



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

MAESTRÍA EN QUÍMICA

TESIS

**SÍNTESIS Y ESTUDIO FOTOFÍSICO DE UNA
SONDA INDOL-METILENO MALONONITRILLO
DE ENCENDIDO DE FLUORESCENCIA BASADO
EN LA SUPRESIÓN DE LA TRANSFERENCIA
DE CARGA INTERNA**

**Para obtener el grado de
Maestro en Química**

PRESENTA

I.B.T. Isaac Alberto Sánchez Romero

Director

Dr. Alejandro Álvarez Hernández

Comité tutorial

Dr. Daniel Mendoza Espinosa

Dr. Salvador Pérez Estrada

Dr. Heraclio López Ruiz

Mineral de la Reforma, Hgo., México., enero 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Basic Sciences

Área Académica de Química

Department of Chemistry

Número de control: ICBI-AAQ/141/2026

Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar
Presente.

El Comité Tutorial de la **Tesis de Maestría** titulada **“Síntesis y estudio fotofísico de una sonda indol-metileno malonitrilo de encendido de fluorescencia basado en la supresión de la transferencia de carga interna”**, realizada por el sustentante **Isaac Alberto Sánchez Romero** con número de cuenta **315225** perteneciente al programa de **Maestría en Química**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que el sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
“Amor, Orden y Progreso”
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 26 de enero de 2026.

El Comité Tutorial

Dr. Alejandro Álvarez Hernández
Director de Tesis

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Dr. Daniel Mendoza Espinosa

Dr. Heraclio López Ruiz



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

Área Académica de Química

Dr. Salvador Pérez Estrada

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. 40088, 40087
aaq_icbi@uaeh.edu.mx, nandrade@uaeh.edu.mx

“Amor, Orden y Progreso”



2025



uaeh.edu.mx

Este trabajo se realizó en el Laboratorio 5 del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, dirigida por el Dr. Alejandro Álvarez Hernández gracias a la beca otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (CVU/No. Apoyo: 1299688/ 4002799).

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi gratitud a Dios por permitirme llegar al final de esta etapa trascendental en mi vida. Por ser mi guía en los momentos de incertidumbre, por otorgarme la perseverancia y el ánimo para no rendirme ante las dificultades, y por concederme el entendimiento necesario para asimilar cada aprendizaje. Asimismo, agradezco por las personas valiosas que puso en mi camino, cuyo apoyo, consejo y compañía fueron fundamentales para crecer, transformarme y alcanzar esta meta.

A mis padres Luis y Esperanza y mi hermana Andrea por confiar en mí, por nunca dejarme solo y sus sabios consejos que me han guiado siempre hacia adelante.

A Brenda, mi compañera de vida, por caminar a mi lado en cada paso de este camino, por brindarme su apoyo incondicional en cada decisión y por ser siempre un refugio de escucha, comprensión y consejos sinceros. Gracias por tu paciencia, por tu motivación constante y por compartir conmigo tu tiempo, tu conocimiento y tu vida.

A mis asesores, Dra. Mariana y Dr. Alejandro por brindarme la confianza y por aceptarme en el grupo de investigación. Agradezco profundamente su guía, la generosidad con la que compartieron sus conocimientos en química y el acompañamiento constante durante esta etapa de crecimiento académico y personal. Sus consejos, apoyo incondicional y las valiosas experiencias vividas en el laboratorio han sido fundamentales para mi formación.

A mi comité tutorial, Dr. Daniel, Dr. Salvador y Dr. Heraclio por guiarme y darme consejos en el desarrollo de mi proyecto de investigación, por su paciencia y la retroalimentación profesional.

A mis amigos y colegas del Área Académica de Química, Diana, Amador, Angélica, Aylin, Gabriela, Leslie, Reyna, Patricia, Giovani, Benjamín, Oliver, Juan, Gustavo, Erick, Ascencion, Guadalupe, Jesus, Wendy, Veronica y Alejandro les doy gracias por compartir sus conocimientos, por sus consejos y por los momentos de convivencia llenos de alegría. Y por supuesto a mis compañeros de generación Zyanya, Xanat, Anahi, Fernando, Carlos, Eduardo y Norberto por su compañerismo y apoyo incondicional.

A mis amigos y colegas de Biotecnología, Samantha, Shanty, Adriana, Alberto y Jovany, quienes, a pesar de la distancia, siempre estuvieron presentes con su apoyo, palabras de ánimo y muestras de cariño. Gracias por su amistad sincera, por cada conversación, consejo y momento compartido, que hicieron este camino más ligero y significativo.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Fundamentos fotofísicos de la fluorescencia	1
1.2. Medición de la fluorescencia	4
1.2.1. Aplicaciones de las moléculas fluorescentes conforme a sus propiedades fotofísicas	10
1.3. Moléculas fluorescentes y su estructura	12
1.3.1. Efecto de la rigidez estructural	14
1.3.2. Efectos del disolvente	14
1.4. Mecanismos de modulación de la fluorescencia	16
1.4.1. Transferencia de carga interna	17
1.4.2. Transferencia de carga interna torcional	19
1.5. Estructuras de los fluoróforos más relevantes y sus aplicaciones	21
1.6. Indol y sus características únicas.....	22
1.6.1. Propiedades químicas del indol.	22
1.6.2. Propiedades fotofísicas del indol.....	24
1.6.3. Indoles fluorescentes y sus aplicaciones como sensores fluorescentes ...	25
1.7. Reacciones de Formilación de indoles.....	28
1.7.1. Reacción de Vilsmeier-Haack	28
1.7.2. Alternativas a la reacción de Vilsmeier-Haack	29
1.7.2.1. Sustratos	29
1.7.2.2. Agente oxidante / formilante.....	30
1.7.2.3. Disolventes.....	32
1.7.2.4. Temperatura.....	33
1.8. Reacción de condensación de Knoevenagel	33
1.8.1. Sustratos	34
1.8.2. Base	35
1.8.3. Disolventes.....	35
1.8.4. Temperatura.....	35
1.9. Adición nucleofílica a enlaces dobles activados.....	36

2. JUSTIFICACIÓN.....	37
3. OBJETIVOS.....	38
3.1. Objetivo general.....	38
3.2. Objetivos específicos	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. Síntesis	39
4.1.1. Síntesis del 6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol (9)	39
4.1.2. Síntesis de 6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-carbaldehído (12).....	40
4.1.3. Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metileno)malononitrilo (7).....	42
4.1.4. Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metil)malononitrilo (3) .	44
4.2. Caracterización espectroscópica	47
4.2.1. Análisis de RMN.....	47
4.2.2. Análisis de FTIR-ATR	55
4.3. Propiedades fotofísicas.....	56
4.4. Análisis de estructural (rayos X y cálculos teóricos)	64
5. CONCLUSIONES	70
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	71
6.1 GENERALIDADES.....	71
6.2 Síntesis de 6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-carbaldehído	72
6.3 Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metileno)malononitrilo	73
6.4 Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metil)malononitrilo	74
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
8. ANEXOS.....	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estados excitados singulete y triplete.

Figura 2. Diagrama de Jablonski que muestra transiciones radiativas y no radiativas, así como su tiempo de duración.

Figura 3. Fluoresceína con un máximo de 97% de rendimiento cuántico en solución.

Figura 4. Estándares de fluorescencia más utilizados en la espectroscopia de fluorescencia.

Figura 5. Espectros de absorbancia y emisión de un fluorocromo.

Figura 6. Diagrama de los diferentes valores de *band gap* para conductores, semiconductores y aislantes.

Figura 7. Moléculas heterocíclicas.

Figura 8. Rendimientos cuánticos de algunos hidrocarburos aromáticos en etanol.

Figura 9. Influencia del bromo en los parámetros fotofísicos en derivados de mCP.

Figura 10. Efecto de la rigidez estructural en la fluorescencia de bifenilos análogos.

Figura 11. Diagrama de Jablonski de fluorescencia con relajación del disolvente.

Figura 12. Espectros de fluorescencia normalizados en soluciones 5×10^{-5} M de MOT y DMAT utilizando diferentes solventes.

Figura 13. Representación esquemática del mecanismo TBCT.

Figura 14. Representación esquemática del mecanismo TSCT.

Figura 15. Representación esquemática del mecanismo de detección basado en transferencia de carga interna (ICT).

Figura 16. Representación esquemática del mecanismo TICT.

Figura 17. Estructura molecular del Indol.

Figura 18. Deslocalización de los electrones π en el indol.

Figura 19. Estructuras canónicas de indol.

Figura 20. Reactividad del indol ante electrófilos.

Figura 21. Formación del reactivo de Vilsmeier a partir de DMF y POCl_3 .

Figura 22. Mecanismo de la formilación del indol en la posición 3 con el reactivo de Vismeier.

Figura 23. Comparación de sustituyentes para la obtención de 3-formil-indoles en sistemas HMTA/ I_2 y TMEDA/ I_2 .

Figura 24. Mecanismo de formación del agente formilante propuesto por Wang et al. para HMTA y Zhang et al. para TMEDA.

Figura 25. Mecanismo fotocatalítico de formación del agente formilante propuesto por Li et al.

Figura 26. Disolventes con mejor desempeño en diferentes sistemas de reacción para la formación de 3-formil-indoles.

Figura 27. Mecanismo de condensación del 3-formilindol con malonotrilo.

Figura 28. Adición nucleofílica a sistemas α,β insaturados.

Figura 29. Propuesta de este proyecto de tesis.

Figura 30. Síntesis del indol **1**.

Figura 31. Esquema del diciano-vinilideno de **2**.

Figura 32. Fragmento del diagrama HSQC del compuesto **12**.

Figura 33. Fragmento del diagrama HMBC del compuesto **12**.

Figura 34. Comparación de los espectros de RMN de ^1H de los compuestos **1** y **12**.

Figura 35. Comparación de los espectros de RMN de ^1H de los compuestos **2** y **12**.

Figura 36. Comparación de los espectros de RMN de ^{13}C de los compuestos **2** y **12**.

Figura 37. Fragmentos de los diagramas de HSQC (a) y HMBC (b) del compuesto **2**.

Figura 38. Comparación de los espectros de RMN de ^1H de los compuestos **2** y **3**.

Figura 39. Constantes de acoplamiento de H26 Y H27 del compuesto **3**.

Figura 40. Fragmentos de los diagramas de HSQC (a) y HMBC (b) del compuesto **3**.

Figura 41. Comparación de los espectros de FTIR-ATR de los compuestos **1**, **2**, **3** y **12**.

Figura 42. Comparación de espectro experimental y espectro teórico por método TD-DFT (CAM-B3LYP) de UV-vis de los compuestos **2** (b), **3** (c) y **12** (a).

Figura 43. HOMO y LUMO calculados por DFT para los compuestos **2**, **3** y **12**.

Figura 44. Comparación de los espectros de absorción y emisión normalizados del compuesto **12** en diferentes disolventes.

Figura 45. Comparación de los espectros de absorción y emisión normalizados del compuesto **2** en diferentes disolventes.

Figura 46. Comparación de los espectros de absorción y emisión normalizados del compuesto **3** en diferentes disolventes polares.

Figura 47. Estructura de los compuestos **2**, **3** y **12** obtenida por cálculos teóricos que muestra al anillo de indol en un plano y al grupo fenilo en C2 en diferentes planos.

Figura 48. Diagrama ORTEP del compuesto **12**. Elipsoides se muestran al 50% de probabilidad.

