraciones.

A partir de la **Tabla 14** donde se muestran los máximos de absorción y emisión de cada una de las soluciones se deduce que el *switch* se encuentra en la región de concentración de 10 a 50  $\mu\text{M}$ , ya que en ambas mediciones es en ese intervalo donde se observó el primer cambio en la longitud de onda del máximo de absorción.

Además, en **Figura 52** se observa ese cambio en la emisión de las soluciones, lo que es coherente con las mediciones, ya que la solución a 50  $\mu\text{M}$  presenta características de los 2 extremos con una emisión azul verdosa.



**Figura 52.** Soluciones del compuesto **C** (100  $\mu\text{M}$ ) en presencia de  $\text{Zn}^{2+}$  a diferentes concentraciones (0, 10, 50, 100 y 200  $\mu\text{M}$ , de izquierda a derecha respectivamente) bajo luz UV.

**Tabla 14.** Máximos de absorción y emisión del compuesto **C** a diferentes concentraciones de  $\text{Zn}^{2+}$

	$\lambda_{\text{Abs}}$	$\lambda_{\text{Emi}}$	Stokes shift (nm)
0 $\mu\text{M}$ $\text{Zn}^{2+}$	396	486	94
10 $\mu\text{M}$ $\text{Zn}^{2+}$	397	488	91
50 $\mu\text{M}$ $\text{Zn}^{2+}$	410	515	105
100 $\mu\text{M}$ $\text{Zn}^{2+}$	422	523	101
200 $\mu\text{M}$ $\text{Zn}^{2+}$	437	539	102

## 8. Conclusión

Se sintetizaron y caracterizaron nuevos compuestos orgánicos derivados de metilpiridinium, dos de los cuales fueron obtenidos a partir de derivados de acrilonitrilo (previamente sintetizados) a través de una reacción con yoduro de metilo en ausencia de catalizador y tiempos de reacción de 3 a 4 horas. Finalmente, el último compuesto fue obtenido a partir de una reacción de condensación entre el Yoduro de 2-(cianometil)-1-metilpiridin-1-ium y el 4-dimetilamino benzaldehído en ausencia de catalizador, siendo el yoduro de 2 (cianometil) metilpiridinium más reactivo que el correspondiente 2-piridilacetónitrilo, atribuido al mayor carácter electroattractor del ion metilpiridinium que la piridina lo que intensifica el efecto de metileno activado y hace a sus protones más ácidos y más reactivos.

Estos nuevos compuestos presentaron un máximo de absorción a mayor longitud de onda comparados con los derivados de acrilonitrilo de los cuales se partieron, esto debido a un aumento en la transferencia de carga intramolecular entre el grupo donador dimetilamino y los grupos aceptores metilpiridinium y ciano. Sin embargo, la emisión en solución fue casi nula a simple vista, caso similar para los 6 compuestos en estudio.

Por otro lado, al evaluar sus propiedades ópticas a diferentes valores de pH, se observó que todos fueron sensibles a pH muy ácido, principalmente los compuestos derivados de acrilonitrilo mostraron un cambio de coloración evidente al agregar la solución titulante de HCl, esto debido a la protonación del nitrógeno en la piridina. En especial el compuesto **C** (posición *-para*) fue el que mayor sensibilidad presentó a cambios de pH, cambiando de coloración de amarillo-verde a naranja a valores de pH ligeramente ácidos (3-4). Además, este compuesto mostró fluorescencia en soluciones de H<sub>2</sub>O/DMSO (95/5) a pH neutro, ya que se observaba turbidez y la presencia de partículas sólidas inmersas en la solución, pero al agregar la solución de HCl, esta turbidez se perdió al mismo tiempo que la fluorescencia se perdía. Este efecto puede hacer a este compuesto un posible candidato a ser aplicado como biosensor e indicador de pH.

Por último, se evaluó el comportamiento de los compuestos en presencia de iones metálicos Zn<sup>2+</sup>, y de igual modo, el compuesto **C** fue el que mayor sensibilidad manifestó, cambiando de coloración a amarillo-naranja y con un corrimiento batocrómico en los espectros de absorción y emisión. Esto indica una posible baja especificidad al analito y una

alta sensibilidad al medio por lo que será necesario evaluar su comportamiento en diferentes medios de diferentes características y ver qué es lo que sucede cuando se encuentra en un medio biológico.

