



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E
INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA**

“Síntesis de Bis-(3-indolil)-escuarainas”

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN QUÍMICA**

PRESENTA:

Q. I. MARÍA DEL CARMEN AGUILAR GÓMEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ALEJANDRO ÁLVAREZ HERNÁNDEZ

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO.

AGOSTO 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
 School of Engineering and Basic Sciences



Mineral de la Reforma, Hgo., a 12 de agosto de 2019

Número de control: ICBI-D/828/2019
Asunto: Autorización de impresión de tesis.

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Por este conducto le comunico que el comité revisor asignado a la L.Q.I. María del Carmen Aguilar Gómez, alumna de la Maestría en Química con número de cuenta 387692, autoriza la impresión del proyecto de tesis titulado "Síntesis de Bis-(3-indolil)-escuarainas", en virtud de que se han efectuado las revisiones y correcciones pertinentes.

A continuación se registran las firmas de conformidad de los integrantes del comité revisor.

PRESIDENTE	Dra. Susana Rojas Lima*
SECRETARIO	Dr. Daniel Mendoza Espinosa
VOCAL	Dr. Alejandro Álvarez Hernández
SUPLENTE	Dr. Rosa Ángeles Vázquez García

Sin otro particular reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 "Amor, Orden y Progreso"

Dr. Óscar Rodolfo Suárez Castillo
 Director del ICBI

ORSCLHMH



Ciudad del Conocimiento
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia Carboneras
 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
 Teléfono: +52 (771) 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109
 dirección: icbi@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx

Este trabajo se realizó en el Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y fue dirigido por el Dr. Alejandro Álvarez Hernández. Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología una beca de maestría (CVU 857874 / Becario 489731) otorgada a María del Carmen Aguilar Gómez y el financiamiento a través del proyecto CB-2013-221360 "Reacciones de Acoplamientos Cruzados para la Preparación de Moléculas Orgánicas con Posible Actividad Optoelectrónica"

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia quiero agradecer a Dios por permitirme este tiempo de crecimiento personal y profesional, sencillo no ha sido el proceso, pero siempre tuve la certeza de que el me acompañaba, bendecía y fortalecía en los momentos más difíciles, gracias por tu inmenso amor amigo bueno....

Con mucho cariño y amor también quiero dedicar este trabajo a las personas más importantes en mi vida: a mis padres David y Zoila, porque sin ustedes esto no hubiera sido posible, agradezco todo ese apoyo moral y motivaciones que me han brindado a lo largo de mi vida, pero muy en especial durante la maestría, gracias por esos consejos me ayudaron a nunca rendirme, los amo.

A mis hermanos David y Luz Magali, les agradezco por el simple hecho de existir y amarme como solo ustedes lo saben hacer, mis compañeros desde la infancia, de los cuales siempre tengo algo nuevo que aprender, admiro su fortaleza, su coraje y ese amor con el que siempre luchan para conseguir sus sueños.

A mi asesor de tesis, el Dr. Alejandro Álvarez Hernández agradezco su dirección y apoyo que me brindó durante estos dos años, así como la paciencia y disponibilidad que tuvo para trabajar conmigo.

Agradezco a la Dra. Susana Rojas Lima, el Dr. Daniel Mendoza Espinosa y la Dra. Rosa Ángeles por sus aportaciones que han contribuido en el desarrollo de este trabajo.

Quiero reconocer también el gran papel que tuvieron en este proyecto mis compañeros de laboratorio y de área académica: Alexia, Andrés, Carlos, Cinthia, David, Elena, Jazmín, Jonathan, Lady, Miguel y Raúl, gracias por hacer tan agradables mis días y estancia en este lugar, por todos esos momentos de risas, por sus palabras de aliento en los momentos de angustias, aprendí muchos de ustedes, estoy segura de que siempre que los recuerde vendrá a mi mente un buen momento vivido a su lado.

Gracias a mis grandes amigos de antaño, los hermanos que Dios me permitió elegir: Alfredo, Gilberto, Jaret del Carmen, Francisco Abimael, Macrina, Marisol, Maritza y Miriam, por siempre tener alguna palabra para mí en los momentos

difíciles, también por permitirme disfrutar de los mejores momentos de la vida junto a ustedes y enseñarme que nunca debo dudar de mis capacidades.

Gracias a la Q. I. María Magdalena Luna Barradas por sus regaños y su cariño de siempre.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE COMPUESTOS	vi
ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS.....	viii
1 INTRODUCCIÓN	10
1.1 FLUORESCENCIA Y FOSFORESCENCIA	10
1.2 MOLÉCULAS FLUORESCENTES.....	12
1.3 ABSORCIÓN DE DOS FOTONES.....	16
2 ANTECEDENTES DE ESCUARAÍNAS.....	20
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
4 JUSTIFICACIÓN.....	29
5 OBJETIVO GENERAL.....	30
5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
6.1 SÍNTESIS.....	31
6.2 ESTUDIOS ÓPTICOS.....	47
7 CONCLUSIONES	52
8 DESARROLLO EXPERIMENTAL	53
8.1 GENERALIDADES.....	53
8.2 EXPERIMENTAL DE TODOS LOS COMPUESTOS	54
8.2.1 Síntesis 5-bromo-1-tosil-1H-indol	54
8.2.2 Síntesis 1-bencil-5-bromo-1H-indol.....	54
8.2.3 Síntesis 5-bromo-1-hexil-1H-indol.....	55
8.2.4 Síntesis 5-bromo-1-fenil-1H-indol.....	56
8.2.5 Síntesis de 4-(1H-indol-5-il)-N,N-dimetilanilina.	56

8.2.6	Síntesis de <i>N,N</i> -dimetil-4-(1-fenil-1H-indol-5-il) anilina.....	57
8.2.7	Síntesis de la escuaráina 8	58
8.2.8	Síntesis de la escuaráina 9	58
8.2.9	Síntesis de la escuaráina 10	59
8.2.10	Síntesis de la escuaráina 11	60
8.2.11	Síntesis de la escuaráina 12	60
8.2.12	Síntesis de la escuaráina 13	61
8.2.13	Síntesis de la escuaráina 15	61
8.2.14	Síntesis de 4-etinilbenzoniitrilo.....	62
8.2.15	Síntesis de ácido 2,5-diidobenzoico.....	63
8.2.16	Síntesis de bencil (2,5-diidofenil)carbamato.....	63
8.2.17	Síntesis de 4-((2- (4-cianofenil)-1H-indol-6-il) etinil)benzoniitrilo.....	64
8.2.18	Síntesis de 4-((2- (4-cianofenil)-1-hexil-1H-indol-6-il) etinil) benzoniitrilo..	65
8.2.19	Síntesis de la escuaráina 23	66
8.2.20	Síntesis 1-metil-1H-indol.....	67
8.2.21	Síntesis de la escuaráina 25	67
9	ANEXOS: ESPECTROSCOPIA	69
10	BIBLIOGRAFÍA	104

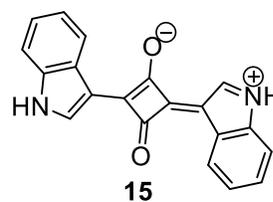
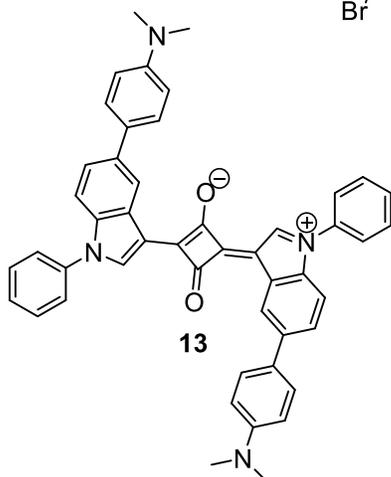
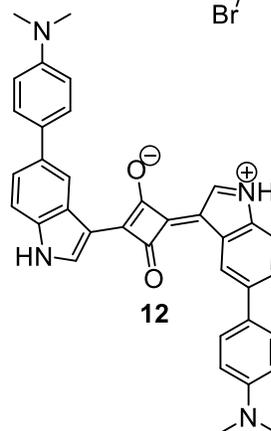
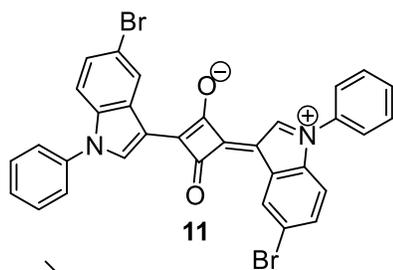
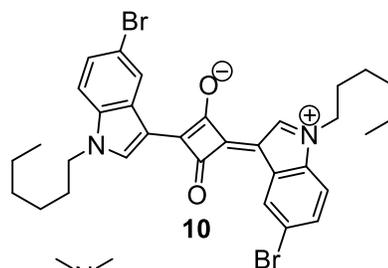
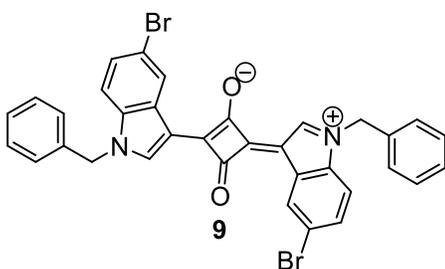
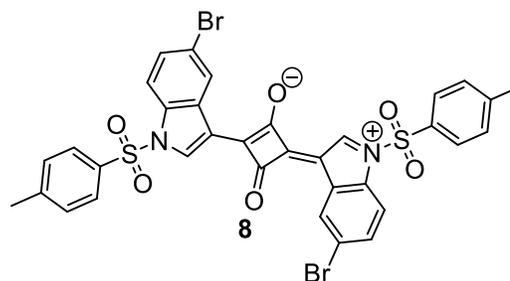
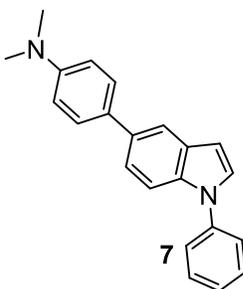
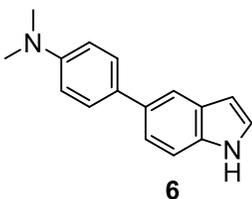
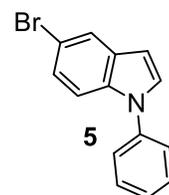
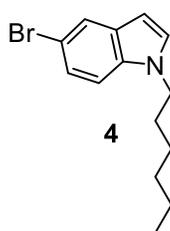
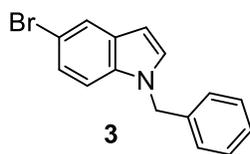
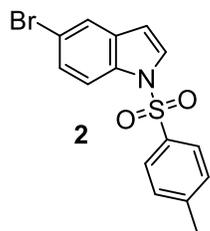
ÍNDICE DE FIGURAS

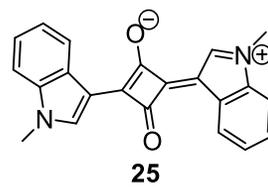
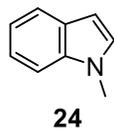
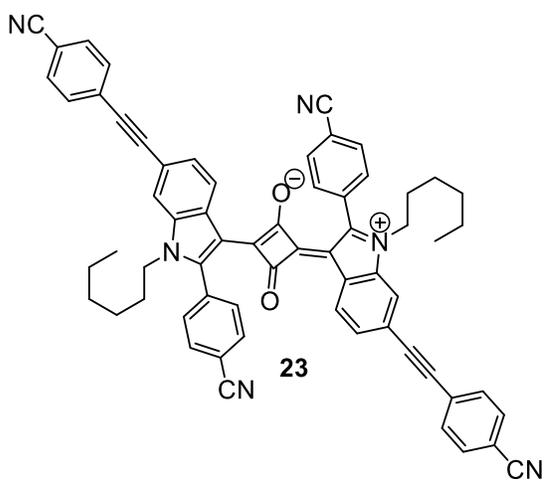
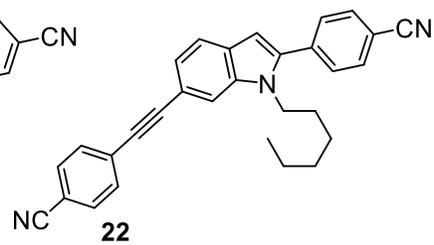
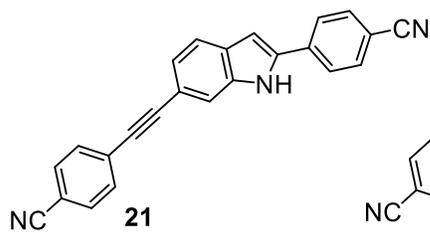
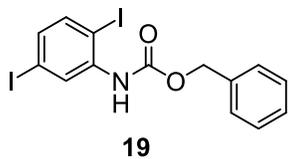
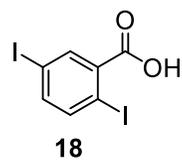
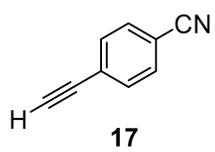
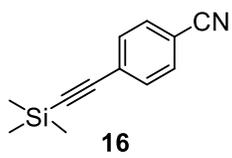
Figura 1. a) Diagrama de Jablonski y su correlación con b) Espectros de absorción y c) Espectros de emisión.....	11
Figura 2. Moléculas fluorescentes comunes.....	13
Figura 3. Rendimientos cuánticos de algunos hidrocarburos aromáticos en etanol.	13
Figura 4. Relajación del estado electrónico excitado con un disolvente polar.	14
Figura 5. Espectros de emisión de trans-4-dimetilamino-4'-(1-oxobutil)estilbeno en: (a) ciclohexano, (b) tolueno, (c) acetato de etilo y (d) butanol.	15
Figura 6. Comparación entre un proceso de absorción lineal de un fotón de UV (400 nm) y la absorción no lineal de dos fotones de infrarrojo (800 nm).....	16
Figura 7. Diseño estructural de moléculas que absorben dos fotones.....	17
Figura 8. Grupos donadores de electrones comunes.	18
Figura 9. Grupos puente π para la conjugación electrónica.	18
Figura 10. Grupos electro atractores usados en el diseño de fluoróforos de absorción de dos fotones.	19
Figura 11. Estructura zwitteriónica de una pirrolilescuaraina.....	20
Figura 12. Mecanismo de reacción propuesto por Sprenger y Ziegenbein. .	20
Figura 13. Productos obtenidos durante las reacciones de escuarainas.	21
Figura 14. Polimerización bis(pirrol-2-il)escuarainas.	22
Figura 15. Diversos derivados de escuarainas funcionales.....	24
Figura 16. Espectro de absorción de la SQ 13 con concentraciones de BSA que varían de 0 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$	25
Figura 17. Detección de Hg^{2+} por la escuaraina EX.	26
Figura 18. Estrategia de modificación estructural de indoles fluorescentes para obtener derivados capaces de absorber dos fotones.....	27
Figura 19. Dipirrolilescuaraina usada en la detección de cáncer colorrectal.	27
Figura 20. Bis(indolil)escuarainas objetivo de este trabajo.....	28

Figura 21. Ejemplo de una escuaraína fluorescente.....	29
Figura 22. Síntesis de <i>N</i> -alquil indoles 2-5.	31
Figura 23. Síntesis del indol 7.....	32
Figura 24. Ciclo catalítico de la reacción de Suzuki del 5-bromoindol con el ácido(4-dimetiamino)fenilborónico.	33
Figura 25. Reacciones para obtener bis(3-indolil)escuaraínas 8-13	34
Figura 26. Espectro de RMN de ¹ H de los compuestos 4 y 10 (400 MHz, CDCl ₃).	35
Figura 27. Espectro de RMN de ¹ H en CDCl ₃ a 400 MHz de la escuaraína 9, muestra señales en la región 1-5.5 ppm que no corresponden a la estructura.....	36
Figura 28. Síntesis de la escuaraína 15 usando encapsulación con beta ciclodextrina.	38
Figura 29. Espectro de RMN de ¹ H del indol 14 y la escuaraína 15 en DMSO-d ₆	39
Figura 30. Escuaraína 13, derecha excitación a λ= 365nm; izquierda excitación en la región visible.....	40
Figura 31. Bis(indolil)escuaraína 9 en estado sólido y en solución con CH ₂ Cl ₂	40
Figura 32. Estructura de la bis(indolil)escuaraína 23.	41
Figura 33. Síntesis del alquino 17.....	41
Figura 34. Ciclo catalítico de la reacción de Sonogashira para la obtención del alquino 16	42
Figura 35. Reacción de desprotección para obtener el compuesto 17	43
Figura 36. Síntesis del indol 22 y bis(indolil)escuaraína 23	44
Figura 37. Espectro de RMN de ¹ H del compuesto 23 a 400 MHz en CDCl ₃	45
Figura 38. Espectro de RMN de ¹³ C del compuesto 23 a 400 MHz en CDCl ₃	45
Figura 39. Bis(indolil)escuaraína 23 en disolución con cloroformo a) 2 min después de su preparación b) 30 min después c) emisión de fluorescencia por excitación a 365nm.	46

Figura 40. Síntesis de bis(indolil)escuaráina 25.	46
Figura 41. Espectro de emisión de 9 en solución en THF por irradiación con un láser a diferentes longitudes de onda en el intervalo de 680-810 nm.	47
Figura 42. Espectro de emisión del compuesto 9 en estado sólido.	48
Figura 43. Espectro de emisión del indol 21 en solución de THF con un láser de diferentes longitudes de onda.	48
Figura 44. Espectro de absorción ultravioleta del indol 21 y la escuaráina 23	49
Figura 45. Solución de Bis(indolil)escuaráina 12 en DMSO y decoloración después de irradiación solar por lapsos de 4 minutos.	50
Figura 46. Graficas de absorción de una solución de 12 en DMSO a diferentes tiempos de exposición a la luz solar.....	50
Figura 47. Bis(indolil)escuaráina 15.....	51
Figura 48. Graficas de absorción de una solución de la escuaráina 15 en DMSO a diferentes tiempos de exposición a la luz solar.	51

ÍNDICE DE COMPUESTOS





ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS

ADN	ácido desoxirribonucleico
Å	Angstrom
TsCl	cloruro de tosilo
E	coeficiente de extinción molar o absortividad molar
J	constante de acoplamiento
CCF	cromatografía en capa fina
$\Delta \lambda_{ST}$	desplazamiento de Stokes
DMSO	dimetilsulfóxido
DME	dimetoxietano
D	doble
dd	doble de doble
equiv.	equivalentes
TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
°C	grados Celsius
G	gramos
Hex	hexilo
H	horas
IR	infrarrojo
λ_{abs}	longitud de onda de absorción
λ_{em}	longitud de onda de emisión
MHz	mega Hertz
µL	microlitros
Mg	miligramos
S_n	nivel electrónico
T₁	triplete
mL	mililitros
Mmol	mili moles
Min	minutos
M	molar
µ	momento dipolar

DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
nm	nanómetros
Ns	nanosegundos
NBS	<i>N</i> -bromo succinimida
ppm	partes por millón
Pf	punto de fusión
Q	quíntuple
Φ	rendimiento cuántico
RMN de ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono trece
RMN de ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
δ	sección cruzada de absorción multifotónica,
δ	desplazamiento químico
S	segundos, señal simple
Sa	señal ancha
THF	tetrahidrofurano
TMS	tetrametilsilano
t	triple
TsCl	cloruro de 4-toluenosulfonilo
UV	ultravioleta
UV-Vis	ultravioleta visible
GM	unidades Göpper-Mayer

1 INTRODUCCIÓN

1.1 FLUORESCENCIA Y FOSFORESCENCIA

La absorción de fotones que sufre una molécula, átomo o ion al ser irradiada con luz de la energía suficiente puede provocar que un electrón que ocupa un estado electrónico basal pase a ocupar orbitales vacíos de mayor energía. En el estado electrónico excitado la especie química pierde el exceso de energía mediante diferentes eventos como vibraciones, rotación y por colisiones, o por la transferencia de la energía de excitación a otras moléculas; cuando ninguno de estos procesos es eficiente, entonces ocurre la emisión de luz para que la molécula regrese al estado basal.¹ La emisión de luz se denomina luminiscencia y puede ocurrir por dos mecanismos: fluorescencia² y fosforescencia.³

La descripción de estos eventos se puede ilustrar con el diagrama de Jablonski (Figura 1).⁴ La excitación electrónica es muy rápida (10^{-15} s) y promueve a un electrón apareado de un orbital de baja energía del estado basal S_0 a un nivel electrónico de alta energía S_n manteniendo su espín (sentido de giro) electrónico. Mediante un proceso de vibraciones electrónicas llamado conversión interna el electrón pierde energía hasta alcanzar el primer estado electrónico excitado S_1 manteniendo su espín. La emisión de luz desde este estado electrónico ocurre rápidamente (10^{-9} s) y se denomina fluorescencia. Dependiendo de la longitud de onda que emita el compuesto fluorescente es posible observar diferentes colores. El fragmento estructural responsable de absorber fotones para producir la excitación electrónica y la emisión de luz se denomina fluoróforo. En ocasiones, el electrón apareado del estado electrónico excitado S_1 lleva a cabo la inversión de su espín y pasa a ocupar un estado electrónico denominado triplete (T_n), a este proceso se le llama intercruce de sistemas y ocurre cuando los estados triplete tienen un nivel de energía cercano al estado S_1 . La emisión de luz desde el estado triplete T_1 al estado basal S_0 es mucho más lenta (puede durar desde microsegundos hasta minutos) y se denomina fosforescencia.⁵ También es posible que los electrones de los estados T_n regresen al estado S_1 y desde aquí emitan fluorescencia, a este fenómeno se le denomina fluorescencia retardada.⁶ Ambos fenómenos no son excluyentes y algunos compuestos emiten simultáneamente fluorescencia y fosforescencia. La

población total de moléculas en varios estados electrónicos de energía similar participa en los fenómenos de absorción y emisión y produce espectros con señales anchas que se deben al promedio de las poblaciones activas.

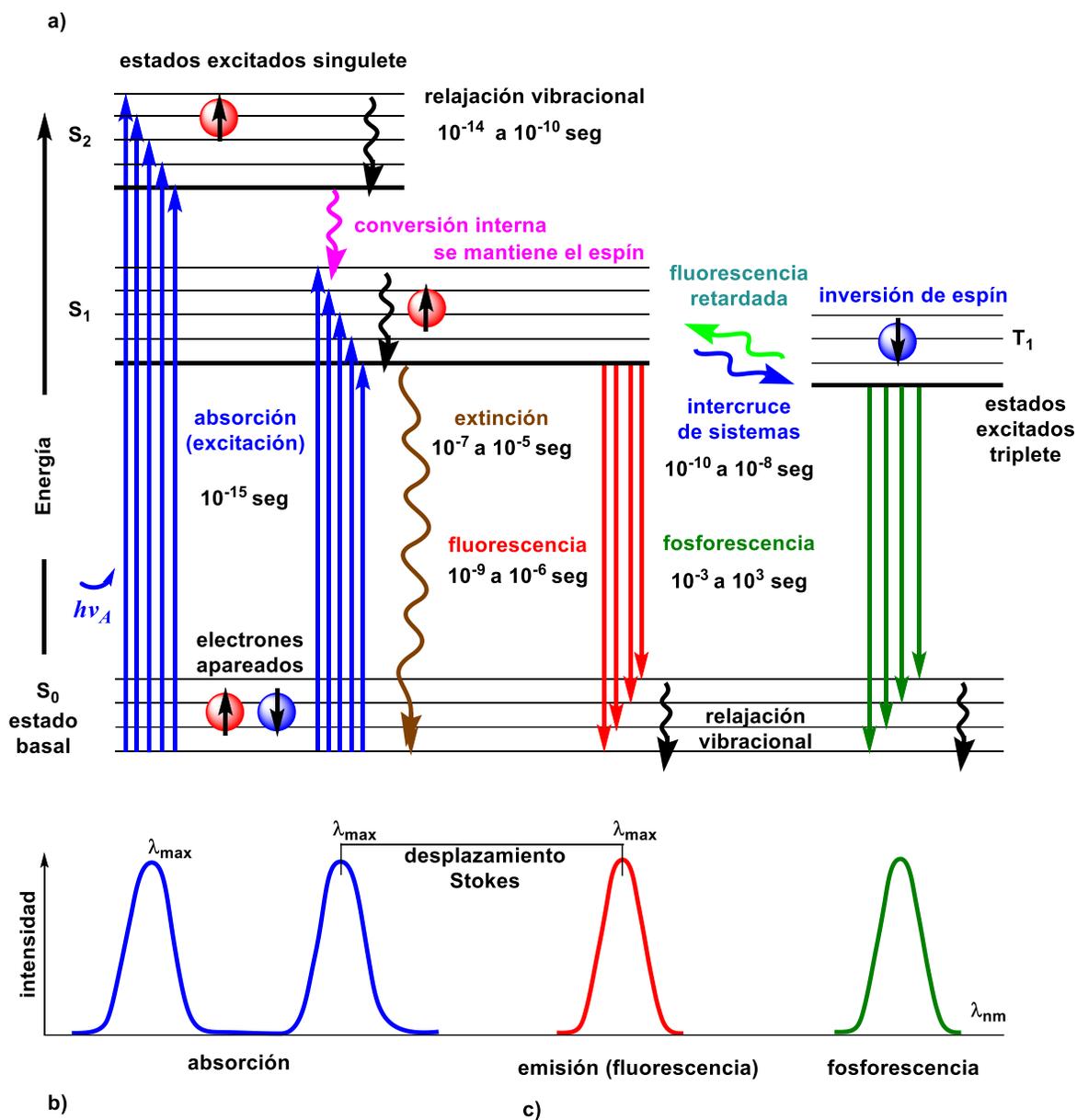


Figura 1. a) Diagrama de Jablonski y su correlación con **b)** Espectros de absorción y **c)** Espectros de emisión.

1.2 MOLÉCULAS FLUORESCENTES

La rigidez estructural limita el decaimiento no radiativo y promueve la fluorescencia. Las moléculas fluorescentes tienen en su estructura sistemas electrónicos extendidos poblados con electrones fácilmente excitables. La fluorescencia generalmente ocurre en moléculas altamente conjugadas que contienen anillos aromáticos, enlaces múltiples y grupos donadores o átomos con electrones no compartidos, así como grupos atractores de electrones que participan en la conjugación.⁷

El primer fenómeno de fluorescencia fue descrito en 1560 por Bernardino de Sahagún, el compuesto responsable de este fenómeno, “inusual” en aquella época, es la matlalina, un producto de la oxidación de los flavonoides que se encuentran en la madera de algunas especies de árboles como *Pterocarpus indicus* y *Eysenhardtia polystachy*. Años más tarde se reportó el mismo fenómeno de luminiscencia en otros compuestos como fluoritas, clorofila y la quinina. Es interesante hacer notar que el descubrimiento de la quinina (Figura 2) estimuló el desarrollo del primer espectrómetro de fluorescencia que apareció en 1950. Cuando el agua tónica que contiene dicho compuesto se expone a radiación ultravioleta emite luz azul con una longitud de onda de 450 nm.⁸ Existen muchos compuestos de origen natural y sintético que exhiben fluorescencia y que tienen aplicaciones prácticas. Por ejemplo, como colorantes en anticongelantes (fluoresceína,⁹ verde; rodamina B¹⁰ rojo-anaranjado), también se ha reportado el uso de compuestos fluorescentes en la medición de contaminación ambiental por hidrocarburos aromáticos como el antraceno¹¹ y el perileno,¹² la tinción del ADN en células con naranja de acridina,¹³ el estudio de eventos celulares con la piridina 1¹⁴ y el uso de la rodamina B en láseres.¹⁵

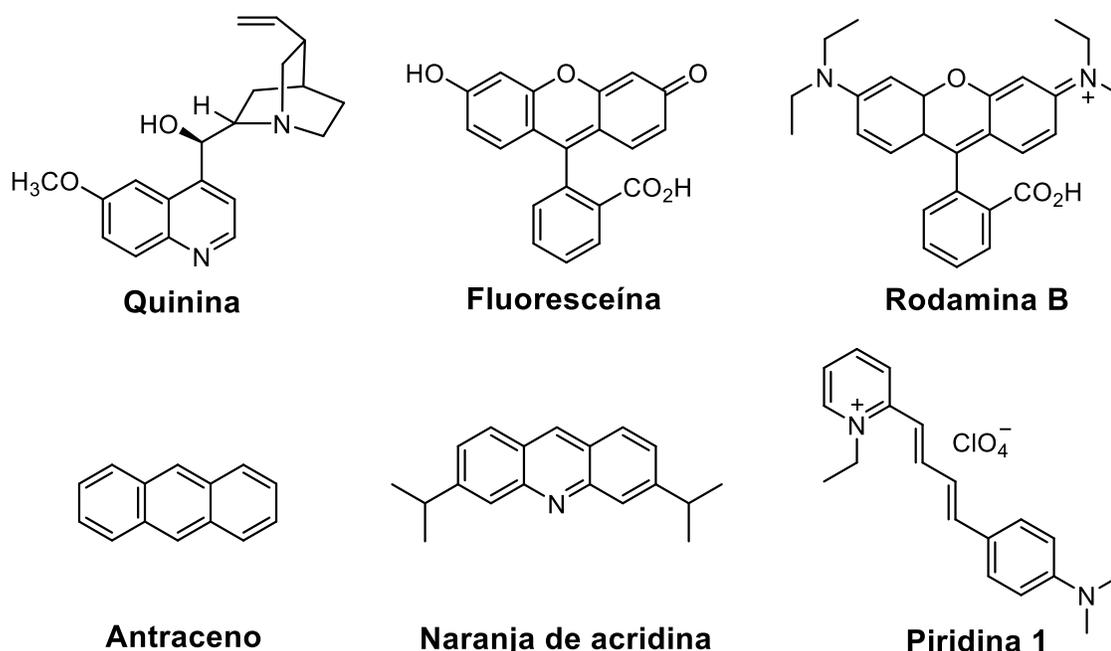


Figura 2. Moléculas fluorescentes comunes.

La eficiencia del mecanismo de fluorescencia se determina por el rendimiento cuántico (Φ) que es la relación de los fotones emitidos relativo al número de fotones absorbidos¹⁶ que por definición va de 0 a 1 y se ve favorecido por la planaridad y extensión de la conjugación en la molécula y la rigidez estructural que limita los movimientos atómicos y disminuye la pérdida de energía del estado excitado por procesos térmicos.¹⁷ Se citan algunos ejemplos de los rendimientos cuánticos de hidrocarburos aromáticos (Figura 3).

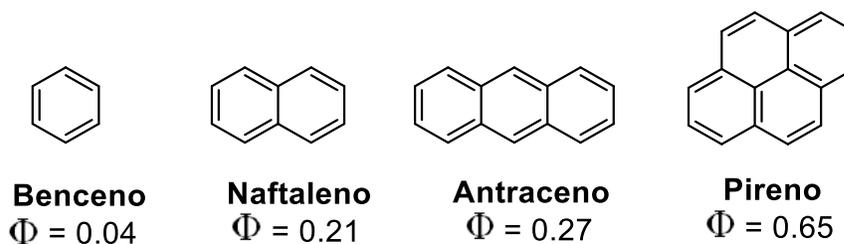


Figura 3. Rendimientos cuánticos de algunos hidrocarburos aromáticos en etanol.

La emisión de fluorescencia generalmente ocurre a longitudes de onda mayor (de menor energía) respecto a la luz usada en el proceso de excitación. Esto es consecuencia de la pérdida de energía desde los estados excitados S_n hasta el

estado S_1 por el proceso de conversión interna. El estado S_1 pierde rápidamente la energía vibracional excesiva por interacción con el disolvente (Figura 4). Típicamente, un fluoróforo posee un momento dipolar más grande en el estado excitado (μ_E) que en el estado fundamental (μ_G) porque la densidad electrónica se polariza. Por lo tanto, las moléculas de un disolvente polar pueden reorientarse o relajarse alrededor del estado excitado μ_E y esto desplaza la emisión a energía más baja (mayor frecuencia). Este efecto se hace más grande a medida que aumenta la polaridad del disolvente, lo que da como resultado emisiones a energías más bajas (longitudes de onda más largas). En general, los fluoróforos más polares muestran mayor sensibilidad a la polaridad del disolvente. En cambio, la fluorescencia de las moléculas no polares, como los hidrocarburos aromáticos no sustituidos, es menos sensible a la polaridad del disolvente.^{18,19}

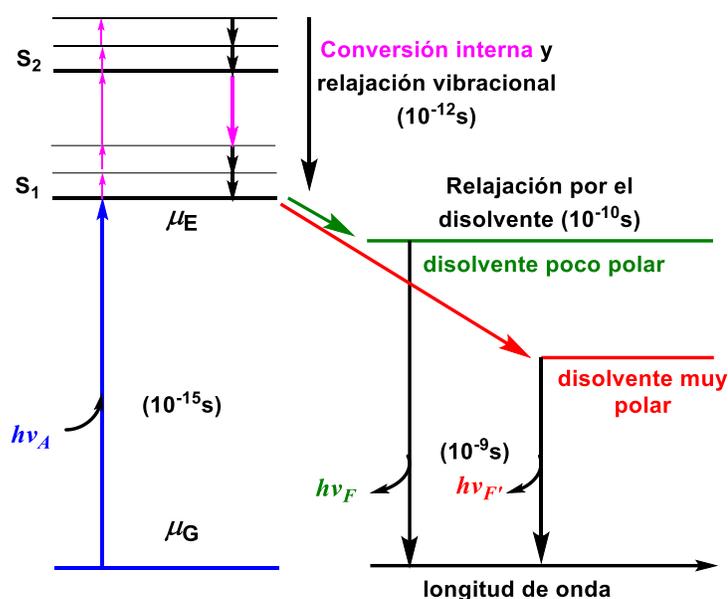


Figura 4. Relajación del estado electrónico excitado con un disolvente polar.

El tiempo de vida de la fluorescencia 1-10 nanosegundos (10^{-9} s) suele ser más largo que el tiempo requerido para la relajación con el disolvente. Los espectros de emisión corresponden a un fluoróforo emisor expuesto a un entorno de moléculas de disolvente relajadas y orientadas de acuerdo al momento dipolar del estado excitado. Como la absorción de la luz ocurre muy rápido, 10^{-15} s en comparación de la relajación con el disolvente (10^{-12} s) la molécula queda prácticamente expuesta

al mismo entorno local en los estados basal y excitado y los espectros de absorción son menos sensibles a la polaridad del disolvente.²⁰

En la Figura 5 se muestran los espectros de emisión del *trans*-4-dimetilamino-4'-(1-oxobutil)estilbena en disolventes de diferente polaridad. En ellos se observa que los espectros de emisión cambian drásticamente a longitudes de onda más largas a medida que la polaridad del disolvente aumenta de ciclohexano a butanol.²¹ La sensibilidad a la polaridad del disolvente se debe a la polaridad que confieren los grupos donadores y aceptores de electrones; en el estado excitado hay una transferencia de carga desde el grupo amino (donador) hacia el carbonilo (aceptor) dando como resultado un cambio del momento dipolar en el estado excitado. Las moléculas del disolvente polar se orientan de acuerdo a este momento dipolar para reducir la energía del estado excitado. Estos cambios espectrales se usan para estimar la polaridad del fluoróforo.^{22, 23}

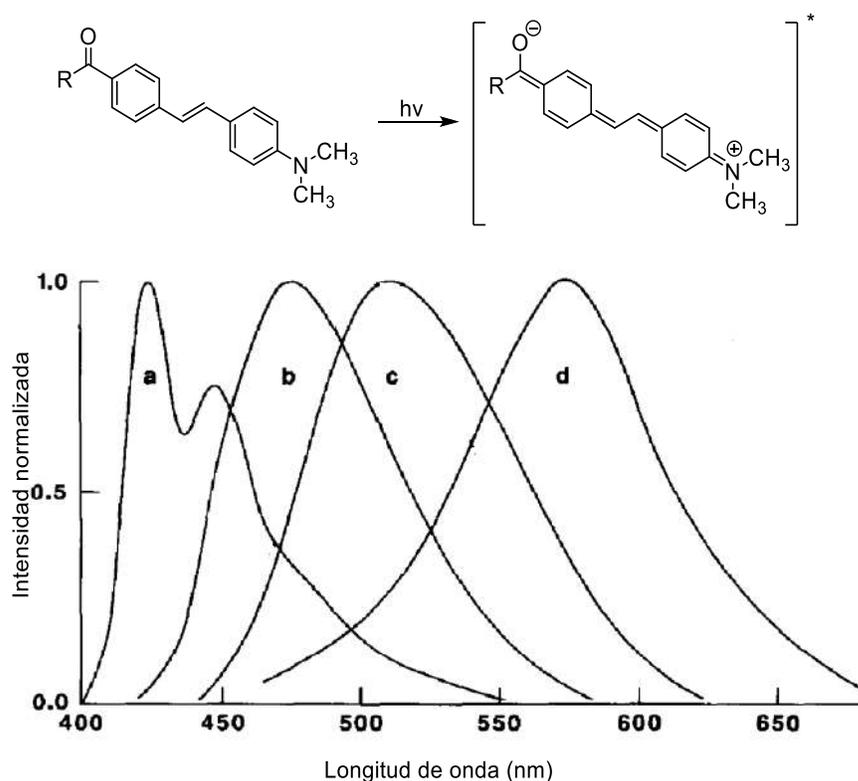


Figura 5. Espectros de emisión de *trans*-4-dimetilamino-4'-(1-oxobutil)estilbena en: (a) ciclohexano, (b) tolueno, (c) acetato de etilo y (d) butanol.

1.3 ABSORCIÓN DE DOS FOTONES

En la mayoría de moléculas orgánicas la excitación electrónica que permite el proceso de fluorescencia se puede llevar a cabo por la absorción de un fotón de luz ultravioleta o incluso visible. La excitación ocurre cuando la energía del fotón absorbido coincide con la diferencia de energía entre el estado basal (S_0) y un estado excitado (S_n).²⁴ En algunas moléculas la misma transición electrónica puede llevarse a cabo por un proceso de absorción simultánea de dos fotones de luz infrarroja (Figura 6).²⁵ La luz infrarroja es ideal para observar células y tejidos vivos por microscopia de fluorescencia porque no daña a las células, penetra el tejido a mayor profundidad y las biomoléculas como las proteínas y el ADN no absorben dos fotones por lo que no causan interferencia.^{26,27,28}

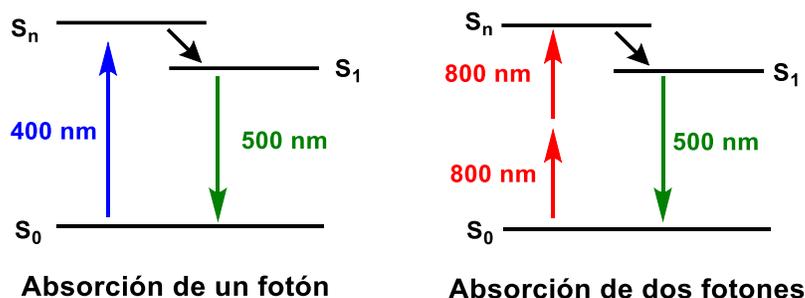


Figura 6. Comparación entre un proceso de absorción lineal de un fotón de UV (400 nm) y la absorción no lineal de dos fotones de infrarrojo (800 nm).

Es esencial que las moléculas orgánicas tengan una propiedad denominada sección cruzada de absorción multifotónica (δ) para que puedan presentar la absorción de dos fotones.²⁹ La magnitud de la sección cruzada es dependiente de la intensidad de la luz de irradiación y de la polarización del estado excitado respecto al estado basal. La densidad electrónica del estado excitado se reubica dentro de la molécula, en comparación con el estado basal, generando la formación de nuevos polos de carga positiva y negativa.^{30,31}

Debido a que la fluorescencia es dependiente de la intensidad de la luz se utilizan microscopios cuya fuente de radiación es un láser de luz visible o infrarrojo, el foco óptico del microscopio es la única zona que produce fluorescencia, lo que contribuye a la obtención de imagen de alta resolución espacial.³² Las moléculas

Los fragmentos estructurales más comunes que se han empleado como donadores de electrones contienen anillos aromáticos sustituidos con átomos de nitrógeno como anilinas, pirroles y carbazoles (Figura 8). Los fragmentos π que sirven como puente para extender la conjugación entre los donadores y los aceptores son por lo general anillos de benceno, bifenilo, fluoreno, naftaleno, pireno, grupos vinilo y acetileno (Figura 9).^{37,38}

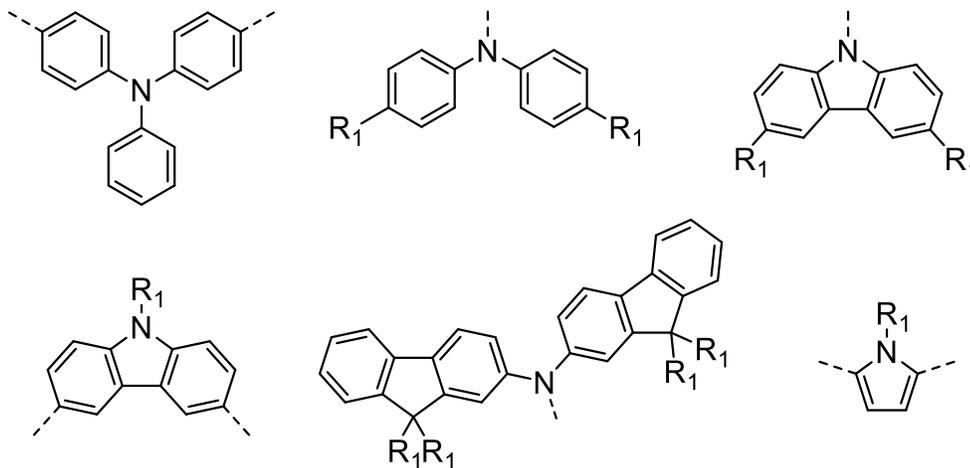


Figura 8. Grupos donadores de electrones comunes.