Figura 49. Diagrama ORTEP del compuesto **2**. Elipsoides se muestran al 50% de probabilidad.

Figura 50. Mapa de potencial electrostático molecular del diciano-vinilideno **2** en el estado basal (a) y en el estado excitado (b).

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Relación entre los parámetros fotofísicos y sus aplicaciones según sus valores.

Tabla 2. Aplicaciones representativas de moléculas fluorescentes y sus funciones principales.

Tabla 3. Sondas fluorescentes basadas en indol para la detección de analitos.

Tabla 4. Condiciones de reacción para la síntesis del aldehído **12**.

Tabla 5. Condiciones de reacción para la síntesis de **2**.

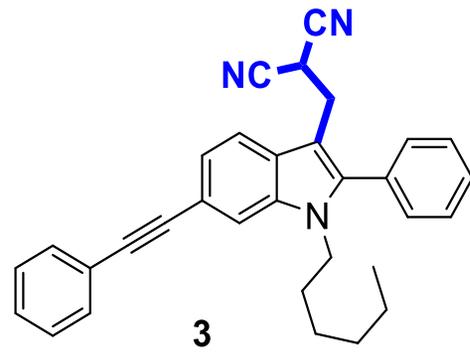
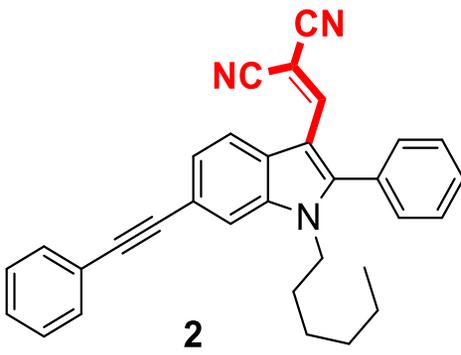
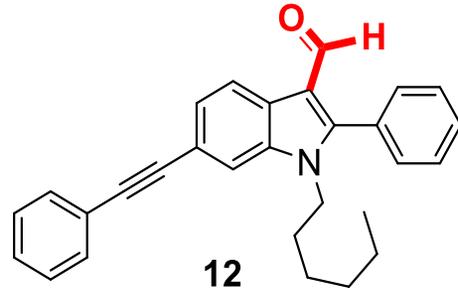
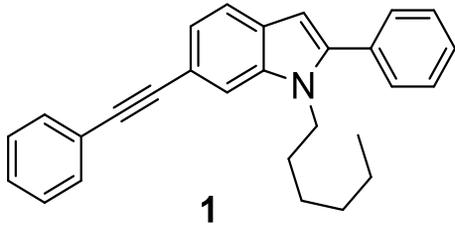
Tabla 6. Condiciones de reacción para la síntesis de **3**.

Tabla 7. Valores teóricos de HOMO y LUMO de **10**, **11** y **12**.

Tabla 8. Propiedades fotofísicas de los compuestos **1**, **2**, **3** y **12**.

Tabla 9. Ángulos (α) entre los planos A y B de **2**, **3** y **12**.

ÍNDICE DE COMPUESTOS



ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS

I_0	Intensidad de luz incidente
k_f	Constante de velocidad del proceso radiativo de fluorescencia
k_{nr}	Constante de velocidad de los procesos no radiativos
λ_{exc}	Longitud máxima de excitación
λ_{abs}	Longitud máxima de absorción
λ_{em}	Longitud máxima de emisión
°C	Grados Celsius
^{13}C	Carbono-13
^1H	Protón
A	Absorbancia o absorción de luz
A	Grupo Aceptor
Bu_4NF	Trifluoruro de tetrabutilamonio
C	Átomo de carbono
CDCl_3	Cloroformo deuterado
$\text{CH}_2(\text{CN})_2$	Malononitrilo
CH_2Cl_2	Diclorometano
cm^{-1}	Inverso de centímetro
COSY	Del inglés, Correlation Spectroscopy, Espectroscopia de correlación ^1H - ^1H
D	Átomo donador
DFT	Teoría del funcional de la densidad
DME	Dimetoxietano

DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
Eg	Del inglés, <i>bandgap</i> , brecha de energía
equiv.	Equivalentes
EtOH	Etanol
eV	Electrón - voltios
FRET	Del inglés, Förster resonance energy transfer, Transferencia de energía de resonancia de Förster
FTIR	Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier
g	Gramos
h	Horas
H ₂ O	Agua
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HHBW _{em}	Ancho de la banda de emisión a la mitad de la máxima altura
HMBC	Del inglés, Heteronuclear Multiple Bond Correlation, Correlación Heteronuclear de Enlaces Múltiples
HMTA	Hexametilentetramina
HOMO	Orbital molecular de mayor energía ocupado
HSQC	Del inglés, Heteronuclear Single Quantum Coherence Coherencia Cuántica Única Heteronuclear ¹ H- ¹³ C
Hz	Hertz
I ₂	Yodo molecular
ICT	Transferencia de carga interna
IR	Espectroscopía de Infrarrojo

J	Constante de acoplamiento
LUMO	Orbital molecular de menor energía desocupado
M	Molaridad
M^{-1}	Inverso de la molaridad
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
MEP	Mapa de potencial electrostático
mg	Miligramos
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
mmol	Milimol
N	Átomo de nitrógeno
N_2	Nitrógeno molecular
Na_2CO_3	Carbonato de sodio
Na_2SO_4	Sulfato de sodio anhidro
$NaBH_4$	Borohidruro de sodio
NaH	Hidruro de sodio
NaOAc	Acetato de sodio
nm	Nanómetros
O	Átomo de oxígeno
OLEDs	Diodos orgánicos emisores de luz
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
$Pd_2(dba)_3$	Tri(dibencilidenacetona)dipaladio(0)

pH	Potencial de hidrógeno
pka	Constante de disociación ácida
POCl ₃	Cloruro de fosforilo
ppm	Partes por millón
RF	Factor de Retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
ROS	Del inglés, <i>Reactive Oxygen Species</i> , Especies Reactivas de Oxígeno
S	Espín electrónico
S ₀	Estado basal o fundamental
S ₁	Estado electrónico excitado de menor energía
S ₂	Estado electrónico excitado de mayor energía
TD-DFT	Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -tetrametiletilendiamina
THF	Tetrahidrofurano
u.a.	Unidades arbitrarias
UV	Ultravioleta
Vis	Visible
vs.	Comparado con
δ	Desplazamiento químico
Δ $\bar{\nu}$	Desplazamiento de Stokes
V	Banda de estiramiento
C	Concentración

F	Intensidad de fluorescencia integrada
I	Intensidad de luz transmitida
f	Fracción de luz absorbida
l	Longitud del camino de la medición
ε	Coefficiente de extinción molar
η	Índice de refracción
μE	Momento dipolar en el estado excitado
μG	Momento dipolar en el estado fundamental
τ	Tiempo de vida de fluorescencia
Φ	Rendimiento cuántico de fluorescencia

1. INTRODUCCIÓN

Las moléculas con propiedades optoelectrónicas han sido objeto de estudio durante años debido a su potencial para diversas aplicaciones tecnológicas. En particular, las moléculas fluorescentes se han utilizado en la detección cuantitativa de analitos, por ejemplo, iones de calcio, zinc, hierro, magnesio, cianuro y fluoruro; moléculas neutras como óxido nítrico, y dióxido de carbono, entre otros.^{1,2} También se han usado para detectar de manera cualitativa moléculas o estructuras celulares de interés biológico, como el ADN, las mitocondrias y la pared celular.^{3,4} En la microscopía de fluorescencia se emplean moléculas fluorescentes como marcadores biológicos en la detección de patologías en tejidos vivos, incluso en tiempo real.⁵ Además, las moléculas fluorescentes también son utilizadas para la fabricación de pantallas en dispositivos OLEDs.⁶ La capacidad de estas moléculas para absorber energía y emitir luz es un fenómeno relevante, resultado de interacciones precisas entre la radiación electromagnética y la estructura electrónica de la materia.⁷ Estos procesos implican cambios en los niveles de energía, el paso transitorio por estados inestables, y la liberación de energía en forma de fotones. La eficiencia, duración y características de esa emisión están determinadas por factores propios de la molécula, como su estructura, su estructura electrónica y su entorno, por lo que ciertos mecanismos pueden favorecer o inhibir dicha emisión luminosa, modulando su intensidad o duración.⁸

GENERALIDADES

1.1. Fundamentos fotofísicos de la fluorescencia

La espectroscopia estudia la interacción de la materia con la energía la cual puede manifestarse a través de procesos como absorción, dispersión, difracción, reflexión, transmisión y refracción; y cada uno de estos fenómenos aporta información sobre la estructura y propiedades de la materia por cada tipo de radiación empleada siendo de gran relevancia la espectroscopía UV-visible ya que en esta región del espectro la radiación puede inducir excitación electrónica en la materia lo que a su vez puede dar lugar a la emisión de luz o luminiscencia cuando un estado excitado regresa a su estado fundamental.⁹

La luminiscencia se define como la relajación de un estado electrónico excitado de un átomo o molécula por emisión de fotones. La excitación electrónica previa del material luminiscente puede ser designada en varias categorías:

- Fotoluminiscencia: Fotones de baja energía para excitación (luz visible o UV).¹⁰
- Electroluminiscencia: Excitación mediante un campo eléctrico.¹¹
- Quimioluminiscencia: Excitación a partir de una reacción química.¹²
- Bioluminiscencia: La reacción química de excitación se produce en un organismo vivo.¹³
- Sonoluminiscencia: Se usa ultrasonido para lograr la excitación electrónica.¹⁴
- Incandescencia: Cuando el material se excita térmicamente.¹⁵
- Magnetoluminiscencia: Cuando la excitación es inducida por campos magnéticos.¹⁶

Desde el punto de vista molecular los átomos y moléculas pueden absorber fotones modificando sus energías electrónicas y generando diferentes fenómenos según la energía del fotón incidente un ejemplo sencillo se observa en el átomo de hidrógeno cuando absorbe radiación en la región UV o visible, un electrón puede ser promovido a un nivel de energía superior en un proceso denominado transición electrónica y para que esto ocurra la energía del fotón debe ser al menos igual a la diferencia entre el nivel basal y el nivel excitado tras lo cual el electrón puede regresar a su estado más estable liberando la energía en forma de un fotón.¹⁷

Cuando una molécula experimenta excitación electrónica por irradiación, los electrones de los orbitales más externos pueden acceder a los orbitales moleculares vacantes de mayor energía. Si los electrones mantienen la misma orientación de espín que en el estado basal, el espín resultante es cero y se le denomina estado singulete. Si el espín sufre una inversión de orientación que posee un valor total igual a uno y el estado excitado se conoce como estado triplete (Figura 1).¹⁸ Para cada estado excitado singulete ($S_1, S_2, S_3 \dots S_n$), existe un estado correspondiente triplete ($T_1, T_2, T_3 \dots T_n$) y el decaimiento de un estado triplete provoca fosforescencia ya que requieren más tiempo

para regresar a su estado basal, mientras que el decaimiento del estado singlete es más rápido y causa fluorescencia.¹⁸

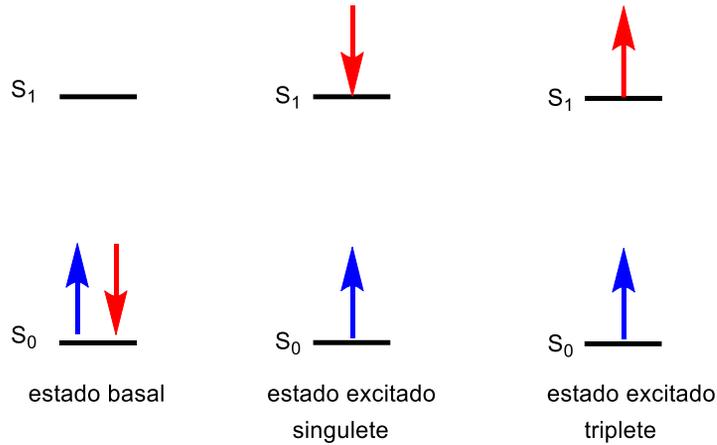


Figura 1. Estados excitados singulete y triplete.