## 9. Referencias.

- [1] Mei, J., Leung, N. L., Kwok, R. T., Lam, J. W., & Tang, B. Z. Aggregation-induced emission: together we shine, united we soar! *Chem. Rev.* **2015**, *115*(21), 11718-11940.
- [2] Bäuerle P.; Mitschke U. The electroluminescence of organic materials. *J. Mater. Chem.* **2000**, *10*(7), 1471-1507.
- [3] Baeg K.; Binda M.; Natali D.; Caironi M.; Noh Y. Organic light detectors: photodiodes and phototransistors. *Adv. Mater.* **2013**, *25*(31), 4267–4295
- [4] Kaur, N., Singh, M., Pathak, D., Wagner, T., & Nunzi, J. M. Organic materials for photovoltaic applications: Review and mechanism. *Synth. Met.* **2014**, *190*, 20-26.
- [5] Carter P.K.; Young A. M.; Palmer A. E. Fluorescent sensors for measuring metal ions in living systems. *Chem. Rev.* **2014**, *114*(8), 4564–4601
- [6] Bureš, F. Fundamental aspects of property tuning in push–pull molecules. *RSC Adv.* **2014**, *4*(102), 58826-58851.
- [7] Yin, J.; Hu, Y.; Yoon, J. Fluorescent probes and bioimaging: alkali metals, alkaline earth metals and pH. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 4619-4644
- [8] Shirwany, N. A.; Zou, M. AMPK: a cellular metabolic and redox sensor. A minireview. *Front. Biosci. (Landmark edition)* **2014**, *19*, 447-474.
- [9] Thévenot, D.R.; Toth, K.; Durst, R.A.; Wilson, G.S. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosens. Bioelectron.* **2001**, *16*(1), 121–131.
- [10] Valeur, B. *Molecular fluorescence: principles and applications*. John Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim (Federal Republic of German), **2001**; pp 3-18.
- [11] Qian, X., Xiao, Y., Xu, Y., Guo, X., Qian, J., & Zhu, W. “Alive” dyes as fluorescent sensors: fluorophore, mechanism, receptor and images in living cells. **2010** *Chem. Commun.*, *46*(35), 6418-6436.
- [12] Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. A. *Introduction to spectroscopy*. Cengage Learning. **2008** pp353-389
- [13] Rodrigues, E. B., Costa, E. F., Penha, F. M., Melo, G. B., Bottós, J., Dib, E., Furlani B., Lima V.C., Maia M., Meyer C.H., Höfling-Lima, A. L., & Farah M.E. The use of vital dyes in ocular surgery. *Surv. Ophthalmol.* **2009**, *54*(5), 576-617.
- [14] Ewelt, C., Nemes, A., Senner, V., Wölfer, J., Brokinkel, B., Stummer, W., & Holling, M. Fluorescence in neurosurgery: its diagnostic and therapeutic use. Review of the literature. *J. Photochem. Photobiol. B* **2015**, *148*, 302-309.
- [15] Acerbi, F. Fluorescein assistance in neuro-oncological surgery: A trend of the moment or a real technical adjunct?. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **2016**, *144*, 119-120.
- [16] Valdés, P. A., Roberts, D. W., Lu, F. K., & Golby, A. Optical technologies for intraoperative neurosurgical guidance. *Neurosurg. focus* **2016**, *40*(3), E8.
- [17] Karp, G. *Biología celular y molecular: conceptos y experimentos* 6a. ed. McGraw Hill Mexico. **2011**; pp 719-720.
- [18] Lavis, L. D., & Raines, R. T. Bright building blocks for chemical biology. *ACS chem. Biol.* **2014**, *9*(4), 855-866.
- [19] Wilson, G. S.; Gifford, R. Biosensors for real-time in vivo measurements. *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *20*(12), 2388-2403.