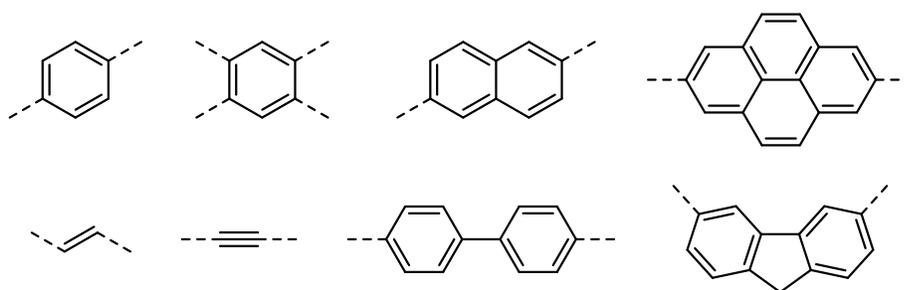


Figura 9. Grupos puente π para la conjugación electrónica.

Además, existe una amplia variedad de fragmentos con grupos electronegativos que se han usado como aceptores de electrones (Figura 10). Otros factores interfieren en el fenómeno de la fluorescencia: la temperatura, el pH y la presencia de oxígeno. La temperatura incrementa el número de choques moleculares y fomenta la desactivación de las moléculas excitadas a través de procesos no radiativos, el pH también puede modificar las estructuras químicas y producir cromóforos activos o inactivos. Por otra parte, el paramagnetismo que

presenta la molécula de oxígeno tiende a desactivar cualquier estado excitado por efecto de oxidación fotoquímica de las especies fluorescentes, provocando cruzamiento intersistemas y conversiones de las moléculas excitadas al estado triplete, por lo que es deseable la ausencia total o concentraciones mínimas de oxígeno en solución.

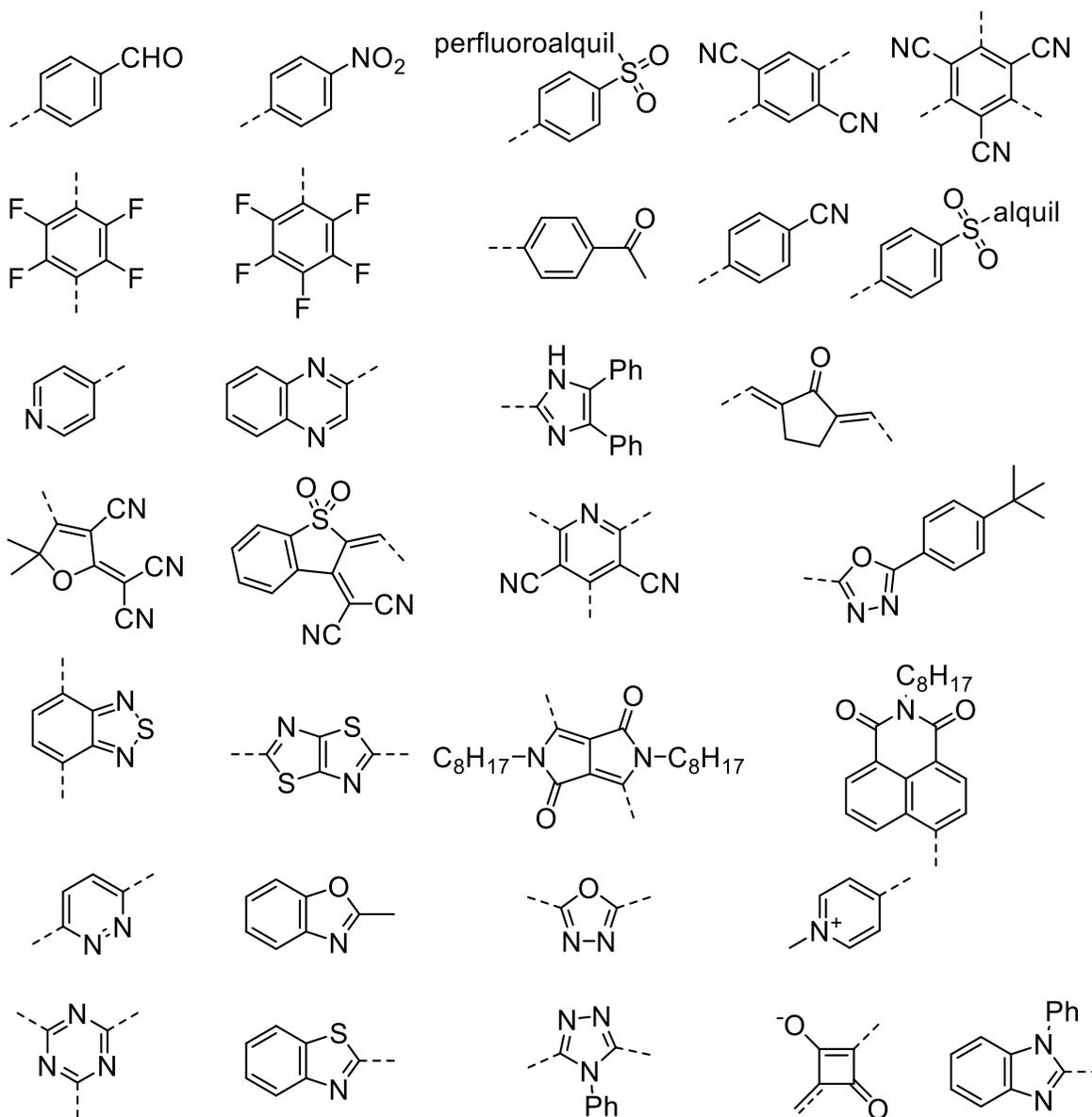


Figura 10. Grupos electro atractores usados en el diseño de fluoróforos de absorción de dos fotones.

2 ANTECEDENTES DE ESCUARAÍNAS

La obtención de bioimagen molecular mediante sondas fluorescentes de absorción de dos fotones es considerada una tecnología de rápido desarrollo motivado por las numerosas aplicaciones biomédicas que son posibles. En consecuencia, la fabricación de nuevas sondas fluorescentes de absorción de dos fotones es un atractivo y prometedor campo de investigación actual. Las escuaraínas son una familia de cromóforos que exhiben propiedades fotofísicas únicas que se han estudiado desde la década de 1960. Estas propiedades las confiere una estructura molecular zwitteriónica altamente deslocalizada de electrones (Figura 11). Las escuaraínas se obtienen como producto de las reacciones de condensación de un equivalente de 3,4-dihidroxi-3-ciclobuteno 1,2-diona (ácido escuárico) con dos equivalentes de un sustrato rico en electrones (árenos o heterociclos) en disolución de una mezcla de tolueno-butanol, con la eliminación azeotrópica de agua con una trampa de Dean Stark (Figura 12).

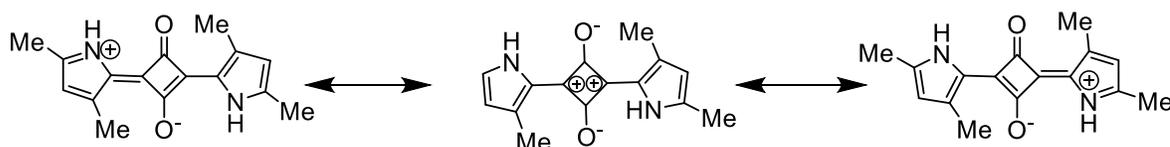


Figura 11. Estructura zwitteriónica de una pirrolilescuaraína.

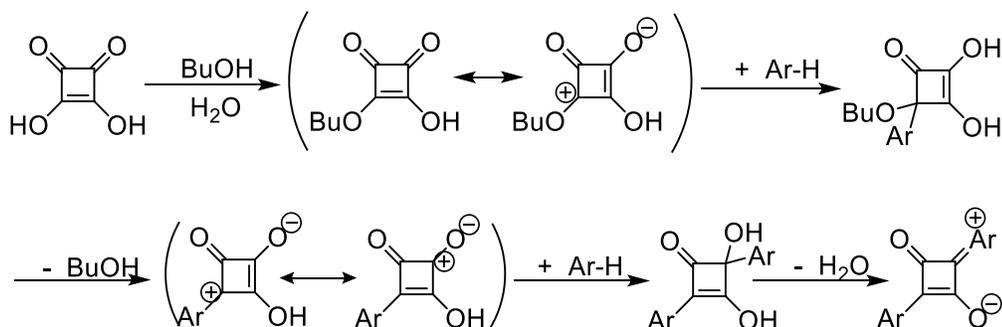


Figura 12. Mecanismo de reacción propuesto por Sprenger y Ziegenbein.

El mecanismo de la reacción de condensación comúnmente aceptado (Figura 12) implica la activación del ácido escuárico por la acción del butanol usado como disolvente, así se forma una monobutil escuaraína por la pérdida de una molécula de agua, después se lleva a cabo la condensación del primer derivado rico en

electrones (Ar-H) al atacar al carbonilo del ácido escuárico, lo cual conduce a la formación de una semiescuaraína intermedia (Figura 13, EIII). Este intermediario pierde butanol y la condensación del segundo equivalente de la molécula rica en electrones proporciona el compuesto final (EIV) con la eliminación de agua. Cabe señalar que la reacción de la semiescuaraína con el segundo equivalente de la contraparte rica en electrones no es completamente regioselectiva y se puede formar una cierta cantidad de escuarilo producto de la condensación 1,2 (EI) y la escuaraína 1,2,3 trisustituída (EII) además de una mezcla de productos de la reacción del disolvente con el anillo central de escuaraína, polimerización y hasta los famosos agregados H e incluso la semiescuaraína sin reaccionar. Esto puede convertir el aislamiento de los derivados de escuaraína en una actividad desafiante. De acuerdo a su estructura las escuaraínas se pueden clasificar en dos grupos: simétricas y asimétricas; las simétricas tienen los mismos grupos donadores de electrones en cada lado de núcleo de oxociclobutenolato.³⁹

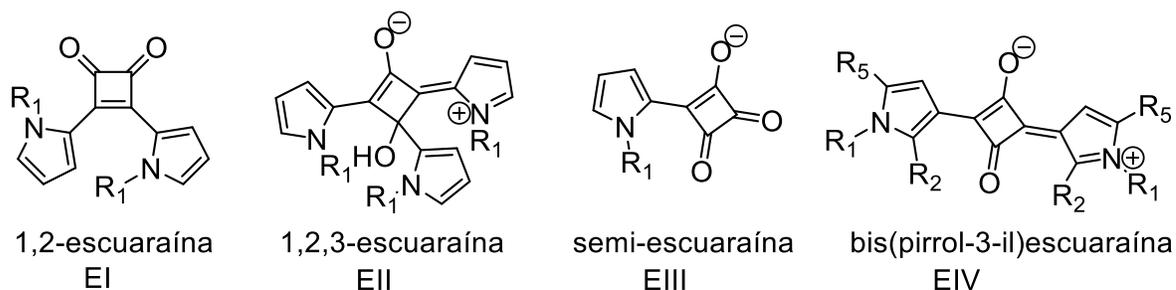


Figura 13. Productos obtenidos durante las reacciones de escuaraínas.

El término “escuaraína” sólo se utiliza para los productos de la 1,3-dicondensación, porque el producto 1,2 isomérico no tiene carácter zwitteriónico. Inicialmente, las escuaraínas se sintetizaban bajo atmosfera de nitrógeno o argón y se utilizaban disolventes como ácido acético o incluso benceno, actualmente se utilizan butanol y etanol. La mayoría de las reacciones se llevaban a cabo en una concentración de ácido escuárico menor a 0.06 molar con tiempos de reacción entre las 16-24 horas. Los datos experimentales disponibles revelan que los rendimientos de reacción varían ampliamente con la formación de una porción significativa de compuestos indeseados no identificados descritos como "polímeros". Además, las

pirrolil escuarainas se pueden polimerizar si las posiciones α del pirrol están libres (Figura 14).

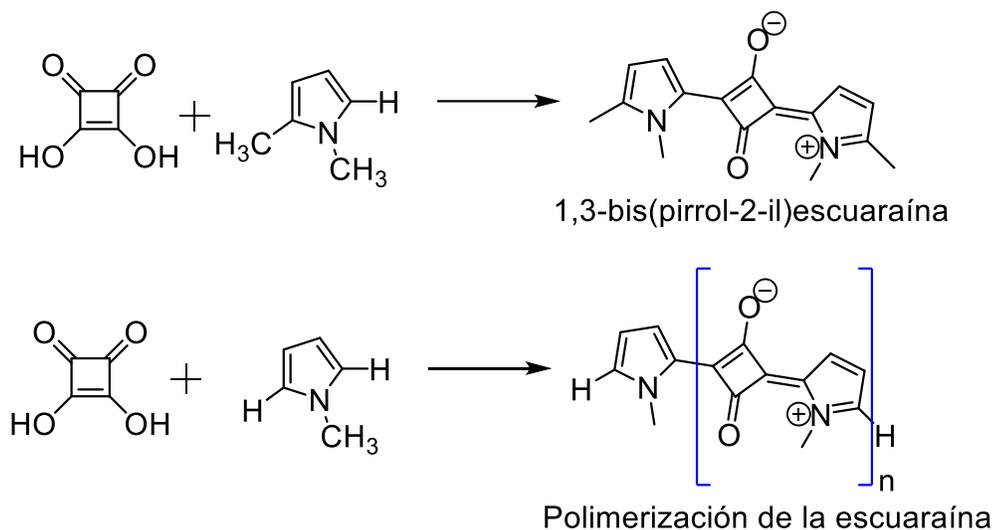


Figura 14. Polimerización bis(pirrol-2-il)escuarainas.

Aunque no existen estudios sobre la toxicidad de las escuarainas y su efecto en la salud humana, algunos experimentos preliminares de cultivo bacteriano mostraron que las escuarainas no inhiben el crecimiento de bacterias. Las estructuras cristalinas de cuatro escuarainas simétricas derivadas del pirrol muestran la configuración trans y la distancia promedio de los enlaces C-C del grupo central de ciclobuteno es de 1.465 Å, también los enlaces C=O muestran ser muy estrechos con una distancia promedio de 1.239 Å.

Estudios teóricos y espectroscópicos han llevado a la conclusión de que tanto el estado fundamental como el excitado aceptan la transferencia de carga de los grupos donadores de electrones de la molécula.⁴⁰ Las escuarainas asimétricas y simétricas en solución en disolventes orgánicos poseen colores muy intensos que varían del púrpura al rojo y exhiben intensa absorción y emisión de fluorescencia entre 620-670 nm con pequeños desplazamientos de Stokes (10-30 nm) y tienen Φ moderado (0.30). Al variar los grupos donadores y extender el sistema π en la molécula la longitud de onda de absorción se puede desplazar hasta 850 nm. Cuando el cromóforo se encuentra en disolución interactúa con las moléculas de

disolvente de tal manera que producen complejos soluto-disolvente y la fuerza de interacción depende del carácter de transferencia de carga D-A-D.

En contraste, en estado sólido el intervalo de absorción de las escuarainas, 550-900 nm, es muy amplio. Esto sucede porque las escuarainas tienden a formar agregados que exhiben fuertes interacciones de transferencias carga intermolecular. Además, son capaces de formar conjuntos supramoleculares, compuestos por múltiples subunidades ordenadas y unidas a través de enlaces no covalentes como fuerzas de Van der Waals o por apilamiento $\pi - \pi$, interacciones hidrofóbicas y/o hidrofílicas, enlaces de hidrogeno y fuerzas electrostáticas. En consecuencia, es muy probable que las escuarainas formen agregados denominados de tipo H o J mediante fuertes interacciones de apilamiento π - π debido a sus estructuras rígidas y planas. Cuando las moléculas se agregan en paralelo con un apilamiento de plano a plano forman agregados H, mientras que un apilamiento de cabeza a cola de las moléculas puede generar agregados J. Para determinar el tipo de agregado que forman se utiliza la espectroscopia de absorción y se compara el desplazamiento de absorción entre la forma monomérica y la agregada: los agregados H se caracterizan por tener desplazamiento al azul y los agregados J muestran desplazamiento al rojo.

Scherer reportó el primer estudio de indolilescuarainas como materiales potenciales con absorción de dos fotones (2PA) y obtuvo una sección transversal de absorción de dos fotones de 5000 GM. Por su parte, Michael Buschel y colaboradores estudiaron la química redox de las bis-(pirrolil)-escuarainas mediante voltametría cíclica con la finalidad de explotar sus propiedades para el diseño de dispositivos optoelectrónicos (Figura 15, EV).⁴¹ Debido a su gran capacidad de absorción de dos fotones las escuarainas además sirven como fotosensibilizadores en la terapia fotodinámica que se basa en la fotooxidación de material biológico para la destrucción de células cancerosas.⁴²

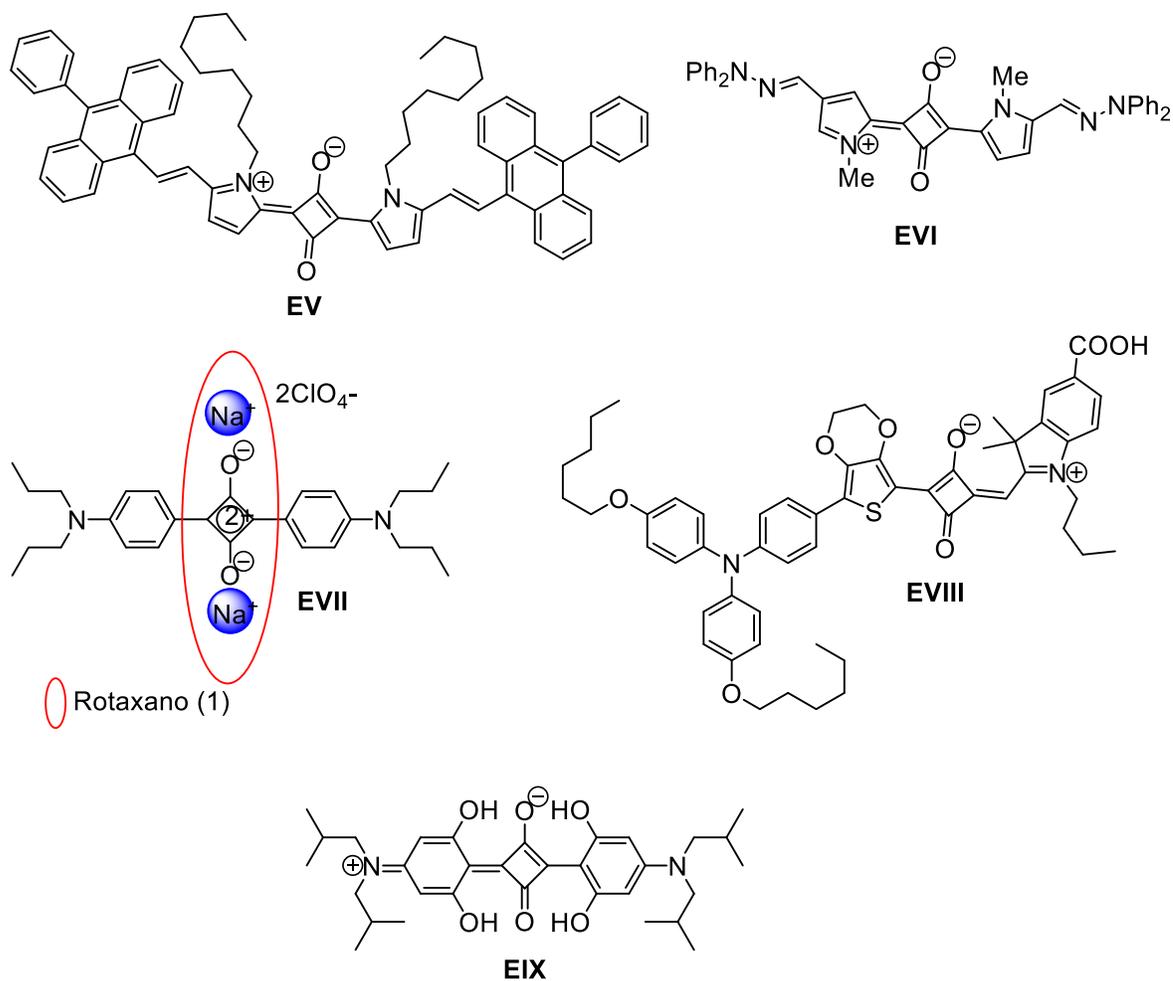


Figura 15. Diversos derivados de escuraiñas funcionales.

Las escuraiñas son especialmente susceptibles al ataque en el grupo carbonilo por nucleófilos fuertes, lo que conlleva la pérdida de las propiedades ópticas. Este efecto se ha observado principalmente en solución frente a nucleófilos como aminas y tioles, incluso con etanol y otros alcoholes durante los procesos de síntesis. Los estudios de Sheng Yao Hsueh demostraron que la formación de rotaxanos protege los grupos carbonilo de las reacciones con nucleófilos (Figura 15 EVII).⁴³ Las escuraiñas también se han utilizado como materiales fotoactivos en sistemas de conversión de energía solar a eléctrica. Jheng Ying Li reportó escuraiñas asimétricas (Figura 15 EVIII) que pueden convertir fotones de baja energía (~1.9 eV) en electricidad para fabricar celdas solares. Para esta aplicación la brecha de niveles de energía entre las moléculas donantes y los aceptores de

electrones debe ser muy pequeña para lograr una separación de carga eficiente.⁴⁴ Estudios posteriores como el de Guo Chen referente a una serie de arilesquaraínas (EIX) que controlan la formación de agregados J y H sirven para formar celdas fotovoltaicas orgánicas (OPV).⁴⁵

Como se mencionó anteriormente, la fluorescencia de un compuesto depende del medio. Así, la bis(2,4,6-trihidroxifenil)escuaraina puede formar un complejo fluorescente de inclusión 2:1 con β -ciclodextrina (β -CD) en solución acuosa. En ausencia de β -ciclodextrina la fluorescencia de este compuesto se extingue. La encapsulación con β -ciclodextrina genera un entorno hidrófobo y una limitada rotación de la escuaraina, lo que intensifica la fluorescencia. Por otra parte, Suzuki y Yokoyama reportaron el uso de la escuaraina SQ 13 (Figura 16) como sensor de la proteína BSA (albúmina sérica bovina), la escuaraina actuó de forma no covalente con dicha proteína, mostrando un cambio observable de coloración naranja a púrpura intenso. Esta misma escuaraina exhibió respuesta a varias proteínas, lo cual es prometedor para el desarrollo de otros sensores para la detección de proteínas que compitan favorablemente con los que se encuentran disponibles comercialmente.⁴⁶

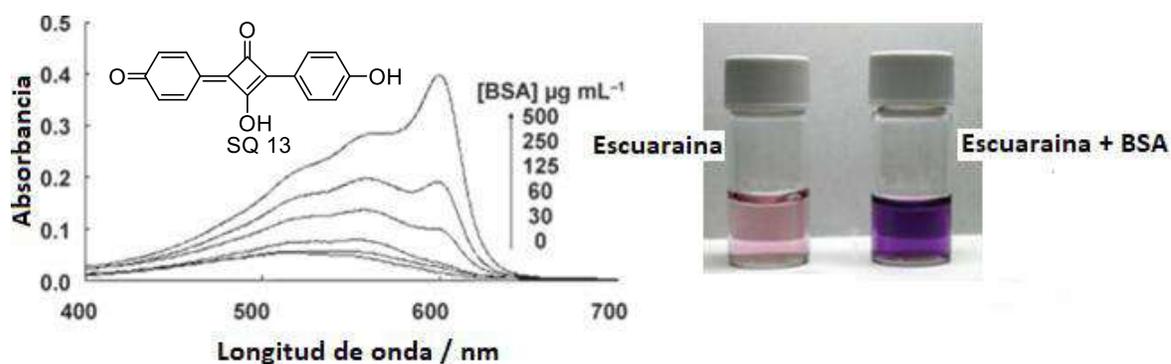


Figura 16. Espectro de absorción de la **SQ 13** con concentraciones de BSA que varían de 0 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Al incorporar en su estructura macrociclos, las escuarainas también se han adaptado como detectores fluorescentes que se "encienden" al enlazar iones tales como Hg^{2+} en medio acuoso,⁴⁷ por ejemplo el compuesto EX (Figura 17).

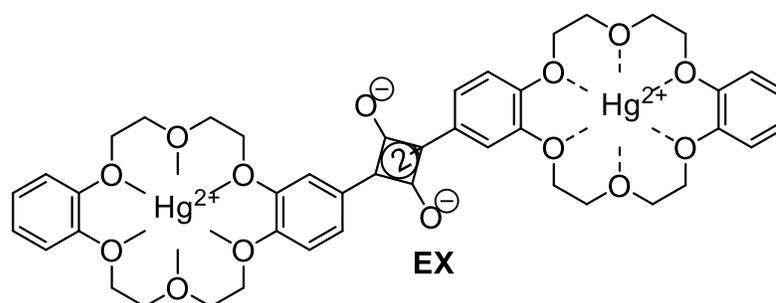


Figura 17. Detección de Hg^{2+} por la escuaraina **EX**.

Recapitulando, las escuarainas son objeto de intensa investigación que contribuye al desarrollo de nuevas tecnologías, de manera sobresaliente materiales de óptica no lineal en los cuales las moléculas exhiben propiedades como intensa fluorescencia y bandas de absorción desde el visible hasta la región de IR del espectro electromagnético. La mayoría de los estudios se han realizado en pirrolilescuarainas y son muy limitados los reportes con derivados de indol. El indol también puede llevar a cabo la sustitución electrofílica en la posición C-3 y podría dar lugar a nuevas moléculas bis(indolil)escuarainas con posible fluorescencia por absorción de dos fotones.

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Varios indoles de bajo peso molecular cuya estructura se ejemplifica por el compuesto **22** en la Figura 18 poseen altos rendimientos cuánticos de fluorescencia ($\Phi \sim 1$) pero absorben luz de longitud de onda 380-400 nm que no es compatible con la obtención de imagen de células vivas. Por tanto, resulta deseable modificar la estructura química de estos indoles por la incorporación de un grupo electro aceptor para obtener moléculas fluorescentes por absorción de dos fotones de infrarrojo (600-800 nm).

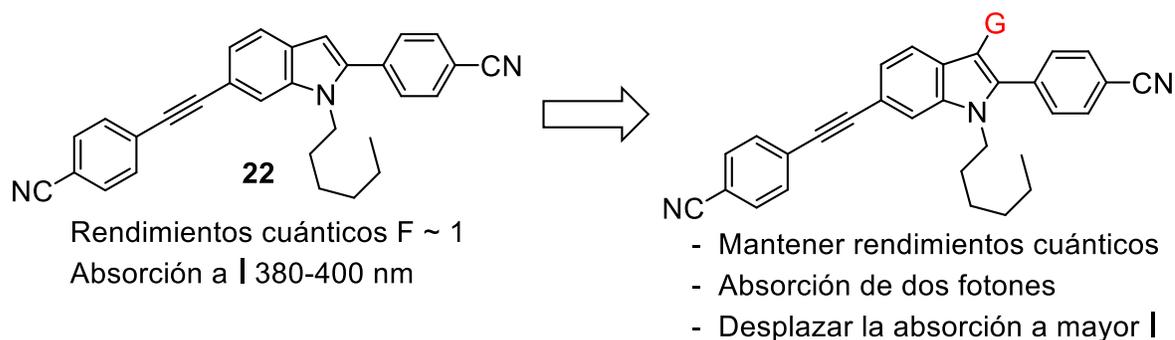


Figura 18. Estrategia de modificación estructural de indoles fluorescentes para obtener derivados capaces de absorber dos fotones.

Las escuarainas⁴⁸ presentan muchas de las propiedades necesarias para la absorción de dos fotones y se han utilizado en la microscopía de fluorescencia para observar diferentes constituyentes y eventos celulares o patologías, por ejemplo, la detección de cáncer con el derivado de pirrol que se muestra en la Figura 19.^{49,50} La principal característica física de estos compuestos es la intensa absorción de luz de longitud de onda de 550-700 nm (visible o infrarroja) que ocasiona la emisión de fluorescencia por el proceso de absorción de dos fotones.⁵¹

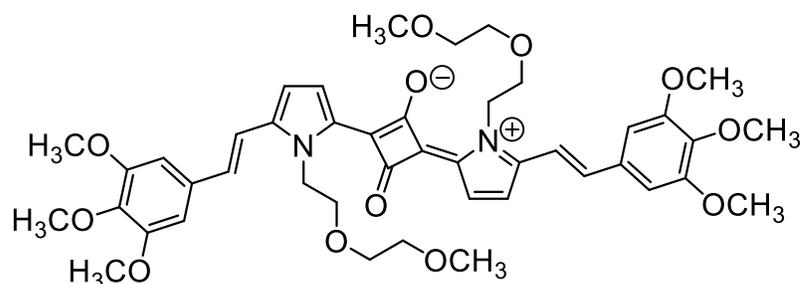


Figura 19. Dipirrolilescuaraina usada en la detección de cáncer colorrectal.

En base a estos antecedentes, en este trabajo se planteó preparar derivados de bis(indolil)escuaráinas de estructura general **15** y en particular utilizar la estructura de indoles fluorescentes previamente reportados para formar el compuesto **23** con el propósito de elaborar derivados fluorescentes capaces de absorber dos fotones de longitud de onda superior a 600 nm (Figura 20).

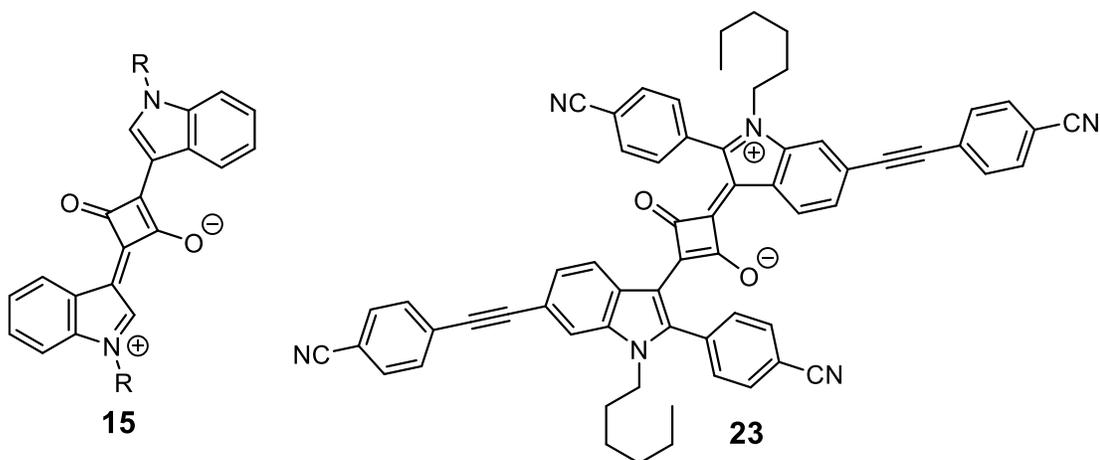


Figura 20. Bis(indolil)escuaráinas objetivo de este trabajo.

4 JUSTIFICACIÓN

La microscopia de fluorescencia por absorción de dos fotones permite obtener imagen celular de alta resolución espacial de tejidos vivos en tiempo real. La absorción de luz infrarroja es ideal para la obtención de imagen celular porque evita la dispersión de la luz, auto absorción y auto fluorescencia de las biomoléculas. Sin embargo, las moléculas fluorescentes tienen limitaciones como la solubilidad en agua, la fotoestabilidad, la toxicidad y baja brillantez debida a una sección cruzada de baja magnitud ($< 100 \text{ GM}$). Por tanto, es deseable obtener nuevos compuestos fluorescentes con mejores propiedades ópticas. Particularmente las escuarainas son una especie de compuestos que exhiben propiedades fotofísicas únicas con aplicación en la microscopia de fluorescencia, fabricación de celdas solares, terapia fotodinámica y quimio sensores (Figura 21). La intención de este trabajo de investigación es preparar bis(indolil)escuarainas como moléculas fluorescentes de tipo donador-aceptor-donador capaces de ser excitadas por la absorción de dos fotones de luz infrarroja para que puedan servir como plataforma estructural para elaborar sondas adecuadas para la obtención de imagen celular.

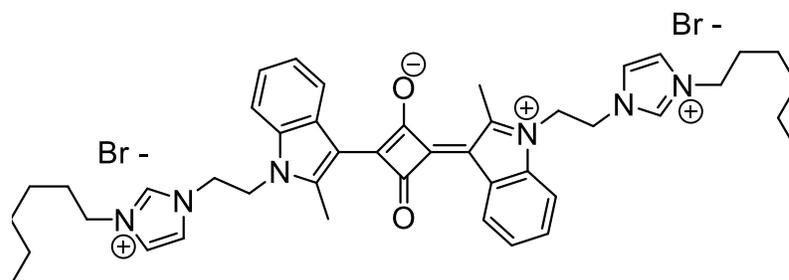


Figura 21. Ejemplo de una escuaraina fluorescente.

5 OBJETIVO GENERAL

Efectuar las reacciones de condensación de 3,4-dihidroxi-3-ciclobuten-1-diona con indol, un sistema rico en electrones, para obtener moléculas fluorescentes del tipo bis(indolil)escuarainas que puedan presentar absorción de dos fotones con potencial aplicación en la obtención de bioimagen por microscopia de fluorescencia.

5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar las moléculas de indol precursores de las bis(indolil)escuarainas.
- Sintetizar y caracterizar químicamente las bis(indolil)escuarainas.
- Determinar la longitud de onda de excitación de los compuestos finales por espectroscopia ultravioleta-visible.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 SÍNTESIS

A pesar del excelente carácter electrodonador del indol los ejemplos de bis(indolil)escaraínas reportados en la literatura aún son escasos⁵² en comparación a otros tipos de escaraínas en los cuales predomina el uso de anilinas, fenoles y pirroles.⁵³ Por lo tanto, se decidió efectuar la síntesis de bis(indolil)escaraínas y para este fin a partir del 5-bromoindol **1** se prepararon varios indoles *N*-sustituidos **2-5** con la finalidad de mejorar la solubilidad en disolventes orgánicos de los compuestos finales (Figura 22).

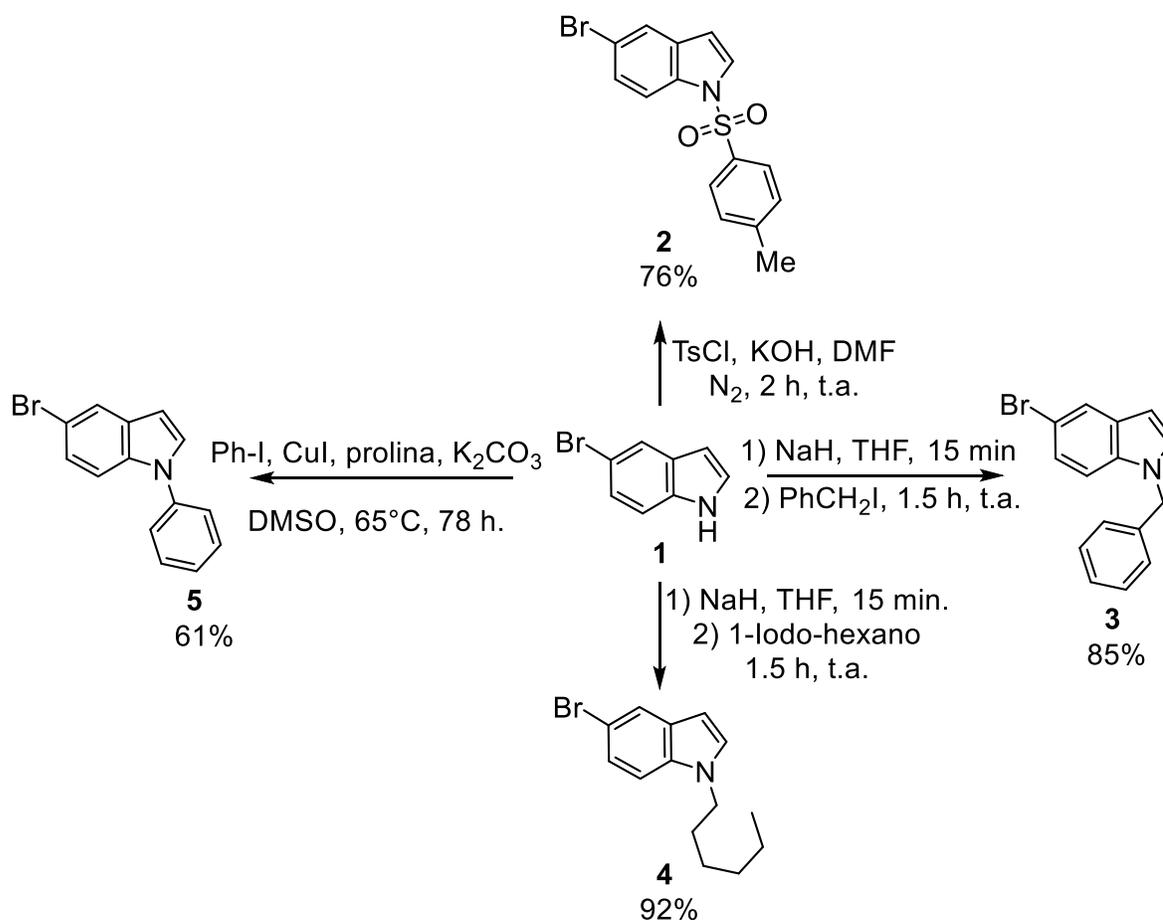


Figura 22. Síntesis de *N*-alquil indoles **2-5**.

La síntesis de **2-4** se efectuó por alquilación de la sal del indol **1** formada por la acción de NaH o KOH como base y posteriormente se agregó el agente alquilante. En el caso del compuesto **5** la arilación del indol con yodobenceno procedió bajo

catálisis de Cu(I). La estructura correcta de todos los compuestos se corroboró por RMN de ^1H ; así en el espectro del compuesto **3** se observaron las señales aromáticas esperadas del indol y grupo fenilo, además de una señal simple en 5.33 ppm (2H) correspondiente al $-\text{CH}_2$ del grupo bencilo; en el caso del compuesto **4** se observó la desaparición de la señal en 7.9 ppm correspondiente al N-H del 5-bromoindol y la aparición de señales en la región 4.24-0.91 ppm características de la cadena de hexilo. En el espectro del compuesto **5** se observaron señales en la región aromática de 6.6-7.6 ppm que corresponden a los 10 protones presentes en la molécula.

Los átomos de halógeno disminuyen la intensidad de la fluorescencia de un compuesto (denominado efecto del átomo pesado interno) debido a un aumento en la probabilidad de producir el cruzamiento entre sistemas singulete y triplete. Sin embargo, el átomo de bromo del indol **1** sirve para formar enlaces C-C y extender el sistema electrónico. Así que el átomo de bromo del indol **1** se utilizó para unir un grupo arilo al indol mediante una reacción de Suzuki con ácido(4-dimetilamino) fenilborónico y catalizada con paladio para obtener el compuesto **7** (Figura 23).

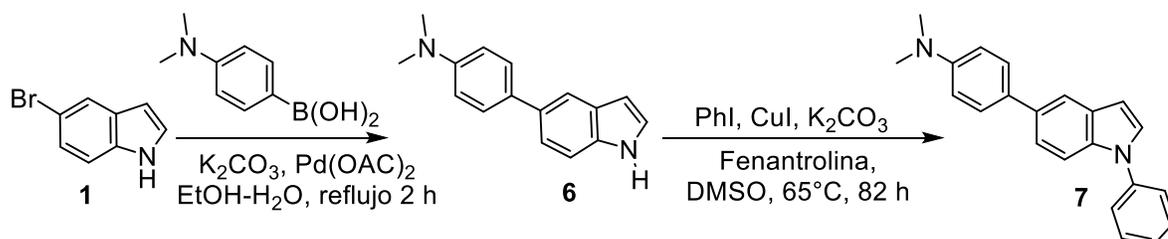


Figura 23. Síntesis del indol **7**.

El ciclo catalítico de esta reacción de acoplamiento cruzado (Figura 24) consta principalmente de tres pasos: el primero de ellos es la adición oxidativa del Pd^0 sobre el enlace C-Br del bromoindol **1**, generalmente se considera la etapa determinante de la velocidad de reacción. Esta etapa forma un compuesto organometálico de paladio (C3), su posterior reacción con la base (K_2CO_3) proporciona el intermediario (C4) que lleva a cabo una transmetalación con el complejo de borato (C6) producido por la reacción del ácido fenilborónico (C5) con la base. Esta etapa une a los dos grupos orgánicos al átomo de paladio (C8),

finalmente se lleva a cabo la eliminación reductora del Pd y la formación del nuevo enlace C-C (C9).