La energía de un estado electrónico excitado puede liberarse para regresar al estado electrónico basal a través de emisión de calor (vibración y rotación molecular) o emisión de luz (luminiscencia). La luminiscencia se puede dar de dos maneras distintas dependiendo del espín del estado excitado; la fluorescencia implica la emisión de luz casi instantánea de luz (10^{-10} a 10^{-7} segundos) desde estados electrónicos singulete y la fosforescencia es la emisión de luz desde un estado excitado triplete y es mucho más lenta (10^{-6} s hasta minutos).¹⁹ La excitación electrónica siempre produce un estado singulete luego se produce la inversión de espín mediante una transición conocida como entrecruzamiento de sistemas.²⁰ Esta dinámica se representa en el diagrama de Jablonski de la Figura 2. La fluorescencia ocurre como emisión de luz desde un estado electrónico singulete y generalmente la luz emitida presenta una longitud de onda mayor (menor energía), debido a la pérdida energética asociada a dos procesos denominados conversión interna (intercambio de energía entre subniveles electrónicos) y relajación vibracional (colisiones entre moléculas).

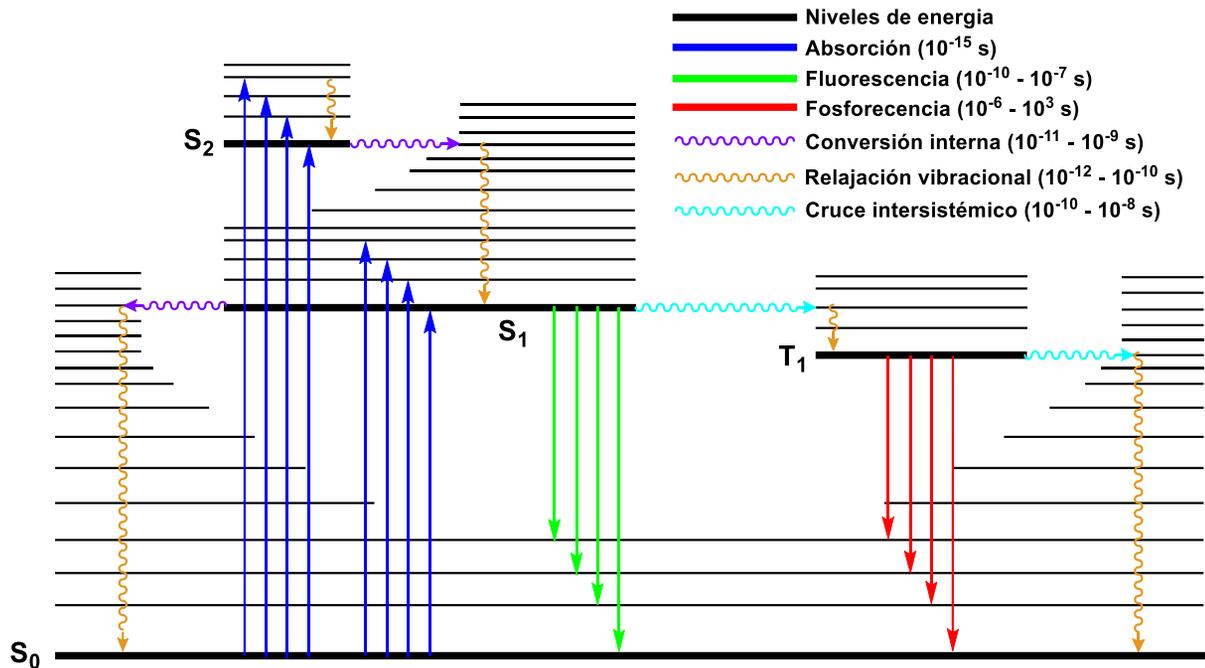


Figura 2. Diagrama de Jablonski que muestra transiciones radiativas y no radiativas, así como su tiempo de duración.

1.2. Medición de la fluorescencia

La medición precisa de la fluorescencia utiliza un espectrofluorímetro que emite luz en una longitud de onda específica para excitar la muestra y luego mide la luz emitida en respuesta, dando un espectro de emisión en el cual se observan los niveles de intensidad de fluorescencia a diferentes longitudes de onda.²¹ La intensidad de fluorescencia emitida depende de una serie de factores, no todos propios exclusivamente del fluoróforo estudiado, sino también del disolvente y de las condiciones en las cuales se realiza la medición.²² Con este método se pueden obtener parámetros que nos ayudan a caracterizar ópticamente las moléculas fluorescentes como el rendimiento cuántico, el coeficiente de extinción molar, el desplazamiento de Stokes, la brecha de banda (*band gap*), la vida media de fluorescencia y la intensidad.²³ El rendimiento cuántico de fluorescencia es la relación que hay entre el número de fotones emitidos por un fluoróforo y el número de fotones absorbidos, lo que indica la eficiencia de conversión de los fotones absorbidos en emisión y tiene valores de 0 (0%) a 1 (100%).²⁴ Las moléculas altamente fluorescentes, por ejemplo, la fluoresceína²⁵ (Figura

3), tienen rendimientos cuánticos que, en ciertas condiciones, se aproximan a valores de uno, mientras que las especies no fluorescentes tienen eficiencias que son prácticamente cero.²⁶

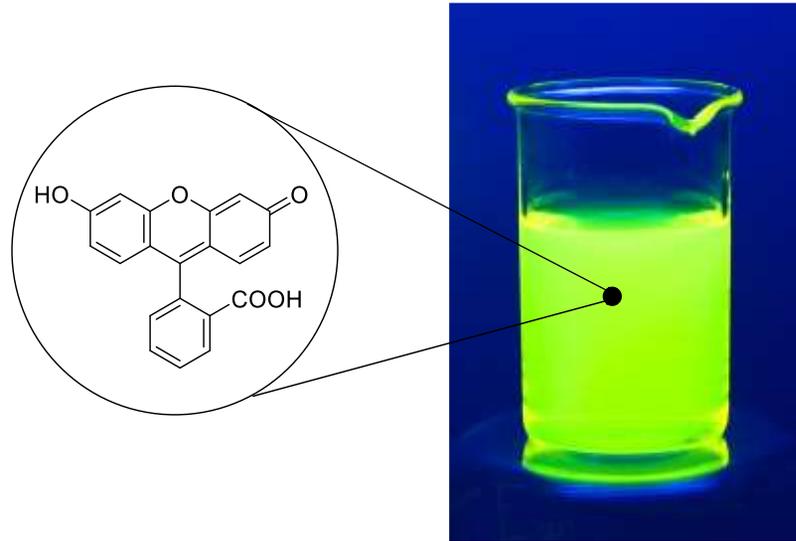


Figura 3. Fluoresceína con un máximo de 97% de rendimiento cuántico en solución.²⁵

El rendimiento cuántico se puede determinar con el método absoluto que implica el uso de esferas integradoras o el método relativo que consiste en la comparación del rendimiento de fluorescencia entre un estándar (Figura 4)²⁷ y la muestra desconocida mediante la ecuación 1 donde Φ_m es el rendimiento de fluorescencia de la muestra desconocida, Φ_s el rendimiento cuántico del estándar; f_m representan la fracción de luz absorbida por la muestra y f_s la del estándar que se estiman con la ecuación 2 donde A es la absorbancia de la longitud máxima de absorción; F_m representan la intensidad de fluorescencia integrada de la muestra y F_s la del estándar; y η_m y η_s que son los índices de refracción de los disolventes donde se encuentra la muestra desconocida η_m y la muestra estándar η_s .

$$\Phi_m = \Phi_s \cdot \left(\frac{f_s}{f_m}\right) \cdot \left(\frac{F_m}{F_s}\right) \cdot \left(\frac{\eta_s}{\eta_r}\right)^2 \quad (\text{Ec. 1})$$

$$f = 1 - 10^{-A} \quad (\text{Ec. 2})$$

Las propiedades fotofísicas de los compuestos usados como estándares de fluorescencia, incluyendo su rendimiento cuántico y espectros de absorción y emisión, se encuentran establecidas con alto grado de certeza y reproducibilidad.²⁷ En el informe técnico de la IUPAC, elaborado por Albert M. Brouwer (2011), se establecen recomendaciones sobre el uso de estándares para mediciones de rendimiento cuántico en disolución, discutiendo las condiciones experimentales adecuadas, los errores más comunes y los criterios que debe cumplir un compuesto para ser considerado un estándar confiable.²⁴ Además, el informe distingue entre los métodos relativos y absolutos de medición; en el método relativo, la fluorescencia de la muestra se compara con la de un estándar de referencia medido bajo condiciones idénticas de excitación y geometría, mientras que los métodos absolutos, basados en esferas integradoras, permiten determinar directamente el número de fotones emitidos y absorbidos sin necesidad de un estándar externo.^{24,28}

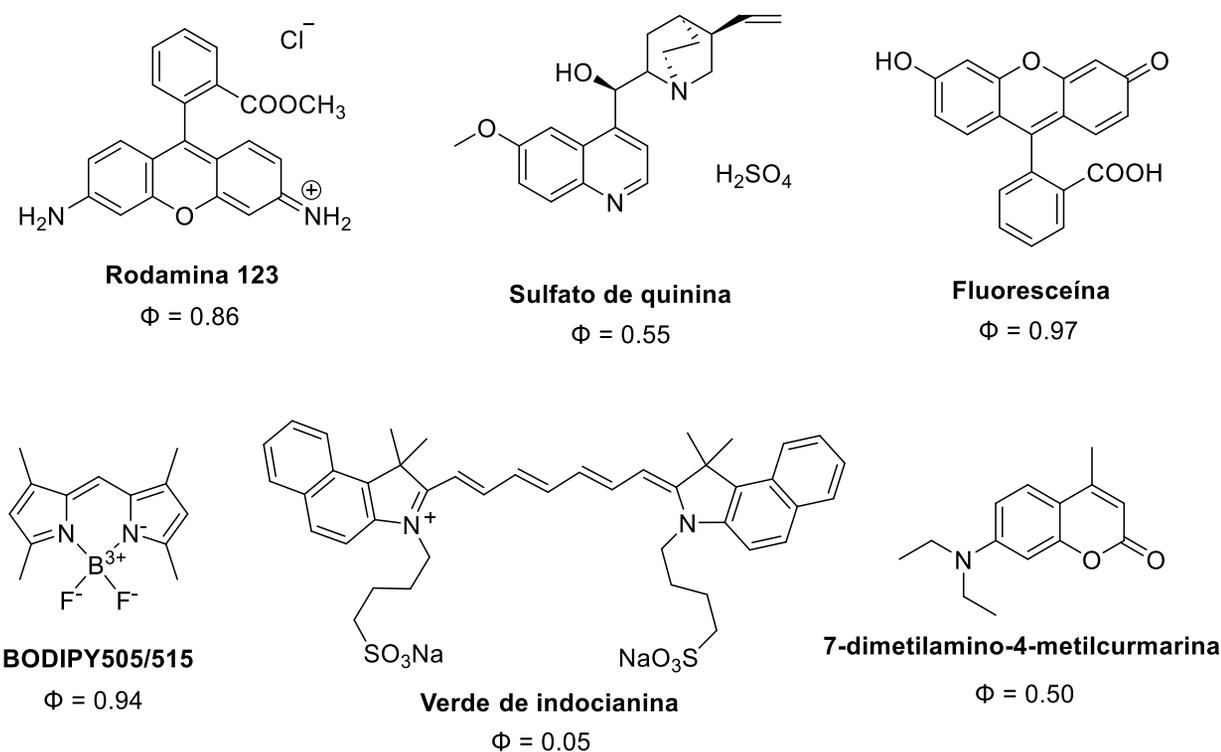


Figura 4. Estándares de fluorescencia más utilizados en la espectroscopia de fluorescencia.²⁷