- [20] Percino, M. J.; Cerón, M.; Ceballos, P.; Soriano-Moro, G.; Castro, M. E.; Chapela, V. M.; Siegler, M. A. Important role of molecular packing and intermolecular interactions in two polymorphs of (Z)-2-phenyl-3-(4-(pyridin-2-yl) phenyl) acrylonitrile. preparation, structures, and optical properties. *J. Mol. Struct.* **2014**, *1078*, 74-82.
- [21] Marković, J. M.; Trišović, N. P.; Mutavdžić, D.; Radotić, K.; Juranić, I. O.; Drakulić, B. J.; Marinković, A. D. Solvatochromism of symmetrical 2, 6-distyrylpyridines. An experimental and theoretical study. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *135*, 435-446.
- [22] Yang, Z., Cao, J., He, Y., Yang, J. H., Kim, T., Peng, X., & Kim, J. S. Macro-/micro-environment-sensitive chemosensing and biological imaging. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*(13), 4563-4601.
- [23] Percino, J., Cerón, M., Venkatesan, P., Ceballos, P., Bañuelos, A., Rodríguez, O., ... & Pérez-Gutiérrez, E. Two Different Emissions of (2 Z)-2-(4-Bromophenyl)-3-[4-(dimethylamino) phenyl] prop-2-enenitrile Due to Crystal Habit and Size: Synthesis, Optical, and Supramolecular Characterization. *Cryst. Growth Des.* **2017**, *17*(4), 1679-1694.
- [24] Roberts, J. D., & Caserio, M. C. *Basic principles of organic chemistry*. 2nd ed. W. A. Benjamin Inc., USA, **1977**.pp 959-1023
- [25] McMurry, J. *Organic Chemistry*. 7a. ed. Thomson/Brooks/Cole: Cengage Learning: Boston, **2008**; pp 482-515
- [26] Lavis, L. D.; Raines, R. T. Bright ideas for chemical biology. *ACS Chem. Biol.* **2008**, *3*(3), 142-155.
- [27] Lakowicz J.R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd edition, Springer Science+Business Media, LLC, Singapore, **2006**; pp 1-26.
- [28] Wade, L. G. Jr. *Química Orgánica*. 5a. ed. Pearson Education, S.A., Madrid, **2004**; pp 13-16.
- [29] Coropceanu, V.; Cornil, J.; da Silva Filho, D. A.; Olivier, Y.; Silbey, R.; Brédas, J. L. Charge transport in organic semiconductors. *Chem. Rev.* **2007**, *107*(4), 926-952.
- [30] Anslyn E. V. & Dougherty D. A. *Modern Physical Organic Chemistry*. University Science Books, USA, **2006**; pp 3-64.
- [31] Morrison, R. T., & Boyd, R. N. *Química orgánica*. 5ta Ed. Pearson Educación. México. **1998**. Pp 201, 361-409
- [32] Pan, M.; Patra, A.; Friend, C. S.; Lin, T. C.; Cartwright, A. N.; Prasad, P. N.; Burzynski, R. A new approach to design light emitting devices using electroactive dyes. *MRS Proc.* **2002**, *734*, B9-24.
- [33] Selektor, S. L.; Shokurov, A. V. Conjugated compounds in supramolecular informational systems: A review. *Prot. Met. Phys. Chem. Surf.* **2015**, *51*(2), 171-203.
- [34] Grabowski, Z. R., & Dobkowski, J. Twisted intramolecular charge transfer (TICT) excited states: energy and molecular structure. *Pure Appl. Chem.* **1983**, *55*(2), 245-252.
- [35] Yamashita, S. Photochemical cis-trans Isomerization of Stilbene. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1961**, *34*(4), 490-493.
- [36] Yang, J. S.; Liao, K. L.; Hwang, C. Y.; Wang, C. M. Photoinduced single-versus double-bond torsion in donor-acceptor-substituted trans-stilbenes. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*(26), 8003-8010.
- [37] Wittig, G., & Haag, W. Über Triphenyl-phosphinmethylene als olefinbildende Reagenzien (II. Mitteil. 1)). *Chemische Berichte* **1955**, *88*(11), 1654-1666.
- [38] Wadsworth, W. S. Synthetic Applications of Phosphoryl-Stabilized Anions. *Organic reactions* **1977**. Vol 25. pp 73-353
- [39] Jones, G. The Knoevenagel condensation. *Organic reactions*. **1967**. Vol 15. pp204-599.
- [40] Bradamante, S.; Facchetti, A.; Pagani, G. A. Heterocycles as donor and acceptor units in push-pull conjugated molecules. Part 1. *J. Phys. Org. Chem.* **1997**, *10*(7), 514-524.