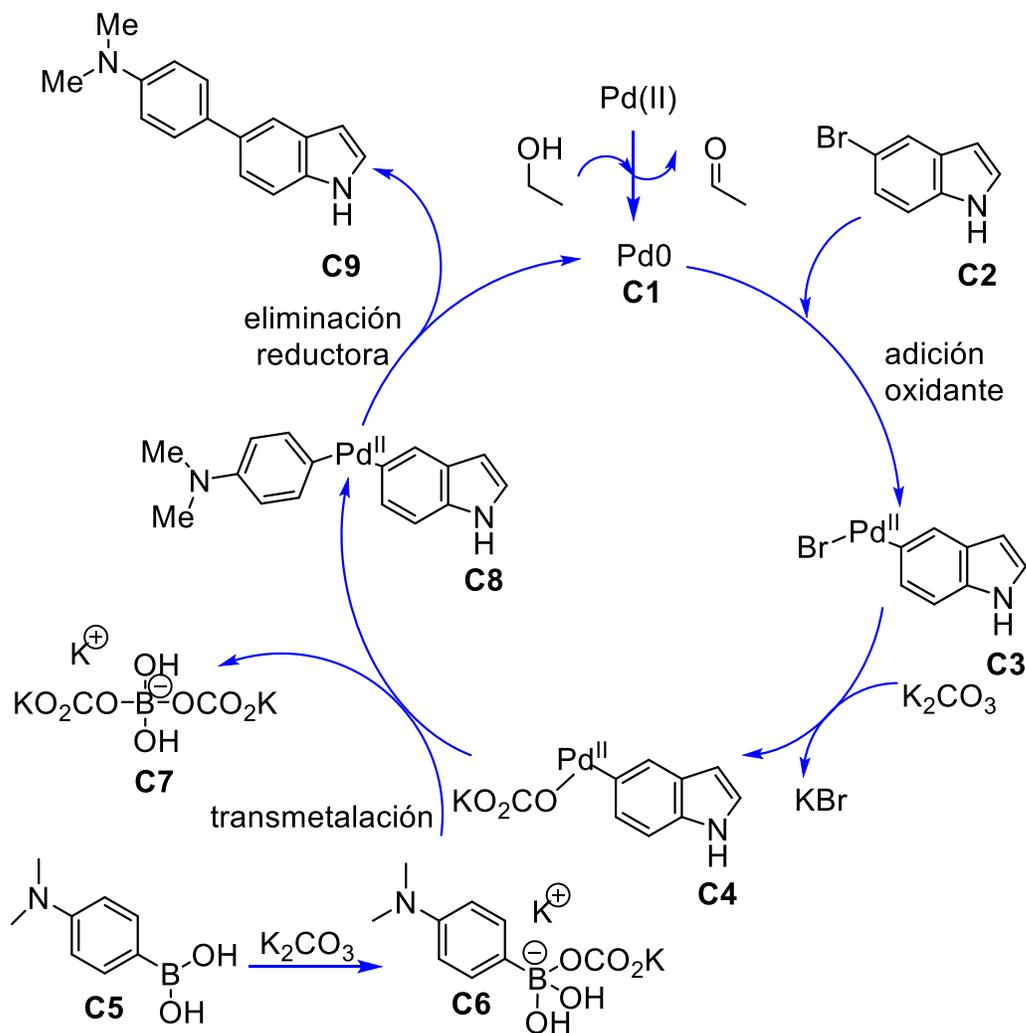


Figura 24. Ciclo catalítico de la reacción de Suzuki del 5-bromoindol con el ácido(4-dimetilamino)fenilborónico.

Obtenidos los indoles **2-7** se hicieron reaccionar con la 3,4-dihidroxi-3-ciclobuten-1-diona (ácido escuárico) en reflujo de una mezcla *n*-butanol-tolueno (1:1) mediante una reacción de condensación, para obtener las correspondientes bis(indolil)escuarainas **8-13** (Figura 25) con rendimientos que varían entre 58-71%.

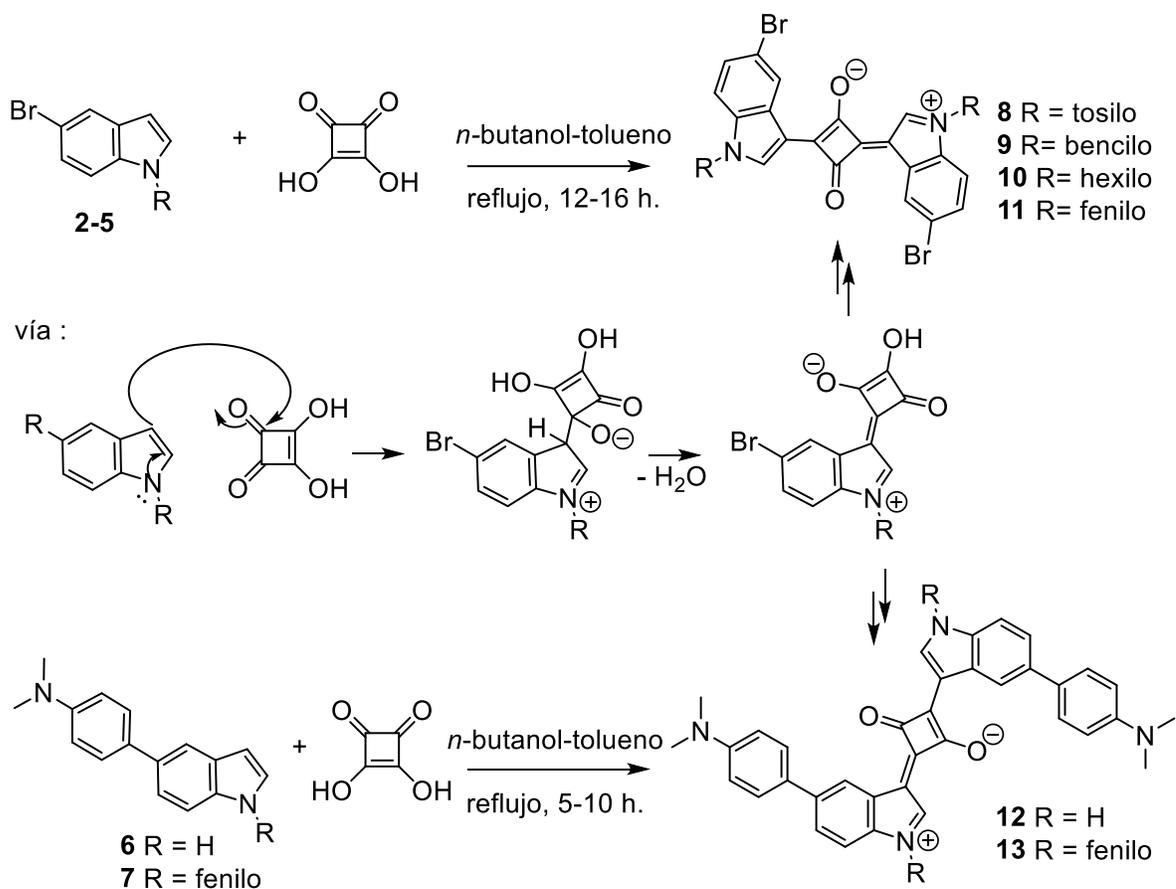


Figura 25. Reacciones para obtener bis(3-indolil)escuarainas **8-13**.

La reacción de condensación para obtener bis(indolil)escuarainas se puede considerar una sustitución electrofílica aromática en el indol que reacciona en la posición C-3 que es la más nucleofílica atacando a uno de los carbonos carbonílicos del ácido escuarico, la reacción procede por la pérdida de agua, correspondiente a uno de los oxígenos del ácido escuarico y forma el enlace indol-escuarato. Es posible que el ácido escuarico forme de manera reversible ésteres con el butanol antes de reaccionar con el indol, en cualquier caso, dos equivalentes de indol reaccionan sobre un anillo de escuarato.

Las escuarainas sintetizadas resultaron ser compuestos difíciles de aislar debido a la inestabilidad que presentan en solución como consecuencia de las reacciones laterales que experimentan. Es posible que se estén formando productos de apertura del anillo central de 4 miembros y que haya polímeros. Para abatir este problema se pensó que la incorporación de un grupo *N*-tosilo en el

fragmento de indol del compuesto **8** podría ayudar a la cristalización y aislamiento del compuesto sin necesidad de recurrir a otros métodos de purificación que implican la exposición de la escuaraina a condiciones no favorables para su estabilidad (luz, aire, etc.). Sin embargo, es evidente que el grupo *N*-tosilo desactiva electrónicamente al anillo de indol hacia la sustitución electrofílica con el ácido escuárico porque después de un prolongado tiempo de reacción (24 horas) no se observa formación de un nuevo compuesto. En la figura 26 se comparan los espectros del indol **4** (materia prima) y la escuaraina **10** (producto), donde se observa que la señal del protón etiquetado como 8 correspondiente a la posición 3 del indol se disipa, lo que indica la obtención del compuesto deseado. Además, el espectro del producto se observa un ligero desplazamiento de las señales hacia el campo bajo del espectro debido al efecto de apantallamiento de los oxígenos hacia los hidrógenos marcados como 7 y 8 en la molécula **10**.

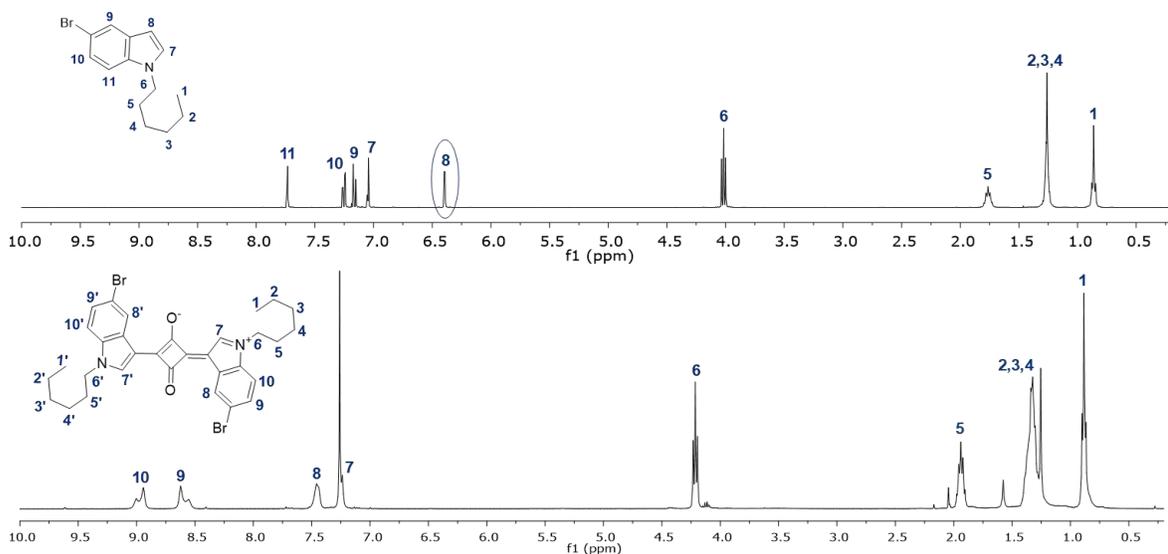


Figura 26. Espectro de RMN de ¹H de los compuestos **4** y **10** (400 MHz, CDCl₃).

Los grupos electrodonadores que contienen los indoles precursores **3-7** permitieron la formación de las escuarainas **9-13**. Sin embargo, los espectros de RMN de ¹H y ¹³C de estos compuestos muestran señales en la región de 1-5 ppm que no corresponden a la estructura del compuesto deseado (Figura 27). Los

intentos de purificación por cromatografía en placa fina y en columna resultaron infructuosos.

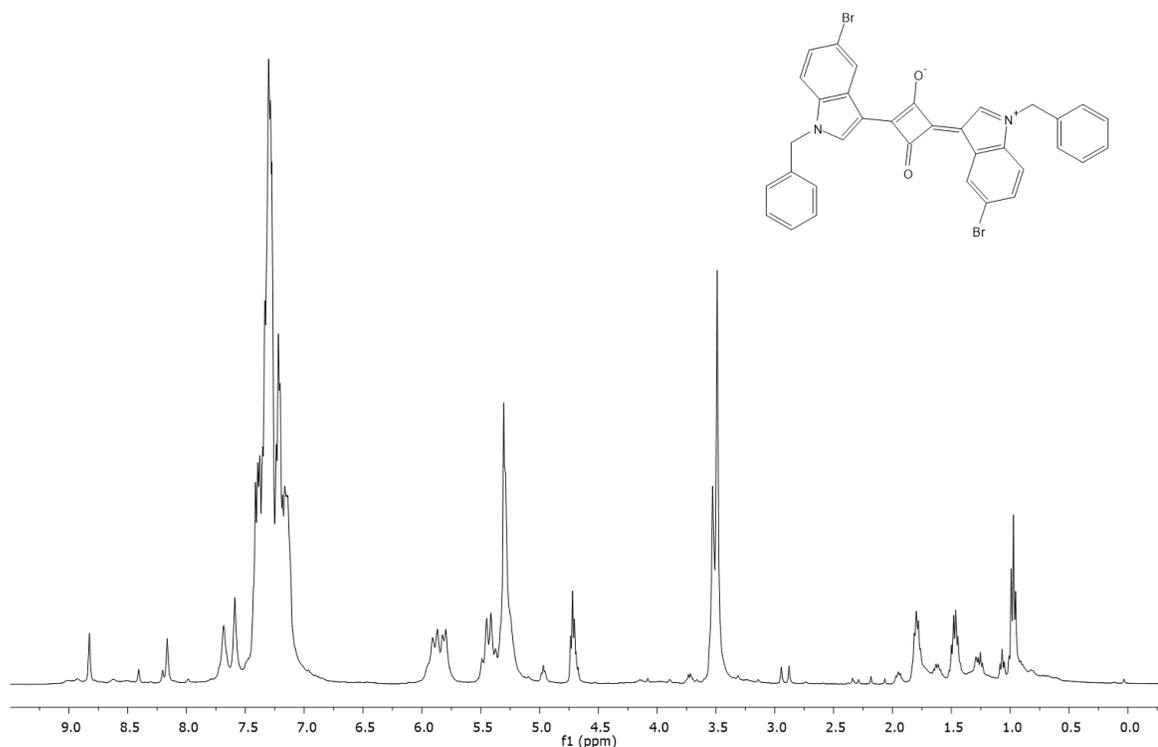


Figura 27. Espectro de RMN de ¹H en CDCl₃ a 400 MHz de la escuaraína **9**, muestra señales en la región 1-5.5 ppm que no corresponden a la estructura.

Resultados similares por la presencia de compuestos indeseados en el crudo de reacción con el resto de las escuaraínas complicó el aislamiento y la purificación de los productos, lo cual además influyó en la reproducibilidad de los rendimientos de reacción de los productos deseados. Con la necesidad de mejorar y reproducir los rendimientos de reacción se tuvieron que probar diferentes técnicas de aislamiento, las cuales se describen a continuación.

Precipitación y cristalización.

Se logró precipitar las escuaraínas de la mezcla de reacción por adición de éter etílico pero el material sólido obtenido no está puro y no se logró recrystalizar por difusión líquido-líquido pese a numerosos intentos y variadas condiciones. Con

el uso de otros disolventes como THF y hexano las escuaraínas tienden a degradarse lentamente en solución en la presencia de luz y aire, se observa que las soluciones de colores brillantes (rosa-purpura en los compuestos **9-12**, azul en el compuesto **13**) paulatinamente adquieren un color café, con la formación de material insoluble (que en la literatura se denomina "polímero") y los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se vuelven muy complejos. Sin embargo, las escuaraínas son solubles en disolventes halogenados como el cloroformo y diclorometano y se intentó infructuosamente recrystalizar el material a partir de estas soluciones porque también se observa descomposición. Por otra parte, la disolución de las escuaraínas en acetona caliente y cristalización por enfriamiento produjo material sólido de pureza variable, en algunos casos aceptable, pero no se puede calificar como una técnica de aplicación general.

Lavados y filtración.

Se hicieron lavados de los productos precipitados con diversos disolventes en los cuales las escuaraínas tienen una solubilidad limitada a temperatura ambiente tales como hexano caliente; etanol, ácido acético, incluso con agua (se obtiene una especie de material aglomerado que forma láminas). Sin embargo, ningún intento resultó realmente efectivo. Las muestras analizadas por RMN aún muestran señales no esperadas en los espectros. Entre los productos formados probablemente hay adición de butanol a los carbonos de carbonilo del anillo central de la escuaraína, la adición de nucleófilos como alcoholes, aminas y tioles al anillo de las escuaraínas está ampliamente documentado (Liu, 2019; Ma, 2019, Ros-Lis 2002). Además, se ha reportado que las reacciones laterales indeseadas son especialmente notorias en la formación de bis(indolil)escuaraínas (Lynch,2018).

Si realmente el disolvente interfiere con la formación selectiva de las escuaraínas se intentó llevar a cabo la formación de estas moléculas empleando mecano síntesis. Así, en ausencia de disolvente, dos equivalentes de indol **3** y uno de ácido escuárico se molieron manualmente en un mortero a temperatura ambiente. Invariablemente solo se obtuvo un sólido rosa tenue que al disolver en CDCl_3 para efectuar el análisis por RMN de ^1H adquirió rápidamente la coloración

café característica de la degradación del compuesto de interés. Se obtuvo el mismo resultado cuando la reacción se realizó sin disolvente a 80°C o incluso a reflujo empleando etanol como disolvente.

Otra técnica que se intentó para evitar las reacciones secundarias del anillo de ciclobutadieno y evitar la descomposición fue el encapsulamiento con beta ciclodextrina cuya cavidad tiene un diámetro de 6.5 Å y altura de 7.9 Å. Las ciclodextrinas son solubles en agua y forman una cavidad que les permite formar compuestos tipo anfitrión-huésped con moléculas hidrófobas mediante interacciones no covalentes. Así, el ácido escuárico se calentó a reflujo en la mezcla de disolventes *n*-butanol-tolueno durante una hora y después se agregó indol para obtener la bis(indolil)escuaraína **15** (Figura 28).

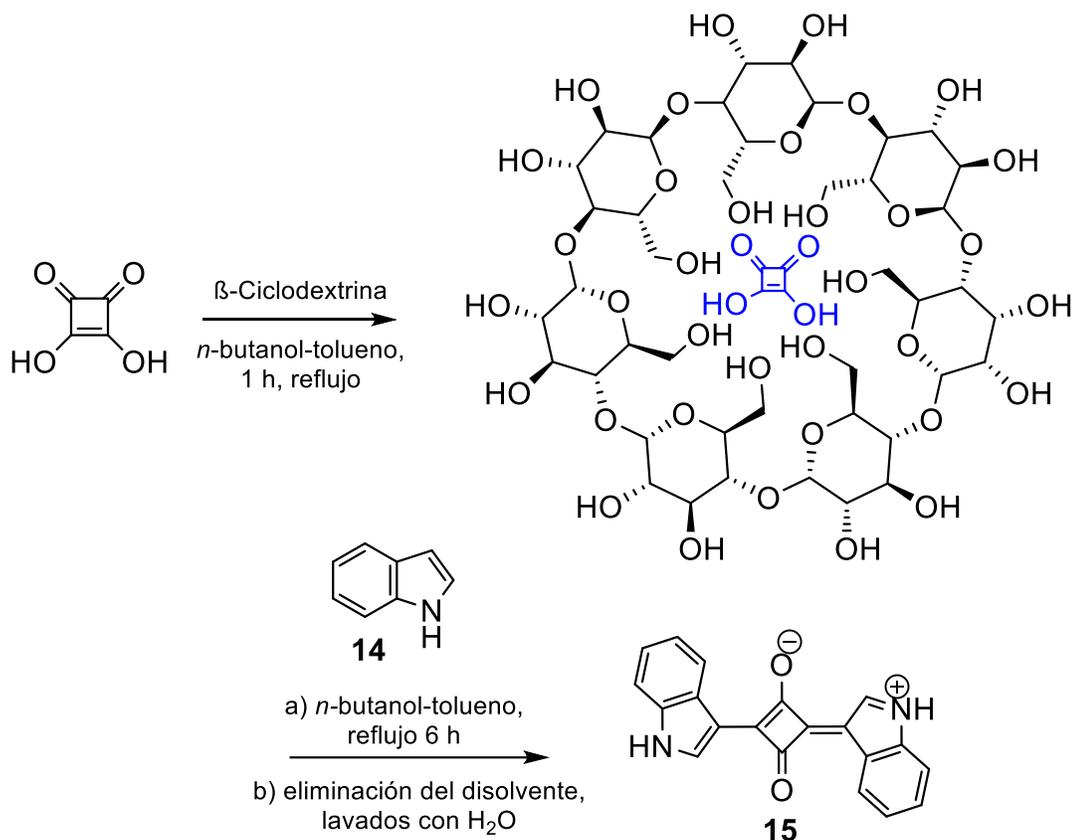


Figura 28. Síntesis de la escuaraína **15** usando encapsulación con beta ciclodextrina.

Con satisfacción se observó que el producto **15** se obtuvo totalmente puro, en el espectro de RMN ^1H (Figura 29) se observan únicamente las señales

correspondientes al compuesto de interés: la señal del H-3 del indol desaparece y no hay trazas de beta ciclodextrina que logra ser eliminada con simples lavados con agua.

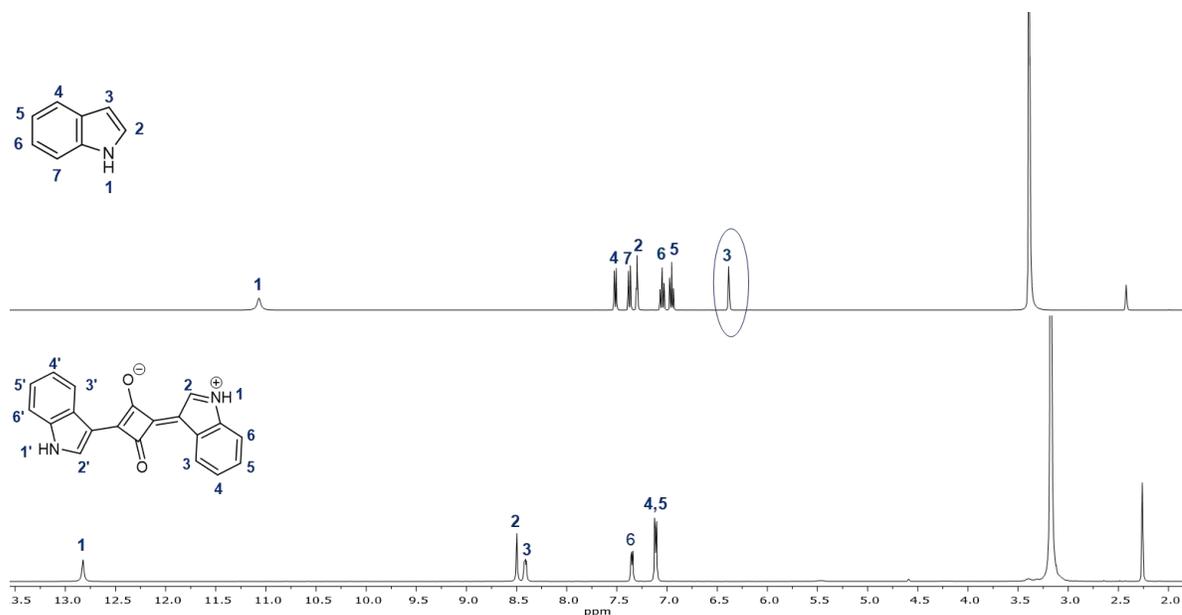


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H del indol **14** y la escuaraina **15** en DMSO-d_6 .

Sin embargo, cuando se intentó la síntesis de otras escuarainas usando indoles de estructura más compleja, por ejemplo el indol **7** que posee un grupo 4-(dimetilamino)fenil en la posición 6 y un grupo fenilo en la posición 1, se observó la disminución del efecto benéfico de la ciclodextrina en la pureza de los productos obtenidos. Esto probablemente sea debido a que la cavidad de la ciclodextrina ya no puede albergar compuestos de mayor tamaño molecular y se pierde parcialmente el efecto protector. Así en el espectro de RMN de ^1H de la correspondiente escuaraina **13** aún se observa la presencia de subproductos indeseables. Sin embargo, la estabilidad de la escuaraina en solución mejoró notablemente en comparación al método de preparación normal. Este compuesto tiene color azul y muestra absorción a 365 nm (Figura 30).



Figura 30. Escuaraína **13**, derecha excitación a $\lambda = 365\text{nm}$; izquierda excitación en la región visible.

Las escuaraínas obtenidas tienen propiedades físicas muy particulares. Por ejemplo, el compuesto **9** es un sólido de color verde metálico que en solución en diclorometano tiene un color rosa intenso (Figura 31). El color verde metálico del compuesto sólido es común en las escuaraínas y se debe a las interacciones de la luz con la superficie del sólido que forma plasmones que consisten en una oscilación colectiva de los electrones en los niveles electrónicos más altos de las moléculas por interacción con la luz,⁵⁴ esto logra concentrar el campo eléctrico de la luz en el entorno de las moléculas y se observan brillos metálicos que forman parte de las propiedades ópticas especiales que presentan este tipo de estructuras químicas.⁵⁵

56

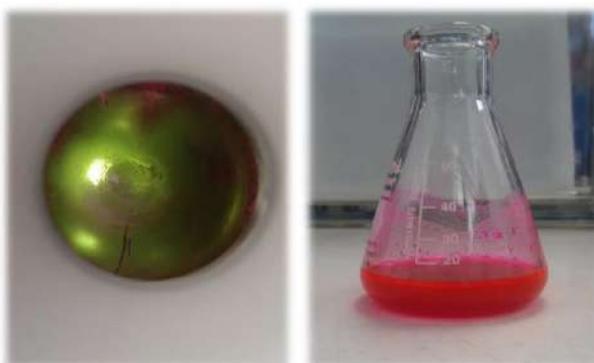


Figura 31. Bis(indolil)escuaraína **9** en estado sólido y en solución con CH_2Cl_2 .

Las escuaraínas **9-12** tienen color que varía de rosa-purpura y el compuesto **13** es azul debido a los cambios estructurales, por ejemplo, la extensión del sistema π conjugado y diferentes grupos sustituyentes cuya magnitud de efecto donador repercute en sus propiedades ópticas. Los compuestos color rosa-purpura (**9-12**)

absorben a longitud de onda de 400-450 nm y emiten fluorescencia a 560-600 nm, en cambio la escuaraina azul **13** absorbe radiación a 400-480 nm y emite fluorescencia a 600-640 nm.

Para continuar el trabajo sobre bis(indolil)escuarainas se repitió el trabajo experimental reportado en la tesis doctoral de Mariana Flores Jarillo (UAEH,2016) para obtener el compuesto **23** que tiene un sistema conjugado extendido sobre una estructura molecular más grande que permite una mayor polarización y en consecuencia un mayor potencial de absorción de dos fotones (Figura 32).

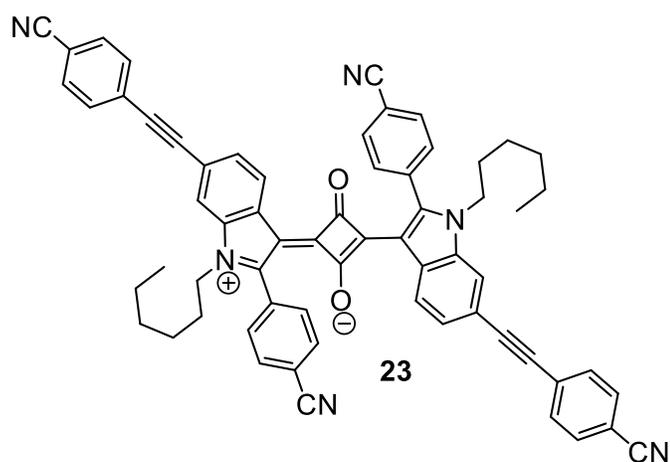


Figura 32. Estructura de la bis(indolil)escuaraina **23**.

Acorde a esto la síntesis de este compuesto inició con la preparación del arilalquino **17** por reacción de Sonogashira del 4-bromobenzonitrilo y TMS-acetileno y posterior desprotección (Figura 33).

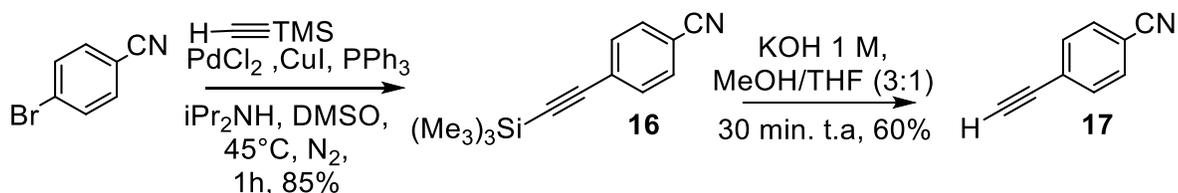


Figura 33. Síntesis del alquino **17**.

La reacción de Sonogashira es catalizada por Pd(0) y Cu(I). El Pd(II) que se usa se reduce a Pd⁰ por acción de las fosfinas o las aminas, presentes en el medio de reacción antes de entrar al ciclo catalítico que consta de tres etapas (Figura 34).

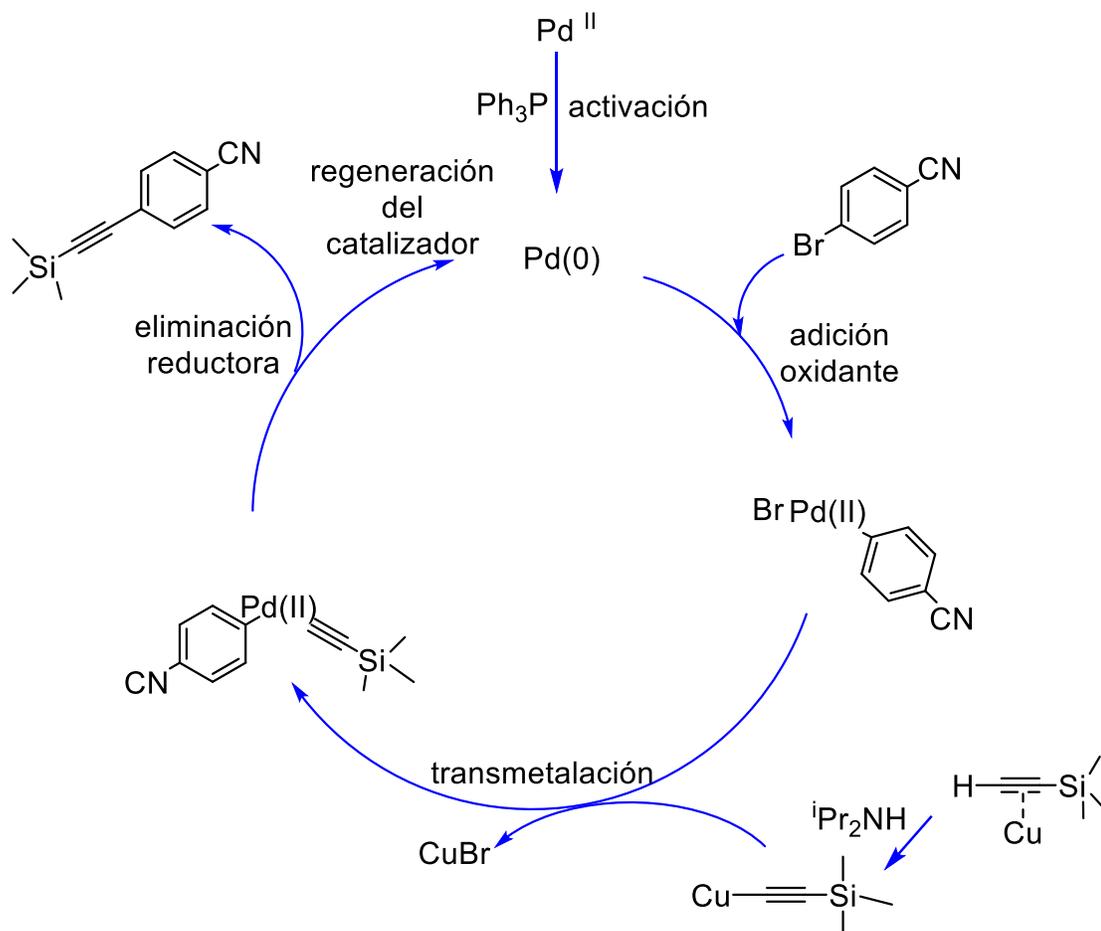


Figura 34. Ciclo catalítico de la reacción de Sonogashira para la obtención del alquino **16**.

La primera etapa es la adición oxidativa del $\text{Pd}(0)$ al enlace $\text{C}-\text{Br}$ del 4-bromobenzonitrilo, se considera que este es el paso determinante de la reacción. La segunda etapa es la transmetalación del grupo acetiluro desde el cobre al paladio. La $i\text{Pr}_2\text{NH}$ funciona como base para abstraer el protón del alquino coordinado con el cobre, lo que forma acetiluro de cobre. Este acetiluro sufre transmetalación del cobre al paladio para continuar el ciclo catalítico. Esta etapa resulta en la incorporación de los dos fragmentos orgánicos al $\text{Pd}(\text{II})$. Finalmente, la eliminación reductora forma el enlace $\text{C}-\text{C}$ del arilalquino **16** y regenera el catalizador de $\text{Pd}(0)$.

La desprotección del grupo acetileno por medio de la hidrólisis del grupo trimetilsililo con KOH en metanol ocurre por la adición de un ion hidróxido al átomo

de silicio se forma un ion silicato pentavalente que se fragmenta en $(\text{Me}_3)_3\text{SiOH}$ y un ion acetiluro que abstrae un protón del metanol para formar el arilacetileno **17** (Figura 35).

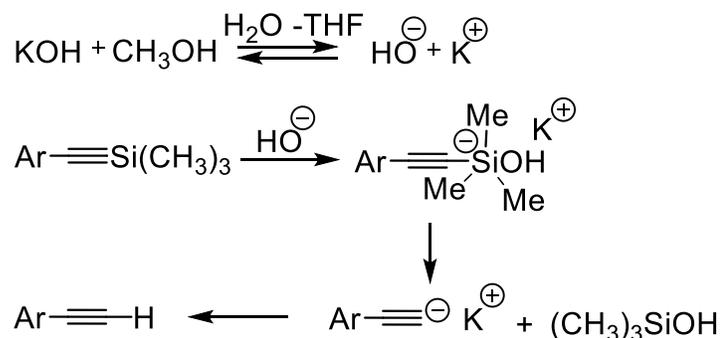


Figura 35. Reacción de desprotección para obtener el compuesto **17**.

A continuación, se realizó la dihalogenación del ácido 2-iodobenzoico a ácido 2,5-diiodo benzoico **18** con I_2 y periodato de sodio como agente oxidante que forma una especie muy reactiva capaz de reaccionar con arenos deficientes en electrones. El átomo de iodo (orientador orto/para) y el grupo carbonilo (orientador meta) cooperan para dirigir la halogenación a la posición 5 del anillo aromático.

Enseguida el ácido **18** se transformó al bencilcarbamato de la diiodoanilina **19** por una serie de reacciones que incluyen un reacomodo de Curtius para intercambiar el grupo carboxilo por una amina. A continuación, se realizó un acoplamiento de Sonogashira en los dos enlaces C-I del compuesto **19** con el arilacetileno **17** para adquirir el correspondiente dialquino **20** como intermediario sobre el cual se efectuó una ciclación inducida por fluoruro para obtener el indol **21** que por *N*-alquilación proporcionó el indol **22** (Figura 36).

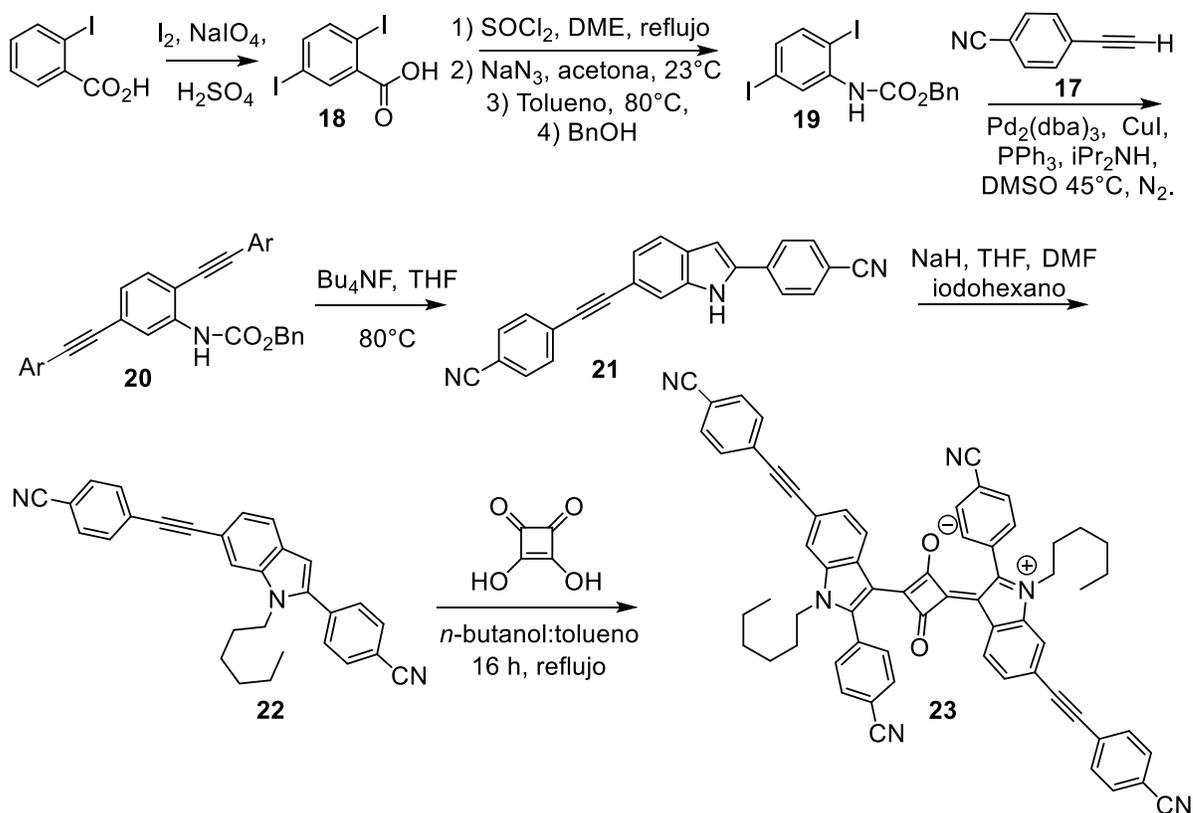


Figura 36. Síntesis del indol **22** y bis(indolil)escaraína **23**.

La reacción del indol **22** con el ácido escuárico para obtener el compuesto **23** es notablemente más lenta que las reacciones análogas con los indoles **3-7** que no tienen grupos sustituyentes en la posición 2 probablemente a causa de esto del impedimento estérico que se genera en la posición 3-C del indol **22** por la presencia del grupo arilo en la posición 2-C.

Todos los compuestos de la figura 36 fueron caracterizados RMN de ^1H y ^{13}C excepto el compuesto **20** que se hizo reaccionar in situ para formar el compuesto **21**. En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **23** (Figura 37) ya no se observa la señal simple de 6.6 ppm del H-3 del indol **22** (materia prima). Además, en el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 38) se observa una señal en 195 ppm correspondiente a los carbonilos de la escaraína.

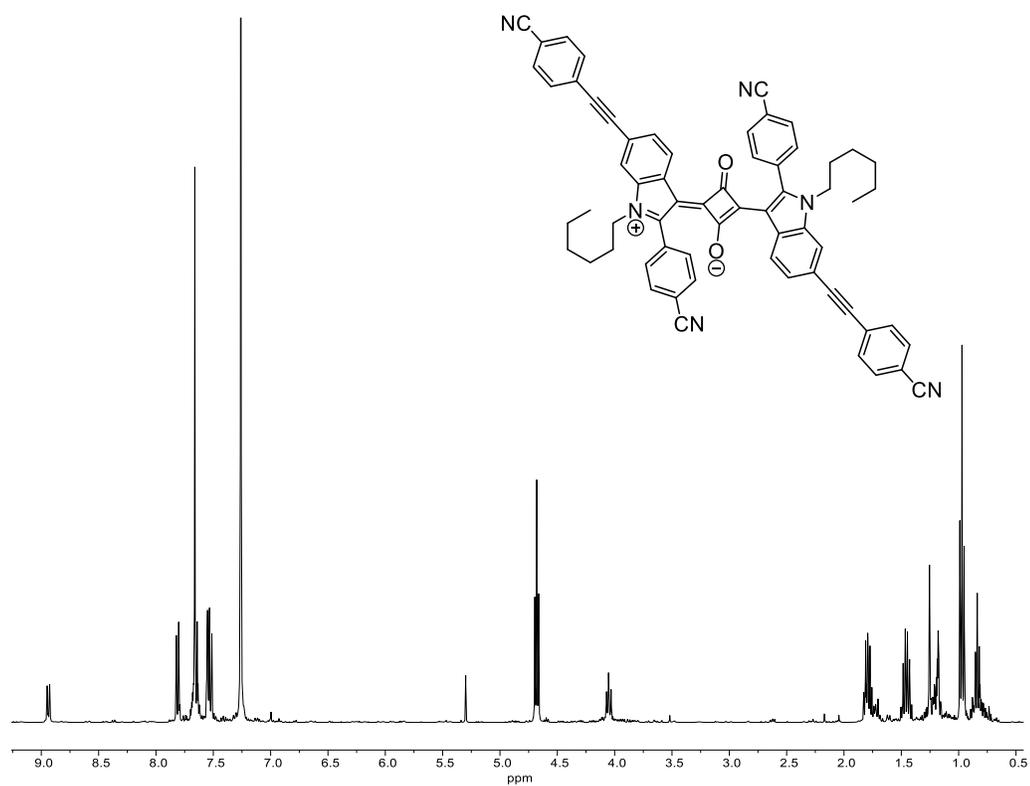


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **23** a 400 MHz en CDCl_3 .