El coeficiente de extinción molar también llamado coeficiente de absorptividad (ϵ) expresa la capacidad de una molécula para absorber luz a la longitud de excitación elegida y se relaciona con la probabilidad de que un fotón incidente sea absorbido por la molécula. Experimentalmente los fluoróforos con estructuras electrónicas conjugadas más extensas o con grupos atrectores/donadores fuertes presentan valores altos, porque sus orbitales están mejor alineados para interactuar con la luz.²⁹ La determinación de ϵ se realiza a partir de un espectro de absorción UV-Vis, el cual mide la intensidad de luz que atraviesa la muestra a diferentes concentraciones y se representa con la fórmula de Lambert-Beer (Ec. 3). A es la absorbancia, I_0 es la intensidad de la luz incidente, I es la intensidad de la luz transmitida, ϵ es el coeficiente de absorptividad molar, l es el camino óptico de la cubeta y C es la concentración del fluoróforo. Un alto coeficiente de extinción es deseable en aplicaciones de detección porque permite trabajar con concentraciones menores de fluoróforo y reducir efectos de reabsorción y fotodegradación.³⁰

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon l C \quad (\text{Ec. 3})$$

Por otra parte, el desplazamiento de Stokes ($\Delta\tilde{\nu}$) es la diferencia de la longitud de onda máxima de absorción (λ_{abs}) y la longitud de onda máxima de emisión (λ_{em}), expresadas en nanómetros donde se aplica un factor 10^{-7} para convertir las longitudes de onda expresadas en nanómetros a números de onda en centímetros inversos, ya que $1 \text{ nm} = 10^{-7}$ (Ec. 4). Esta diferencia es resultado de los procesos de relajación vibracional y conversión interna en un sistema excitado. Véase el diagrama de Jablonski en la Figura 2.

$$\Delta\tilde{\nu} = \left(\frac{1}{\lambda_{\text{abs}}} - \frac{1}{\lambda_{\text{em}}}\right) \times 10^7 \quad (\text{Ec. 4})$$

El desplazamiento de Stokes proporciona información sobre la estructura y las interacciones moleculares del sistema.³¹ En algunos fluoróforos los desplazamientos de Stokes son muy pequeños, como en los Bodipys (10-20 nm) y muy grandes en los

benzotiadiazoles (150-200 nm).^{32,33} En las moléculas que usa la microscopía de fluorescencia tienen ventajas prácticas las moléculas con desplazamientos de Stokes grandes porque no hay sobreposición de las longitudes de onda de absorción y de emisión y no se requieren lámparas monocromáticas y filtros especiales.³⁴

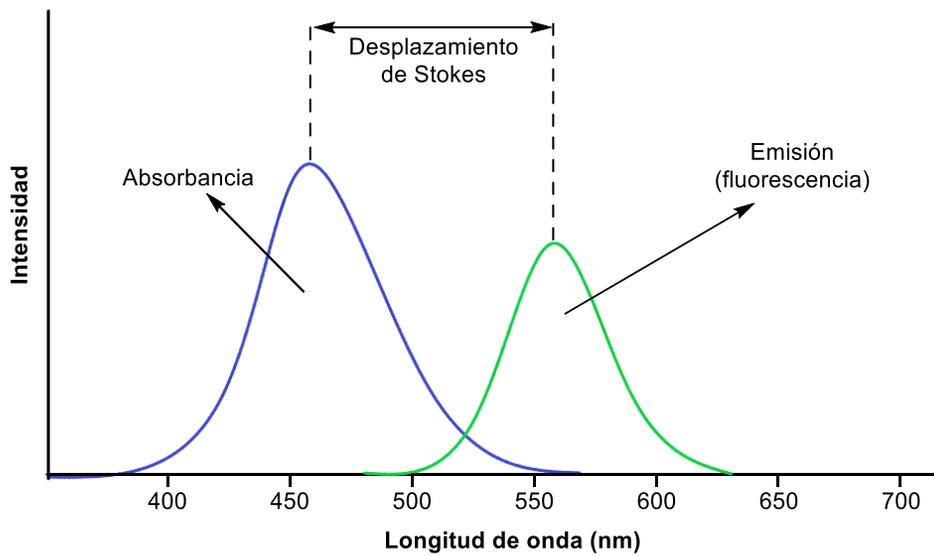


Figura 5. Espectros de absorción y emisión de un fluorocromo.

En los materiales semiconductores fluorescentes (Figura 6), el *band gap* (E_g) determina fundamentalmente la energía de los fotones que pueden ser absorbidos y la longitud de onda de la luz emitida cuando los electrones regresan al estado fundamental.³⁵ En la excitación, un electrón absorbe energía suficiente para “saltar” desde la banda de valencia a la de conducción y al regresar a su estado fundamental, emite un fotón cuya energía refleja precisamente ese *band gap*.³⁵ Este mecanismo es la base de la fotoluminiscencia en nanopartículas como los puntos cuánticos (quantum dots, QDs).³⁶ En las moléculas orgánicas fluorescentes, el *band gap* es un parámetro que determina la longitud de onda de emisión a diferencia de los sistemas inorgánicos nanoestructurados, donde el tamaño físico regula el confinamiento cuántico, en los fluoróforos orgánicos este ajuste se logra mediante el diseño molecular: la conjugación electrónica, la incorporación de grupos donadores y aceptores de electrones, así como la planaridad y rigidez estructural permiten modular las propiedades electrónicas, al igual que el color de emisión.³⁷

Al aumentar la conjugación (extendiendo el sistema π), se reduce el *band gap*, desplazando la emisión hacia longitudes de onda más largas (rojo); mientras que una conjugación más corta o interrumpida tiende a aumentar la energía de transición, favoreciendo emisiones en la región azul o ultravioleta del espectro.³⁸ Esta relación entre estructura electrónica y color permite “sintonizar” la fluorescencia mediante modificaciones químicas específicas, lo que otorga gran versatilidad para aplicaciones personalizadas en bioimagen, sensores, OLEDs o celdas solares.³⁹ Además, ciertas estrategias de diseño, como la restricción de rotaciones internas, la rigidez estructural o el uso de puentes intramoleculares, no sólo modulan la energía de emisión, sino que también aumentan el rendimiento cuántico al reducir vías de desactivación no radiativas.⁴⁰ Aunque generalmente presentan espectros de emisión más amplios que los nanomateriales inorgánicos, los fluoróforos orgánicos ofrecen ventajas como una mayor biocompatibilidad, facilidad de síntesis, selectividad, y un control más preciso sobre el entorno químico de la fluorescencia.⁴¹

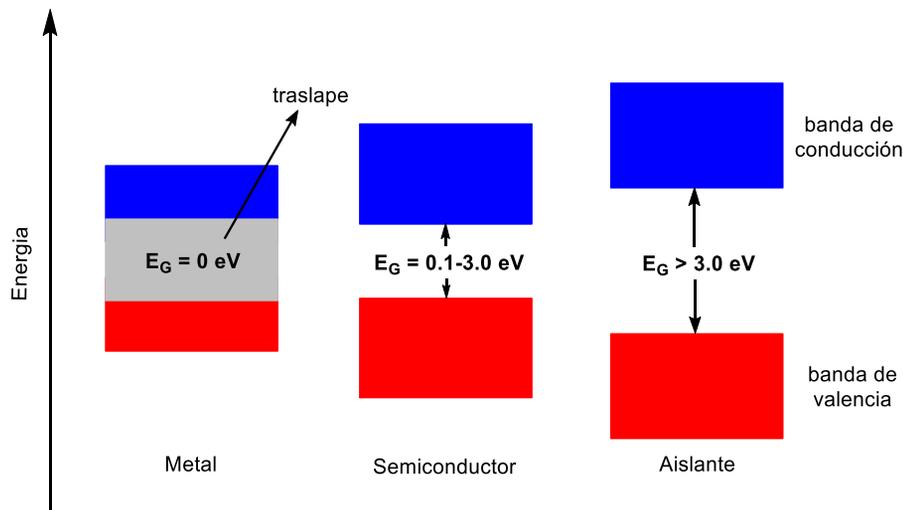


Figura 6. Diagrama de los diferentes valores de *band gap* para conductores, semiconductores y aislantes.

El tiempo de vida determina cuánto permanece un fluoróforo en su estado excitado antes de relajarse emitiendo un fotón y es un indicador de la estabilidad del estado excitado. Los estados muy inestables decaen rápidamente, mientras que los

estados más “protegidos” o “estables” perduran más.⁴² Este parámetro es especialmente valioso porque no depende de la concentración ni de la intensidad del haz de excitación, lo que lo hace muy importante frente a variaciones experimentales.⁴³ Algunas técnicas como la microscopía de imagen por tiempo de vida (FLIM) miden esta propiedad para distinguir entre fluoróforos que emiten luz a la misma longitud de onda pero que tienen procesos de decaimiento distintos, lo que permite describir interacciones moleculares en células vivas sin depender de la intensidad.⁴⁴

La intensidad de fluorescencia mide la cantidad de luz es emitida por un fluoróforo tras la excitación; esto refleja la habilidad del fluoróforo para absorber la luz de excitación y su capacidad para emitirla de nuevo, moduladas por la geometría y la eficiencia óptica del equipo.⁴² Además, los fenómenos de autoextinción (*self-quenching*) y pérdidas por dispersión pueden disminuir la intensidad observada.⁴⁵ Para comparaciones confiables entre diferentes fluoróforos, se utilizan estándares de referencia bien caracterizados (por ejemplo, fluoresceína), asegurando que las diferencias de intensidad reflejen sus propiedades únicas.⁴⁶

1.2.1. Aplicaciones de las moléculas fluorescentes conforme a sus propiedades fotofísicas

La selección de un fluoróforo depende de los parámetros antes mencionados y cada uno de estos factores determina su eficacia para aplicaciones específicas, desde la elaboración de bioimagen hasta sensores químicos o dispositivos optoelectrónicos por lo que resulta claro que las propiedades fotofísicas son muy importantes en la selección de su posible aplicación tecnológica. La Tabla 1 muestra las características fotofísicas de diversos fluoróforos y su aplicación.

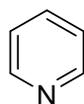
Tabla 1. Relación entre los parámetros fotofísicos y sus aplicaciones según sus valores.