- [41] Zhu, L.; Zhao, Y. Cyanostilbene-based intelligent organic optoelectronic materials. *J. Mat. Chem. C* **2013**, *1*(6), 1059-1065.
- [42] Pond, S. J.; Rumi, M.; Levin, M. D.; Parker, T. C.; Beljonne, D.; Day, M. W.; Perry, J. W. One- and two-photon spectroscopy of donor-acceptor-donor distyrylbenzene derivatives: effect of cyano substitution and distortion from planarity. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*(47), 11470-11480.
- [43] Percino, M., Chapela, V., Pérez-Gutiérrez, E., Cerón, M., & Soriano, G. Synthesis, optical, and spectroscopic characterisation of substituted 3-phenyl-2-arylacrylonitriles. *Chem. Pap.* **2011**, *65*(1), 42-51.
- [44] Percino, M. J., Chapela, V. M., Montiel, L. F., Pérez-Gutiérrez, E., & Maldonado, J. L. Spectroscopic characterization of halogen- and cyano-substituted pyridinevinylenes synthesized without catalyst or solvent. *Chem. Pap.* **2010**, *64*(3), 360-367.
- [45] Pérez-Gutiérrez, E., Percino, M. J., Chapela, V. M., Cerón, M., Maldonado, J. L., & Ramos-Ortiz, G. Synthesis, characterization and photophysical properties of pyridine-carbazole acrylonitrile derivatives. *Mater.* **2011** *4*(3), 562-574.
- [46] Percino, M. J., Chapela, V. M., Cerón, M., Castro, M. E., Soriano-Moro, G., Pérez-Gutiérrez, E., & Meléndez-Bustamante, F. Synthesis and characterization of conjugated pyridine-(N-diphenylamino) acrylonitrile derivatives: Photophysical properties. *J. Mater. Sci. Res.* **2012** *1*(2), 181.
- [47] Percino, M. J., Chapela, V. M., Cerón, M., Soriano-Moro, G., Castro, M. E., & Melendez, F. J. Fluorescence improvement of pyridylacrylonitrile by dimethylaminophenyl-substitutions: The effect of packing modes of conjugated compounds. *J. Mol. Struct.* **2013** *1034*, 238-248.
- [48] Castro, M. E., Percino, M. J., Chapela, V. M., Cerón, M., Soriano-Moro, G., Lopez-Cruz, J., & Melendez, F. J. Theoretical and Experimental Spectroscopic Analysis of Cyano-Substituted Styrylpyridine Compounds. *Int. J. Mol. Sci.* **2013** *14*(2), 4005-4029.
- [49] J Percino, M., M Chapela, V., Cerón, M., Soriano-Moro, G., E Castro, M., & J Melendez, F. Molecular packing and solid-state fluorescence of conjugated compounds of carbazole-acrylonitrile derivatives. *Curr. Phys. Chem.* **2014** *4*(1), 137-150.
- [50] Percino, M. J., Cerón, M., Soriano-Moro, G., Castro, M. E., Chapela, V. M., Bonilla, J., ... & López-Sandoval, R. The effect of the supramolecular network of (Z)-3-(4-(diphenylamino) phenyl)-2-(pyridin-2-yl)-acrylonitrile on the fluorescence behavior of a single crystal: experimental and theoretical studies. *CrystEngComm* **2014** *16*(36), 8591-8604.
- [51] Percino, M. J., Cerón, M., Ceballos, P., Soriano-Moro, G., Rodríguez, O., Chapela, V. M., ... & Siegler, M. A. Changes in the luminescence emission of  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated acrylonitrile derivatives: morphology, polymorphism and solvent effect. *CrystEngComm* **2016**, *18*(39), 7554-7572.
- [52] Palakollu, V., & Kanvah, S.  $\alpha$ -Cyanostilbene based fluorophores: aggregation-induced enhanced emission, solvatochromism and the pH effect. *New J. Chem.* **2014**, *38*(12), 5736-5746.
- [53] Karabacak, M., Asiri, A. M., Al-Youbi, A. O., Qusti, A. H., & Cinar, M. Identification of structural and spectral features of synthesized cyano-stilbene dye derivatives: A comparative experimental and DFT study. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, *120*, 144-150.
- [54] Wang, F., Li, X., Wang, S., Li, C. P., Dong, H., Ma, X., ... & Cao, D. R. New  $\pi$ -conjugated cyanostilbene derivatives: Synthesis, characterization and aggregation-induced emission. *Chin. Chem. Lett.* **2016**, *27*(10), 1592-1596.
- [55] Wang, C. C., Yan, S. Y., Chen, Y. Q., Zhou, Y. M., Zhong, C., Guo, P., ... & Zhou, X. Triphenylamine pyridine acetonitrile fluorogens with green emission for pH sensing and application in cells. *Chin. Chem. Lett.* **2015**, *26*(3), 323-328.
- [56] Madadi, N. R., Ketkar, A., Penthala, N. R., Bostian, A. C., Eoff, R. L., & Crooks, P. A. Dioxol and dihydrodioxin analogs of 2- and 3-phenylacetonitriles as potent anti-cancer agents with nanomolar activity against a variety of human cancer cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*(9), 2164-2169.