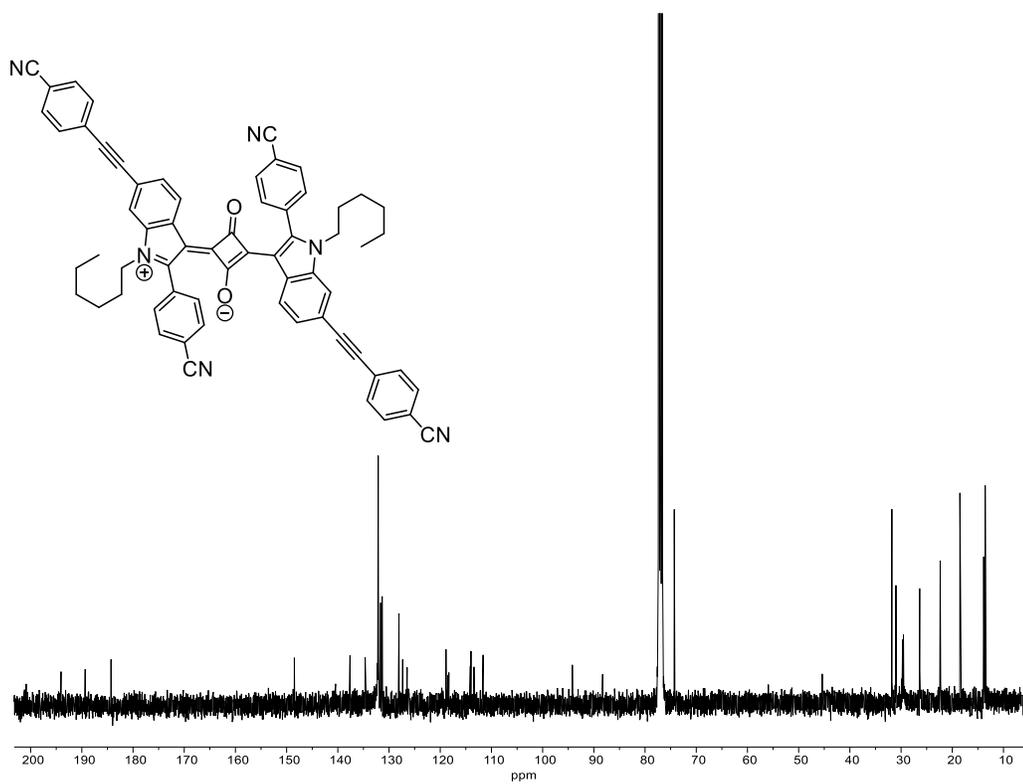


Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **23** a 100 MHz en CDCl_3 .

La inestabilidad de la escuaraina **23** en disolución con diferentes disolventes fue evidente por el cambio drástico del color azul de la solución a color café minutos después de preparar la disolución del compuesto (Figura 39). Como se mencionó antes el intento de usar la beta ciclodextrina en la síntesis de la escuaraina **23** no tuvo éxito debido a que no hay suficiente espacio en la cavidad de la beta ciclo dextrina para acomodar al indol **22** o a los productos de la mono y doble condensación con el ácido escuarico.

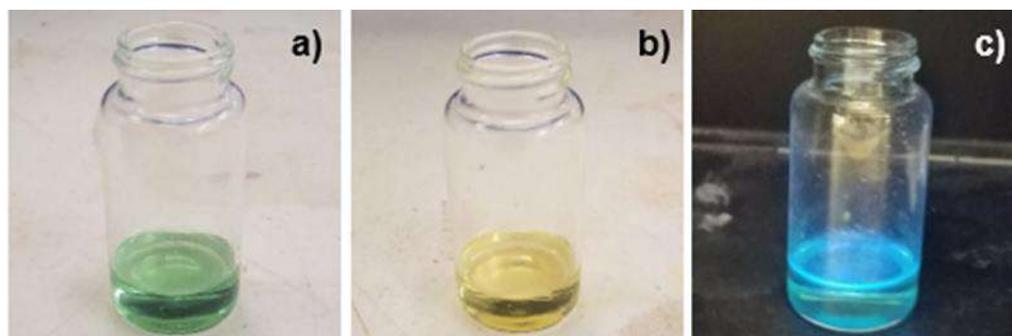


Figura 39. Bis(indolil)escuaraina **23** en disolución con cloroformo **a)** 2 min después de su preparación **b)** 30 min después **c)** emisión de fluorescencia por excitación a 365nm.

Se planteó también la síntesis de la escuaraina **25** (Figura 40), para lo cual fue necesario sintetizar el indol **24**, después se siguió la metodología tradicional de la síntesis de escuarainas y finalmente se obtuvo un sólido rojo-café que a diferencia de las escuarainas que se sintetizaron inicialmente, esta no exhibe tanta brillantes de fluorescencia a 365 nm de excitación, posiblemente se debe a que su estructura química tiene un sistema π extendido pequeño, por lo cual no existe mucha deslocalización electrónica dentro de la molécula.

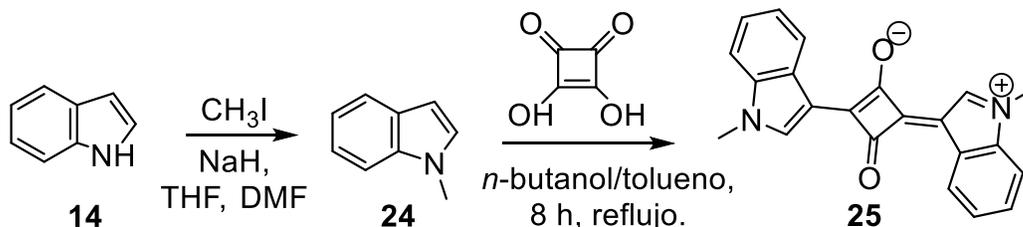


Figura 40. Síntesis de bis(indolil)escuaraina **25**.

6.2 ESTUDIOS ÓPTICOS.

Para investigar si las escuaraínas sintetizadas en este trabajo presentan absorción de dos fotones se eligió la bis(indolil)escuaraína **9** porque es un sólido estable de color púrpura que mantiene el mismo color en solución en THF. Cuando este compuesto en solución a una concentración 1×10^{-5} M en THF fue irradiado con pulsos de un láser a diferentes longitudes de onda desde 680 hasta 810 nm se observó la emisión de fluorescencia a una longitud de onda de 575 nm, alcanzando la mayor intensidad de emisión por la irradiación a 710 nm (Figura 41). Esto es, la absorción de dos fotones de 710 nm (luz roja visible) equivale a la excitación con un fotón de luz ultravioleta a 355 nm. Esta observación concuerda con la intensa banda de absorción en UV que muestra esta serie de compuestos en el intervalo de 328-365 nm. Además, este compuesto también es fluorescente en estado sólido, ($\Phi = 0.25$ con respecto a la fluoresceína) y cuando se irradió con un láser a 710 nm emitió fluorescencia a longitud de onda de 695 nm. En la mayoría de los casos es común que los compuestos en estado sólido emitan fluorescencia a mayor longitud de onda respecto a la emisión en solución debido a los cambios en las propiedades electrónicas que ocurren por el apilamiento y que se comportan como agregados moleculares a diferencia de las moléculas aisladas en solución (Figura 42).

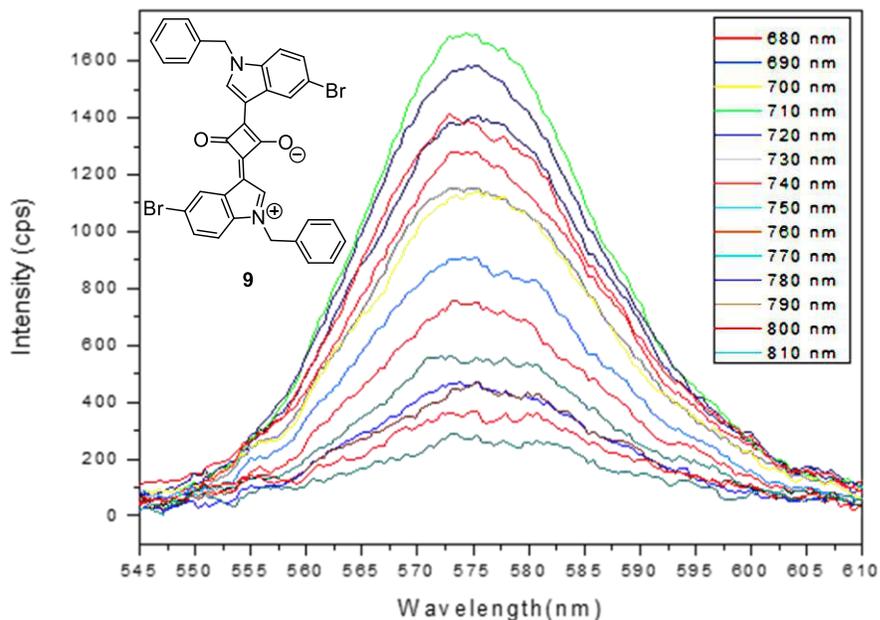


Figura 41. Espectro de emisión de **9** en solución en THF por irradiación con un láser a diferentes longitudes de onda en el intervalo de 680-810 nm.

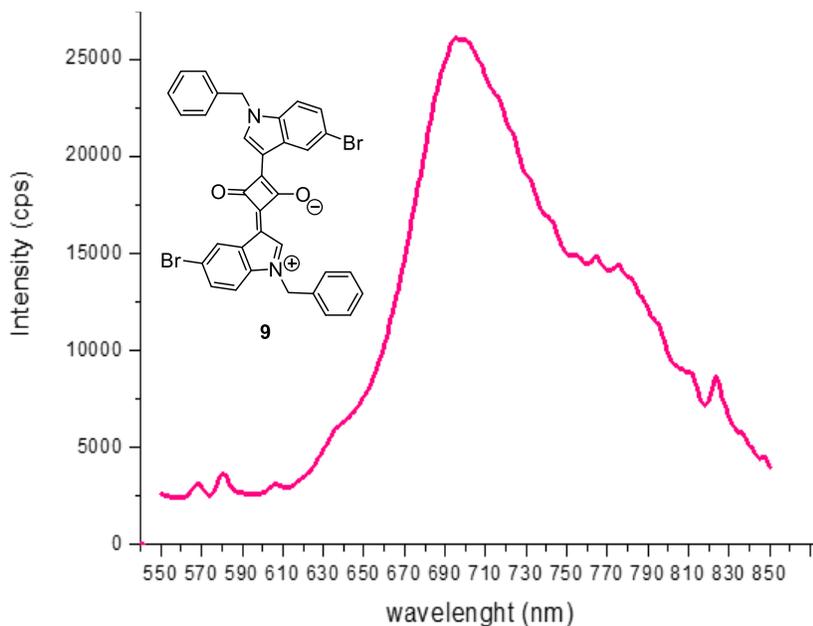


Figura 42. Espectro de emisión del compuesto **9** en estado sólido.

El indol **21** ($\Phi = 0.21$) en solución de THF mostró una banda ancha de emisión de fluorescencia en 390-580 nm al ser irradiado con un láser a diferentes longitudes de onda desde 680 hasta 830 nm (Figura 43). La emisión de fluorescencia alcanza su mayor intensidad a una irradiación de 680 nm, esto implica la absorción de dos fotones de 680 correspondientes en energía a la absorción de un fotón de 340 nm.

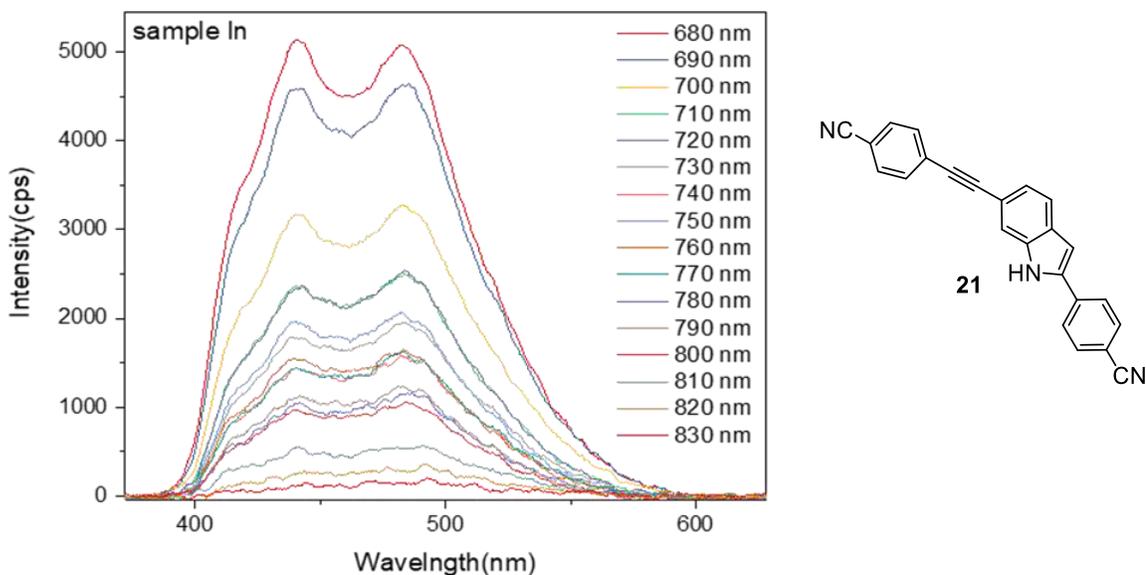


Figura 43. Espectro de emisión del indol **21** en solución de THF con un láser de diferentes longitudes de onda.

Se obtuvo el espectro de absorción en solución de cloroformo de la escuaraina **23** en el cual se observan dos bandas de absorción, una en 328 nm y otra en 619 nm; el indol **21** muestra una banda de absorción a 364 nm (Figura 44).

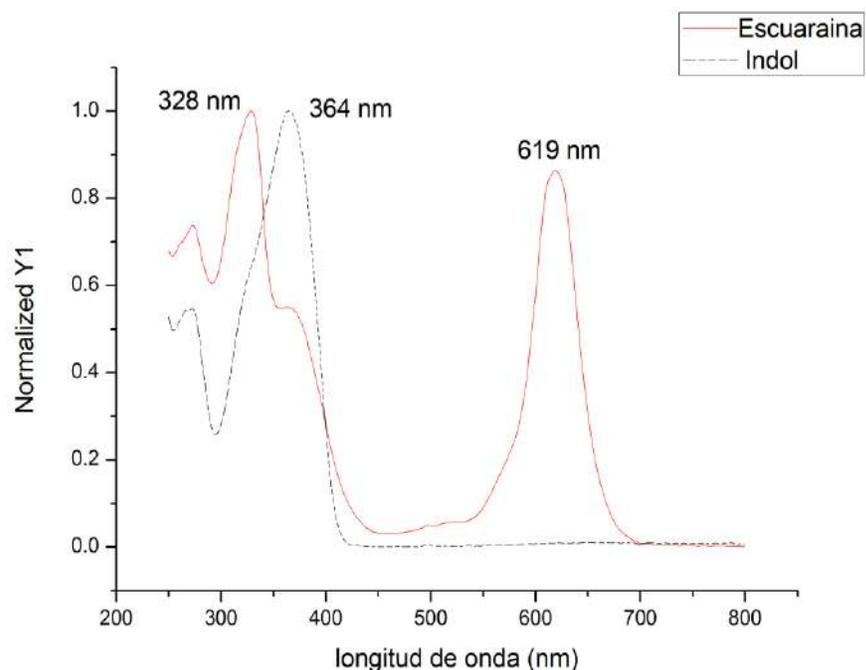


Figura 44. Espectro de absorción ultravioleta del indol **21** y la escuaraina **23**.

A continuación, se hicieron mediciones del efecto de la exposición de las soluciones de los compuestos **12** y **15** a la luz solar. En celdas de cuarzo se colocó 1 mL de una solución previamente preparada con 2 mg de los compuestos **12** y **15** en 25 mL de DMSO para medir la absorción de cada compuesto en el espectrofotómetro de UV antes y después de la radiación solar durante períodos de 4 minutos hasta la desaparición del color en la solución.

La solución del compuesto **12** en DMSO inicialmente posee una coloración violeta que progresivamente desaparece por irradiación con luz solar (Figura 45). En el espectro de absorción de **12** (Figura 46) se observan inicialmente dos bandas, de absorción en 325 nm y 575 nm. Esta última desaparece por completo a los 24 minutos de exposición a la luz del sol, mientras que la banda en 325 nm persiste.

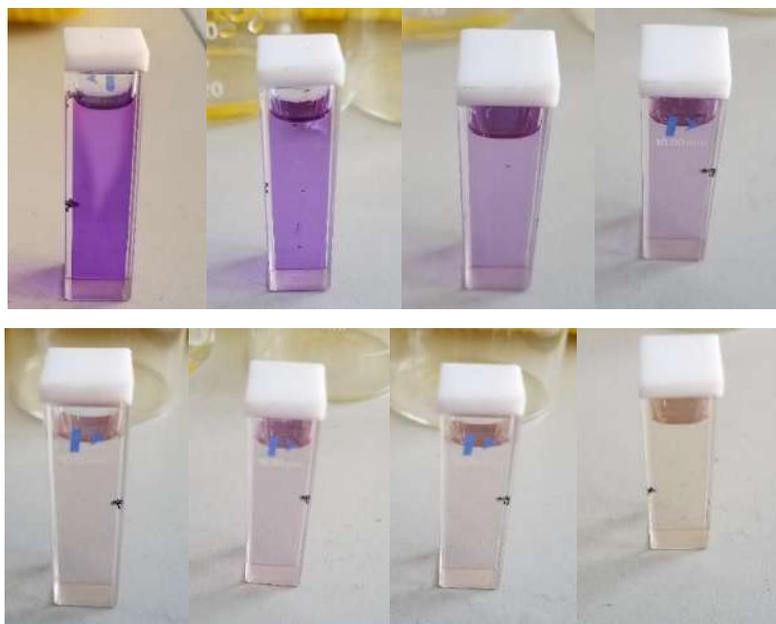


Figura 45. Solución de Bis(indolil)escuarafina **12** en DMSO y decoloración después de irradiación solar por lapsos de 4 minutos.

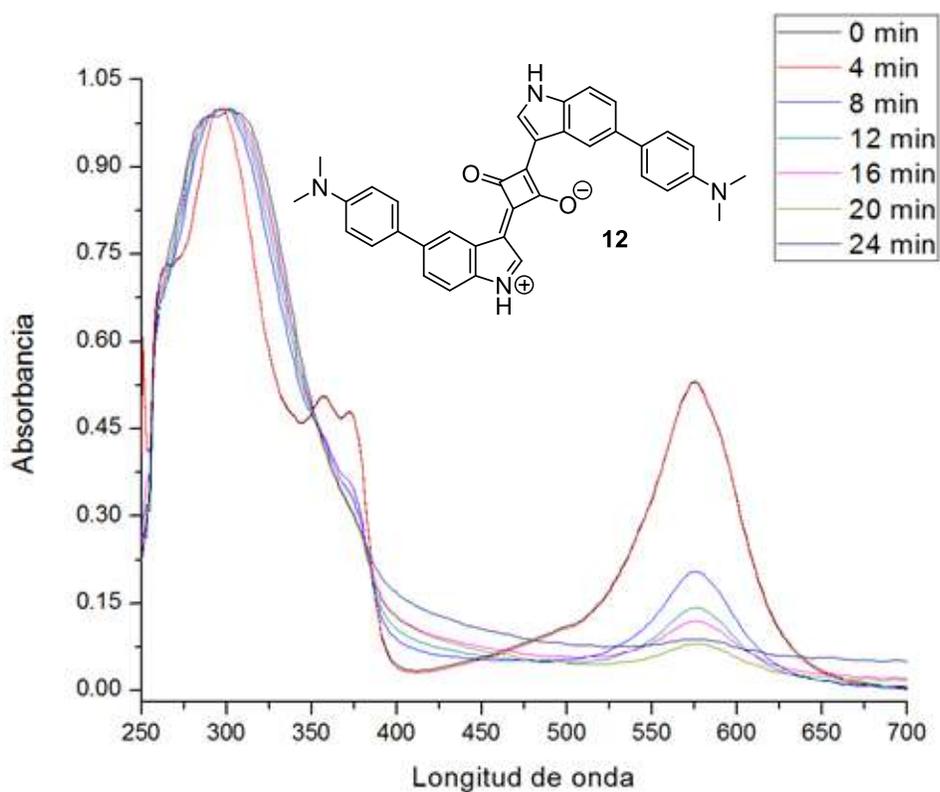


Figura 46. Graficas de absorción de una solución de **12** en DMSO a diferentes tiempos de exposición a la luz solar.

Con el compuesto **15** se observa algo similar: la banda de absorción en 550 nm desaparece después de ser expuesto 36 minutos a la radiación solar (Figura 48) y el color rosa de la solución inicial se disipa por completo (Figura 47).

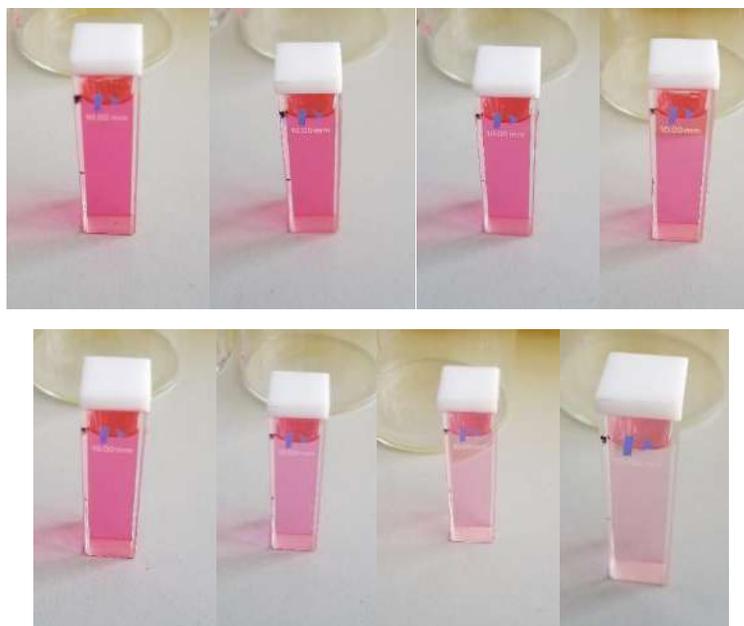


Figura 47. Bis(indolil)escuaraina **15**.

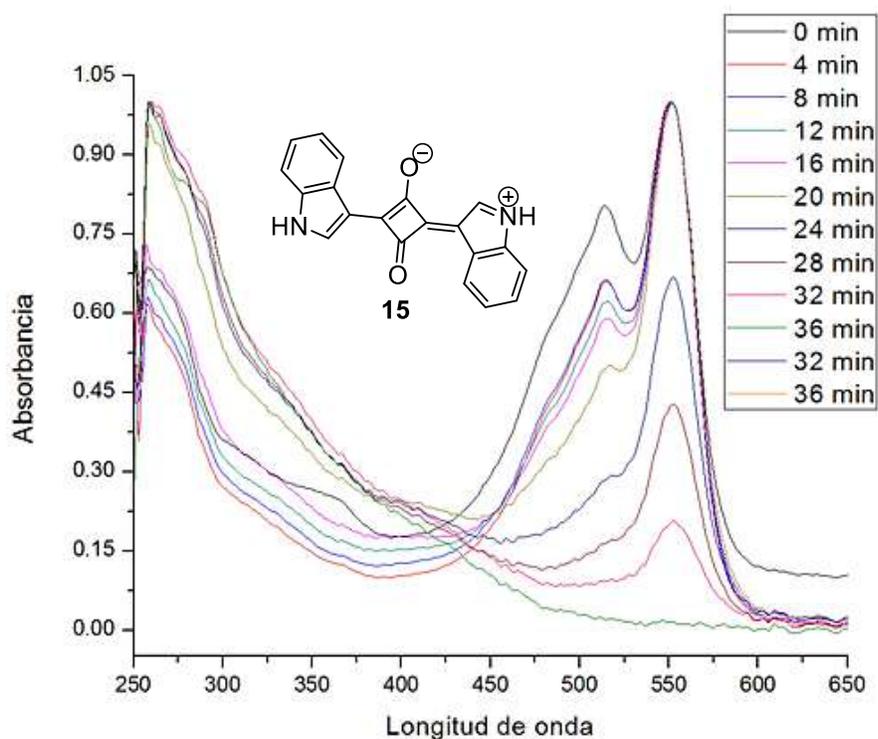


Figura 48. Graficas de absorción de una solución de la escuaraina **15** en DMSO a diferentes tiempos de exposición a la luz solar.

7 CONCLUSIONES

Se planteó la obtención de bis(indolil)escuarainas fluorescentes con sistema de tipo dipolar (Donador-Aceptor-Donador), con el objetivo de desplazar la longitud de onda de absorción de los compuestos hacia la región del IR. Aunque la técnica de preparación de las escuarainas es sencilla la reactividad química del anillo central de las escuarainas causa problemas de reproducibilidad en los rendimientos de reacción y en la purificación de los productos.

Se comprobó la obtención de los compuestos impuros por RMN de ^1H y ^{13}C . Los métodos de aislamiento y purificación de las escuarainas por métodos de precipitación, lavado, cristalización y cromatografía en columna o en placa resultaron infructuosos debido a la inestabilidad de los compuestos. Experimentalmente se comprobó que las disoluciones intensamente coloridas de los compuestos adquieren una coloración café que se atribuye a descomposición de las escuarainas. Los espectros de absorción UV-Vis de las escuarainas **12** y **15** muestra que la exposición a la luz cambia la estructura electrónica de los compuestos observada mediante la desaparición de la banda de absorción a 550-575 nm. El proceso es irreversible, después de exposición a la luz solar.

Por otra parte, el encapsulamiento de los productos de reacción *in situ* con beta ciclo dextrina permitió el aislamiento, la purificación y reproducibilidad satisfactoria en el caso de la preparación del compuesto **15**. Sin embargo, posiblemente debido al mayor tamaño molecular que requiere la escuaraina **23** y que no puede aportar la cavidad de la beta ciclo dextrina para hospedar y proteger el anillo de 4 miembros en este compuesto son evidentes las reacciones laterales.

Las escuarainas sintetizadas presentan fluorescencia por absorción de un fotón de luz UV (365 nm). Además, estos compuestos presentan una intensa banda de absorción en el visible, alrededor de 575 nm para los compuestos **12**, **15** y de 619 nm para el compuesto **23**. Experimentalmente se determinó que el compuesto modelo **9** presenta fluorescencia por absorción de dos fotones de longitud de onda de 710 nm lo cual valida que este tipo de compuestos tienen potencial para desarrollar marcadores de tejidos en la microscopia de fluorescencia.

8 DESARROLLO EXPERIMENTAL

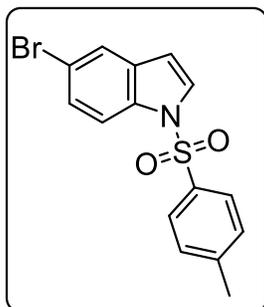
8.1 GENERALIDADES

Todas las reacciones fueron llevadas a cabo en material de vidrio previamente secado en la estufa a 110 °C durante toda la noche. Los disolventes y compuestos líquidos fueron transferidos con jeringas hipodérmicas de plástico o micro jeringas de vidrio. Los disolventes se removieron mediante un evaporador rotatorio. La purificación de los compuestos se llevó a cabo por cromatografía flash en columna utilizando sílice Whatman 60 (malla 230-400) y los sistemas de disolventes indicados. En la cromatografía en capa fina (CCF) se utilizaron placas de sílice gel Merck F₂₅₄ y las manchas se visualizaron con una lámpara UV a 254 y 365 nm. Los disolventes fueron secados de la siguiente manera: el tolueno utilizando sodio; el tetrahidrofurano (THF) utilizando sodio/benzofenona; la diisopropilamina (*i*Pr₂NH) sobre KOH; la acetona usando drierita. Se usaron mallas moleculares activadas de 4 Å para secar DMSO, DMF y cloroformo. El hexano y acetato de etilo para cromatografía en columna se destilaron fraccionadamente. Todos los compuestos químicos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich.

Los espectros de infrarrojo fueron obtenidos en un espectrofotómetro Perkin-Elmer FT-IR Spectrum GX. Los puntos de fusión de los compuestos se obtuvieron en un aparato Büchi Melting Point B-540 y no están corregidos. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) fueron adquiridos en un espectrómetro Bruker Ascend a 400 MHz (¹H) y a 100 MHz (¹³C). Para obtener los espectros de RMN se usó cloroformo deuterado (CDCl₃) ó dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-*d*₆) y TMS δ= 0.0 como referencia interna para todos los espectros de ¹H. Para los espectros de ¹³C se usó como referencia interna CDCl₃ δ = 77.16 y DMSO-*d*₆ δ = 39.52. Los datos de RMN de ¹H se dan en el orden: desplazamiento químico δ (en ppm), multiplicidad y constantes de acoplamiento *J*, (en Hertz), y número de hidrógenos para los que integra la señal. Los espectros de UV fueron obtenidos en un espectrómetro Perkin-Elmer Lambda XLS y los espectros de fluorescencia se obtuvieron a temperatura ambiente en un espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS 55 usando celdas de cuarzo.

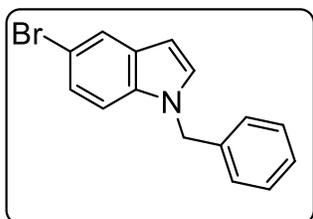
8.2 EXPERIMENTAL DE TODOS LOS COMPUESTOS

8.2.1 Síntesis 5-bromo-1-tosil-1H-indol



Los reactivos sólidos se pesaron y transfirieron a un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético: 500 mg de 5-bromoindol (2.55 mmol, 1 equiv.), 1.020 g de cloruro de 4-toluenosulfonilo (TsCl) (5.35 mmol 2.1 equiv.) y 359 mg de KOH (6.4 mmol, 2.5 equiv.), con una jeringa se agregaron 8 mL de DMF, la mezcla de reacción permaneció en agitación a temperatura ambiente, en atmosfera de nitrógeno y en ausencia de luz durante 2 horas. El precipitado sólido que resultó de la reacción se disolvió en 0.5 mL de metanol, se lavó con acetato de etilo y H₂O; la fase orgánica recuperada de extracciones se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y eliminó el disolvente (acetato de etilo) a presión reducida en el rotavapor. Finalmente, el compuesto se aisló por cromatografía en columna con gel de sílice, utilizando una fase de elusión 95:5 de hexano/acetato de etilo. El producto es un líquido amarillo que posteriormente cristalizó. 76% de rendimiento. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.88 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.8, 1.2 Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.61 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 2.37 (s, 3H). **RMN de ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ 145.28, 135.02, 133.55, 132.49, 130.00, 130.02, 127.58, 127.46, 126.80, 126.79, 124.06, 116.79, 114.96, 108.29, 21.58.

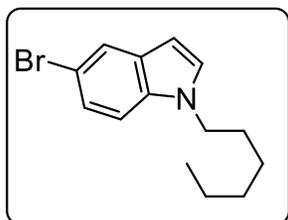
8.2.2 Síntesis 1-bencil-5-bromo-1H-indol



En la síntesis del *N*-bencil indol se utilizó un matraz de 25 mL fondo redondo, equipado con un agitador magnético donde se transfirieron los reactivos después de pesarlos: 300 mg de 5-bromoindol (1.530 mmol, 1.0 equiv.), 73.469 mg de NaH (3.061 mmol, 2.0 equiv.), utilizando una jeringa y en condiciones anhidras se adicionaron al matraz de reacción 6 mL de THF y 4 mL de DMF, la mezcla formada se purgó por triplicado con N₂ y vacío. Con una microjeringa se adicionaron 182 μL de bromuro de bencilo (1.530 mmol, 1.0 equiv.). La mezcla de reacción permaneció durante 1 hora a temperatura ambiente y en

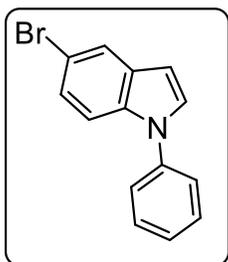
agitación. El precipitado que se formó al concluir la reacción se disolvió con 1 mL de metanol, la disolución se lavó con acetato de etilo y H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. Finalmente, el compuesto se aisló por cromatografía en columna utilizando una fase de elusión hexano/acetato de etilo (95:5). Rendimiento de 85%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (s, 1H), 7.35 – 7.24 (m, 5H), 7.19 – 7.08 (m, 4H), 6.51 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H). **RMN de ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ 137.16, 135.09, 130.55, 129.59, 128.96 (2 C), 127.91, 126.81 (2 C), 124.67, 123.58, 113.02, 111.31, 101.42, 50.41.

8.2.3 Síntesis 5-bromo-1-hexil-1H-indol



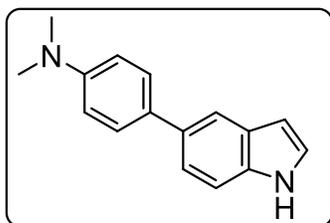
En un matraz de 25 mL fondo redondo, equipado con un agitador magnético se pesaron 300 mg de 5-bromoindol (1.530 mmol, 1.0 equiv.), 73.44 mg de NaH (3.061 mmol, 2.0 equiv.), en condiciones anhidras se adicionaron 6 mL de THF y 4 mL de DMF, la mezcla formada se purgó 3 veces con N₂ y vacío, posteriormente con una microjeringa se agregaron 225 µL de 1-yodohexano (1.580 mmol, 1.0 equiv.) y se dejó reaccionar durante 1 hora en agitación, a temperatura ambiente y en ausencia de luz. El precipitado que se formó al concluir la reacción se disolvió con 1 mL de metanol, la disolución se lavó con acetato de etilo y H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. Finalmente, el compuesto se aisló por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando una fase de elusión hexano/acetato de etilo (95:5). Rendimiento de 92%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.64 – 7.59 (m, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 6.47 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 1.85 – 1.75 (m, 1H), 1.28 (s, 2H), 0.86 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H). **RMN de ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ: 134.6, 130.2, 129.0, 124.1, 123.3, 112.5, 110.9, 100.5, 46.6, 31.4, 30.2, 26.6, 22.5, 14.0.

8.2.4 Síntesis 5-bromo-1-fenil-1H-indol.



En un matraz de fondo redondo de 25 mL equipado con un agitador magnético se pesaron 400 mg de 5-bromoindol (2.040 mmol, 1.0 equiv.), 19 mg de CuI (0.102 mmol, 0.05 equiv.), 620 mg de K₂CO₃ (4.489 mmol, 2.2 equiv.), 21 mg de L-prolina (0.183 mmol, 0.09 equiv.), se purgó por triplicado el matraz de reacción con N₂ y vacío, enseguida se agregaron con una jeringa 6 mL de DMSO seco y 227 μ L de yodobenceno (2.040 mmol, 1.0 equiv.), la mezcla de reacción permaneció durante 78 horas a 65°C en agitación y en atmosfera de nitrógeno, el crudo de reacción se lavó tres veces con acetato de etilo y H₂O, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. Finalmente, el compuesto se aisló por cromatografía en columna utilizando una fase de elusión hexano/acetato de etilo (90:10). Se obtuvo un polvo blanco con un rendimiento de 61%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49 (dd, *J* = 7.1, 1.6 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.26 – 7.22 (m, 3H), 7.12 – 7.07 (m, 2H), 7.05 – 6.94 (m, 2H), 6.47 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H).

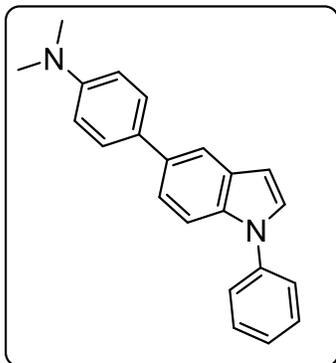
8.2.5 Síntesis de 4-(1H-indol-5-il)-N,N-dimetilanilina.



Se pesaron y transfirieron a un matraz de 25 mL de fondo redondo todos los compuestos solidos: 100 mg de 5-bromoindol (0.510 mmol, 1.0 equiv.), 126 mg del ácido(4-dimetilamino)fenilborónico (0.765 mmol, 1.5 equiv.), 141 mg de K₂CO₃ (1.020 mmol, 2.0 equiv.) y 12 mg de Pd(OAc)₂ (0.051 mmol, 0.1 equiv.), como medio de reacción de utilizó una mezcla de dos disolventes: Etanol-H₂O (3:1), se incrementó la temperatura en el matraz de reacción hasta reflujo del disolvente durante 3 horas y en agitación. Se obtuvo una solución incolora, el crudo de reacción se lavó tres veces con H₂O y acetato de etilo, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se eliminó el disolvente a presión reducida. El compuesto se aisló por cromatografía en columna con una fase de elusión hexano/acetato de etilo 80:20; se obtuvo un sólido blanco. Rendimiento de 74%. **RMN de ¹H** (400 MHz, cdcl₃) δ 8.07 (s, 1H), 7.89 – 7.86 (m, 1H), 7.65 –

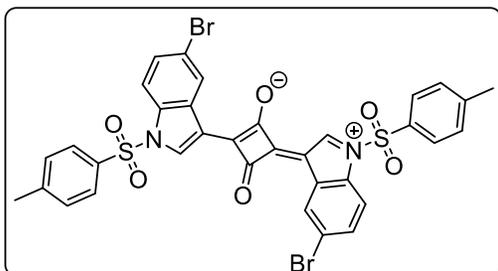
7.61 (m, 2H), 7.50 – 7.47 (m, 1H), 7.40 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.19 – 7.17 (m, 1H), 6.93 – 6.88 (m, 2H), 6.62 (ddd, $J = 3.1, 2.0, 0.9$ Hz, 1H), 3.04 (s, 6H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ 149.50, 134.81, 133.50, 131.12, 128.45, 127.98 (2 C), 124.71, 121.53, 118.22, 113.16 (2 C), 111.19, 102.77, 40.83 (2 C).

8.2.6 Síntesis de *N,N*-dimetil-4-(1-fenil-1*H*-indol-5-il) anilina.



En un matraz de 25 mL se transfirieron 100 mg de 4-(1*H*-indol-5-il)-*N,N*-dimetilanilina (0.423 mmol, 1.0 equiv.), 129 mg de K_2CO_3 (0.931 mmol, 2.2 equiv.), 7 mg de fenantrolina (0.038 mmol, 0.09 equiv.), 7 mg de CuI (0.0338 mmol, 0.08 equiv.), se purgó por triplicado el matraz de reacción con N_2 , con una jeringa se agregaron 6 mL de DMSO seco y 48 microlitros de yodobenceno, la reacción permaneció durante 82 horas a 65°C en agitación y atmosfera de N_2 , el crudo de reacción se lavó tres veces con acetato de etiloy H_2O , la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y el disolvente se eliminó a presión reducida, el compuesto se aisló en cromatografía en columna con una fase de elusión hexano/acetato de etilo 90:10. Se obtuvo un líquido incoloro que cristalizó. Rendimiento de 61%. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ 7.86 (s, 1H), 7.66 – 7.41 (m, 7H), 7.38 (d, $J = 3.4$ Hz, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.87 (dd, $J = 8.2, 2.5$ Hz, 2H), 6.73 (s, 1H), 3.02 (s, 6H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ 149.56, 139.95, 134.81, 134.11, 130.74, 129.92, 129.63 (2 C), 128.29, 127.94 (2 C), 126.34, 124.22 (2 C), 121.83, 118.60, 113.03 (2 C), 110.63, 103.84, 40.76 (2 C).

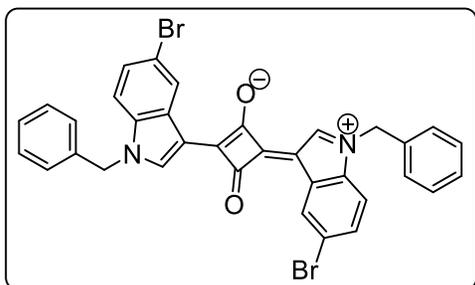
8.2.7 Síntesis de la escuaraina 8.



En un matraz de fondo redondo de 25 mL provisto con un agitador magnético se pesaron 200 mg de 5-bromo-1-tosil-1*H*-indol (0.561 mmol, 2.0 equiv.) y 32.02 mg de 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (0.280 mmol, 1.0 equiv.), los reactivos se disolvieron en una

mezcla de *n*-butanol/tolueno (1:1), posteriormente se incrementó la temperatura hasta reflujo de la mezcla de reacción durante 24 h en agitación; sin embargo, la reacción no procede.

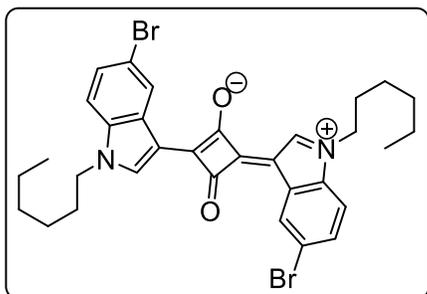
8.2.8 Síntesis de la escuaraina 9.



En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético se pesaron 500 mg de 1-bencil-5-bromo-1*H*-indol **10** (1.748 mmol, 2.0 equiv.) y 100 mg 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (0.873 mmol, 1.0 equiv.), los reactivos se disolvieron en una mezcla de *n*-

butanol/tolueno (1:1), se adaptó al matraz de reacción una trampa de Dean stark con un refrigerante, la temperatura de reacción se incrementó hasta reflujo durante 18 horas en agitación, se observa un cambio de color en la mezcla: incoloro - rosa. El disolvente se evaporó a presión reducida y se intentó aislar el compuesto por placa preparativa, recristalización, lavados con diferentes disolventes, por ejemplo: agua, metanol, hexano, etc. Finalmente se hizo una cromatografía en columna con una fase hexano/acetato de etilo (60:40). Se obtiene el producto impuro como un sólido verde metálico soluble en CH₂Cl₂, CHCl₃ y acetona. Rendimiento de 78%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.68 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.41 – 7.30 (m, 4H), 7.15 – 7.03 (m, 3H), 5.27 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H). **RMN de ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ 189.64, 140.28, 138.65, 136.36, 129.00 (2 C), 128.80, 128.38, 127.79, 126.67 (2 C), 126.17, 124.27, 122.66, 111.61, 110.45, 50.56.