Parámetro	Valores altos (Aplicaciones)	Valores bajos (Aplicaciones)
Coeficiente de extinción molar (ϵ) ⁴⁷	<ul style="list-style-type: none"> - Microscopía y bioimagen (imágenes brillantes y sensibles) - Sensores analíticos (detección eficiente de cambios mínimos en concentración) - Dispositivos ópticos (OLEDs más eficientes) 	<ul style="list-style-type: none"> - Marcaje discreto en biología celular (evitar saturación de señal) - Mediciones de fondo con baja interferencia óptica
Rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ) ⁴⁸	<ul style="list-style-type: none"> - Microscopía de fluorescencia (alta intensidad con mínima excitación) - FRET (mejor acoplamiento donante-aceptor) - Ensayos ultrasensibles (ELISA fluorescente, PCR en tiempo real) 	<ul style="list-style-type: none"> - Sensores “turn-on” (fluorescencia aparece ante estímulo) - Terapia fotodinámica (disipación no radiativa para generar ROS)
Desplazamiento de Stokes ($\Delta\nu$) ⁴⁹	<ul style="list-style-type: none"> - Imagen multicolor (evita solapamiento entre fluoróforos) - Sensores radiométricos (alta precisión) - Optoelectrónica (reduce autoabsorción de la emisión) 	<ul style="list-style-type: none"> - FRET (necesita solapamiento espectral amplio) - Sensores de microcambio espectral (detectan desplazamientos sutiles)
Band gap (E_g) ⁵⁰	<ul style="list-style-type: none"> - Emisión UV-visible (detección ambiental, evita interferencias IR) - Celdas solares orgánicas (capturan fotones de alta energía) 	<ul style="list-style-type: none"> - Emisión NIR (bioimagen in vivo con mayor penetración en tejidos) - Diagnóstico biomédico no invasivo
Tiempo de vida de fluorescencia (τ) ⁴³	<ul style="list-style-type: none"> - FLIM (microscopía de tiempo de vida; independiente de intensidad) - Estudios dinámicos moleculares (procesos lentos como plegamiento proteico o unión ligando-receptor) 	<ul style="list-style-type: none"> - Estudios de cinética rápida (<i>quenching</i> dinámico, relajaciones rápidas) - Optoelectrónica (modulación rápida de señales de luz)

1.3. Moléculas fluorescentes y su estructura

La fluorescencia de mayor intensidad se observa en compuestos que poseen anillos aromáticos con transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de baja energía, mientras que los compuestos que contienen grupos que extienden la conjugación electrónica como enlaces C=C, C=N, CN, C=O y grupos donadores como aminas y éteres también presentan fluorescencia.⁵¹ Por lo general, el rendimiento cuántico aumenta en relación con el número de anillos y su grado de conjugación.⁵² Por otro lado, los compuestos heterocíclicos simples como la piridina, el furano, el tiofeno y el pirrol (Figura 7), manifiestan baja o nula fluorescencia.⁵³ En los compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno, se postula que la transición electrónica de menor energía implica un sistema $n \rightarrow \pi^*$ que rápidamente se convierte en un estado triplete, lo cual inhibe la fluorescencia.⁵⁴ La fusión de anillos en los compuestos heterocíclicos conlleva a un aumento en la absorptividad molar ϵ de la banda de absorción y a una reducción en el tiempo de vida del estado excitado por lo que la quinolina, la isoquinolina y el indol muestran fluorescencia.⁵⁵

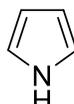
Heterociclos de un solo anillo no presentan fluorescencia



Piridina



Furano

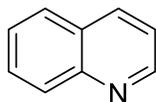


Pirrol

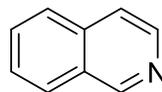


Tiofeno

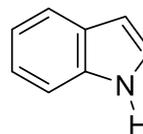
Heterociclos con anillos fusionados presentan fluorescencia



Quinolina



Isoquinolina



Indol

Figura 7. Moléculas heterocíclicas.

La fusión de anillos de benceno también aumenta la fluorescencia (Figura 8), debido a que incrementa la extensión del sistema π conjugado, lo que provoca una disminución en la energía de la transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ y un aumento en la densidad electrónica distribuida a lo largo del cromóforo. La deslocalización electrónica estabiliza

el estado excitado, reduce las pérdidas no radiativas y favorece la emisión radiativa, lo que resulta en una mayor intensidad de fluorescencia y en un desplazamiento al rojo en los espectros de emisión.⁵⁶

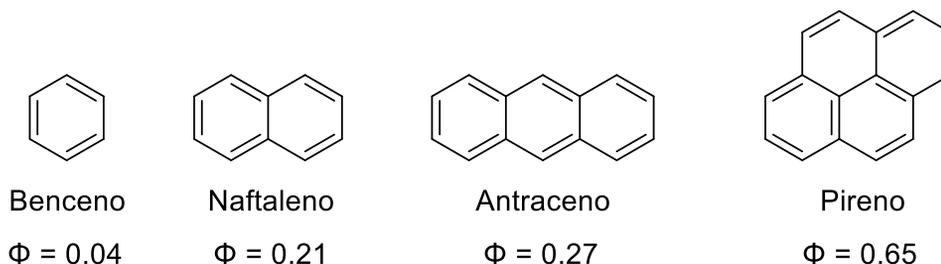


Figura 8. Rendimientos cuánticos de algunos hidrocarburos aromáticos en etanol.

Por el contrario, la presencia de halógenos en los fluoróforos, particularmente el bromo, reduce la fluorescencia y aumenta la probabilidad de transición entre sistemas hacia el estado triplete, en consecuencia, favorece la fosforescencia y la formación de especies reactivas de oxígeno.⁵⁷ La figura 9 muestra la influencia de los átomos de bromo en los parámetros fotofísicos como el Φ_f (rendimiento cuántico de fluorescencia), Φ_{ph} (rendimiento cuántico de fosforescencia), τ_f (tiempo de vida de fluorescencia) y τ_{ph} (tiempo de vida de fosforescencia) en una serie de derivados de bis(carbazolil)benceno denominados mCP.⁵⁷

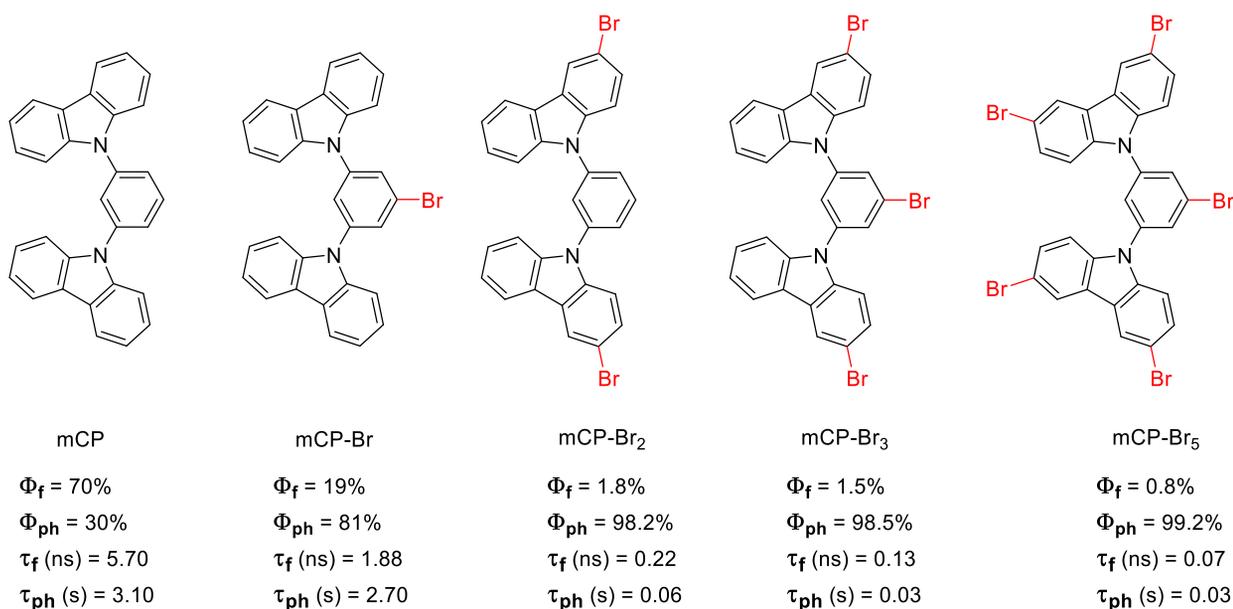


Figura 9. Influencia del bromo en los parámetros fotofísicos en derivados de mCP.⁵⁷

1.3.1. Efecto de la rigidez estructural

La rigidez estructural reduce las pérdidas de energía debidas a movimientos vibracionales (también conocidas como emisión no radiativa o disipación térmica) y en consecuencia incrementa el rendimiento de la fluorescencia.⁵⁸ La rigidez estructural aumenta al minimizar el número de enlaces simples con rotación libre o al introducir grupos voluminosos que restringen dicha rotación.⁵⁹ Por ejemplo, el 9,10-dihidrofenantreno tiene mayor rendimiento cuántico que el 2,2'-Dimetilbifenilo (Figura 10).⁶⁰ También se observa que los agentes quelantes orgánicos favorecen el aumento de la fluorescencia al formar un compuesto con un ion metálico.⁶¹

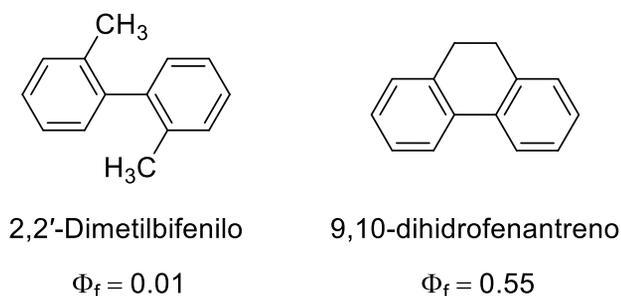


Figura 10. Efecto de la rigidez estructural en la fluorescencia de bifenilos análogos.⁶⁰

1.3.2. Efectos del disolvente

Por lo general, la emisión de fluorescencia se produce a mayor longitud de onda (menor energía) que la de absorción y esa pérdida de energía es resultado de una serie de procesos no radiativos posteriores a la absorción de luz, como la conversión interna y la relajación vibracional.⁶² La relajación interna tiene lugar cuando el fluoróforo se excita a un subnivel vibratorio elevado dentro del primer estado singlete (S_1) y se disipa rápidamente el exceso de energía vibratoria mediante la interacción con el disolvente. Si el fluoróforo es excitado al segundo estado singlete (S_2), su decaimiento hacia el estado S_1 ocurre rápidamente (10^{-12} s) debido a la conversión interna.⁶³ En términos generales, un fluoróforo presenta un momento dipolar mayor en su estado excitado (μ_E) en comparación con su estado fundamental (μ_G), debido a la polarización de la densidad electrónica.⁶⁴ Un disolvente polar estabiliza el estado excitado porque los dipolos de sus

moléculas pueden reorientarse o relajarse alrededor del estado excitado μ_E , lo que conduce a una emisión de energía más baja (frecuencia más alta) y su tiempo de relajación electrónica por un disolvente polar fluido a temperatura ambiente es de picosegundos (10^{-12} s), más rápido que el tiempo de vida de la fluorescencia (10^{-9} s).⁶⁵ Por lo tanto, los fluoróforos más polares muestran una mayor sensibilidad a la polaridad del disolvente y disminuyen drásticamente su rendimiento cuántico de fluorescencia, mientras que las moléculas no polares son menos susceptibles a esta influencia (Figura 11).⁶⁶