- [57] Yu, C. Y., Xu, H., Ji, S., Kwok, R. T., Lam, J. W., Li, X., ... & Tang, B. Z. Mitochondrion-Anchoring Photosensitizer with Aggregation-Induced Emission Characteristics Synergistically Boosts the Radiosensitivity of Cancer Cells to Ionizing Radiation. *Adv. Mater.* **2017**, 29(15).
- [58] Todorova, M.; Bakalska, R.; Kolev, T. Synthesis, crystal structure, and spectroscopic properties of new stilbazolium salt with enlarged  $\pi$ -conjugated system. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol Spectrosc.* **2013**, 108, 211-222.
- [59] Strehmel, B.; Rettig, W. Photophysical properties of fluorescence probes I: dialkylamino stilbazolium dyes. *J. Biomed. Opt.* **1996**, 1(1), 98-109.
- [60] Carlotti, B.; Consiglio, G.; Elisei, F.; Fortuna, C. G.; Mazzucato, U.; Spalletti, A. Intramolecular Charge Transfer of Push–Pull Pyridinium Salts in the Singlet Manifold. *J. Phys. Chem. A* **2014**, 118(20), 3580-3592.
- [61] Manna, A.; Sahoo, D.; Chakravorti, S. Manipulating energy transfer in copolymer-based nanocomposites by their controlled nanocaging and release of an Ionic styryl dye: A case of an ultrasensitive pH sensor. *J. Phys. Chem. B* **2012**, 116(8), 2464-2471.
- [62] Yordanova, S.; Petkov, I.; Stoyanov, S. Solvatochromism of homodimeric styryl pyridinium salts. *J. Chem. Technol. Metall.* **2014**, 49(6), 601-609.
- [63] Bereiter-Hahn, J. Dimethylaminostyrylmethylpyridiniumiodine (DASPMI) as a fluorescent probe for mitochondria in situ. *BBA-Bioenergetics* **1976**, 423(1), 1-14.
- [64] Bajorek A.; Wrześniewska I.; Pietrzak M. Stilbazolium salts as fluorescence probes for monitoring local viscosity and pH of solutions. *CHEMIK* **2011**, 65(4), 255-260.
- [65] Boron, W. F. Regulation of intracellular pH. *Adv. Physiol. Educ.* **2004**, 28(4), 160-179.
- [66] Srivastava, J.; Barber, D. L.; Jacobson, M. P. Intracellular pH sensors: design principles and functional significance. *Physiol.* **2007**, 22(1), 30-39.
- [67] Han, J.; Burgess, K. Fluorescent indicators for intracellular pH. *Chem. Rev.* **2009**, 110(5), 2709-2728.
- [68] Wang, R.; Yu, C.; Yu, F.; Chen, L. Molecular fluorescent probes for monitoring pH changes in living cells. *Trends Anal. Chem.* **2010**, 29(9), 1004-1013.
- [69] Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. *Medical physiology, 2e updated edition: with Student consult online access*. Elsevier Health Sciences. **2012**. Pag. 652-671.
- [70] Waldvogel-Abramowski, S.; Waeber, G.; Gassner, C.; Buser, A.; Frey, B. M.; Favrat, B.; Tissot, J. D. Physiology of iron metabolism. *Transfus. Med. Hemother.* **2014**, 41(3), 213-221.
- [71] Choi, Y. W.; Park, G. J.; Na, Y. J.; Jo, H. Y.; Lee, S. A.; You, G. R.; Kim, C. A single Schiff base molecule for recognizing multiple metal ions: a fluorescence sensor for Zn (II) and Al (III) and colorimetric sensor for Fe (II) and Fe (III). *Sens. Actuators B: Chem.* **2014**, 194, 343-352.
- [72] Ahuja, A.; Dev, K.; Tanwar, R. S.; Selwal, K. K.; Tyagi, P. K. Copper mediated neurological disorder: Visions into amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer and Menkes disease. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2015**, 29, 11-23.
- [73] Scheiber, I. F.; Mercer, J. F.; Dringen, R. Metabolism and functions of copper in brain. *Prog. Neurobiol.* **2014**, 116, 33-57.
- [74] Hare, D. J.; New, E. J.; de Jonge, M. D.; McColl, G. Imaging metals in biology: balancing sensitivity, selectivity and spatial resolution. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44(17), 5941-5958.
- [75] Farina, M.; Avila, D. S.; da Rocha, J. B. T.; Aschner, M. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: a focus on iron, manganese and mercury. *Neurochem. Int.* **2013**, 62(5), 575-594.
- [76] Viles, J. H. Metal ions and amyloid fiber formation in neurodegenerative diseases. Copper, zinc and iron in Alzheimer's, Parkinson's and prion diseases. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, 256(19), 2271-2284.
- [77] Dusek, P.; Roos, P. M.; Litwin, T.; Schneider, S. A.; Flaten, T. P.; Aaseth, J. The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's diseases. *J. Trace Elem Med. Biol.* **2015**, 31, 193-203.