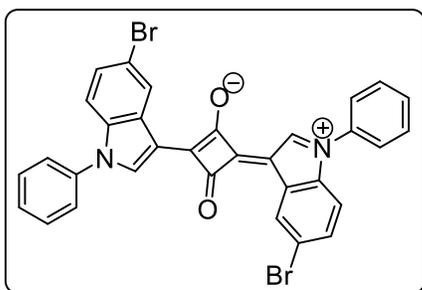
8.2.9 Síntesis de la escuaraina 10.



En un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético se pesaron 385 mg de 5-bromo-1-hexil-1*H*-indol **7** (1.376 mmol, 2.0 equiv.) y 78 mg de 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (0.688 mmol, 1.0 equiv.), los reactivos se disolvieron en una mezcla de *n*-butanol/tolueno

(1:1), se adaptó al matraz de reacción una trampa de Dean stark con un refrigerante, se incrementó la temperatura de reacción hasta reflujo del disolvente durante 16 horas en agitación; media hora después se observa un cambio de color (de incoloro a rosa). Se eliminó el disolvente a presión reducida. Se intentó aislar el compuesto por recristalización y lavados con diferentes disolventes, por ejemplo: agua, metanol, hexano, etc. Finalmente se hizo una cromatografía en columna con una fase hexano/acetato de etilo (70:30). Se obtiene el producto impuro como un sólido verde metálico soluble en CH₂Cl₂, CHCl₃ y acetona. Rendimiento de 60%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.99 (m, 1H), 8.59 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.50 – 7.40 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 4.21 (t, 2H), 1.99 – 1.88 (m, 2H), 1.42 – 1.22 (m, 6H), 0.89 (t, 3H). **RMN de ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ 187.33, 137.61, 136.27, 131.86, 128.06, 127.37, 117.34, 111.80, 111.01, 48.08, 30.98, 29.11, 26.28, 22.10, 13.75.

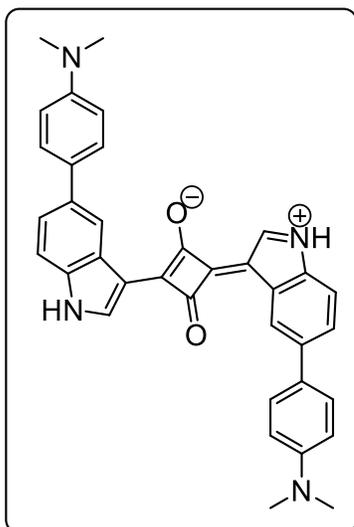
8.2.10 Síntesis de la escuaraina 11.



En un matraz de fondo redondo provisto con un agitador magnético, se pesaron 500 mg de 5-bromo-1-fenil-1*H*-indol (2.591 mmol, 2.0 equiv.) y 147 mg de 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (1.295 mmol, 1.0 equiv.), los reactivos se disolvieron en una mezcla de *n*-butanol/tolueno

(1:1), se adaptó al matraz de reacción una trampa de Dean stark con un refrigerante, la temperatura de reacción se incrementó hasta reflujo del disolvente durante 18 horas en agitación constante. el disolvente se eliminó a presión reducida y se intentó aislar el compuesto por cromatografía en columna con una fase hexano/acetato de etilo (70:30). Se obtiene el producto impuro como un sólido purpura. Rendimiento de 62%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.94 (s, 1H), 7.63 – 7.56 (m, 5H), 7.47 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.41 – 7.36 (m, 1H), 7.26 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H). **RMN de ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ 189.31, 171.28, 138.27, 137.58, 137.21, 130.23 (2 C), 129.19, 127.14, 125.59, 124.87, 124.83 (2 C), 113.76, 111.85.

8.2.11 Síntesis de la escuaraina 12.

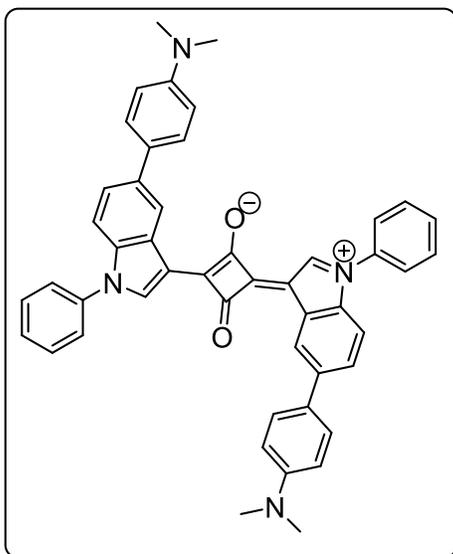


En un matraz de fondo 25 mL de fono redondo se transfirieron 20 mg de 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (0.175 mmol, 1.0 equiv.), 199 mg de β-ciclodextrina (0.175 mmol, 1.0 equiv.), los reactivos se disolvieron en una mezcla de 6 mL de *n*-butanol/tolueno (1:1), se dejó reaccionar durante 1 hora a reflujo del disolvente y en agitación, después se agregó 84 mg de 4-(1*H*-indol-5-il)-*N,N*-dimetilanilina. (0.351 mmol, 2.0 equiv.), la reacción permaneció 4 horas bajo las condiciones iniciales. Se eliminó el disolvente a presión

reducida y el precipitado violeta obtenido se lavó con agua. Rendimiento de 70%. **RMN de ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.07 (s, 1H), 11.86 (s, 1H), 8.72 (m, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.60 (t, *J* = 9.8 Hz, 2H), 7.47 (m, 1H), 6.98 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.01 (s, 6H).

RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ 194.42, 173.58, 135.39, 132.82, 127.35 (2 C), 126.48, 126.28, 125.84, 121.26, 119.83, 113.65, 112.26, 111.88, 108.08, 41.62. **IR** (KBr, $\lambda \text{ cm}^{-1}$): 3172 (N-H), 2919 (C-H), 1715 (C=O), 1609 (C=C), 1422 (C=N), 1178 y 1118 (C-O), 1123 (=C-H), 732 (C-H).

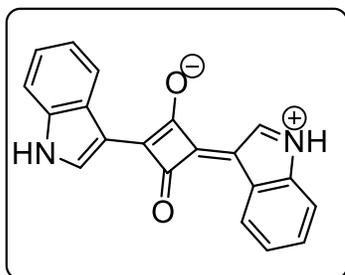
8.2.12 Síntesis de la escuaraina 13.



En un matraz de 25 mL de fondo redondo se transfirieron 20 mg de 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (0.175 mmol, 1.0 equiv.) y se disolvieron en una mezcla de 6 mL de *n*-butanol-tolueno (1:1), se agregaron 109 mg de *N,N*-dimetil-4-(1-fenil-1*H*-indol-5-il)anilina (0.351 mmol, 2.0 equiv.), la reacción permaneció durante 4 horas a temperatura de reflujo del disolvente y en agitación. Se eliminó el disolvente a presión reducida. Se obtuvo un sólido azul marino. Rendimiento de 68%. **RMN**

de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.84 (s, 1H), 7.60 (s, 2H), 7.51 (d, $J = 5.4 \text{ Hz}$, 5H), 7.44 (d, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 3.04 (s, 6H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ 191.40, 130.07, 129.79 (2 C), 129.66 (2 C), 128.71, 128.47, 128.18 (2 C), 126.44, 124.57, 124.35, 124.25 (2 C), 121.83, 118.85, 114.64, 110.74, 103.87, 41.99.

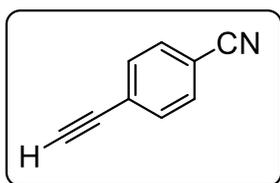
8.2.13 Síntesis de la escuaraina 15.



En un matraz de 25 mL fondo redondo, equipado con un agitador magnético se pesaron 20 mg de ácido escuárico (0.1754 mmol, 1 equiv.), 198.90 mg de β -ciclodextrina (0.1754 mmol, 1.0 equiv.), con una jeringa agregaron 4 mL de *n*-butanol y tolueno respectivamente, la mezcla de reacción se dejó durante 1 hora a

temperatura de reflujo del disolvente, después se agregó al matraz de reacción 41 mg de indol y se dejó reaccionar 4 horas bajo las condiciones iniciales, se redujo el volumen de disolvente a presión reducida y se agregaron 8 mL de éter etílico, finalmente, se obtuvo un precipitado rosa, el cual se lavó con H₂O. Rendimiento de 71%. **RMN de ¹H** (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ 12.16 (s, 1H), 7.80 (m, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.48 (d, *J* = 9.9 Hz, 2H). **RMN de ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 187.51, 137.75, 136.33, 125.47, 124.78, 123.78, 123.38, 113.40, 111.49, 101.98. **IR** (KBr, λ cm⁻¹): 3073 (N-H), 2872 (C-H), 1766 (C=O), 1676 (C=C), 1177 y 1113 (C-O), 1034 (=C-H), 795 (C-H).

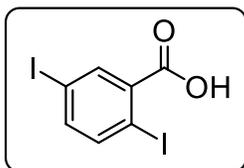
8.2.14 Síntesis de 4-etinilbenzonitrilo



En un matraz de 50 mL provisto con un agitador magnético se pesaron 546 mg de 4-bromobenzonitrilo (3.0 mmol, 1.0 equiv.), 16 mg de PdCl₂ (0.089 mmol, 0.03 equiv.), 17 mg de CuI (0.089 mmol, 0.03 equiv.), 47 mg de trifenilfosfina (0.179 mmol, 0.03 equiv.); el matraz de reacción se purgó 3 veces con N₂ y vacío, se agregaron 5 mL de DMSO seco y 1 mL de diisopropilamina, la mezcla formada se agitó durante 10 minutos y se agregaron 462 mg de trimetilsilil acetileno (3.3 mmol, 1.1 equiv.), se dejó reaccionar durante 1 hora a 45°C. El crudo de reacción se lavó con acetato de etilo y H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, el disolvente se eliminó a presión reducida y el compuesto se aisló por cromatografía en columna utilizando una fase hexano/acetato de etilo (80:20). Se obtuvo un polvo blanco con rendimiento de 85%; después se hizo la reacción de reducción, para la cual se pesaron 500 mg del compuesto obtenido anteriormente (2.5 mmol, 1.0 equiv.), 284 mg de KOH (5.023 mmol, 2.0 equiv.), se disolvieron en una mezcla de MeOH/THF (3:1). Se dejó reaccionar durante 30 minutos a temperatura ambiente; finalmente la disolución obtenida se lavó con acetato de etilo y H₂O tres veces, se eliminó el disolvente a presión reducida, el compuesto de interés se separó por cromatografía en columna utilizando una fase de elución hexano/acetato de etilo (90:10). Se obtuvo un precipitado blanco. Rendimiento de 60%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.64 – 7.60 (m, 2H), 7.59 – 7.55 (m, 2H), 3.30

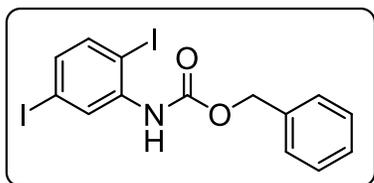
(s, 1H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ 132.79 (2 C), 132.15 (2 C), 127.12, 118.36, 112.48, 81.99, 81.67.

8.2.15 Síntesis de ácido 2,5-diodobenzoico.



En un matraz balón de 100 mL provisto con un agitador magnético se pesaron 1.268 g de I_2 (4.999 mmol, 0.5 equiv.) y se disolvieron en 30 mL de H_2SO_4 , se agregaron 427 mg de NaIO_4 (1.999 mmol, 0.2 equiv.), la mezcla de reacción se dejó durante 30 minutos a temperatura ambiente y en agitación continua, después se agregó al matraz 2.480 g de ácido iodobenzoico (9.999 mmol, 1.0 equiv.) y se dejó reaccionar por 3 días en agitación a temperatura ambiente, el crudo de reacción se transfirió a un matraz Erlenmeyer que contenía agua fría; se formó un precipitado purpura, el cual se filtró y disolvió en acetato de etilo, la solución se lavó tres veces con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ para eliminar el exceso de yodo. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida, finalmente se obtuvo un sólido blanco. Rendimiento de 92%. **RMN de ^1H** (400 MHz, DMSO) δ 7.96 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H). **RMN de ^{13}C** (101 MHz, DMSO) δ 166.78, 142.10, 140.59, 139.16, 137.97, 94.07, 93.63.

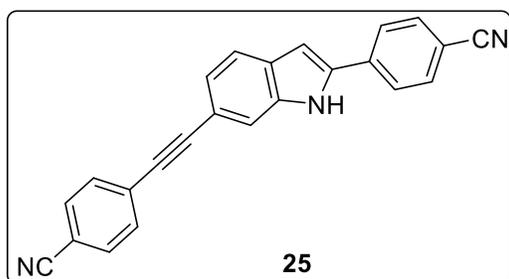
8.2.16 Síntesis de bencil (2,5-diodofenil)carbamato.



En un matraz de 50 mL provisto con un agitador magnético se pesaron 500 mg (1.3 mmol, 1.0 equiv.) del ácido 2,5-diodobenzoico, con una microjeringa se agregaron 116.58 μL (1.6 mmol, 1.2 equiv) de SOCl_2 , 13 mL de DME seco; la mezcla de reacción permaneció a temperatura de reflujo del disolvente durante 2 horas y en atmosfera de nitrógeno. Transcurrido el tiempo de reacción se eliminó el disolvente a presión reducida, el precipitado obtenido se disolvió en 7 mL de acetona anhidra, se agregaron 313 mg de NaN_3 (1.6 mmol, 1.2 equiv.) nuevamente se dejó reaccionar la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente y en atmosfera de nitrógeno. Después de media hora de reacción se eliminó el disolvente a presión reducida, se agregaron 7 mL de tolueno seco, 425

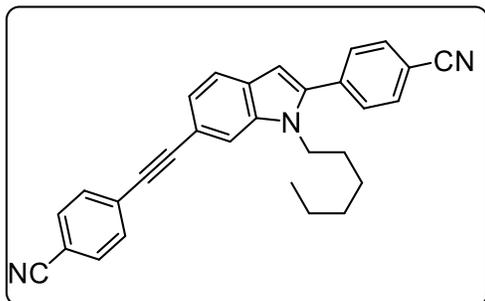
μL (1.32 mmol, 1.02 equiv.) de alcohol bencílico y se calentó la mezcla obtenida hasta 85°C por 3 horas en agitación y atmosfera de nitrógeno. La disolución se lavó con acetato de etilo tres veces. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. Finalmente, el precipitado obtenido se lavó con hexano/acetona (95:5). Rendimiento de 76%. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ 8.46 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.46 – 7.30 (m, 6H), 7.12 (dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 5.22 (s, 2H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ 153.04, 140.06, 139.54, 135.75, 134.24, 128.84, 128.71, 128.59, 94.56, 87.89, 67.71.

8.2.17 Síntesis de 4-((2-(4-cianofenil)-1H-indol-6-il) etinil)benzonitrilo.



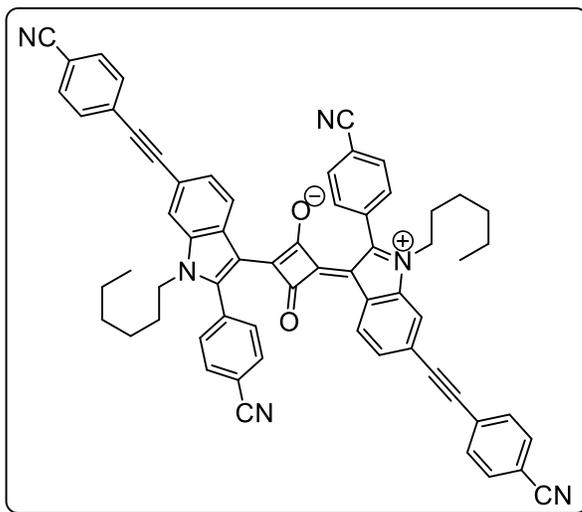
Se pesaron 200 mg (0.417 mmol, 1.0 equiv.) de bencil (2,5-diodofenil)carbamato, 106 mg de 4-etinilbenzonitrilo (0.835 mmol, 2.0 equiv.), 11 mg de $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.0209 mmol, 0.05 equiv.), 2.38 mg de CuI (0.0125 mmol, 0.03 equiv.), 6.570 mg de trifenilfosfina (0.025 mmol, 0.06 equiv.). Se transfirieron todos los reactivos a un matraz de 25 mL de fondo redondo equipado con un agitador magnético y se purgo por triplicado con N_2 , utilizando una jeringa se agregaron 10 mL de DMSO seco y 147 μL de $i\text{Pr}_2\text{NH}$ seca (1.044 mmol, 2.5 equiv.); la mezcla obtenida se dejó reaccionar durante 1.5 horas a 45°C en agitación y atmósfera de N_2 , para efectuar la reacción de ciclación del compuesto se agregaron al mismo matraz 1.252 mL de TBAF (1.252 mmol, 3.0 equiv.) y se incrementó la temperatura de reacción a 80°C durante 2.5 horas; el crudo de reacción se lavó tres veces con acetato de etilo y H_2O , la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 , se eliminó el disolvente a presión reducida. El compuesto se aisló por cromatografía en columna en una fase de elusión hexano/acetato de etilo (70:30) y se obtuvo un sólido amarillo, rendimiento de 79%: **RMN de ^1H** (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.06 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.90 (m, 4H), 7.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H).

8.2.18 Síntesis de 4-((2-(4-cianofenil)-1-hexil-1H-indol-6-il) etinil) benzonitrilo.



En un matraz de 25 mL de fondo redondo provisto con un agitador magnético se pesaron 50 mg de 4 - ((2- (4-cianofenil) - 1H-indol-6-il) etinil)benzonitrilo (0.150 mmol, 1.0 equiv.), 7 mg de NaH (0.291 mmol, 2.0 equiv.), utilizando una jeringa se agregó una mezcla de THF: DMF secos, en proporción 3:2 (volumen total de 10 mL), la mezcla se dejó reaccionar durante 10 minutos bajo condiciones anhidras y enseguida se agregó 36 μ L (0.174 mmol, 1.2 equiv.) de yodohexano, la reacción permaneció 1.5 horas a temperatura ambiente en agitación, ausencia de luz y atmosfera de N_2 . Finalmente, el crudo de reacción se lavó con acetato de etilo y H_2O tres veces, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y se eliminó el disolvente a presión reducida, se aisló el compuesto por cromatografía en columna en una fase de elusión hexano/acetato de etilo (90:10); se obtuvo un compuesto que en estado sólido es amarillo y en liquido presenta fluorescencia. Rendimiento 97%. **RMN de 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.77 (d, 2H), 7.63 – 7.59 (m, 8H), 7.32 (dd, $J = 8.15$, $J = 1.26$, 1H), 6.61 (s, 1H), 4.03 (t, $J = 7.61$, 2H), 1.69 (q, $J = 7.61$, 2H), 1.44 – 0.97 (m, 6H), 0.79 (t, $J = 6.90$, 3H); **RMN de ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$): δ 141.0, 137.5, 137.2, 132.4, 132.0, 131.9, 129.6, 128.7, 128.6, 124.0, 121.1, 118.7, 118.6, 115.5, 114.0, 111.8, 111.0, 104.2, 95.8, 87.0, 44.3, 31.1, 30.0, 26.4, 22.4, 13.9.

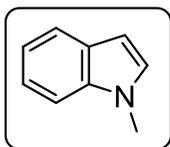
8.2.19 Síntesis de la escuaraina 23.



Inicialmente se efectuó la síntesis siguiendo el método tradicional: se utilizó un matraz de 25 mL de fondo redondo provisto con un agitador magnético y se transfirieron 45 mg de 4-((2-(4-cianofenil)-1-hexil-1H-indol-6-yl)etil)benzonitrilo (0.105 mmol, 2.0 equiv.), 6 mg de 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (0.052 mmol, 1.0 equiv.), con una jeringa se agregó una mezcla de *n*-butanol/tolueno (1:1), la

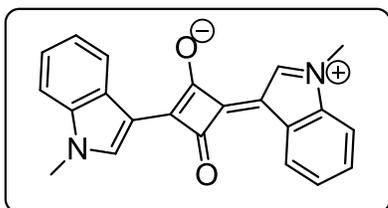
temperatura de reacción se incrementó hasta el reflujo del disolvente durante 8 horas con agitación constante, posteriormente se eliminó el disolvente a presión reducida y se obtuvo un compuesto que en estado sólido es verde metálico y en disolución es azul. El producto resultó impuro; lo que llevo a una segunda ruta de síntesis: utilizando las mismas cantidades de reactivos. Se inició con la reacción previa del ácido escuarico con 54 mg de beta ciclodextrina (0.052 mmol, 1.0 equiv.) y se disolvieron en una mezcla de *n*-butanol/tolueno (1:1), la reacción permaneció a reflujo y en agitación durante 1 hora, después de este tiempo se agregaron los dos equivalentes del indol **22**. Transcurridas 16 horas de reacción no se obtiene el producto. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 8.94 (d, *J* = 8.69, 1H), 7.66 (m, 4H), 7.55-7.51 (m, 4H), 4.05 (t, *J* = 7.68, 2H), 1.72 (q, *J* = 6.83, 2H), 1.18 (m, 6H), 0.83 (t, *J* = 6.90, 3H); **RMN ¹³C** (400 MHz, CDCl₃): δ 194.0, 148.5, 137.6, 134.6, 132.1, 132.1, 131.6, 131.3, 128.0, 127.3, 126.4, 118.8, 118.5, 118.3, 114.1, 113.9, 113.4, 111.6, 94.2, 88.3, 45.4, 31.0, 29.5, 26.4, 22.4, 13.9; Punto de fusión= mayor a 320 °C; IR (KBr, λ cm⁻¹): 2923 (C-H), 2225 (C-N), 1731(C=O), 1599 (C=C), 1161 y 1087 (C-C-O) 843 (C-H)

8.2.20 Síntesis 1-metil-1H-indol.



En un matraz de 25 mL fondo redondo, equipado con un agitador magnético se pesaron 400 mg de indol (3.410 mmol, 1.0 equiv.), 163.68 mg de NaH (6.826 mmol, 2.0 equiv.), con una jeringa adicionaron 6 mL de THF y 4 mL de DMF; con una microjeringa se agregaron 213 μ L de yodometano (3.410mmol. 1.0 equiv.) y se dejó reaccionar durante 1 hora en atmosfera de nitrógeno, agitación constante, temperatura ambiente y en ausencia de luz. El precipitado que se formó al concluir la reacción se disolvió con 1 mL de metanol, la disolución se lavó con acetato de etilo y H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. Finalmente, el compuesto se aisló por cromatografía en columna utilizando una fase de elusión hexano/acetato de etilo (95:5). Rendimiento de 92%. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.49 (m, 2H), 7.39 (ddd, J = 7.9, 6.8, 1.3 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H). **RMN de ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ 136.72 (s), 128.80 (s), 121.48 (s), 120.87 (s), 119.29 (s), 109.23 (s), 100.88 (s), 32.63 (s).

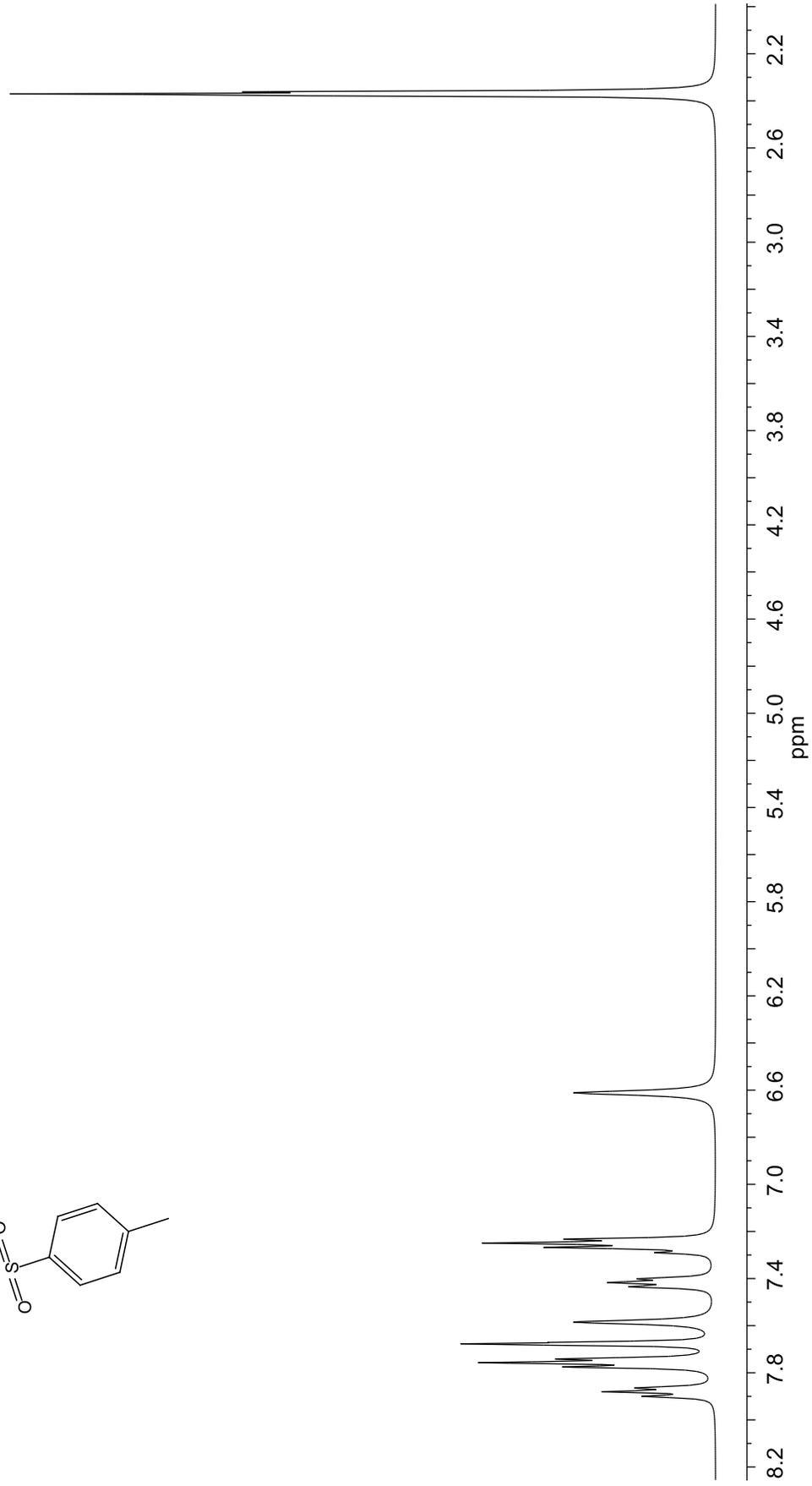
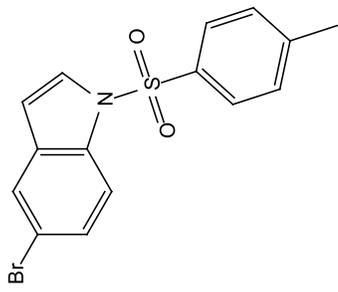
8.2.21 Síntesis de la escuaraina 25.



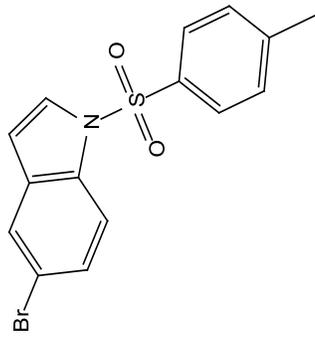
En un matraz de fondo redondo provisto con un agitador magnético se pesaron 150 mg de 1-metil-1H-indol (1.144 mmol, 2.0 equiv.) y 65 mg de 3,4-dihidroxiciclobut-3-en-1,2-diona (0.572 mmol, 1.0 equiv.), los reactivos se disolvieron en una mezcla de *n*-butanol/tolueno (1:1), se adaptó al matraz de reacción una trampa de Dean stark con un refrigerante, la temperatura de reacción se incrementó hasta reflujo de los disolventes durante 16 horas en agitación. El disolvente se evaporó a presión reducida y se intentó aislar el compuesto por cromatografía en columna con una fase de elusión hexano/acetato de etilo (80:20). Se obtiene el producto impuro como un sólido rojo. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (s, 1H), 7.49 (dd, J = 9.4, 4.3 Hz, 2H), 7.40 (dd, J = 9.0, 3.8 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 3.98 (d, J = 4.2 Hz, 3H). **RMN**

de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 206.75, 135.19, 129.94, 129.76, 124.11, 123.09, 112.47, 110.45, 100.35, 32.78.

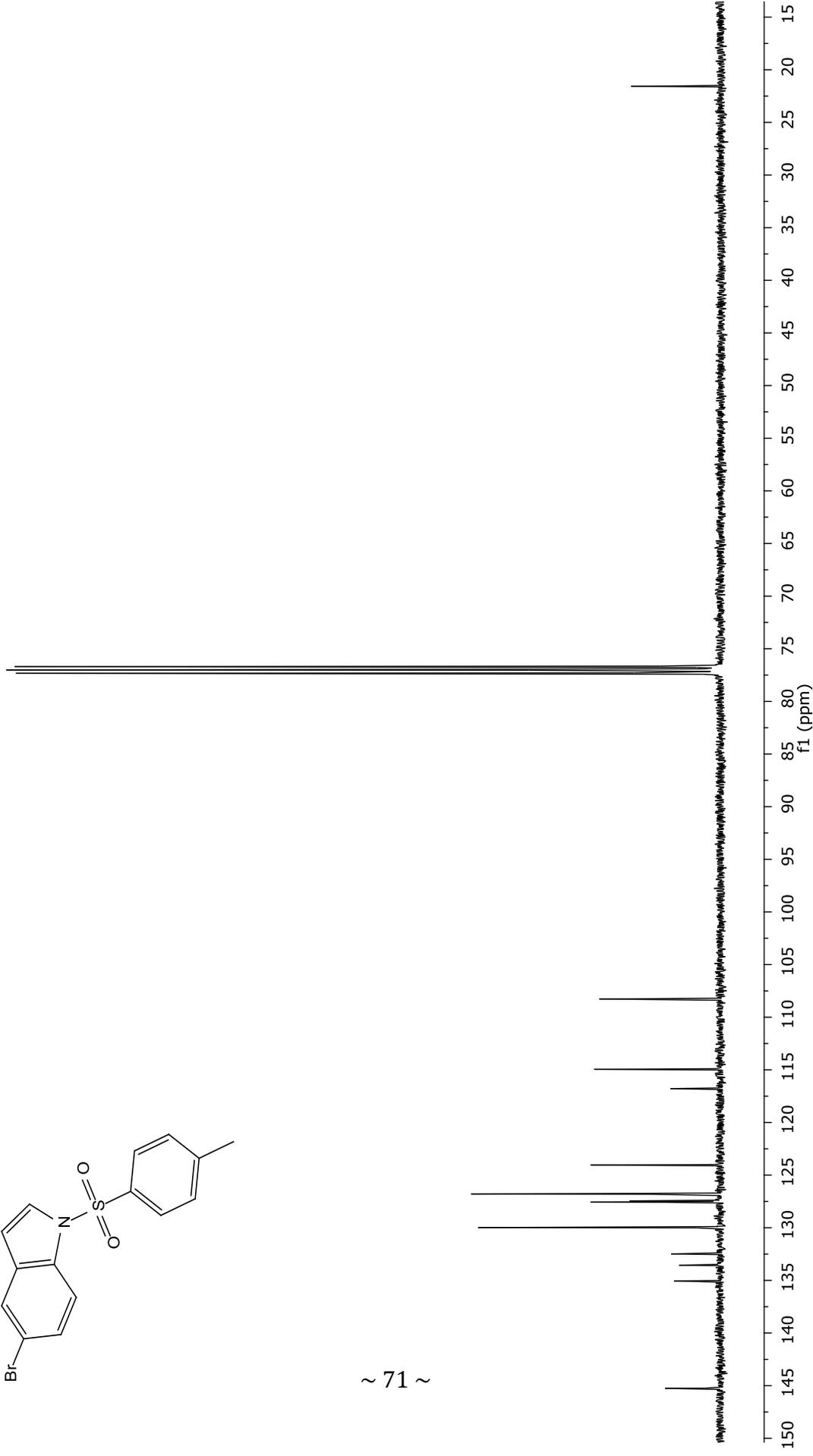
9 ANEXOS: ESPECTROSCOPIA



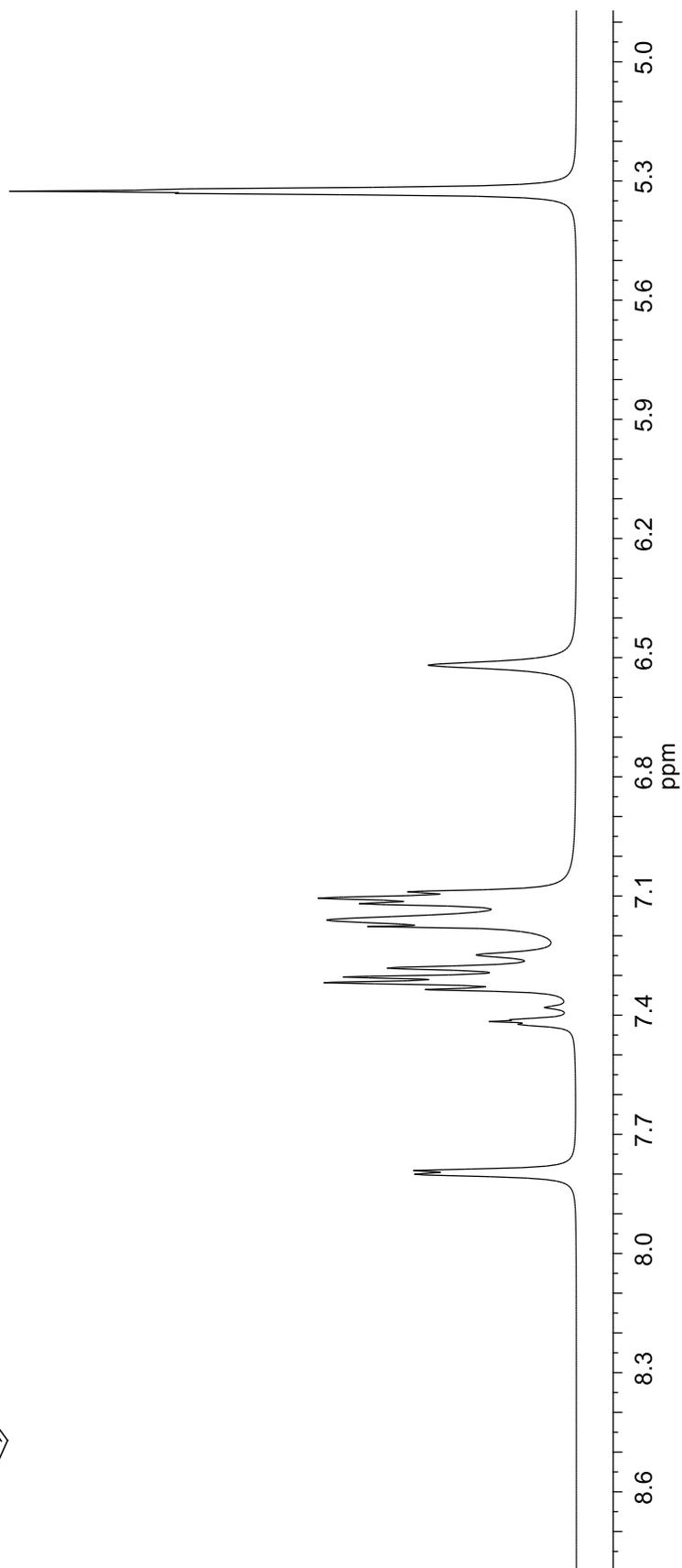
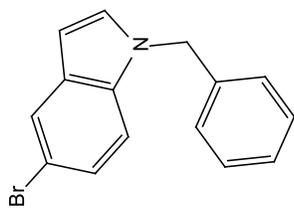
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **2** en CDCl_3 a 400 MHz.



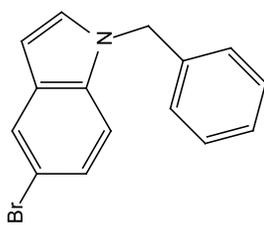
~ 71 ~



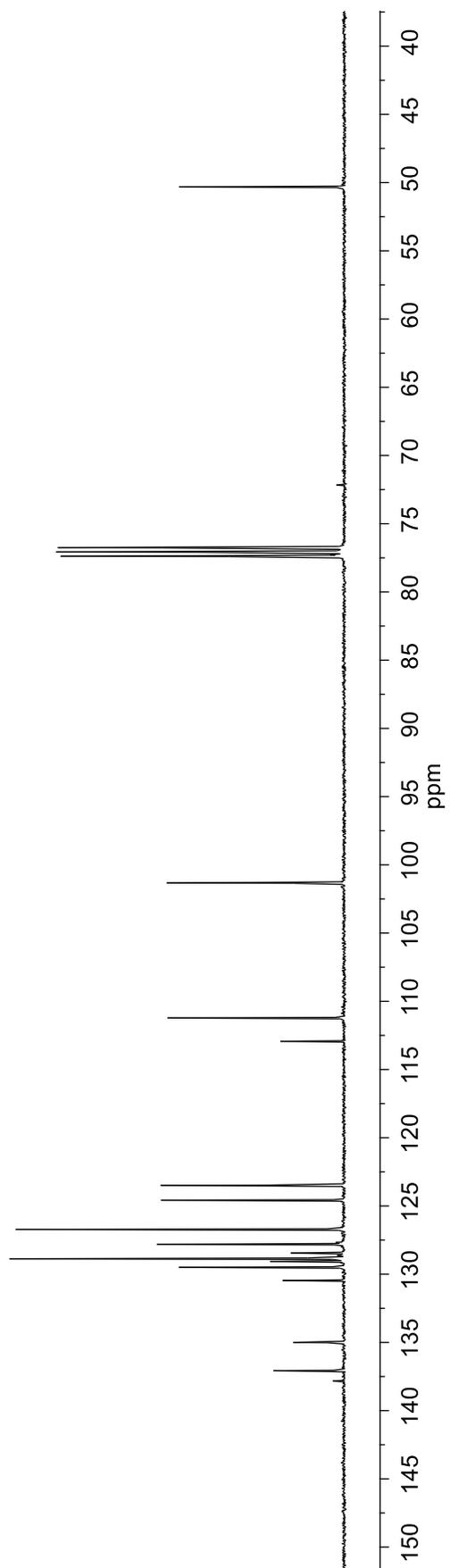
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto **2** en CDCl₃ a 100 MHz.



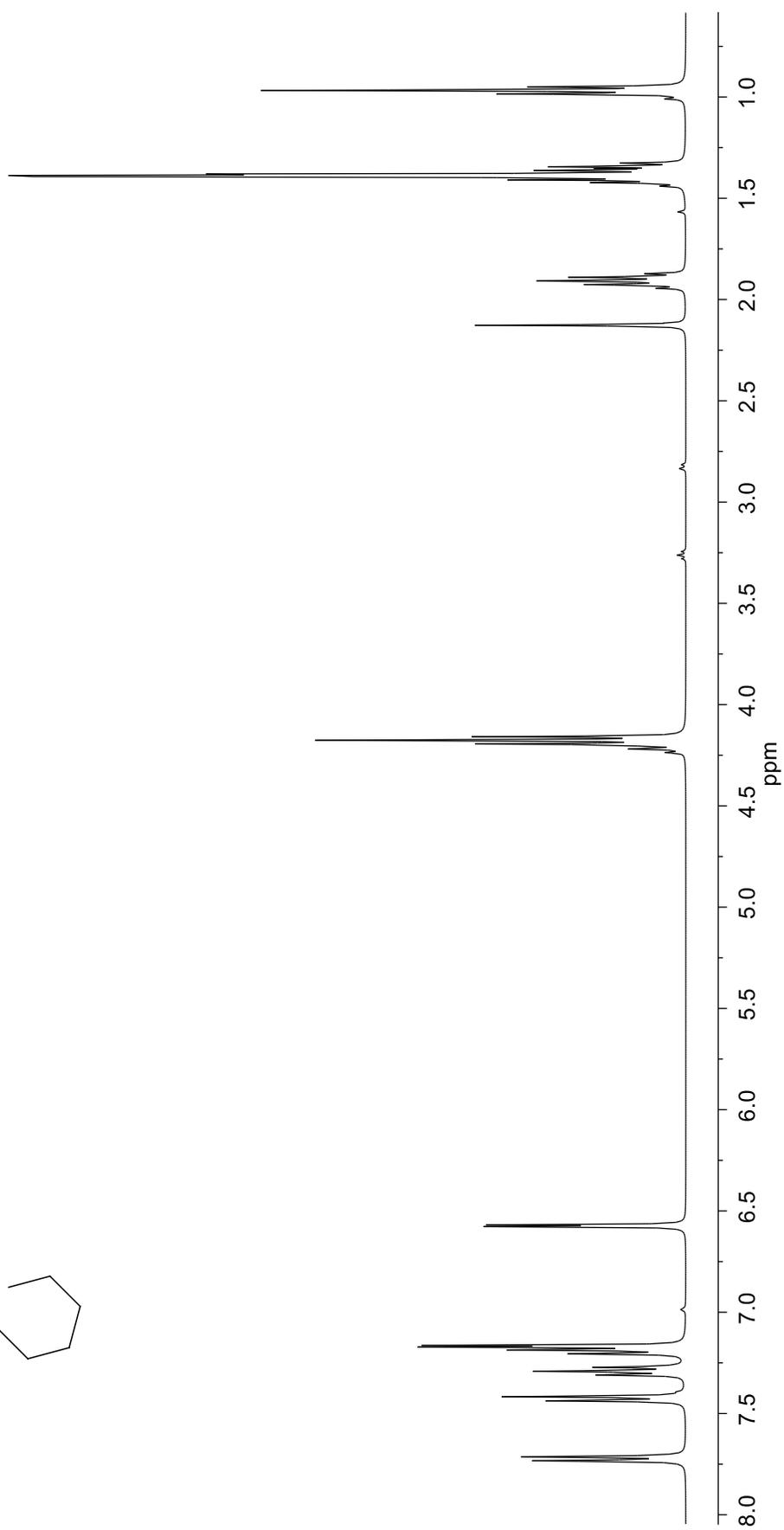
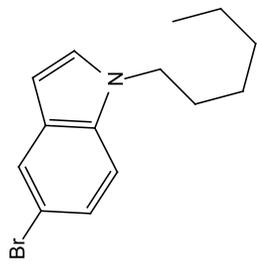
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **3** en CDCl_3 a 400 MHz.