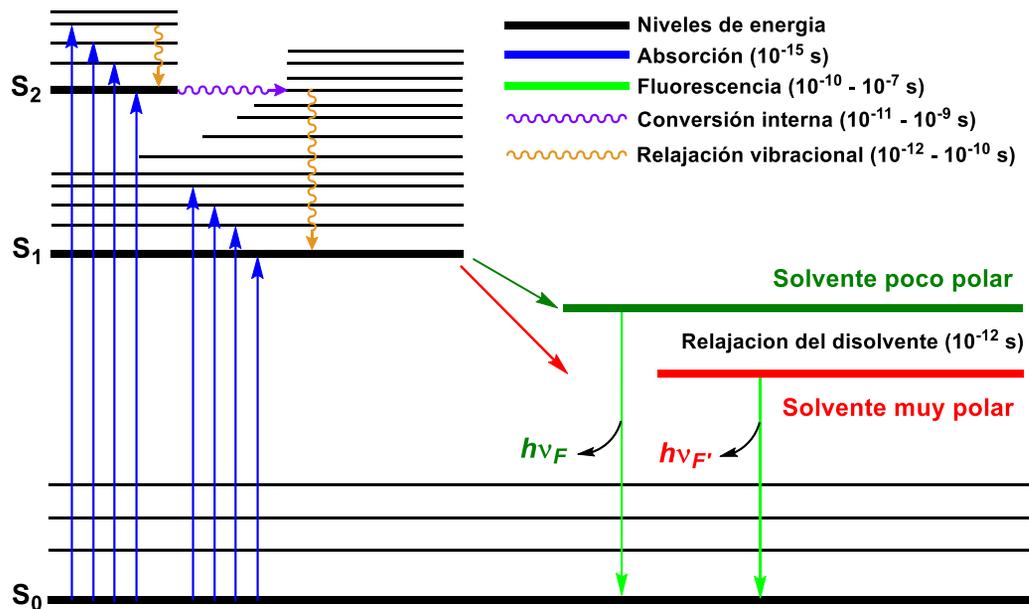


Figura 11. Diagrama de Jablonski de fluorescencia con relajación del disolvente.

Mientras que los espectros de emisión corresponden a un fluoróforo polarizado expuesto a un entorno de moléculas de disolvente relajadas que se orientan de acuerdo con la polarización, los espectros de absorción muestran menor sensibilidad a la polaridad del disolvente porque las moléculas se exponen al mismo entorno local en los estados basal y excitado.⁶⁷ Este comportamiento da origen al solvatocromismo, fenómeno mediante el cual la posición máxima de absorción o emisión de una molécula cambia en función de la polaridad del disolvente; típicamente, los compuestos con estados excitados más polares presentan un desplazamiento batocrómico (al rojo) en disolventes más polares. La Figura 12 muestra el desplazamiento de la banda de emisión

por efecto del disolvente en dos derivados de 2,5 diariltiofeno denominados MOT y DMAT.⁶⁸

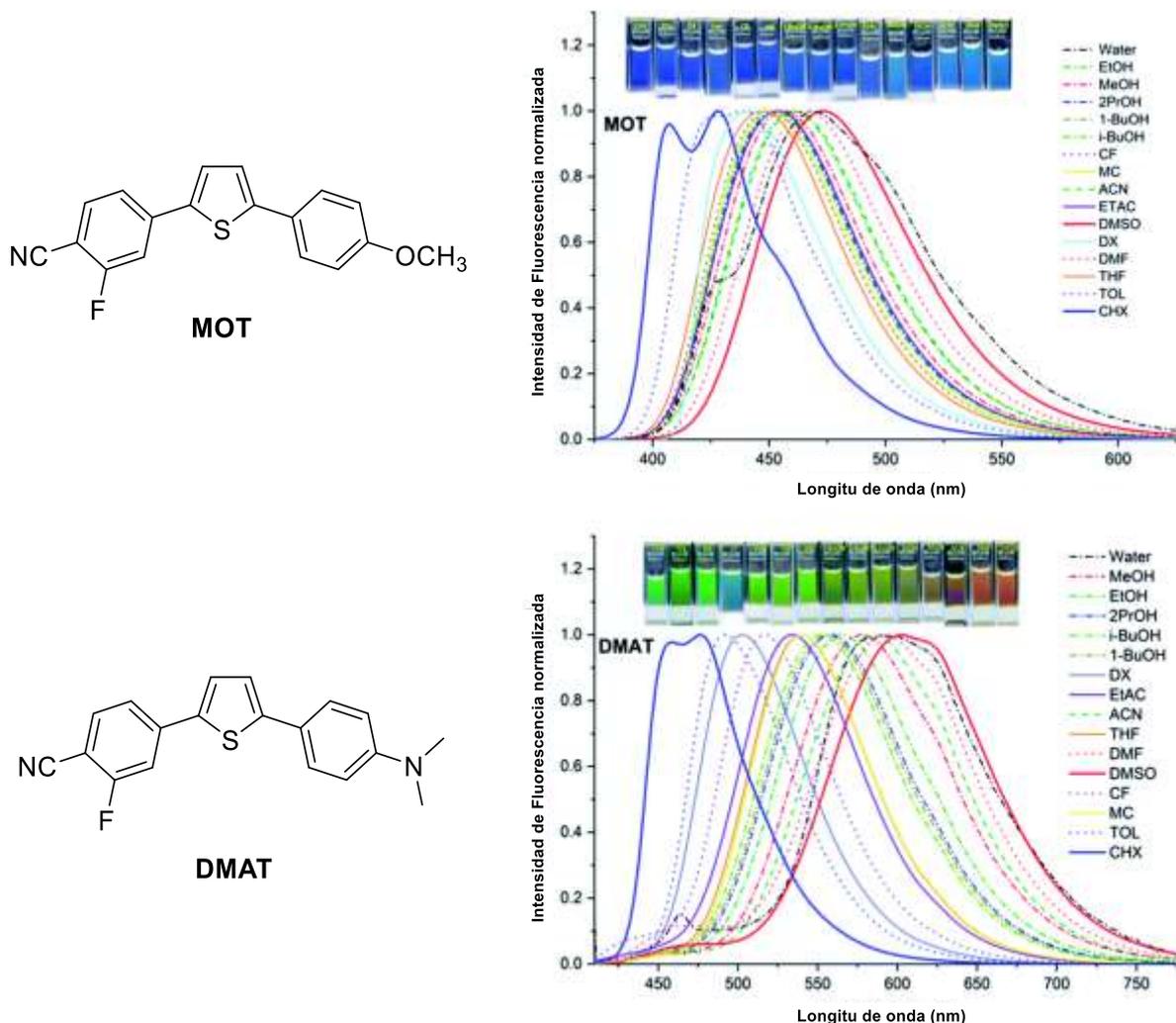


Figura 12. Espectros de fluorescencia normalizados en soluciones 5×10^{-5} M de MOT y DMAT utilizando diferentes solventes.⁶⁸

1.4. Mecanismos de modulación de la fluorescencia

Como se ha descrito hasta ahora, la fluorescencia puede verse intensificada, suprimida (*quenching*) o desplazada en longitud de onda como resultado de diversos procesos que alteran el comportamiento electrónico de la molécula en su estado excitado. Estos mecanismos suelen depender de la estructura química del sistema, la

presencia de grupos funcionales aceptores y donadores de electrones, y las condiciones del entorno, como el pH, la polaridad del solvente o la interacción con otras especies químicas. La comprensión de estos procesos de modulación de fluorescencia es clave para el diseño racional de compuestos fluorescentes con propiedades ajustables, que respondan de forma controlada ante estímulos químicos, físicos o biológicos.⁶⁹

1.4.1. Transferencia de carga interna

El proceso de transferencia de carga interna (ICT, *intramolecular charge transfer*) es un proceso fotoinducido en el que, tras la absorción de un fotón, se produce una redistribución de carga electrónica dentro de la misma molécula, desplazándose desde un grupo dador de electrones (D) hacia un grupo aceptor de electrones (A), este estado excitado presenta un momento dipolar muy elevado y se forma en escalas temporales ultrarrápidas, inferiores a 10^{-13} s.⁷⁰ El ICT suele lograrse mediante la conjugación directa de un donador y un aceptor a través de un puente π -conjugado (estructura “D- π -A”), lo cual genera fuertes efectos “jalón-empuje” que modulan las propiedades ópticas del compuesto, estos efectos favorecen el desplazamiento del máximo de emisión hacia longitudes de onda más largas y pueden intensificar la señal óptica.⁷¹ Existen dos mecanismos ICT:

- Transferencia de carga a través del enlace (TBCT, *Through-bond charge transfer*): la transferencia de carga se produce a lo largo de un puente π -conjugado que conecta directamente D y A (Figura 13).

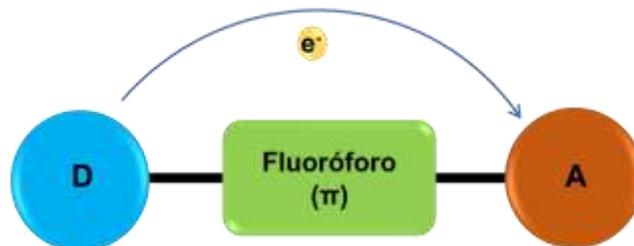


Figura 13. Representación esquemática del mecanismo TBCT.

- Transferencia de carga a través del espacio (TSCT, *Through-space charge transfer*): la transferencia tiene lugar por proximidad espacial (por ejemplo, apilamiento π - π) sin necesidad de una conjugación covalente (Figura 14).

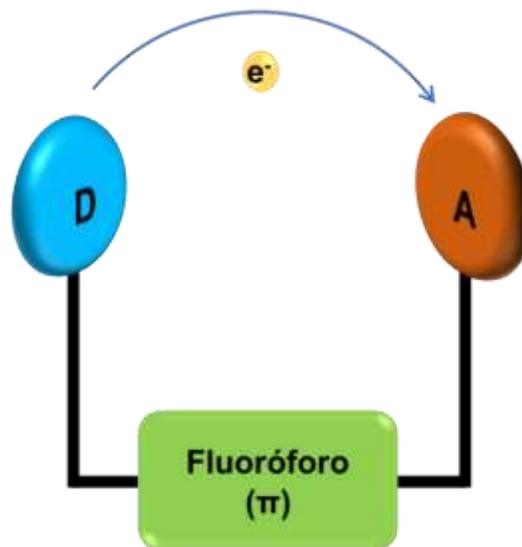


Figura 14. Representación esquemática del mecanismo TSCT.