- [78] Malakooti, N.; Pritchard, M. A.; Adlard, P. A.; Finkelstein, D. I. Role of metal ions in the cognitive decline of Down syndrome. *Front. Aging Neurosci.* **2014**, *6*(136), 10-3389.
- [79] Verwilst, P.; Sunwoo, K.; Kim, J. S. The role of copper ions in pathophysiology and fluorescent sensors for the detection thereof. *Chem. Commun.* **2015**, *51*(26), 5556-5571.
- [80] Dusek, P.; Litwin, T.; Czlonkowska, A. Wilson disease and other neurodegenerations with metal accumulations. *Neurol. Clin.* **2015**, *33*(1), 175-204.
- [81] Myers, S. A. Zinc Transporters and Zinc Signaling: New Insights into Their Role in Type 2 Diabetes. *Int. J. Endocrinol.* **2015**, 2015.
- [82] Tauc, J., & Menth, A. States in the gap. *J. Non-Cryst. Solids* **1972**, *8*, 569-585.
- [83] Pommerhne, J.; Vestweber, H.; Guss, W.; Mahrt, R.F.; Bassler, H.; Porsch, M.; Daub, J. Efficient two layer leds on a polymer blend basis. *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 551-554
- [84] Fortuna, C. G., Barresi, V., Bonaccorso, C., Consiglio, G., Failla, S., Trovato-Salinaro, A., & Musumarra, G. (2012). Design, synthesis and in vitro antitumour activity of new heteroaryl ethylenes. *Eur. J. Med. Chem.* **2012** *47*, 221-227.
- [85] Mabbott, G. A. An introduction to cyclic voltammetry. *J. Chem. Educ.* **1983** *60*(9), 697.
- [86] Kissinger, P. T., & Heineman, W. R. Cyclic voltammetry. *J. Chem. Educ.* **1983** *60*(9), 702.
- [87] Horak, E., Hranjec, M., Vianello, R., & Steinberg, I. M. Reversible pH switchable aggregation-induced emission of self-assembled benzimidazole-based acrylonitrile dye in aqueous solution. *Dyes Pigm.* **2017**, *142*, 108-115.
- [88] Benassi, E., Carlotti, B., Fortuna, C. G., Barone, V., Elisei, F., & Spalletti, A. Acid-Base Strength and Acidochromism of Some Dimethylamino-Azinium Iodides. An Integrated Experimental and Theoretical Study. *J. Phys. Chem. A* **2015**, *119*(2), 323-333.
- [89] Sonu, Tiwari, A. K., Sarmah, A., Roy, R. K., & Saha, S. K. Study on photophysical properties and prototropic equilibria of trans-2-[4-(N, N-dimethylaminostyryl)] pyridine. *Dyes Pigm.* **2014** *102*, 114-125.
- [90] Sowmiya, M., Tiwari, A. K., & Saha, S. K. Study on intramolecular charge transfer fluorescence properties of trans-4-[4'-(N, N'-dimethylamino) styryl] pyridine: Effect of solvent and pH. *J. Photochem. Photobiol A: Chem.* **2011** *218*(1), 76-86.