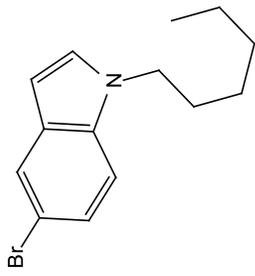
~ 73 ~



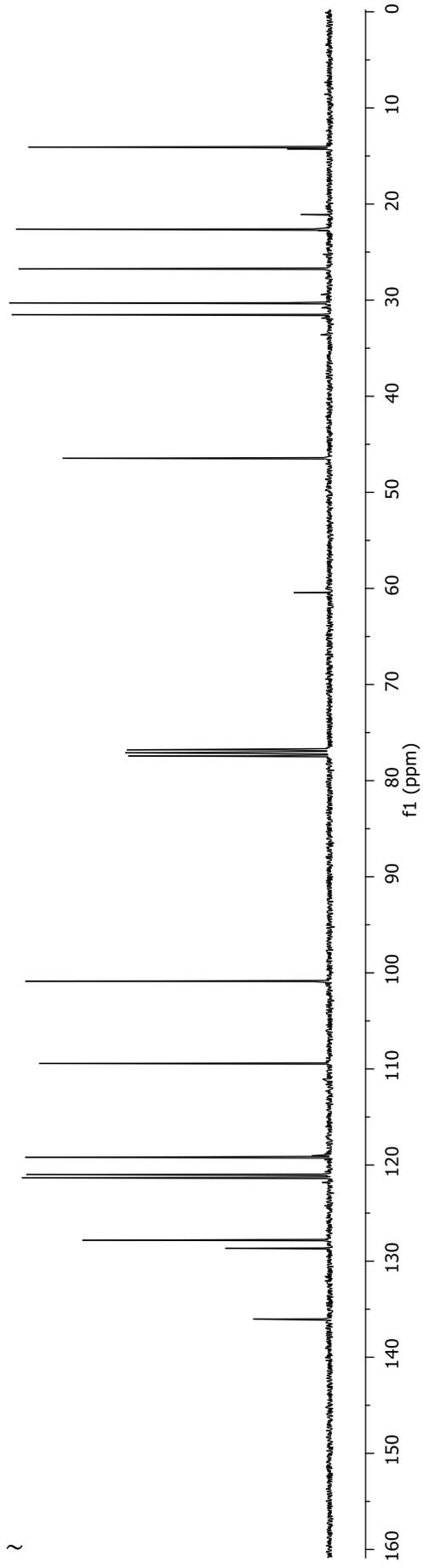
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto **3** en CDCl₃ a 100 MHz.



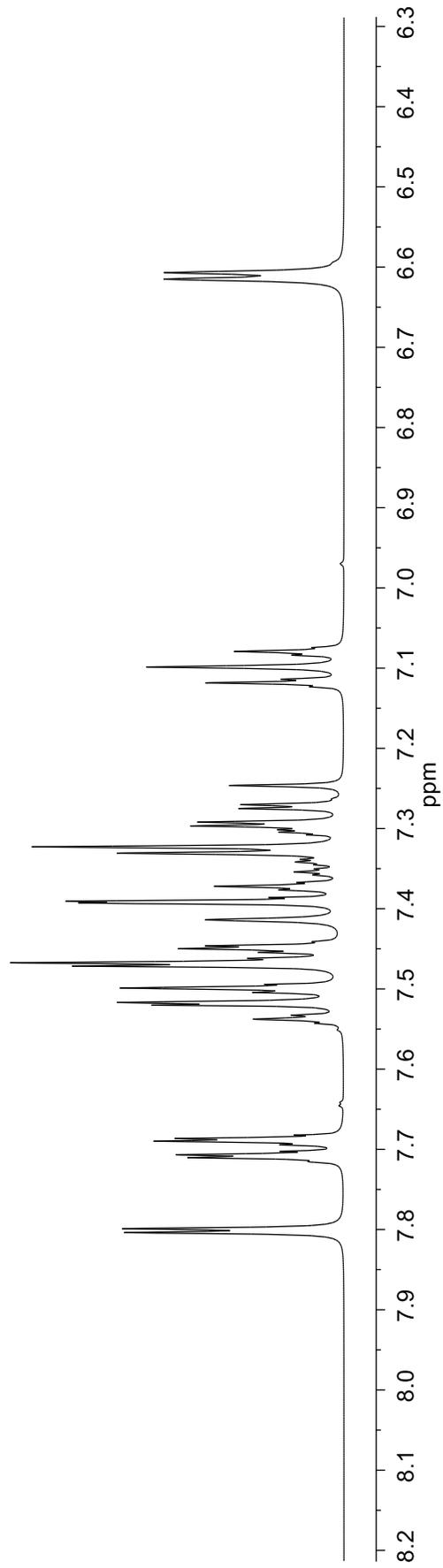
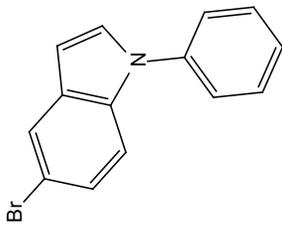
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **4** en CDCl_3 a 400 MHz.



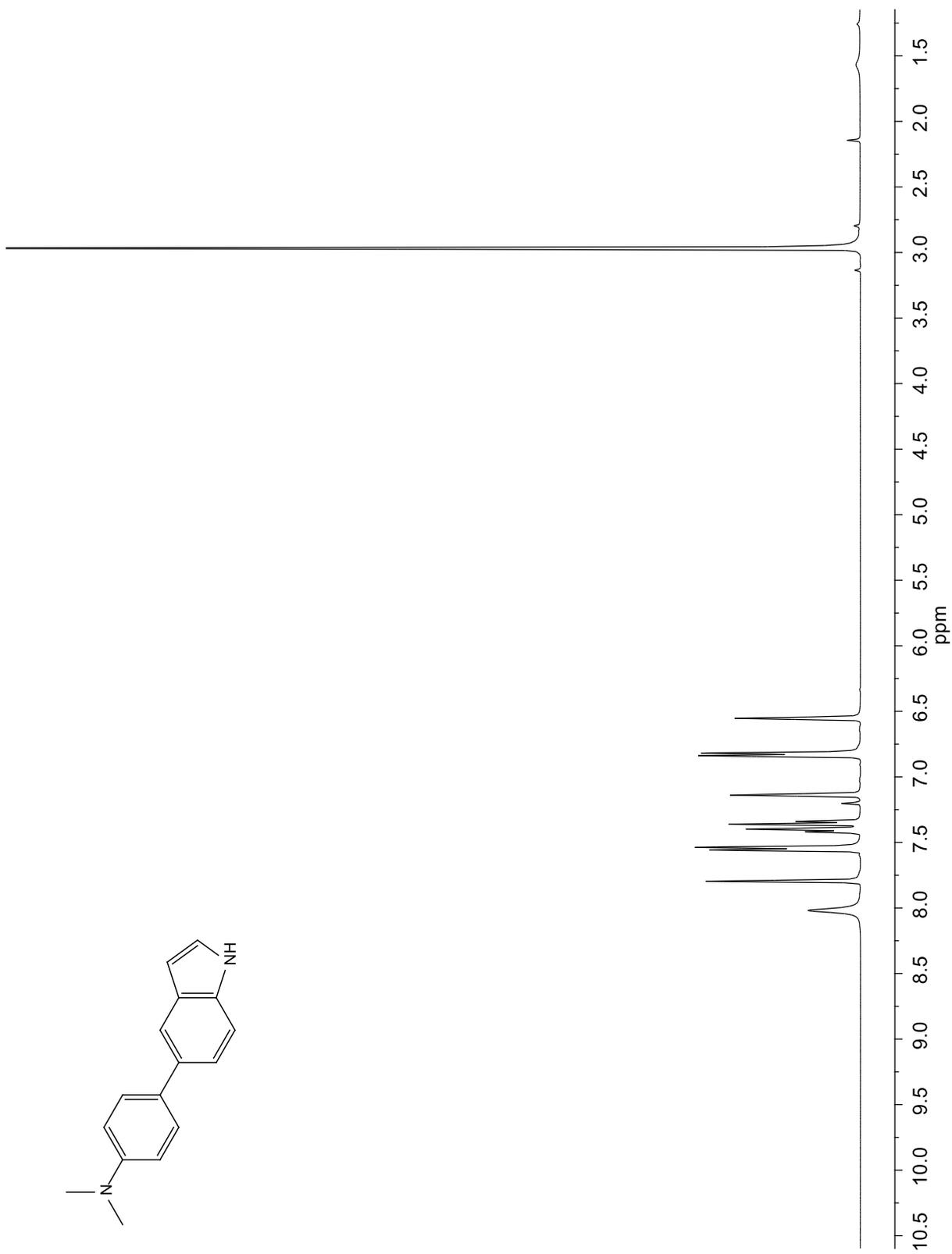
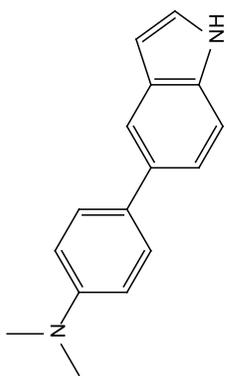
~ 75 ~



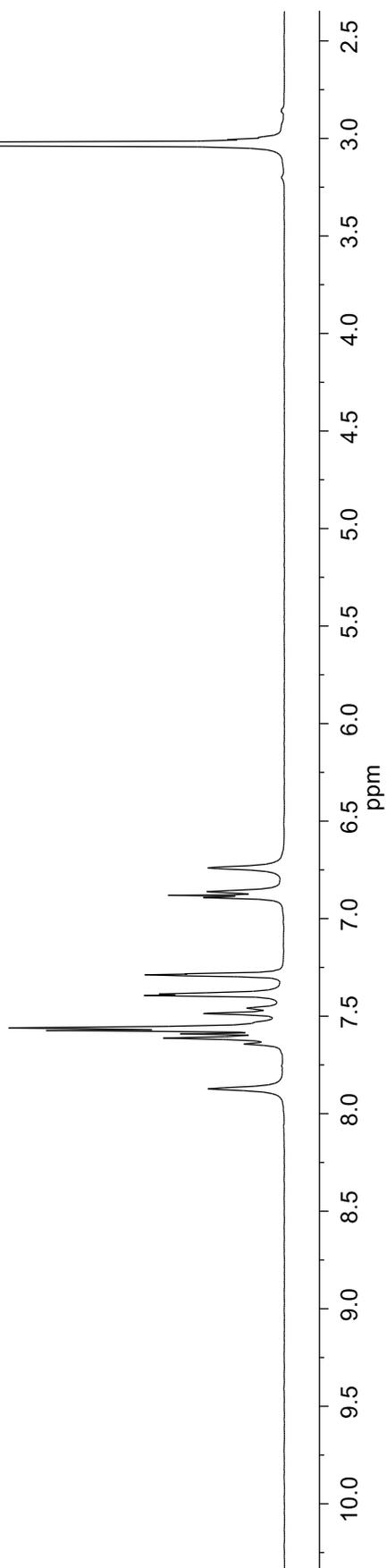
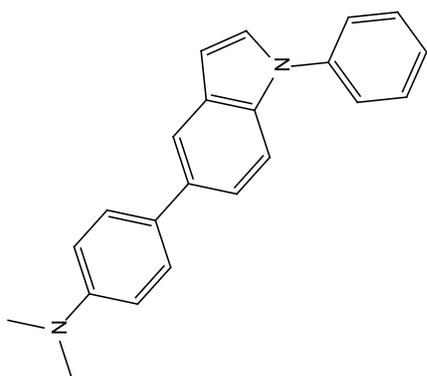
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 4 en CDCl_3 a 100 MHz.



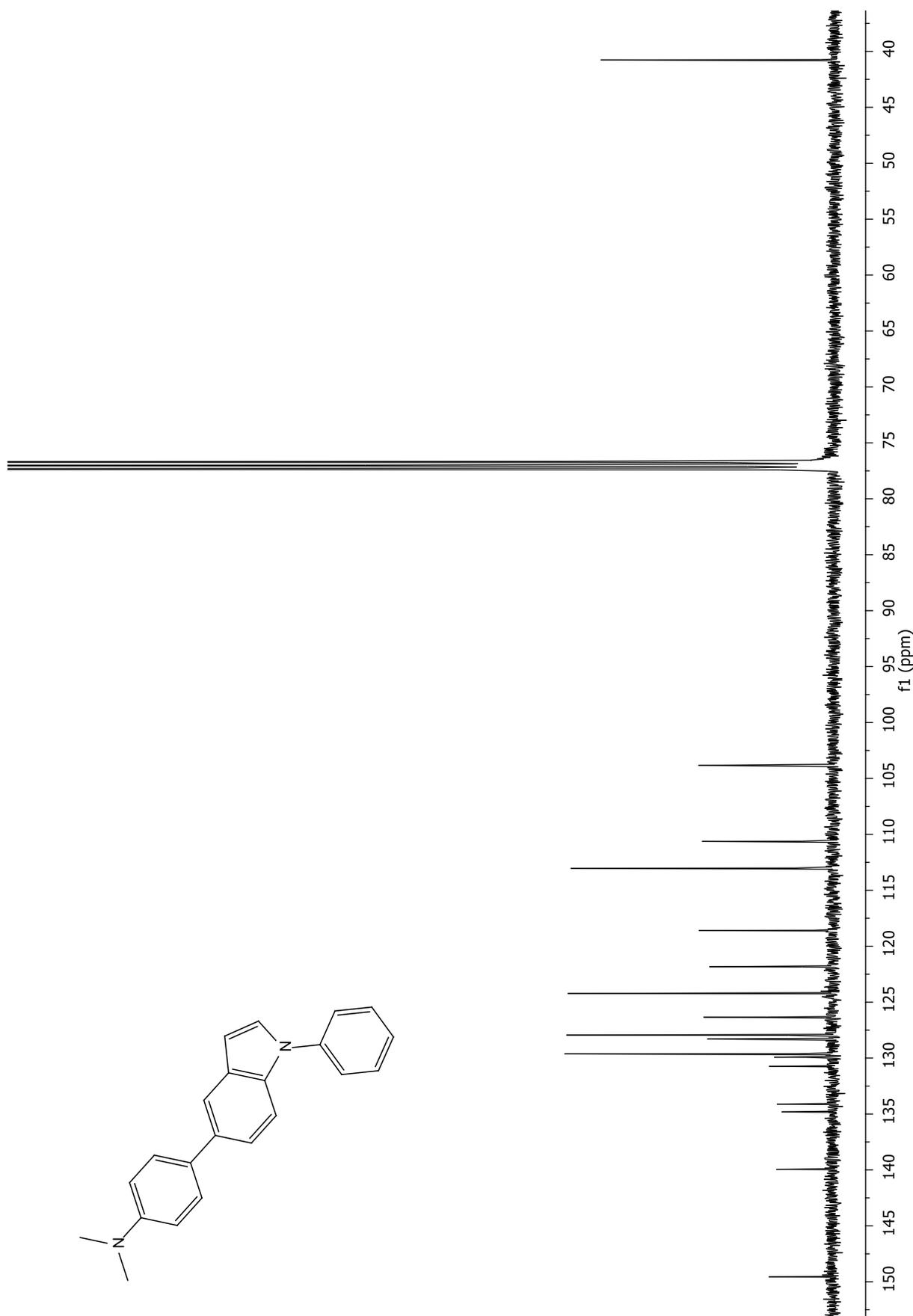
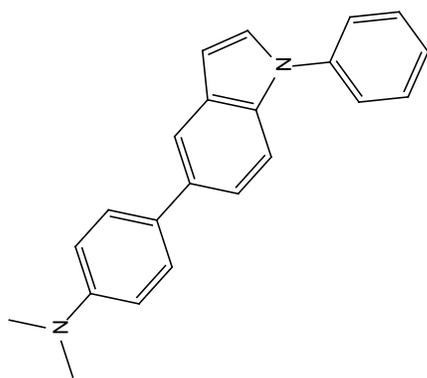
Espectro de RMN de ¹H del compuesto **5** en CDCl₃ a 400 MHz.



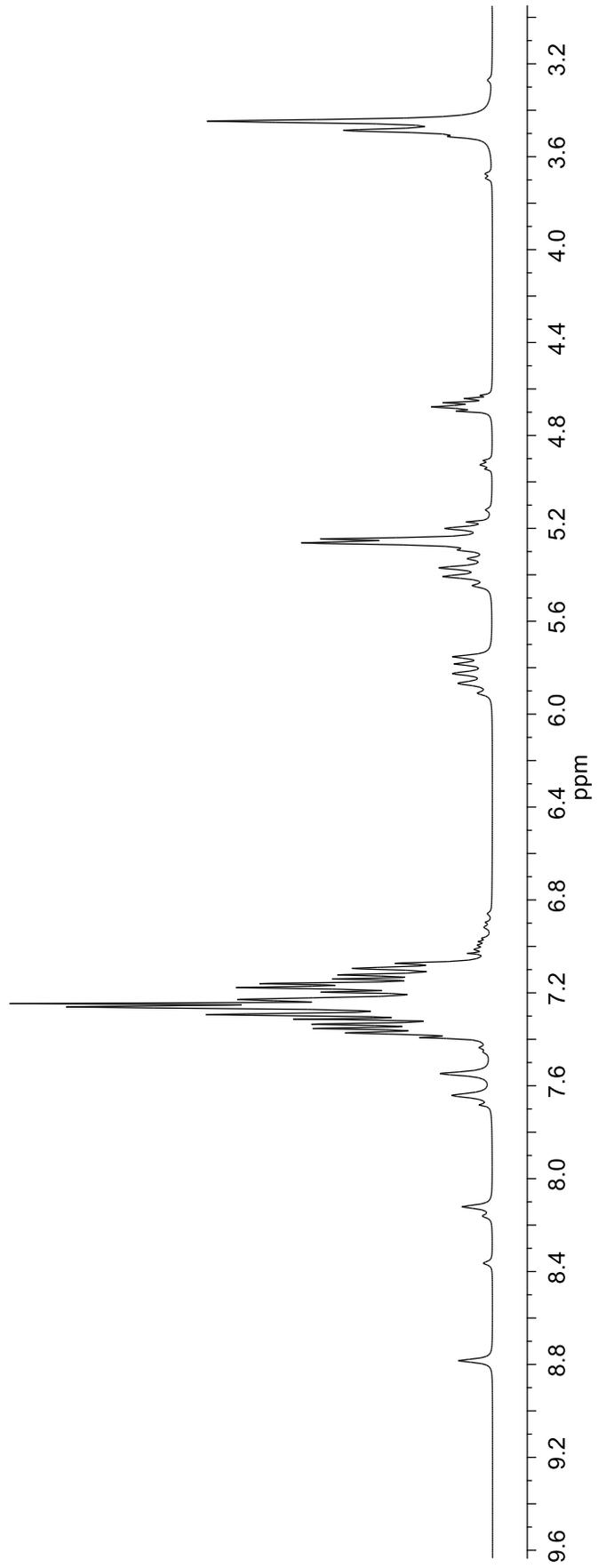
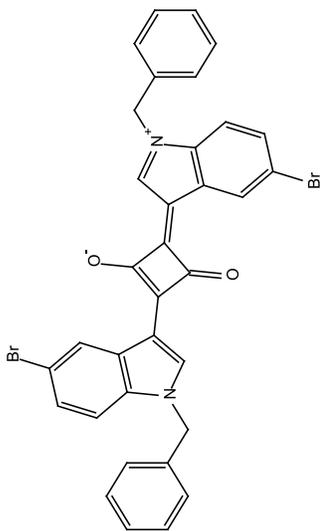
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **6** en CDCl_3 a 400 MHz.



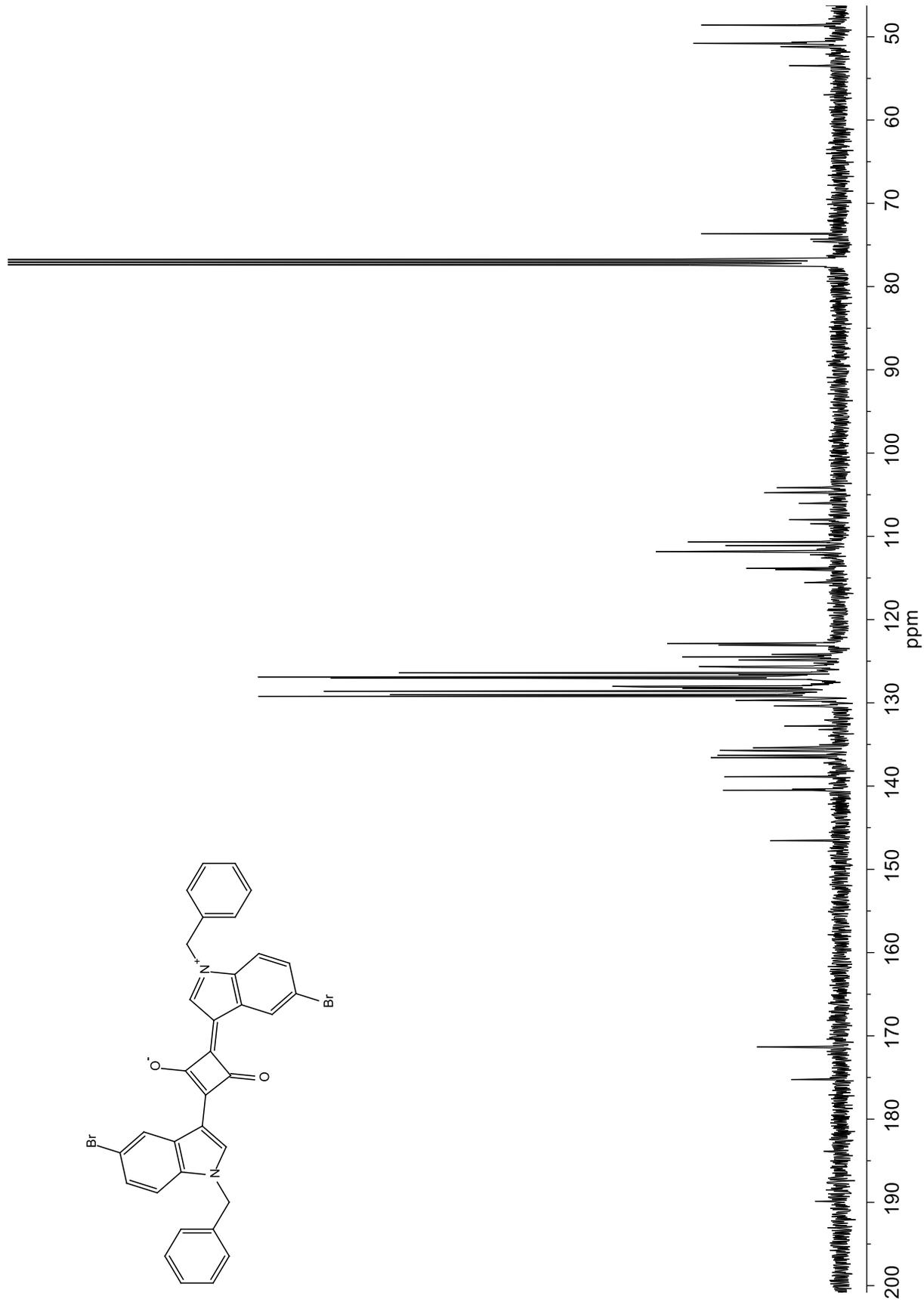
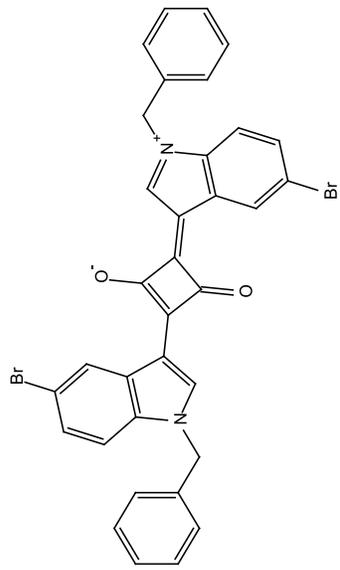
Espectro de RMN de ¹H del **7** compuesto en CDCl₃ a 400 MHz.



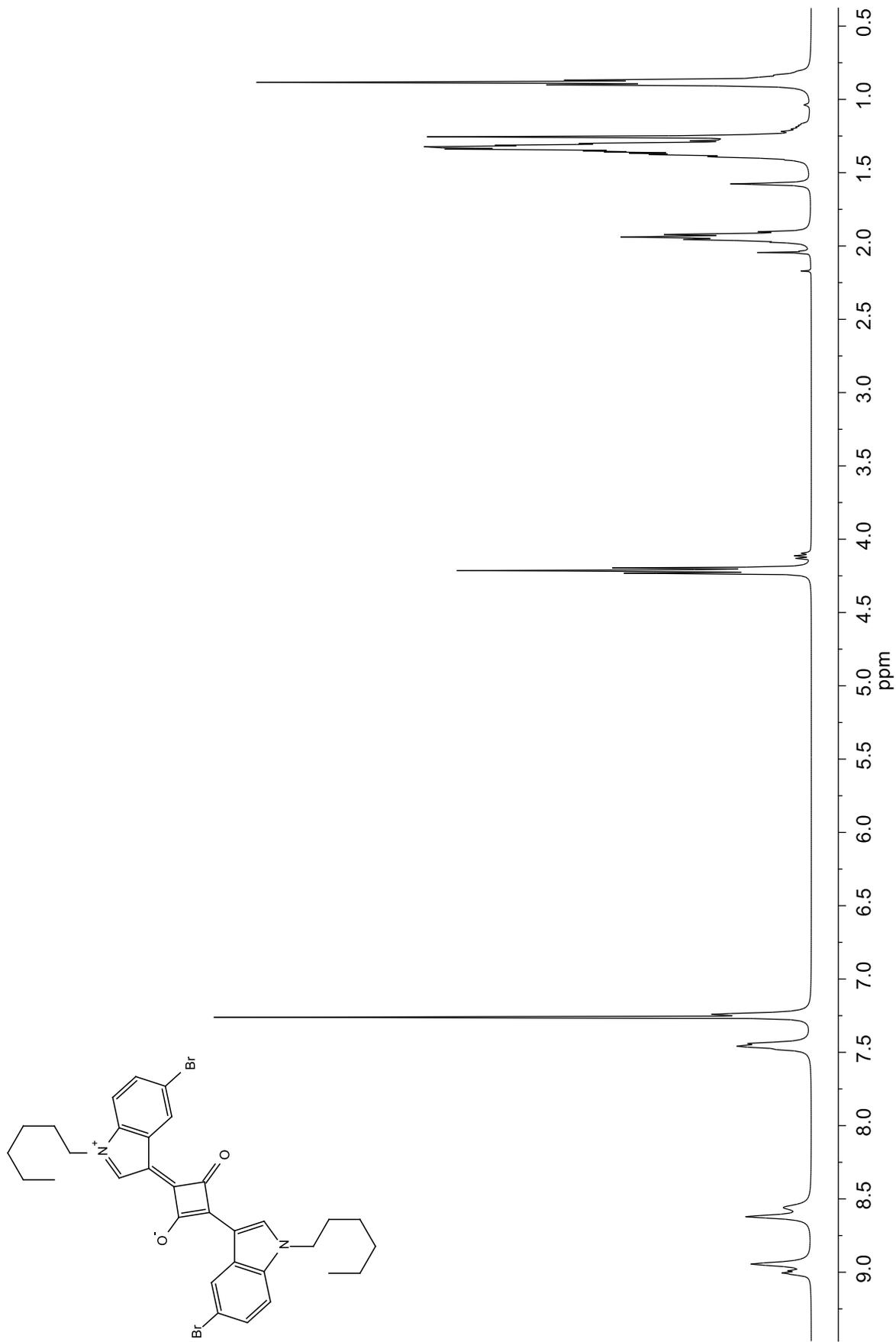
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 7 en CDCl_3 a 100 MHz.



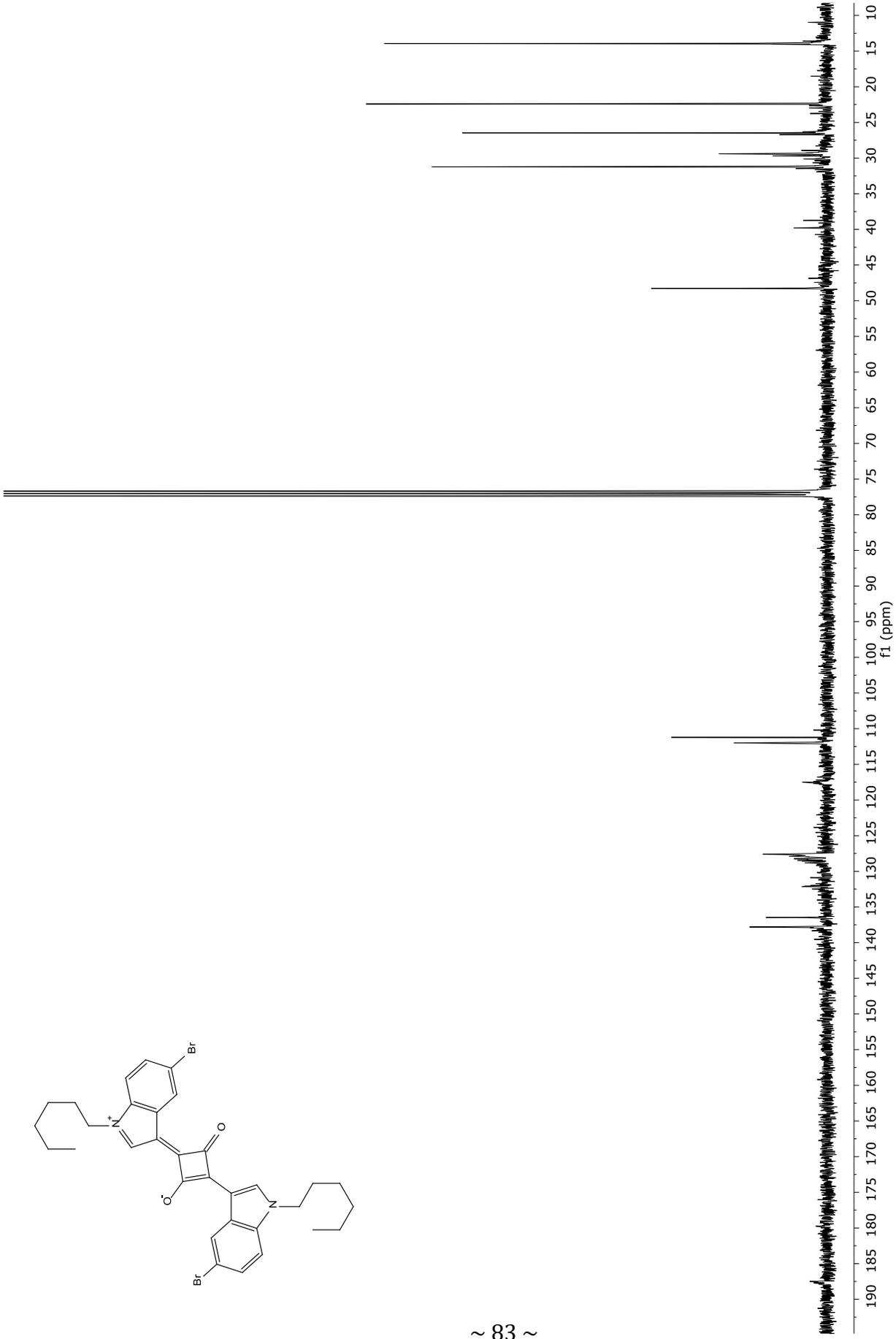
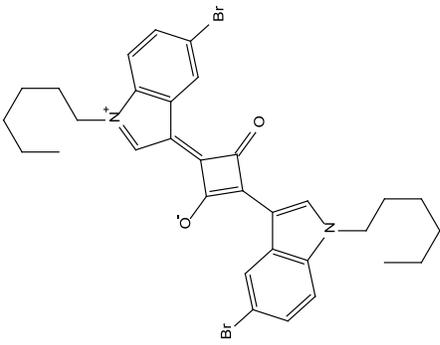
Espectro de RMN de ¹H del compuesto **9** en CDCl₃ a 400 MHz.

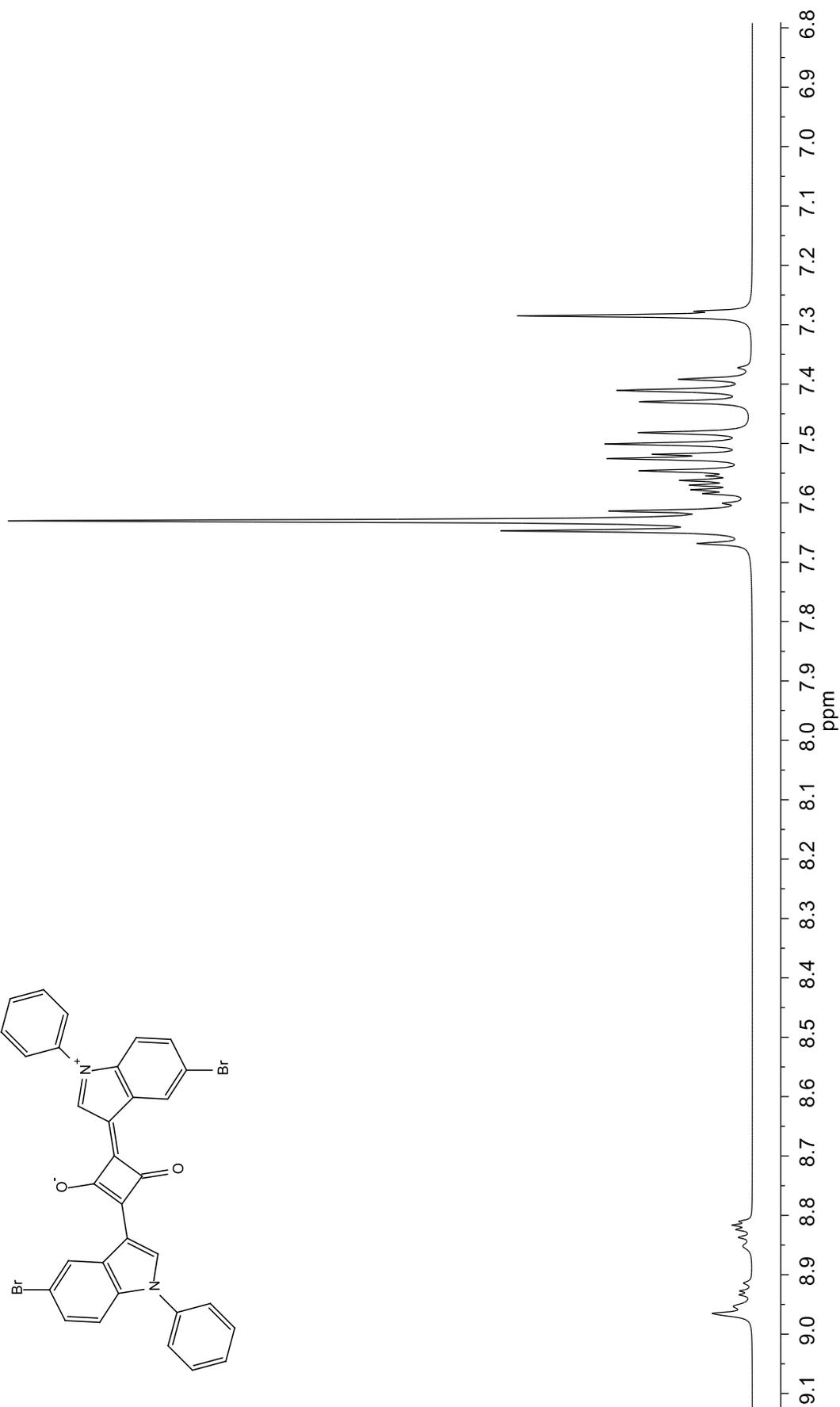
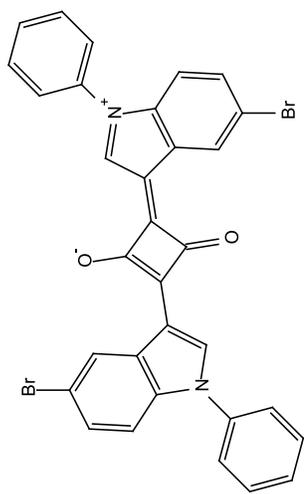


Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **9** en CDCl_3 a 100 MHz.

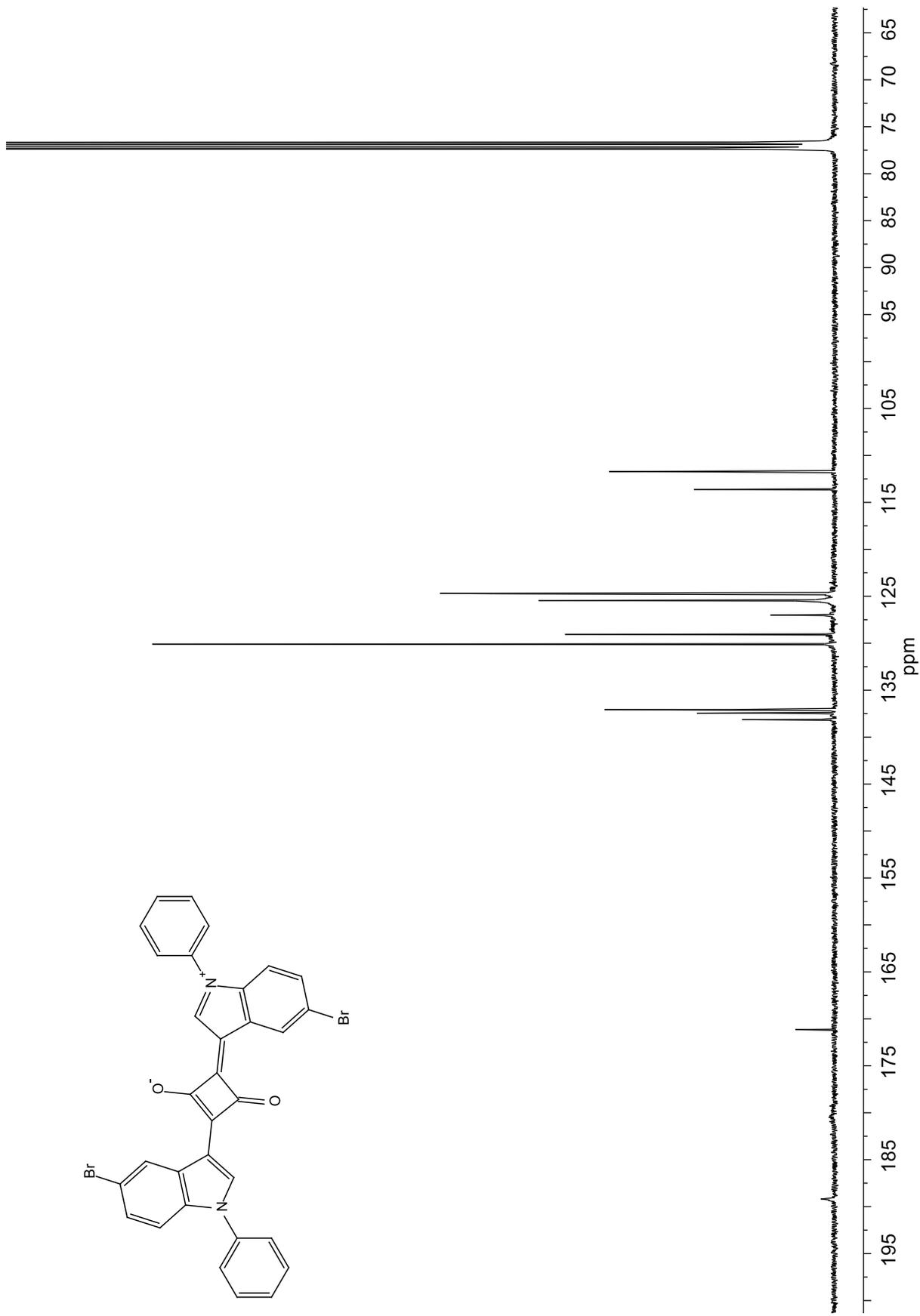
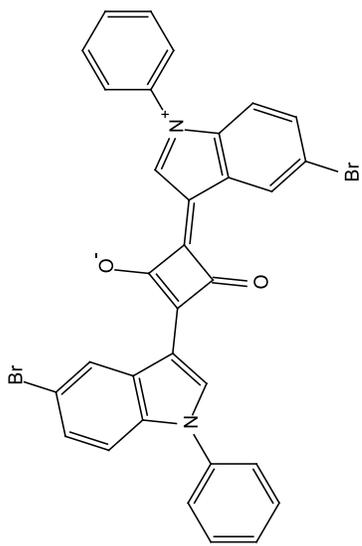


Espectro de RMN de ¹H del compuesto **10** en CDCl₃ a 400 MHz.