Cuando la molécula fluorescente interactúa con un analito (ion metálico, un protón o una biomolécula cargada), puede modificar la densidad electrónica del sistema D-A, lo que altera la eficiencia de la transferencia de carga, ya sea potenciando o inhibiendo el proceso ICT y provocando variaciones en la intensidad o en la posición del espectro de emisión que convierten a estos sistemas en sensores ópticos sensibles y selectivos.⁷² En los sistemas D- π -A basados en ICT, el orbital molecular ocupado más alto (HOMO) se localiza principalmente en el fragmento donador, mientras que el orbital molecular desocupado más bajo (LUMO) se encuentra en el fragmento aceptor, generando un estado excitado con fuerte carácter dipolar.^{73,74} Cuando el analito interacciona con el donador esta unión puede alterar la energía y distribución del HOMO, reduciendo su capacidad para ceder densidad electrónica al aceptor y atenuando la separación de cargas en el estado excitado, lo que disminuye la intensidad o provoca un desplazamiento hipsocrómico en la emisión. Por el contrario, si el analito se asocia con el aceptor, la estabilización del LUMO o la modificación de su potencial electrónico pueden favorecer la transferencia de carga, fortaleciendo el carácter ICT del estado

excitado y generando un desplazamiento batocrómico en el espectro, este efecto depende de la naturaleza química del analito y de la fuerza de su interacción con los centros activos del fluoróforo (Figura 15).⁷⁵

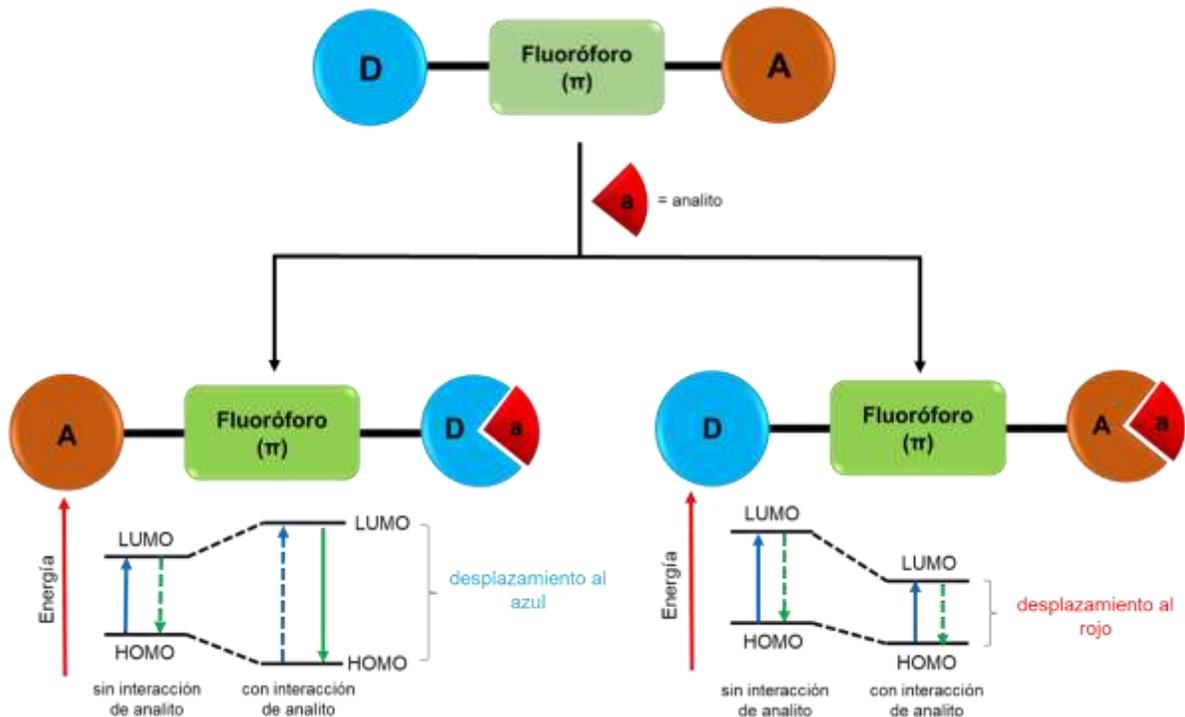


Figura 15. Representación esquemática del mecanismo de detección basado en transferencia de carga interna (ICT).⁷⁵

Las moléculas con este mecanismo presentan una marcada sensibilidad al entorno, por lo que se emplean ampliamente en sensores ópticos de polaridad, detección de microambientes biológicos y monitoreo de interacciones intermoleculares. Además, la fuerte separación de cargas que presentan en el estado excitado es útil en el diseño de materiales optoelectrónicos, fotodetectores y dispositivos OLED de alta eficiencia.

1.4.2. Transferencia de carga interna torcional

La transferencia de carga interna retorcida (TICT, *Twisted Intramolecular Charge Transfer*) es una variante del ICT en la que, tras la excitación, el donador (D) y el aceptor (A) rotan alrededor de su enlace simple para minimizar el solapamiento orbital, dando

lugar a un estado desacoplado de carga prácticamente separada y con un momento dipolar aún mayor que en el ICT planar.⁷⁶ Posteriormente, la coordenada torsional D-A, debe superar una barrera rotacional interna cuya magnitud está determinada por la rigidez del enlace y las interacciones estéricas o electrónicas entre sustituyentes.⁷⁷ Una vez superada esta barrera, los grupos D y A adoptan una conformación casi perpendicular, lo que separa el HOMO (localizado en **D**) del LUMO (localizado en **A**) y estabiliza el estado TICT de alta polaridad (Figura 16).⁷⁸

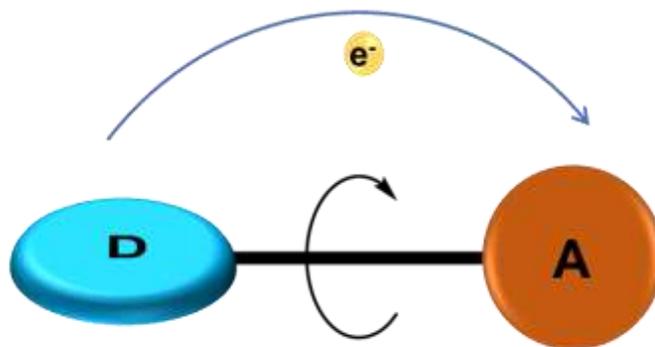


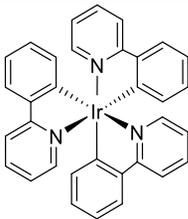
Figura 16. Representación esquemática del mecanismo TICT.

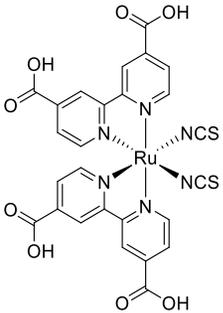
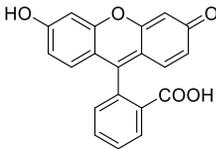
En espectroscopia, los estados que experimentan TICT suelen mostrar emisión dual; la primera banda de longitud de onda corta corresponde al estado LE (localmente excitado) y una banda de emisión roja intensa asociada al estado TICT, esta última desplazada hacia el rojo debido a la extensa relajación estructural y la separación de carga. Además, la banda TICT exhibe un pronunciado solvatocromismo, intensificándose y desplazándose aun más hacia longitudes de onda largas en disolventes polares.⁷⁹ Las especies TICT responden de forma muy sensible a cambios en la viscosidad, polaridad o restricción rotacional del medio. Se utilizan en sondas de microviscosidad intracelular, estudios de dinámica conformacional proteica y caracterización de entornos supramoleculares.⁸⁰ Su capacidad de modificar la intensidad o el desplazamiento de la emisión con la movilidad molecular las hace valiosas para el estudio de procesos dinámicos en tiempo real.⁸¹

1.5. Estructuras de los fluoróforos más relevantes y sus aplicaciones

Las moléculas fluorescentes han adquirido un papel central en diversas áreas científicas y tecnológicas debido a su capacidad de absorber luz y reemitirla con alta eficiencia, selectividad y estabilidad, esto las convierte en materiales versátiles para aplicaciones que van desde la optoelectrónica hasta la biomedicina.⁸² Su comportamiento fotofísico puede ajustarse mediante el diseño molecular modificando la conjugación, la polaridad o la rigidez estructural, lo que permite adaptar la longitud de onda de emisión, la intensidad y el tiempo de vida de la fluorescencia a diferentes propósitos funcionales.⁸³ La Tabla 2 muestra algunas de las moléculas fluorescentes más empleadas en el desarrollo de dispositivos optoelectrónicos, en la conversión y aprovechamiento de energía luminosa, así como en el ámbito biomédico. Todas estas moléculas poseen alta eficiencia cuántica, estabilidad fotofísica y capacidad de ajuste estructural para modular su emisión.⁸⁴ Estas características les permiten actuar en aplicaciones como emisores activos en tecnologías de conversión energética y luminosa empleados en los dispositivos de alta eficiencia y bajo consumo; además, desempeñan un papel importante en la captación y transferencia de carga en sistemas fotoactivos que optimizan la conversión solar.⁸⁵ Al mismo tiempo, la sensibilidad a las variaciones del entorno químico las convierte en herramientas valiosas en biomedicina, donde se utilizan como sondas fluorescentes para la visualización y monitoreo de procesos biológicos a nivel molecular y celular.⁸⁶

Tabla 2. Aplicaciones representativas de moléculas fluorescentes y sus funciones principales.

Área de aplicación	Ejemplo de molécula	Función principal	Ejemplos de uso
Dispositivos optoelectrónicos (OLEDs) ⁸⁷	 <p>Ir(ppy)₃ (tris(2-fenilpiridina)iridio(III))</p>	Emisor de alta eficiencia cuántica con fluorescencia y fosforescencia	Pantallas de televisores, teléfonos móviles, iluminación eficiente

<p>Células solares y conversión de energía⁸⁷</p>	 <p>Complejo de rutenio</p>	<p>Colorante sensibilizador que absorbe luz y transfiere electrones al semiconductor</p>	<p>Celdas solares sensibilizadas con colorantes (DSSC)</p>
<p>Imágenes biomédicas y marcadores celulares⁸⁸</p>	 <p>Fluoresceína</p>	<p>Marcador fluorescente selectivo para estructuras celulares y biomoléculas</p>	<p>Microscopía de fluorescencia, angiografías, diagnóstico biomédico</p>

1.6. Indol y sus características únicas

El indol es un compuesto heterocíclico aromático que consiste en un anillo de benceno fusionado con un anillo de pirrol (Figura 17).⁸⁹ Su estructura conjugada le confiere la absorción de luz ultravioleta y emisión de luz visible. La presencia del núcleo de indol en el triptófano lo convierte en un cromóforo eficaz para detectar proteínas, así como en aplicaciones de fluorescencia.^{90,91}

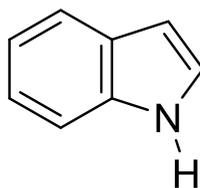


Figura 17. Estructura molecular del Indol.

1.6.1. Propiedades químicas del indol.

La estructura electrónica del indol, proveniente de su sistema conjugado de anillos fusionados, genera una densidad π deslocalizada que explica tanto su estabilidad

aromática como su reactividad química.⁹² El sistema posee en total 10 electrones π , seis electrones π del anillo de benceno y dos del anillo de pirrol (dos procedentes del doble enlace y dos del par libre del átomo de nitrógeno), este número satisface la condición de aromaticidad para $n=2$ en la regla de Hückel ($4n+2$), lo que explica su estabilidad electrónica y su geometría molecular plana (Figura 18).⁹¹

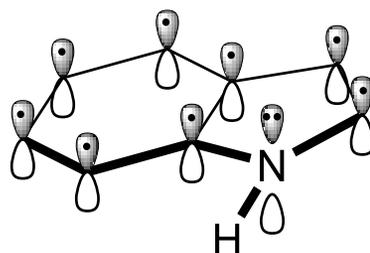


Figura 18. Deslocalización de los electrones π en el indol.