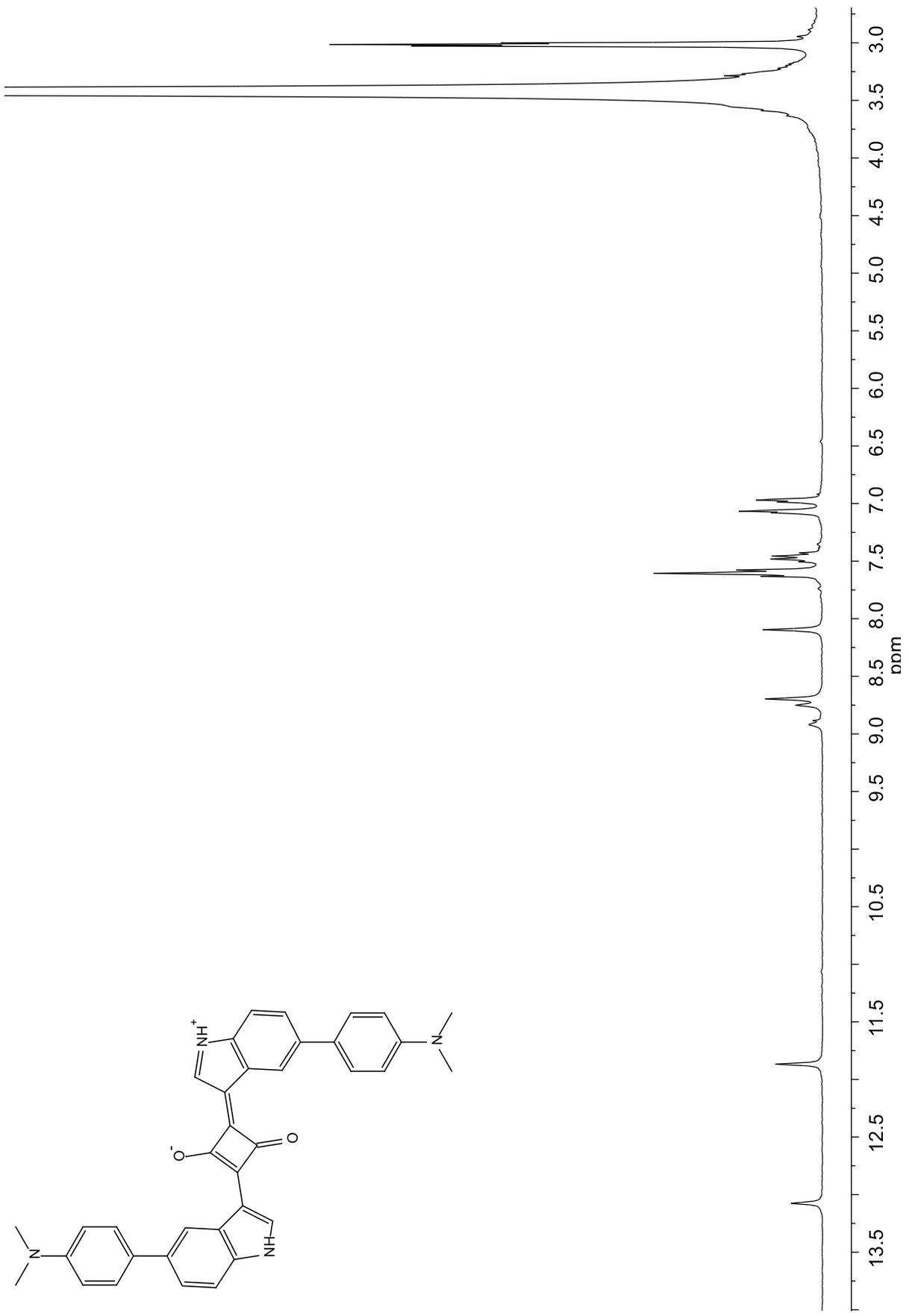




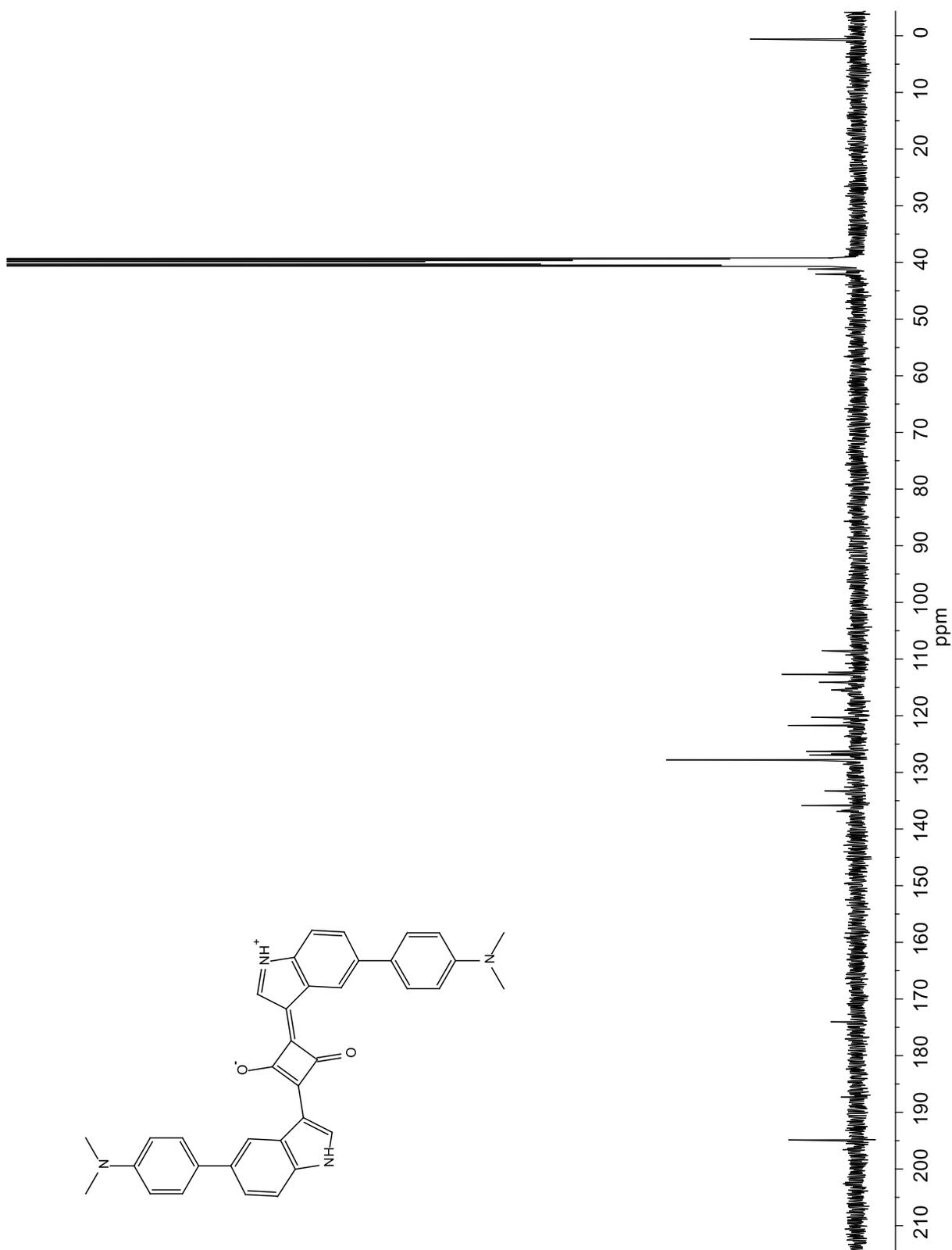
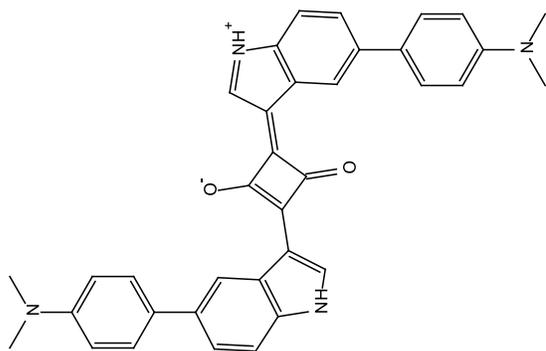
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **11** en CDCl_3 a 400 MHz.



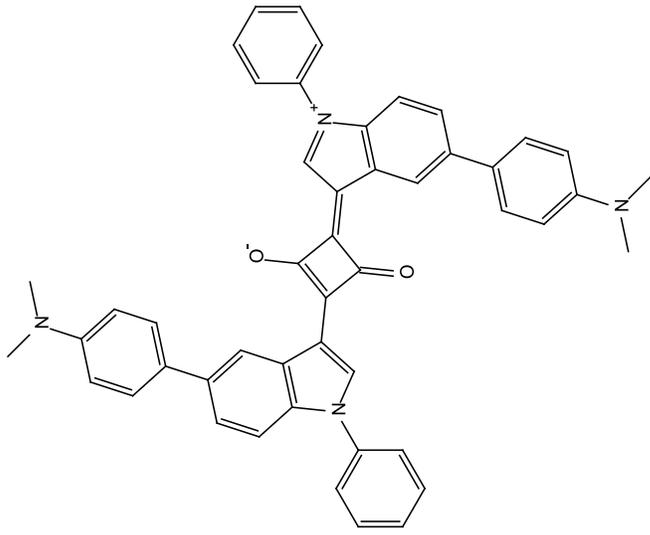
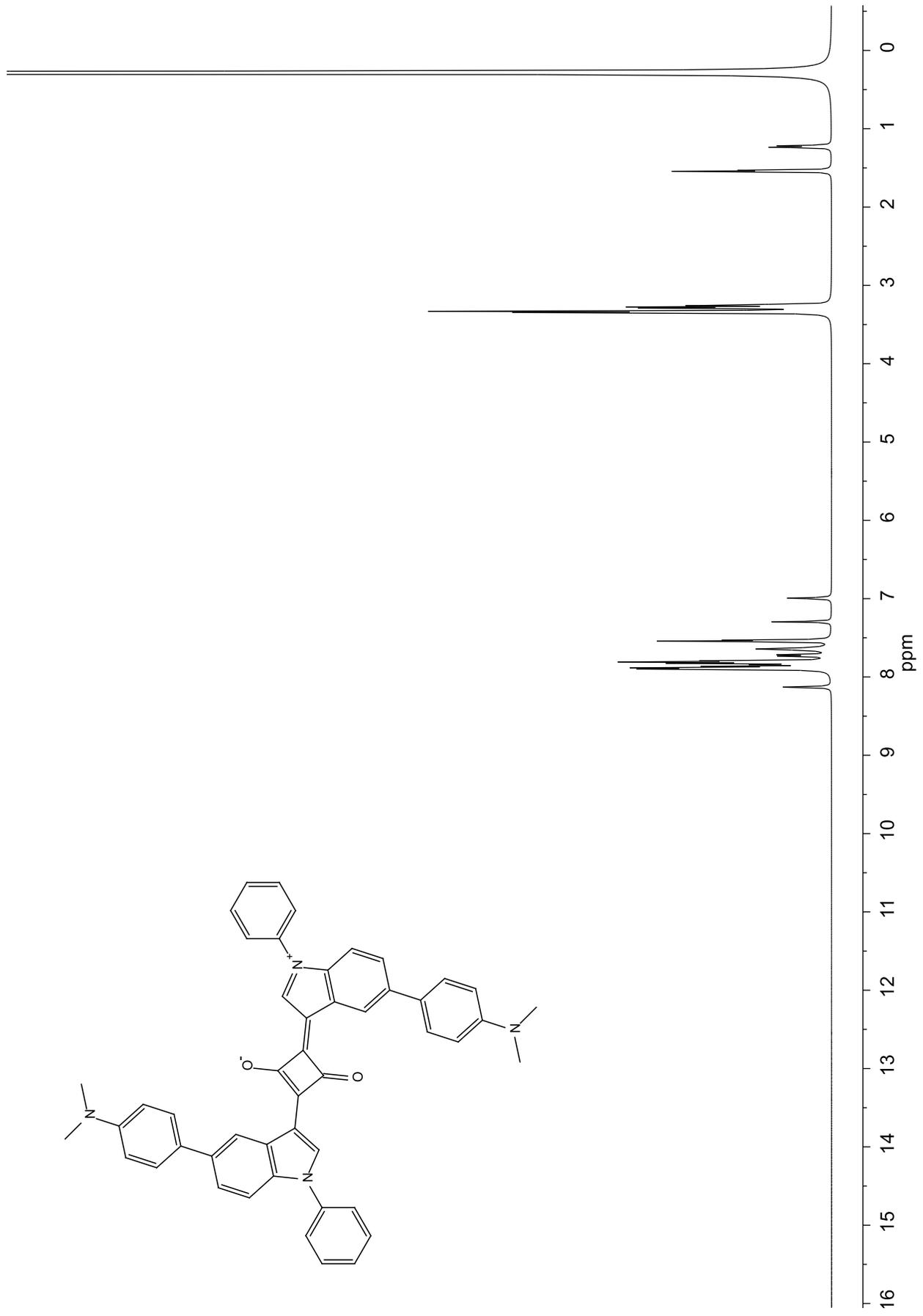
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto 11 en CDCl₃ a 100 MHz.



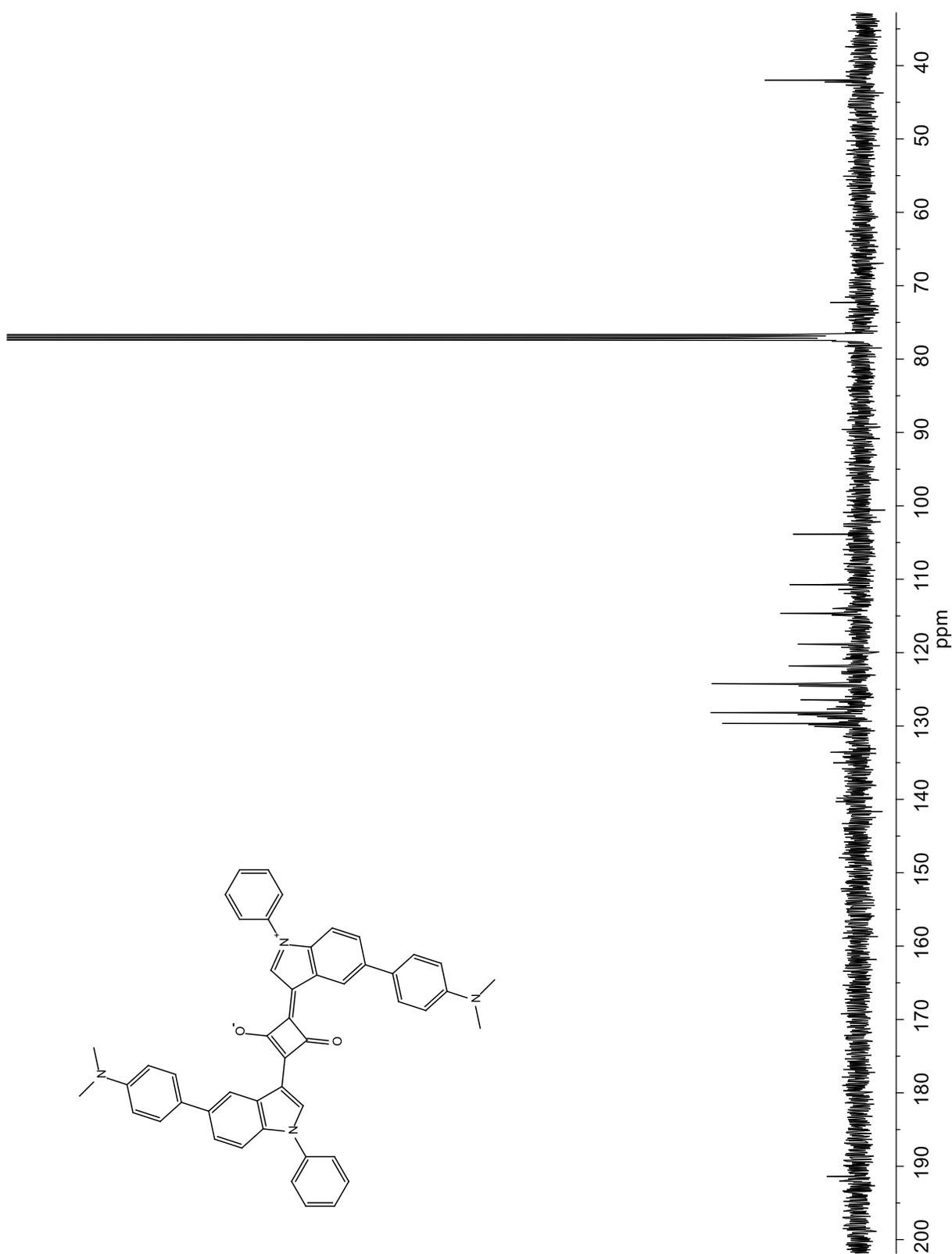
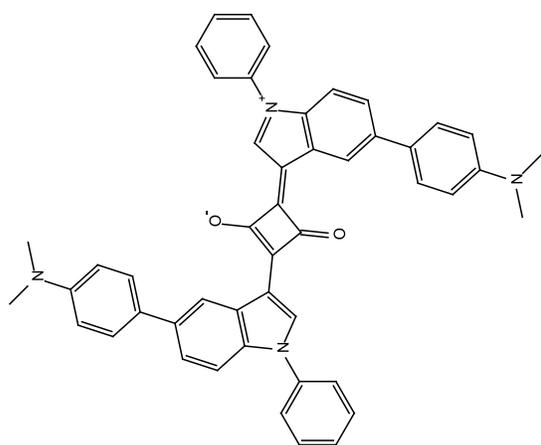
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **12** en DMSO-d_6 a 400 MHz.



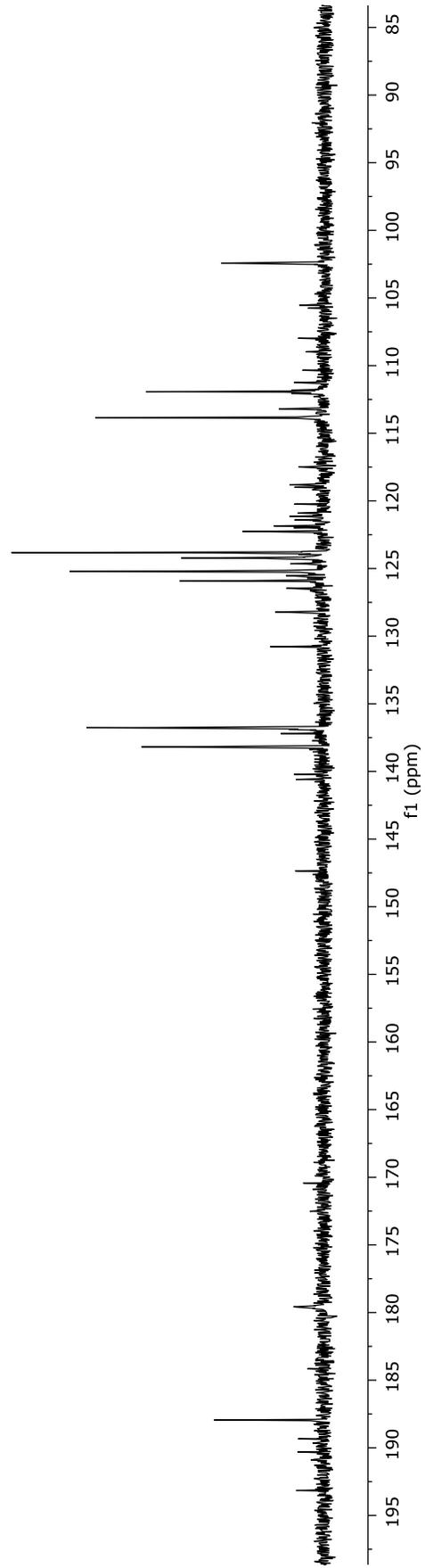
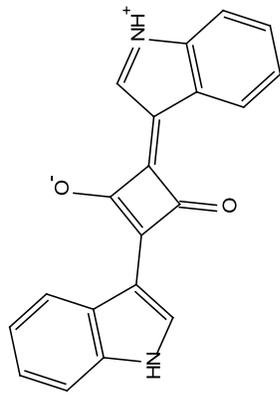
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **12** en DMSO-d_6 a 100 MHz.



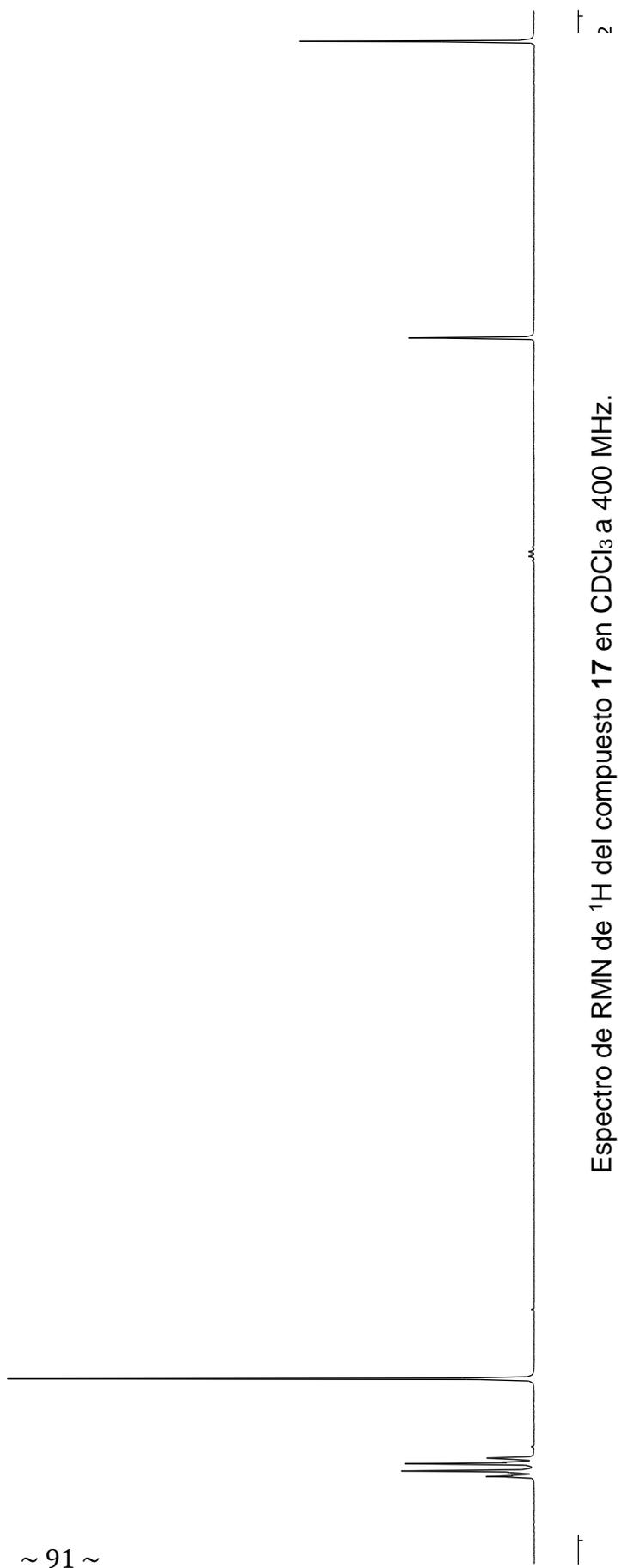
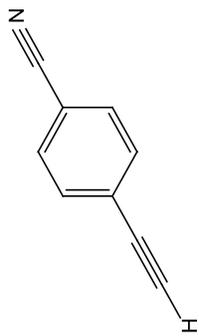
Espectro de RMN de ¹H del compuesto **13** en CDCl₃ a 400 MHz.

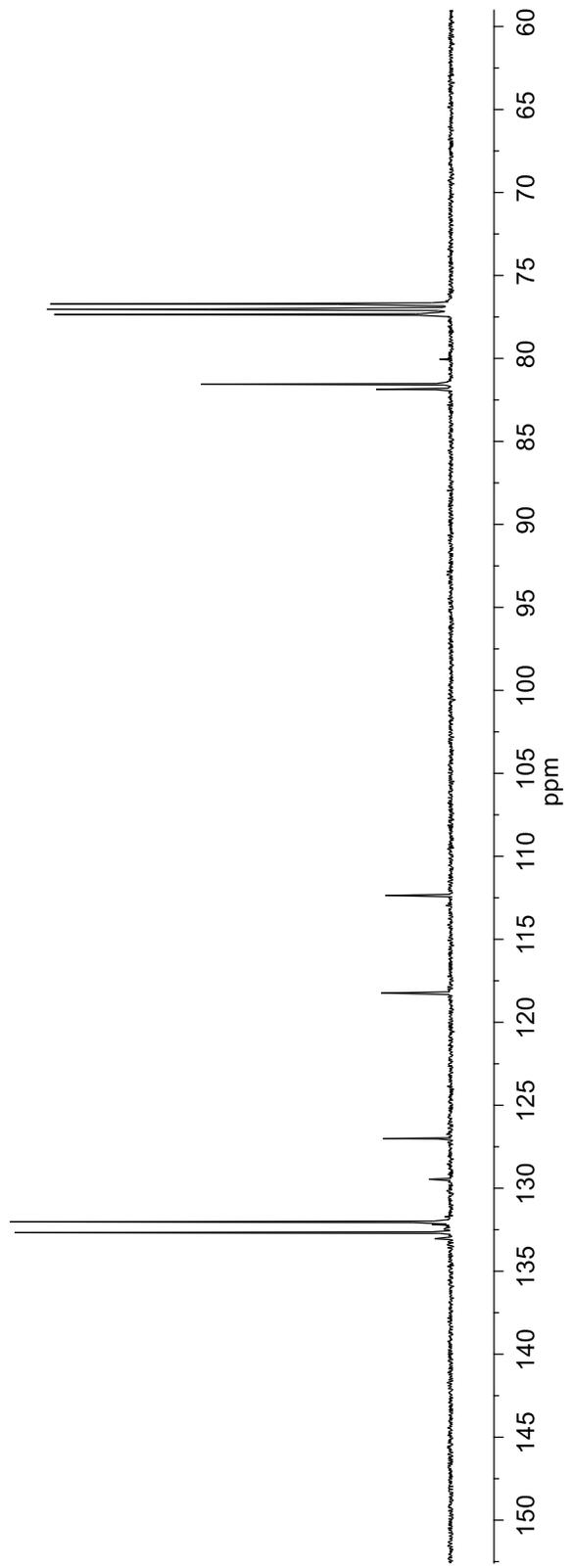
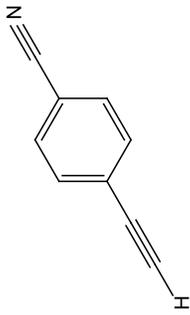


Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **13** en CDCl_3 a 100 MHz.

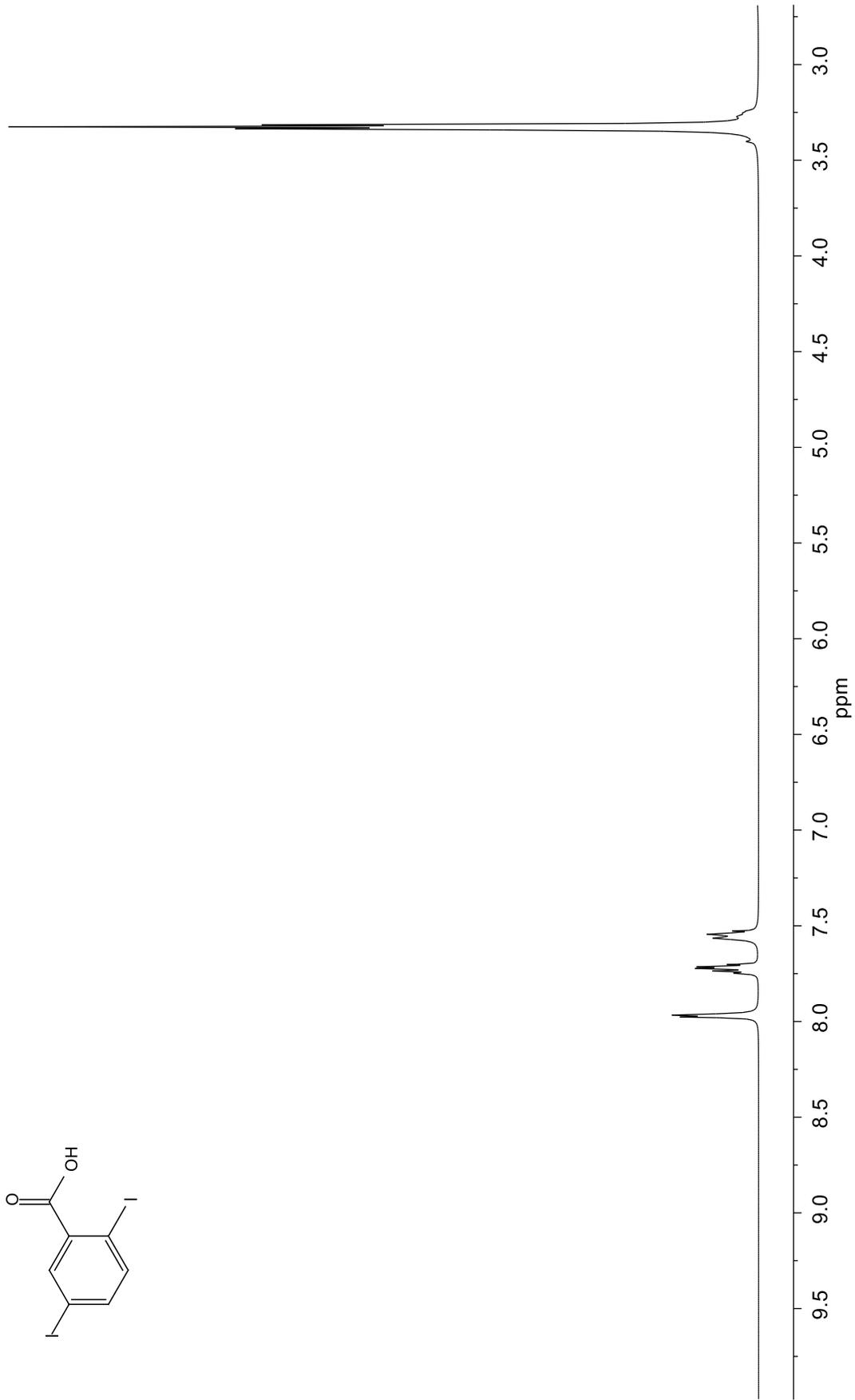
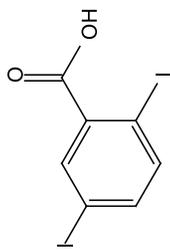


Espectro de RMN de ¹³C del compuesto **15** en CDCl₃ a 100 MHz.

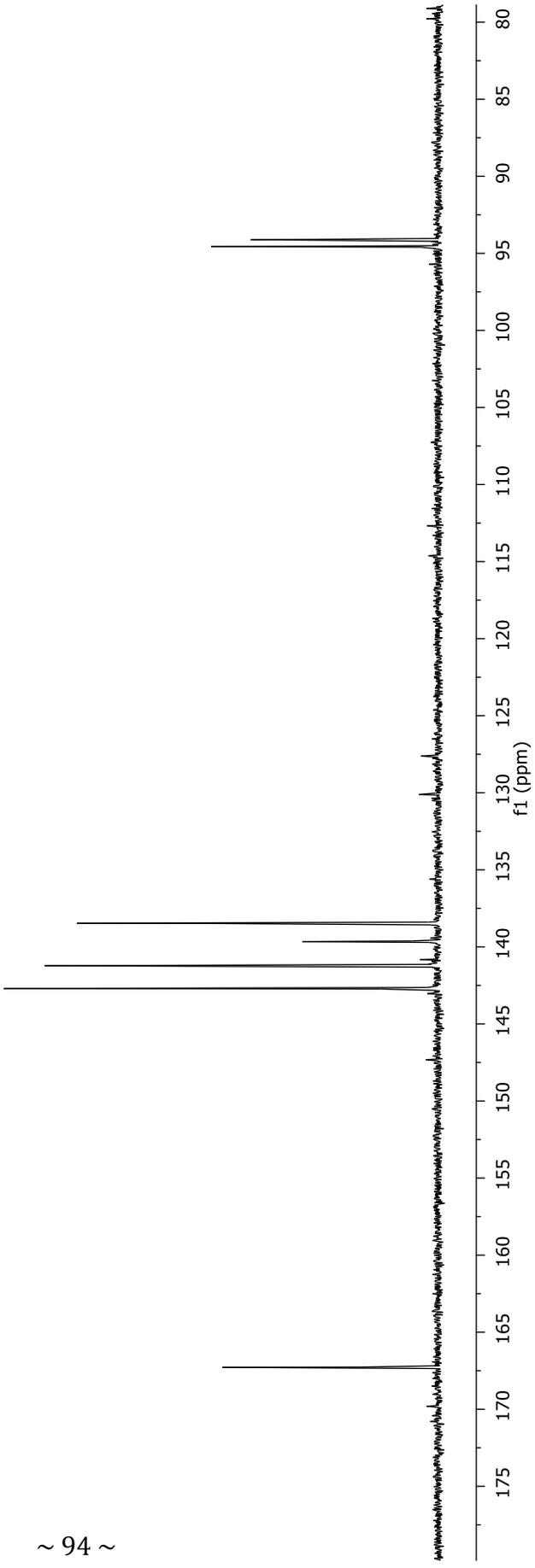
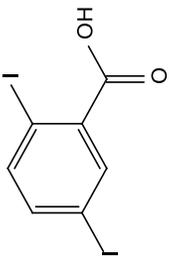




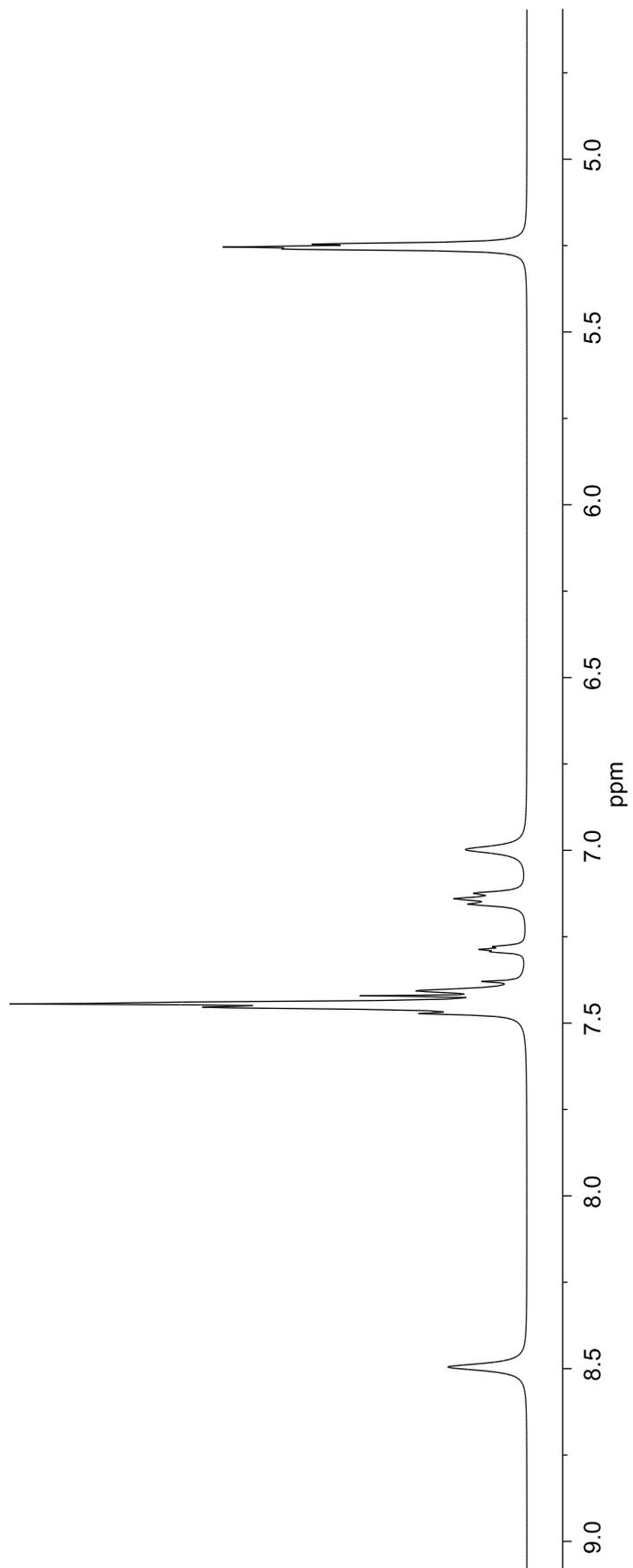
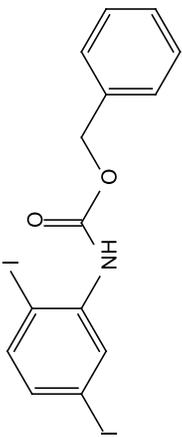
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **17** en CDCl_3 a 100 MHz.



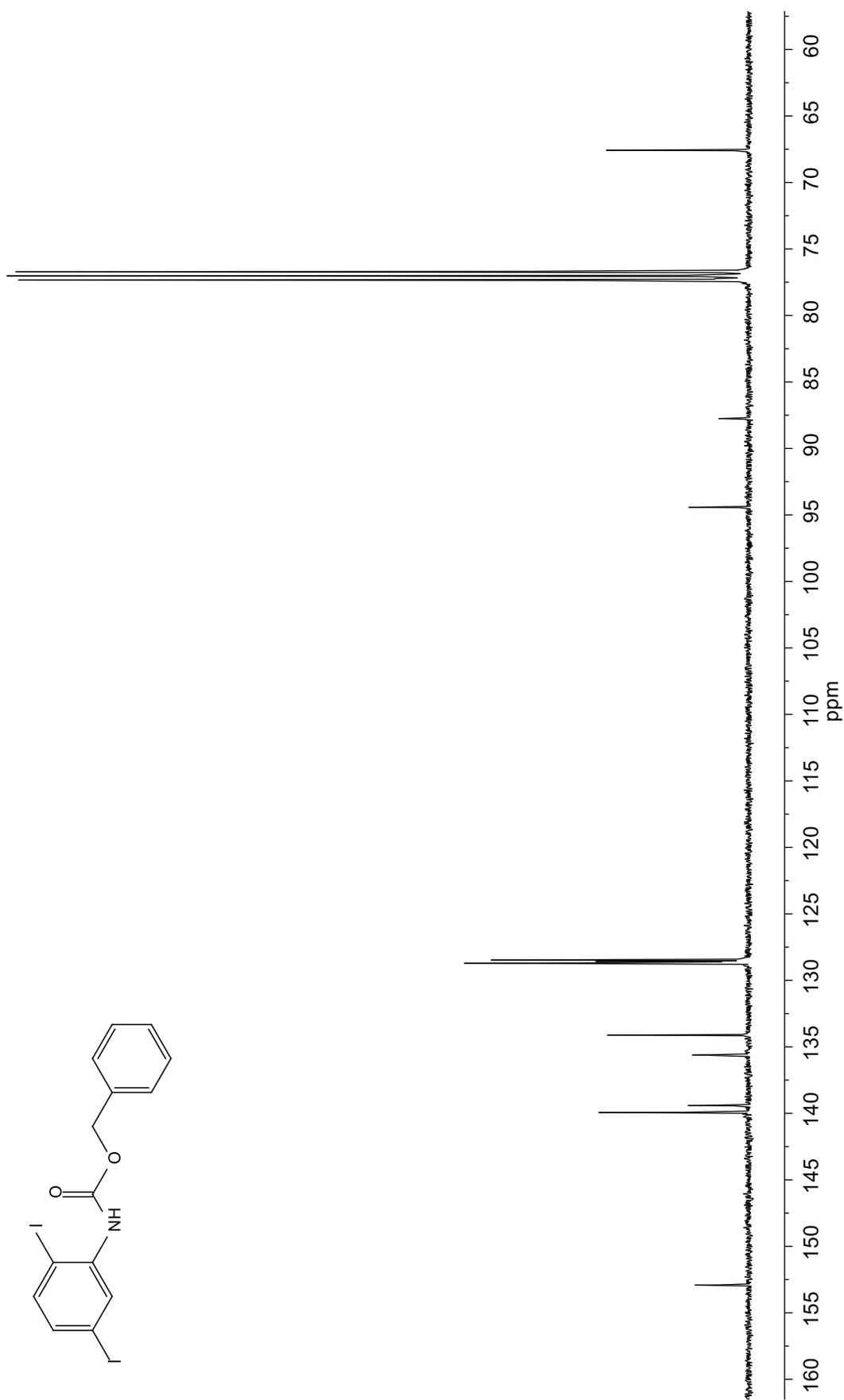
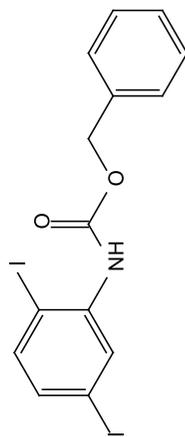
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **18** en DMSO-d_6 a 400 MHz.



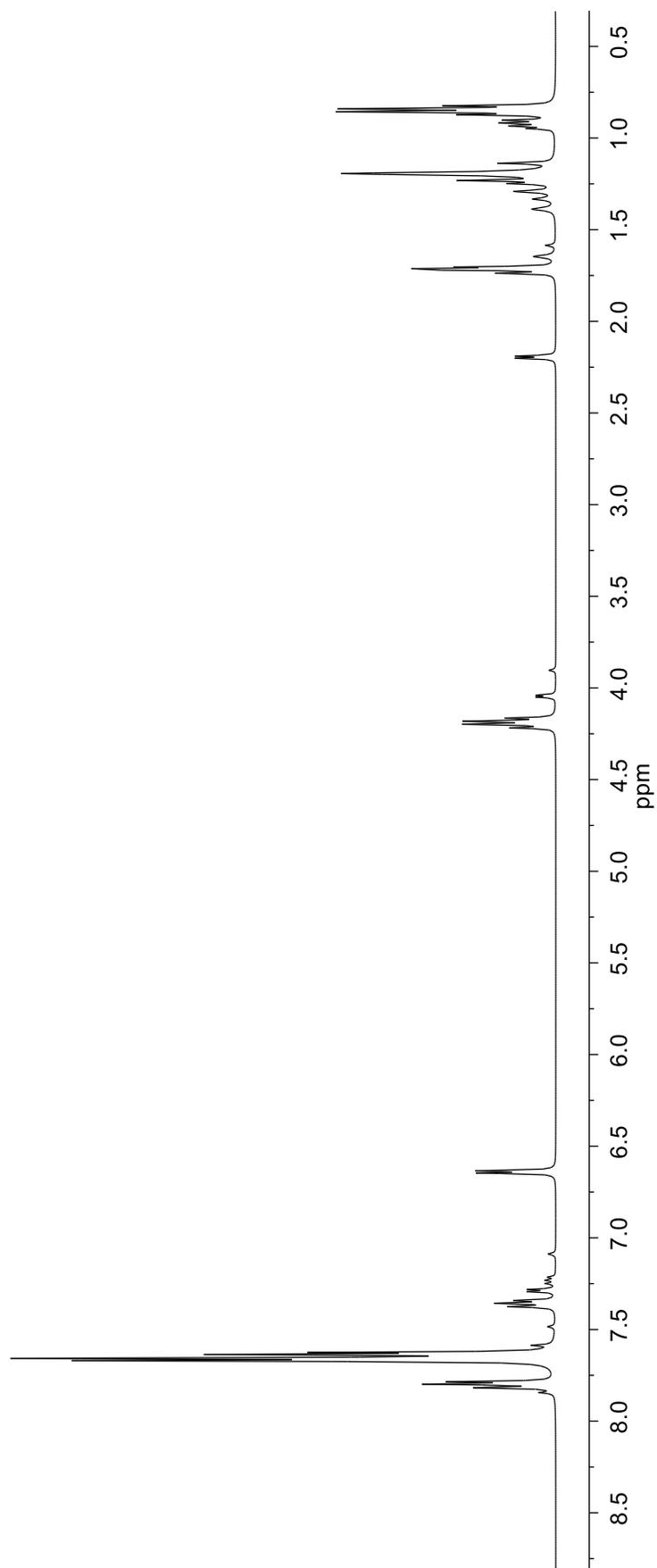
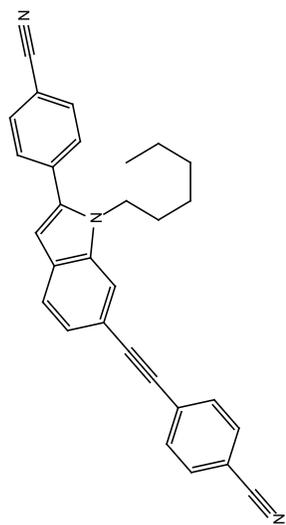
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **18** en DMSO-d_6 a 100 MHz.



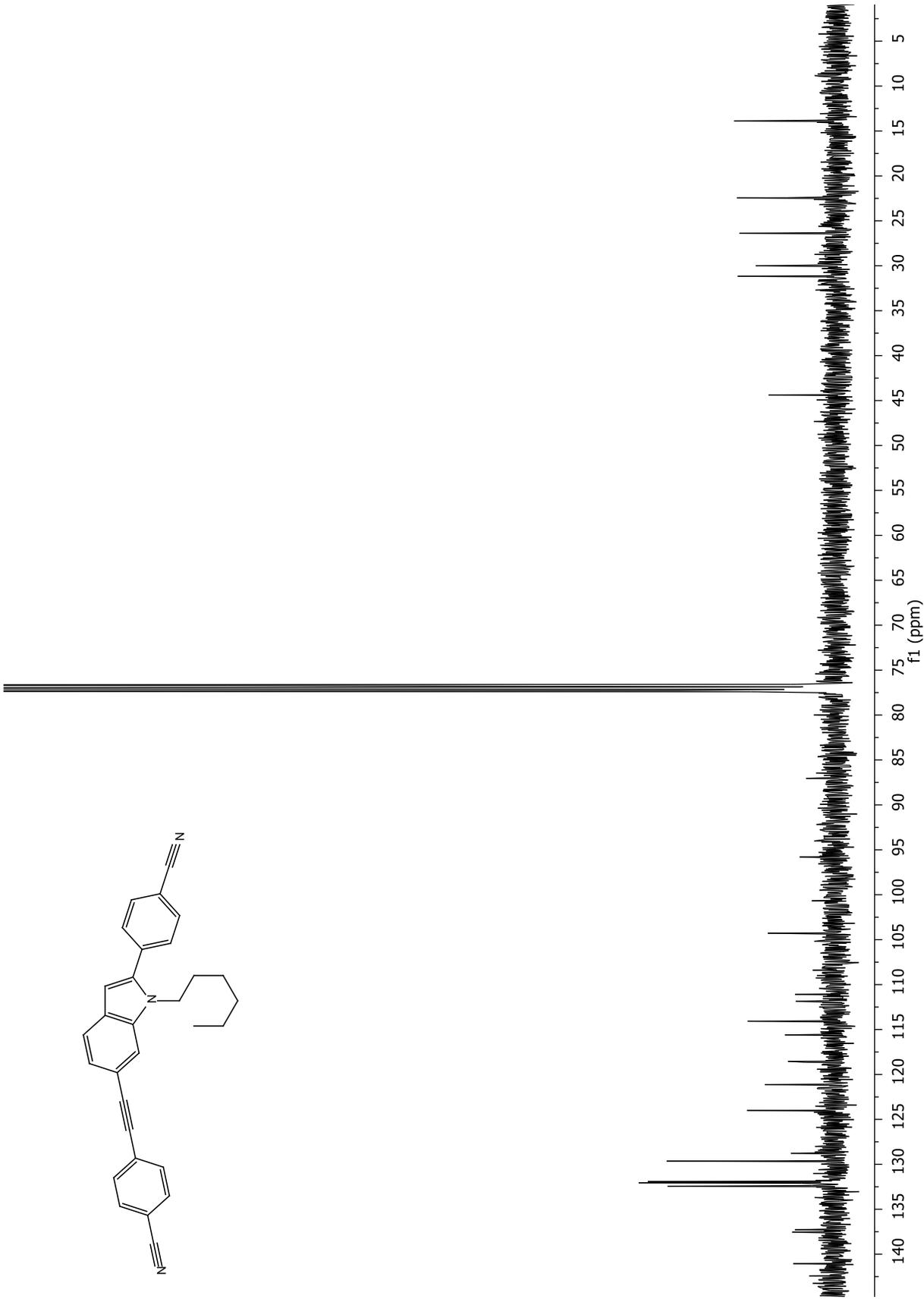
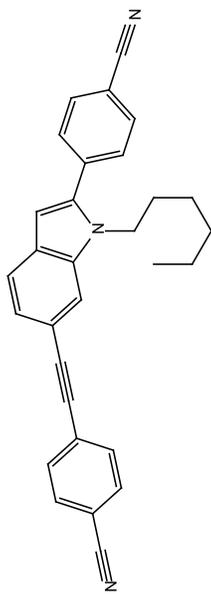
Espectro de RMN de ¹H del compuesto **19** en CDCl₃ a 400 MHz.



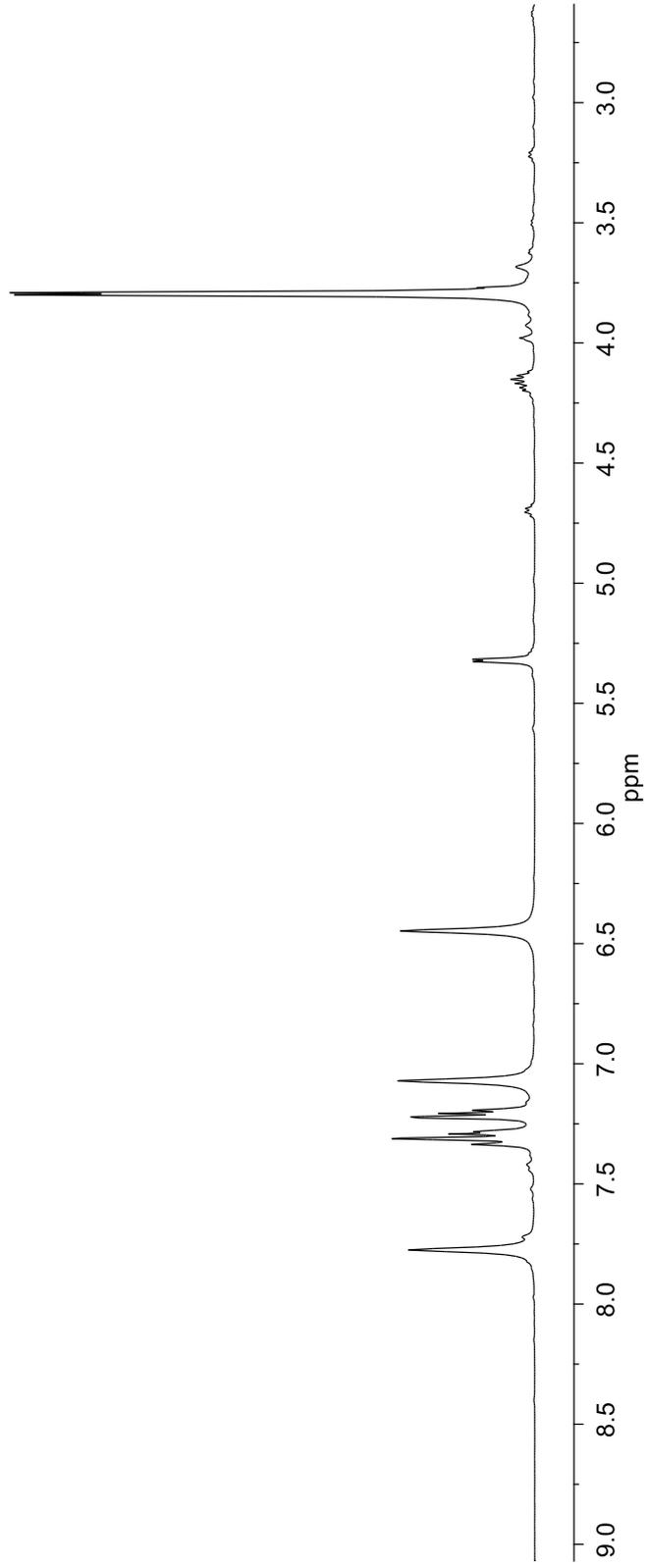
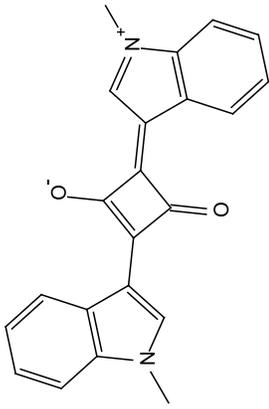
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **19** en CDCl_3 a 100 MHz.



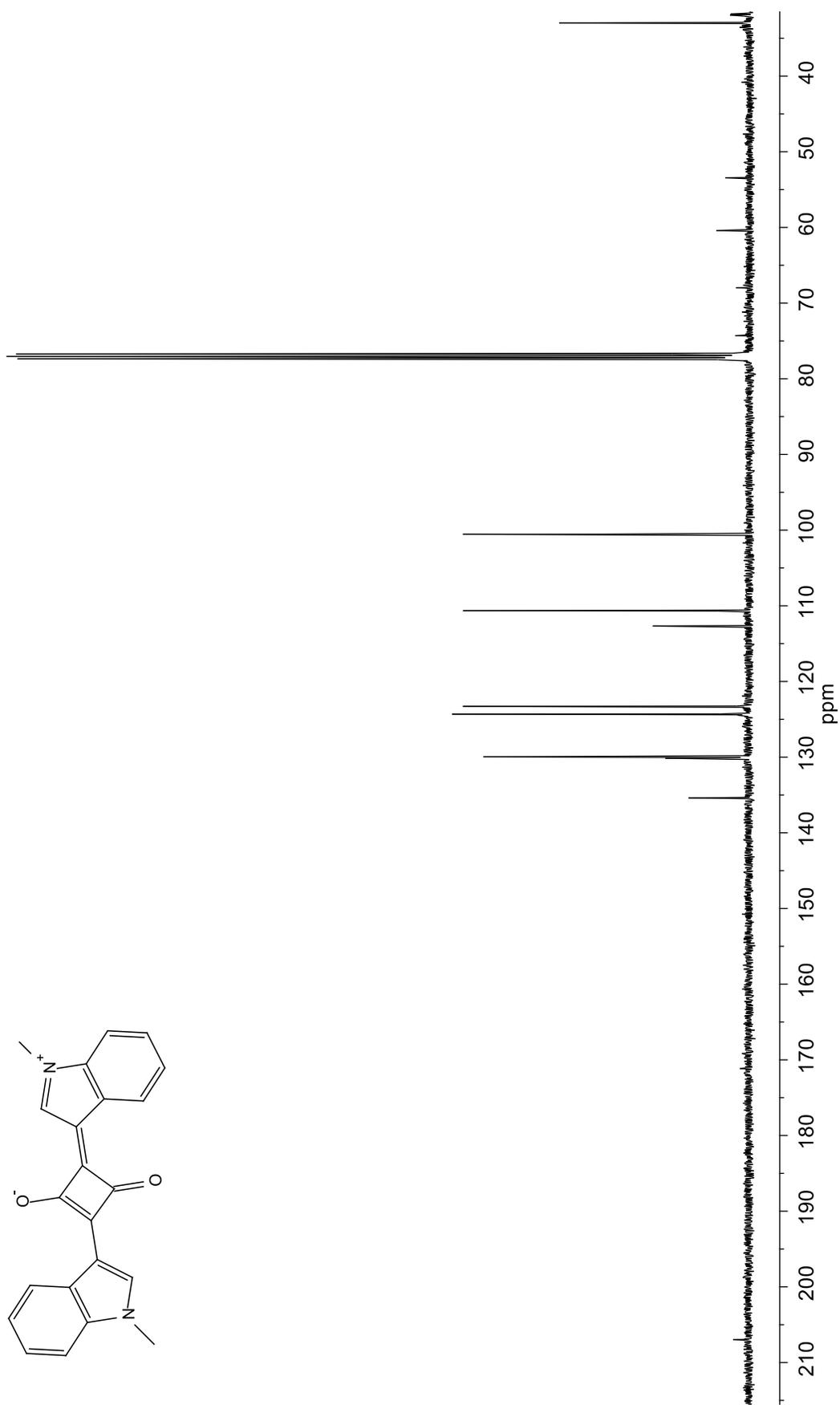
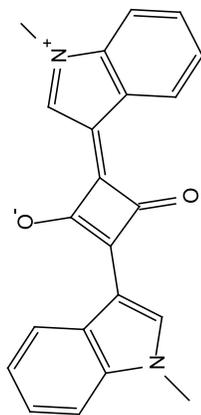
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **22** en CDCl_3 a 400 MHz.



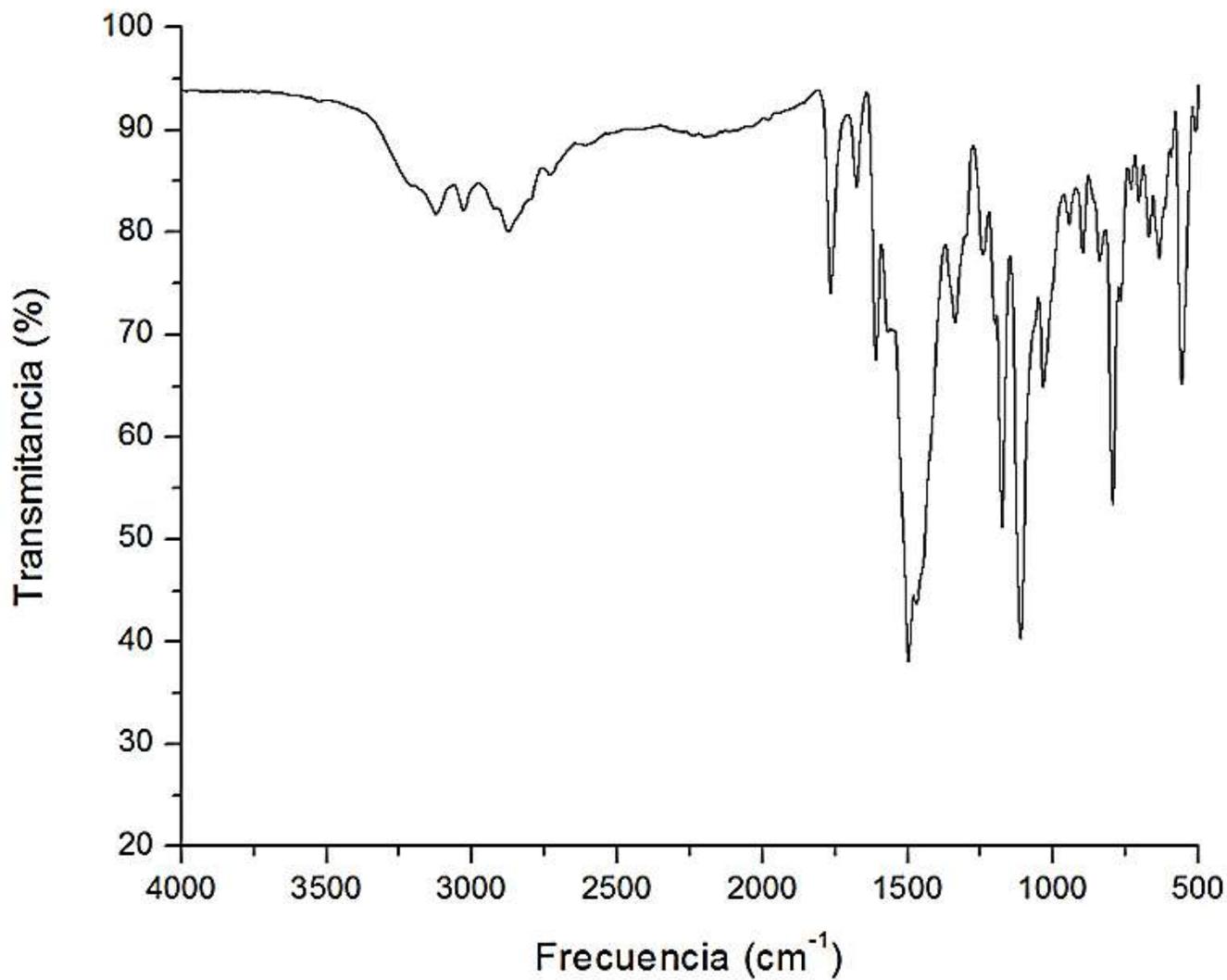
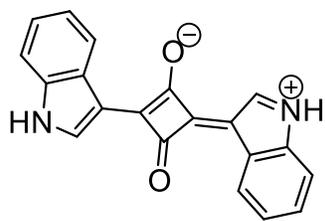
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **24** en CDCl_3 a 100 MHz.



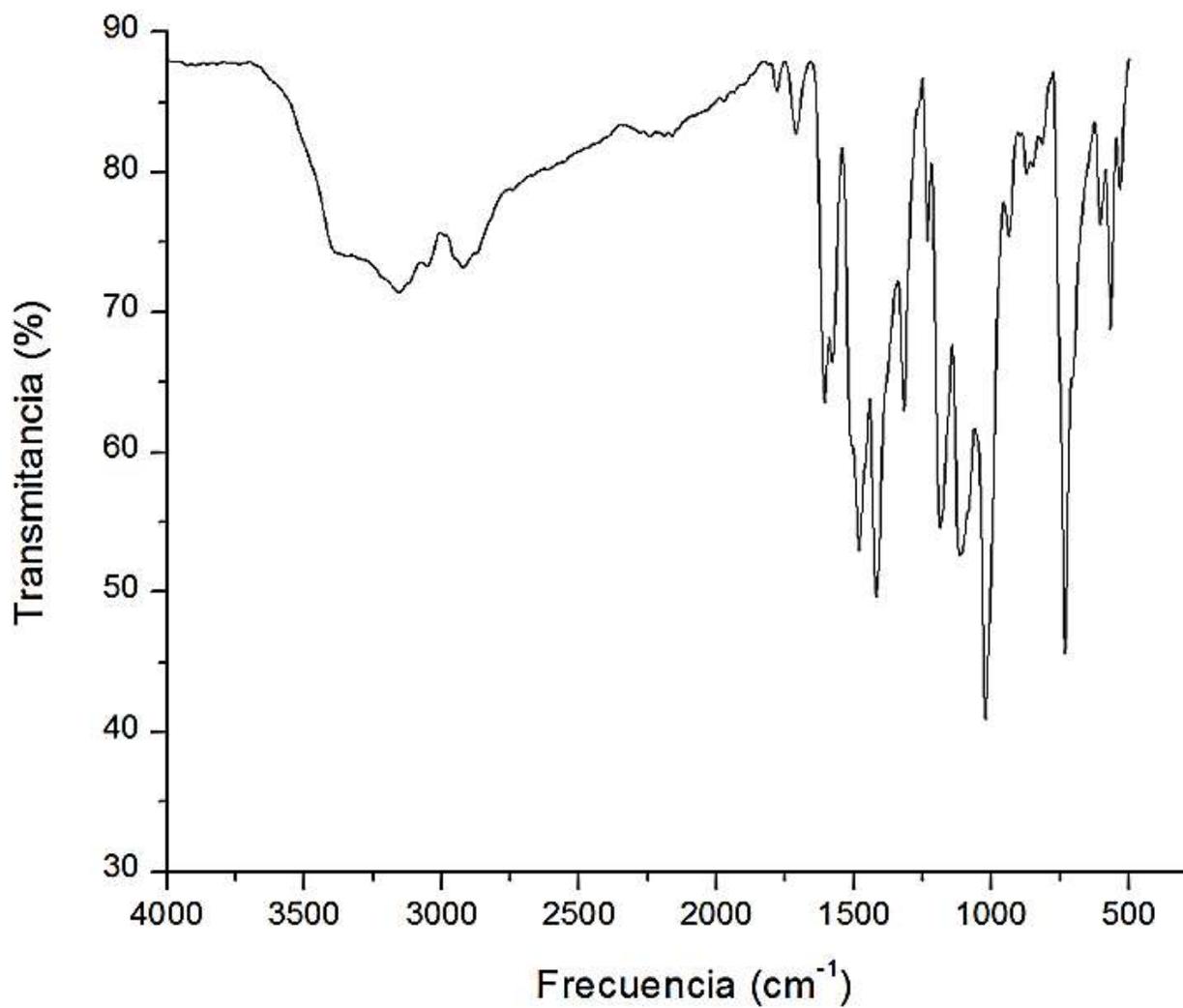
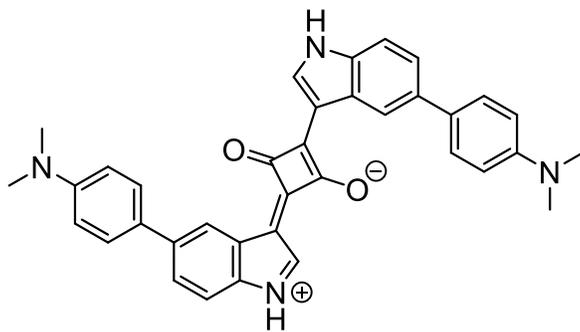
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **25** en CDCl_3 a 400 MHz.



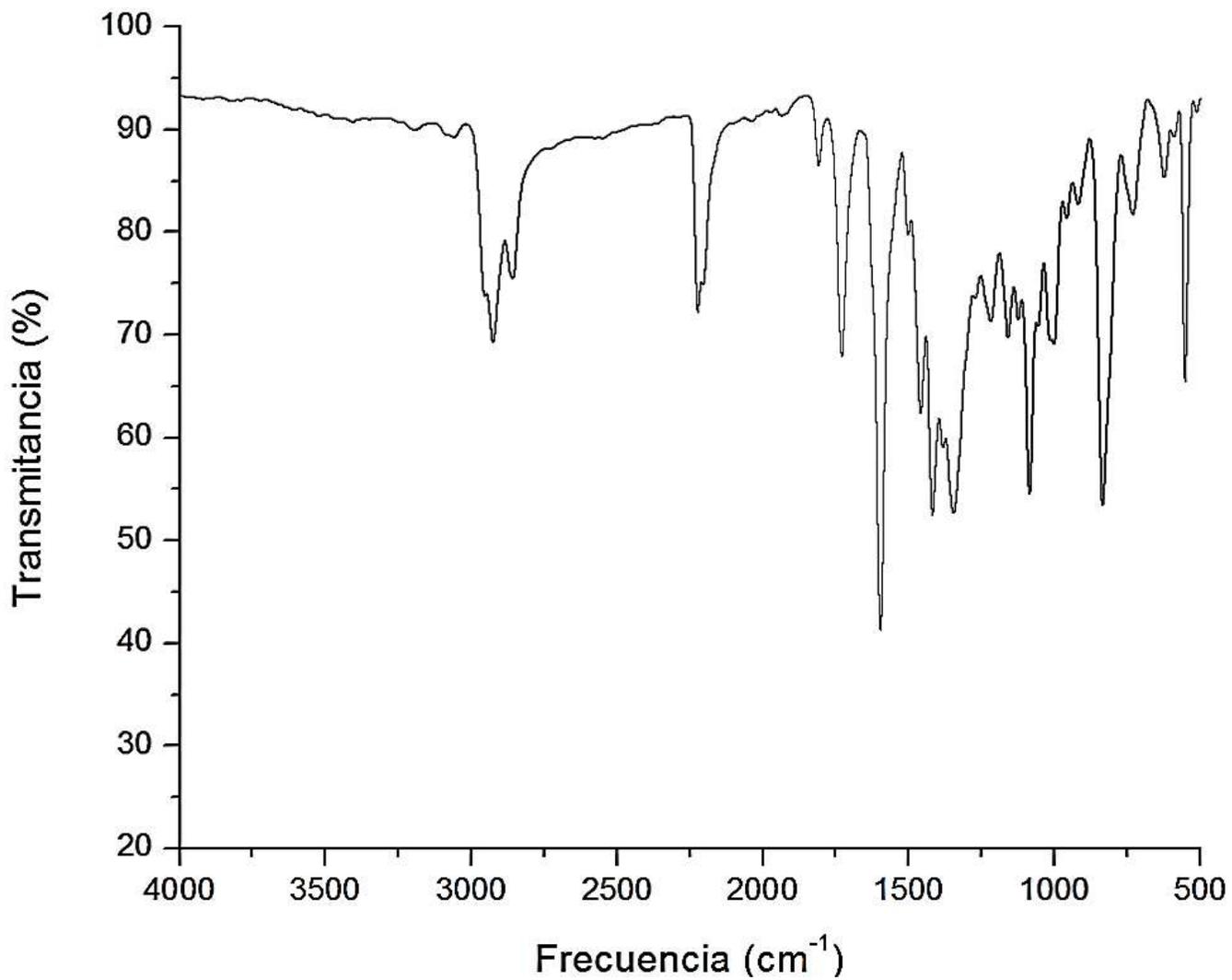
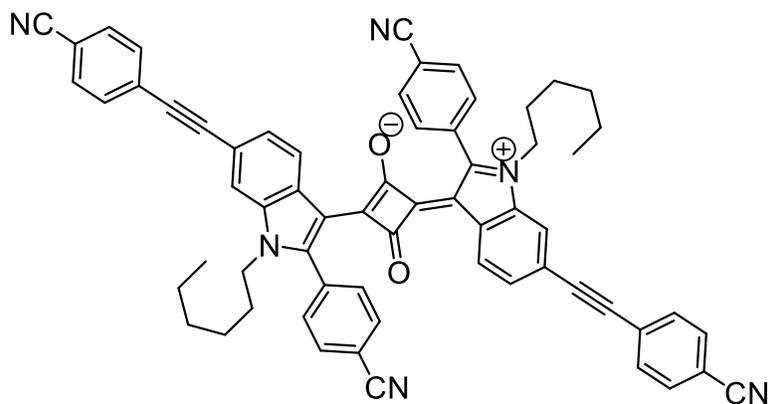
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto **25** en CDCl₃ a 100 MHz.



Espectro de IR en solido del compuesto 15.



Espectro de IR en solido del compuesto 12.



Espectro de IR en solido del compuesto 23.

10 BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández, M.; Encinar, J.; Sanz, A.; Costa, J. Phosphorescence principles and instrumentation. *Reference module in chemistry, Molecular sciences and chemical engineering*. **2018**.
2. Gu, H.; Sun, Y. Enhancing the fluorescence spectrum of frying oil using a nanoscale probe. *Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy*. **2019**, 218, 27-32.
3. Suárez, P.; García, M.; Fernández, M.; Encinar, J.; Valledor, M.; Ferrero, F.; Campo, J.; Costa, J. Functionalized phosphorescent nanoparticles in (bio)chemical sensing and imaging. Review. *Analytica Chimica Acta*. **2019**, 1046, 16-31.
4. Dramićanin, M. Luminescence: the basics, methods, and instrumentation. *Luminescence thermometry*. **2018**, 33-61.
5. Adcock, J.; Barnett, N.; Francis, P. Luminescence: overview. *Reference Module in Chemistry, Molecular sciences and chemical engineering*. **2018**.
6. Yu, Y.; Tang, X.; Ge, H.; Yuan, Y.; Jiang, Z.; Liao, L. Fluorenone based thermally activated delayed fluorescence materials for orange red emission. *Organic electronics*. **2019**, 73, 240-246.
7. Patil, V.; Padalkar, V.; Sekar, N.; Patil, S.; Rajput, J. Synthesis of 2-methyl-5-(5-phenyl substituted-1,3,4 oxadiazole-2-YI) quinazolin-4-one fluorescent brightening agent: computational and experimental comparison of photophysical structure. *Journal of molecular structure*. **2019**, 1182, 150-157.

8. Du, J.; Liu, J.; Ren, Y.; Wang, C.; Bai, F.; Hao, H. Rapid detection of TNP based on a commercial fluorescent probe. *Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy*. **2019**, *211*, 287-290.
9. Yan, F.; Fan, K.; Bai, Z.; Zhang, R.; Zu, F.; Xu, J.; Li, X. Fluorescein applications as fluorescent probes for the detection of analytes. *TrAC trends in analytical chemistry*. **2017**, *97*, 15-35.
10. Deng, F.; Xu, Z. Heteroatom substituted rhodamine dyes: structure and spectroscopic properties. *Chinese chemical letters*. **2018**.
11. Kivrak, A.; Er, Ö.; Kivrak, H.; Topal, Y.; Kuş, M.; Çamlısoy, Y. Synthesis and solar cell applications of novel furanyl substituted anthracene derivatives. *Optical materials*. **2017**, *73*, 206-212.
12. Raouafi, S.; Aloui, F. Synthesis and photophysical properties of new nitrile grafted benzo[Ghi]perylene derivatives. *Journal of molecular structure*. **2019**, *1195*, 153-160.
13. Marappan, D.; Palanisamy, M.; Velappan, K.; Muthukumaran, N.; Ganesan, P. First luminescent triphenyl silanol enabled by bon innocent acridine orange. *Inorganic chemistry communications*. **2018**, *92*, 101-105.
14. Yuan, C.; Li, J.; Xi, H.; Li, Y. A Sensitive pyridine containing turn-off fluorescent probe for ph detection. *Materials letters*. **2019**, *236*, 9-12.
15. Ahmad, R.; Rafique, M.; Ajami, A.; Bashir, S.; Husinsky, W. Influence of laser and material parameters on two photon absorption in rhodamine B and rhodamine 6G solutions in MeOH. *Optik*. **2019**, *183*, 835-841.

16. ZarubaeV, V.; Kris'ko, T.; Kriukova, E.; Muraviova, T. Effect of albumin on the fluorescence quantum yield of porphyrin based agents for fluorescent diagnostics. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. **2017**, *20*, 137-143.
17. Balabhadra, S.; Debasu, M.; Brites, C.; Ferreira, R.; Carlos, L. A cost-effective quantum yield measurement setup for upconverting nanoparticles. *Journal of Luminescence*. **2017**, *189*, 64-70.
18. Satapathy, A.; Behera, S.; Yadav, A.; Mahour, L.; Yelamaggad, C.; Sandhya, K.; Sahoo, B. Tuning the fluorescence behavior of liquid crystal molecules containing schiff base: effect of solvent polarity. *Journal of luminescence*. **2019**, *210*, 371-375.
19. Niemczynowicz, A.; Czernel, G.; Matwijczuk, A.; Makowski, M.; Pustuła, K.; Karcz, D.; Matwijczuk, A.; Górecki, A.; Piotrowicz-Cieślak, A. Spectroscopic and theoretical studies of dual fluorescence in 2-hydroxy-N-(2-phenylethyl)benzamide induced by ESIPT process solvent effects. *Journal of luminescence*. **2019**, *208*, 125-134.
20. Misra, G. Fluorescence spectroscopy. *Data processing handbook for complex biological data sources*. **2019**, 31-37.
21. Safarzadeh-Amiri, A.; Thompson, M.; Krull, U. Trans-4-dimethylamino-4'-(1-oxobutyl)stilbene: a new fluorescent probe of the bilayer lipid membrane. *Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry*. **1989**, *47*, 299-308.
22. Shivraj; Siddlingeshwar, B.; Thomas, A.; Kirilova, E.; Divakar, D.; Alkheraif, A. Experimental and theoretical insights on the effect of solvent polarity on the photophysical properties of a benzanthrone dye. *Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy*. **2019**, *218*, 221-228.

23. Li, M.; Fan, J.; Li, H.; Du, J.; Long, S.; Peng, X. A ratiometric fluorescence probe for lysosomal polarity. *Biomaterials*. **2018**, *164*, 98-105.
24. Kruse, M.; Iglesias, C. Two photon absorption framework for plasma transmission experiments. *High energy density physics*. **2019**, *31*, 38-46.
25. Khoa, D.; Hieu, N.; Bich, T.; Phuong, L.; Hoi, B.; Linh, T.; Quang, Q.; Nguyen, C.; Phuc, H. Magneto optical absorption in quantum dot via two photon absorption process. *Optik*. **2018**, *173*, 263-270.
26. Heilemann, M. Fluorescence microscopy beyond the diffraction limit. *Journal of biotechnology*. **2010**, *149*, 243-251.
27. Yu, Y.; Xu, H.; Zhang, W.; Han, Q.; Wang, B.; Jiang, Y. A novel near infrared fluorescent probe for cysteine in living cells based on a push pull dicyanoisophorone system. *Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry*. **2017**, *346*, 215-220.
28. Corsetti, S.; Gunn-Moore, F.; Dholakia, K. Light sheet fluorescence microscopy for neuroscience. *Journal of neuroscience methods*. **2019**, *319*, 16-27.
29. He, G. Multi-photon excitation based nonlinear optical effects and applications. *Progress in optics*. **2019**, 155-278.
30. Noskovičova, E.; Lorenc, D.; Magdolen, P.; Sigmundová, I.; Zahradník, P.; Velič, D. Broad band two photon absorption cross sections of benzothiazole derivatives and benzobisthiazolium salts. *Chemical physics letters*. **2018**, *700*, 22-26.

31. Xu, G.; Wang, J.; Si, G.; Wang, M.; Wu, B.; Zhou, S. Two photon absorption and cell imaging of two multi-branched dyes based on curcumin. *Dyes and pigments*. **2015**, *123*, 267-273.
32. Yokota, H. Fluorescence microscopy for visualizing single molecule protein dynamics. *Biochimica et biophysica acta (BBA) - General Subjects*. **2019**.
33. Diaspro, A.; Bianchini, P.; Cella Zanacchi, F.; Lanzanò, L.; Vicidomini, G.; Sheppard, C. Super resolution fluorescence microscopy. *Comprehensive nanoscience and nanotechnology*. **2019**, 1-12.
34. Bizet, F.; Ipuay, M.; Bernhard, Y.; Lioret, V.; Winckler, P.; Goze, C.; Perrier-Cornet, J.; Decréau, R. Cellular imaging using bodipy, pyrene- and phthalocyanine based conjugates. *Bioorganic & medicinal Chemistry*. **2018**, *26*, 413-420.
35. He, N.; Li, B.; Zhang, H.; Hua, J.; Jiang, S. Synthesis, two photon absorption and optical limiting properties of new linear and multi branched bithiazole-based derivatives. *Synthetic metals*. **2012**, *162*, 217-224.
36. Guo, L.; Wong, M. Multiphoton excited fluorescent materials for frequency up conversion emission and fluorescent probes. *Advanced materials*. **2014**, *26*, 5400-5428.
37. Chua, M.; Zhu, Q.; Tang, T.; Shah, K.; Xu, J. Diversity of electron acceptor groups in donor–acceptor type electrochromic conjugated polymers. *Solar energy materials and solar cells*. **2019**, *197*, 32-75.
38. Liu, P.; Zhao, K.; Han, G. Effects of isomerism on two photon absorption of substituted benzenes with two pairs of donor–acceptors. *Chemical physics letters*. **2011**, *514*, 226-233.

39. Barbero, N.; Magistris, C.; Park, J.; Saccone, D.; Quagliotto, P.; Buscaino, R.; Medana, C.; Barolo, C.; Viscardi, G. Microwave assisted synthesis of near-infrared fluorescent indole based squaraines. *Organic letters*. **2015**, 17, 3306–3309.
40. E. Lynch, D. Pyrrolyl squaraines fifty golden years. *Metals*. **2015**, 5, 1349-1370
41. Buschel, M.; Ajayaghosh, A.; Arunkumar, E.; Daub, J. Redox switchable squaraines with extended conjugation. *Organic letters*. **2003**, 5(17), 2975-2978.
42. Beverina, L.; Crippa, M.; Landenna, M.; Ruffo, R.; Salice, P.; Silvestri, F.; Versari, S.; Villa, A.; Ciaffoni, L.; Collini, E.; Ferrante, C.; Bradamante, S.; Mari, C.M.; Bozio, R.; Pagani, G.A. Assessment of water soluble δ -extended squaraines as one and two photon singlet oxygen photosensitizers: Design, synthesis, and characterization. *Articles*. **2008**, 130, 1894-1902.
43. Li, J.Y.; Chen, C.Y.; Lee, C.P.; Chen, S.; Lin, T.H.; Tsai, H.; Ho, K.; Wu, C.G. Unsymmetrical squaraines incorporating the thiophene unit for panchromatic dye sensitized solar cells. *Organic letters*. **2010**, 12(23), 5454-5457.
44. Hsueh, S, Y.; Lai, C.C.; Liu, Y.H.; Wang, Y.; Peng, S.M.; Chiu, S.H. Protecting a squaraine near IR dye through its incorporation in a slippage derived [2]Rotaxane. *Organic letters*. **2007**, 9(22), 4523-4526.
45. Chen, G.; Sasabe, H.; Sasaki, Y.; Katagiri, H.; Wang, X.F.; Sano, T.; Hong, Z.; Yang, Y.; Kido, J. A Series of squaraine dyes: effects of side chain and the number of hydroxyl groups on material properties and photovoltaic performance. *Chemistry of materials*. **2014**, 26, 1356–1364.

46. Suzuki, Y.; Yokoyama, K. A Protein responsive chromophore based on squaraine and its application to visual protein detection on a gel for SDS-PAGE. *Angewandte chemie*. **2007**, 46, 4097 –4099.
47. Wallace, K.J.; Gray, M.; Zhong, Z.; Lynch, V.M.; Anslyn, E.V. An artificial siderophore for the detection of iron(III). *Dalton trans*. **2005**, 2436-2441.
48. Kabanakis, A.; Bidikoudi, M.; Elsenety, M.; Vougioukalakis, G.; Falaras, P. Synthesis of novel semi-squaraine derivatives and application in efficient dye-sensitized solar cells. *Dyes and pigments*. **2019**, 165, 308-318.
49. Martins, T.; Pacheco, M.; Boto, R.; Almeida, P.; Farinha, J.; Reis, L. Synthesis, characterization and protein association of dicyanomethylene squaraine dyes. *Dyes and pigments*. **2017**, 147, 120-129.
50. Wickramasinghe, P.; Deokar, P.; Djurovich, P.; Haiges, R.; Thompson, M. Symmetric pyrrolic squaraines and their application to organic photovoltaics. *Journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry*. **2019**, 374, 16-21.
51. Ahn, H.; Yao, S.; Wang, X.; Belfield, K. Near infrared emitting squaraine dyes with high 2PA cross sections for multiphoton fluorescence imaging. *ACS Applied materials & interfaces*. **2012**, 4, 2847-2854.
52. You, L.; Wang, L.; Zhang, L.; Jiang, X.; Qin, S.; Rensing, C.; Fu, N.; Sun, J. Electro oxidation of indole based squaraine dye: A combined in situ spectro electrochemical and theoretical study. *Journal of electroanalytical chemistry*. **2018**, 827, 73-78.

53. Beverina, L.; Ruffo, R.; Mari, C.; Pagani, G.; Sassi, M.; De Angelis, F.; Fantacci, S.; Yum, J.; Grätzel, M.; Nazeeruddin, M. Panchromatic cross-substituted squaraines for dye sensitized solar cell applications. *ChemSusChem*. **2009**, *2*, 621-624.
54. Wang, X.; Wang, J.; Sun, M. Plasmon driven molecular photo dissociations. *Applied materials today*. **2019**, *15*, 212-235.
55. Yaremchuk, I.; Fitio, V.; Petrovska, H.; Bobitski, Y. The temperature impact on the characteristics of the surface plasmon resonance sensors element. *Optik*. **2019**, 162969.
56. Zong, H.; Mu, X.; Sun, M. Physical principle and advances in plasmon-enhanced up conversion luminescence. *Applied materials today*. **2019**, *15*, 43-57.