Las estructuras canónicas muestran una densidad electrónica aumentada entre el nitrógeno y el C-3 implicando el carácter de enamina.⁹³ La deslocalización de la carga en el anillo implica una desestabilización de la forma resonante (Figura 19) lo que provoca que la posición 3 del indol sea la más nucleofílica y, por lo tanto, la más susceptible a reacciones de sustitución electrofílica aromática.⁹⁴

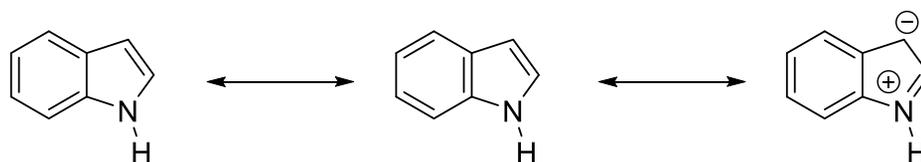
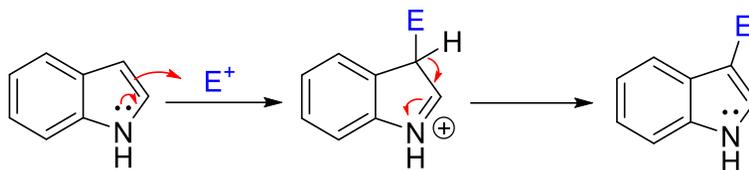


Figura 19. Estructuras canónicas de indol.

La posición C-2 del indol también es un sitio de ataque cuando se encuentra un sustituyente en la posición C-3 y ocurre el ataque electrofílico a la posición C-3 seguida de un reacomodo de un grupo hacia la posición C-2.⁹⁴ (Figura 20)

sustitución en C-3



sustitución en C-2

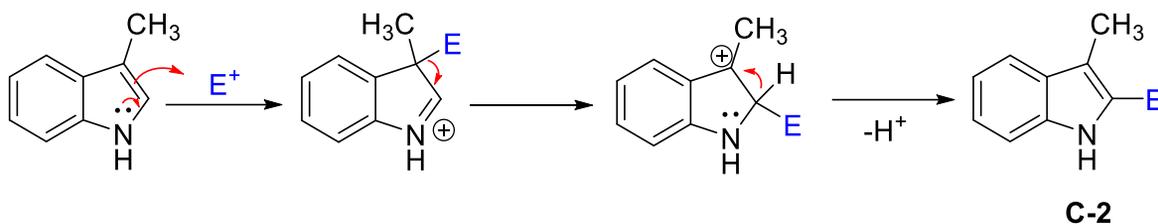


Figura 20. Reactividad del indol ante electrófilos.⁹⁴

1.6.2. Propiedades fotofísicas del indol

El indol presenta un sistema aromático altamente conjugado que le otorga una notable capacidad para absorber y emitir radiación electromagnética.⁹⁵ Su fluorescencia se origina principalmente a partir de transiciones electrónicas del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, dentro del sistema conjugado que abarca el anillo de benceno y el de pirrol. Su absorción principal se sitúa en torno a los 270-280 nm, mientras que la emisión ocurre en el rango de 330-350 nm.⁹⁶ En cuanto al rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ), los valores reportados en medios no polares son de 0.20-0.30 para el indol, aunque esta cifra puede variar significativamente con el disolvente y la longitud de excitación; por ejemplo, se ha observado que Φ cambia con la longitud de onda de excitación entre 220-250 nm.⁹⁷ La estabilidad y comportamiento del estado excitado del indol están influidos por múltiples factores, la polaridad del solvente, la presencia del grupo N-H en el pirrol, la posibilidad de formar enlaces de hidrógeno y la accesibilidad de procesos no radiativos como la ionización o el entrecruzamiento intersistema (ISC).⁹⁸ En medios acuosos, por ejemplo, la fluorescencia del indol se ve fuertemente afectada por la solvatación y la formación de pares electrón-ion, lo que reduce la emisión por fluorescencia.⁹⁹ Esta propiedad convierte

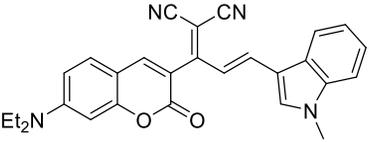
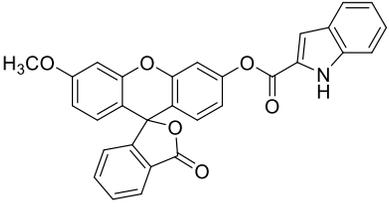
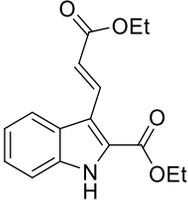
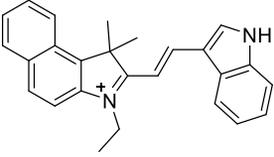
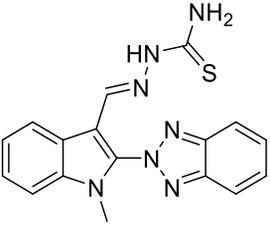
al indol en una herramienta valiosa para investigar la conformación y dinámica de proteínas mediante espectroscopía de fluorescencia.¹⁰⁰

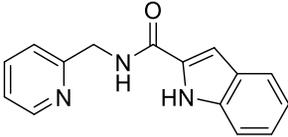
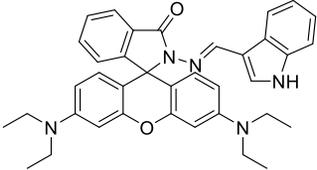
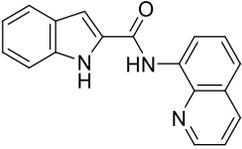
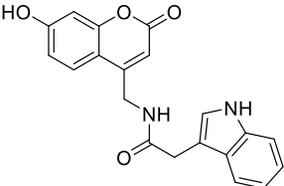
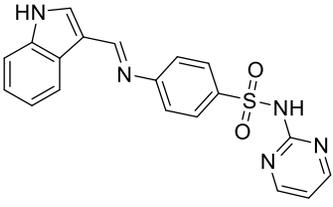
ANTECEDENTES

1.6.3. Indoles fluorescentes y sus aplicaciones como sensores fluorescentes

Los sensores fluorescentes basados en derivados de indol han demostrado gran relevancia en el diseño de sistemas de detección óptica debido a las notables propiedades fotofísicas de este heterociclo.¹⁰¹ El núcleo de indol, caracterizado por su alta conjugación π y su facilidad para participar en procesos de transferencia de carga, actúa comúnmente como fluoróforo principal.¹⁰² Dependiendo del diseño estructural, el indol puede desempeñar distintos roles: en algunos casos interviene directamente en el reconocimiento del analito mediante interacciones de coordinación, puentes de hidrógeno o transferencia electrónica; mientras que en otros actúa como donador o aceptor de electrones dentro de un sistema “*Push-Pull*”, favoreciendo los procesos de transferencia intramolecular de carga (ICT) responsables de la fluorescencia.¹⁰³ Por esto el indol es un componente clave para el desarrollo de sondas altamente sensibles y selectivas, utilizadas en la detección de especies iónicas, biomoléculas y cambios microambientales.¹⁰⁴ En la Tabla 3 se muestran algunos ejemplos de sondas fluorescentes basadas en el indol para la detección de analitos.

Tabla 3. Sondas fluorescentes basadas en indol para la detección de analitos.

Estructura de la sonda	Analito	Mecanismo	Tipo de sonda	Participación del indol	Ref
	CN ⁻	Incrementa fluorescencia (<i>turn-on</i>) por adición nucleofílica	Sonda ' <i>turn-on</i> ' para cianuro	Actúa como fluoróforo principal y aceptor de carga	105
	CO ₃ ²⁻	Incrementa fluorescencia por apertura del anillo y formación de ácido carboxílico	Sonda ' <i>turn-on</i> ' para carbonato	Núcleo emisor de la señal óptica, coordina ion carbonato	104
	H ₂ S	Cambia fluorescencia en conversión carbonilo a tioéster	Sonda ' <i>turn-on</i> ' para sulfuro de hidrógeno	Fluoróforo central cuya emisión se modula por reacción química	106
	HSO ₃ ⁻ / SO ₃ ²⁻	Aumento de fluorescencia tras adición del bisulfito	Sonda ' <i>turn-on</i> ' para bisulfito	Fragmento donador de electrones y fluoróforo activo	107
	Ag ⁺	Incremento de la emisión (<i>turn-on</i>) por coordinación con Ag ⁺	Sonda ' <i>turn-on</i> ' para cationes metálicos	Contiene el sitio auxiliar de coordinación	108

	<p>Al^{3+}</p>	<p>Aumento de fluorescencia por inhibición del proceso PET</p>	<p>Sonda 'turn-on' selectiva para aluminio</p>	<p>Donador de electrones sistema D-A, fluoróforo principal</p>	<p>109</p>
	<p>Cu^{2+}</p>	<p>Apaga fluorescencia (<i>quenching</i>) por transferencia de carga</p>	<p>Sonda 'turn-off' para cobre</p>	<p>Núcleo emisor afectado por coordinación del metal</p>	<p>110</p>
	<p>Fe^{3+}</p>	<p>Disminución de emisión por la coordinación al ion férrico</p>	<p>Sonda 'turn-off' para hierro</p>	<p>Fluoróforo afectado por quelación que promueve desactivación no radiativa</p>	<p>111</p>
	<p>Hg^{2+}</p>	<p>Incrementa fluorescencia (<i>turn-on</i>) por inhibición de PET tras complejación</p>	<p>Sonda 'turn-on' para mercurio</p>	<p>Parte donadora del sistema ICT y fluoróforo activo</p>	<p>112</p>
	<p>Pb^{2+}</p>	<p>Emisión activada (<i>turn-on</i>) por coordinación del ion plomo</p>	<p>Sonda 'turn-on' para plomo</p>	<p>Componente fluorescente central y sitio de unión con Pb^{2+}</p>	<p>113</p>

1.7. Reacciones de Formilación de indoles

La formilación del indol consiste en la incorporación del grupo aldehído en la estructura del indol por lo general en la posición 3.¹¹⁴ Este grupo no solo aumenta su reactividad, sino que facilita la obtención de derivados funcionalizados mediante reacciones posteriores, como condensaciones tipo Knoevenagel, reacciones de Wittig o la formación de iminas y heterociclos.¹¹⁵ Por ello, la formilación de indoles representa un paso estratégico en la síntesis de sistemas con aplicaciones en química medicinal, diseño de sensores fluorescentes y ciencia de materiales.¹¹⁴

1.7.1. Reacción de Vilsmeier-Haack

La reacción de Vilsmeier-Haack es el método más común y certero para formilar indoles en posición 3 mediante la reacción del indol con cloruro de fosforilo (POCl_3) y DMF. La reacción comienza con el ataque nucleofílico del oxígeno carbonílico de la *N,N*-dimetilformamida (DMF) al átomo de fósforo electrofílico del cloruro de fosforilo (POCl_3), posteriormente, la transferencia de un ion cloruro desde el fósforo hacia el carbono carbonílico de la DMF produce la ruptura del enlace $\text{C}=\text{O}$ y la formación de un catión cloroiminio (el reactivo de Vilsmeier), acompañado de la eliminación del anión PO_2Cl_2^- (Figura 21).¹¹⁶

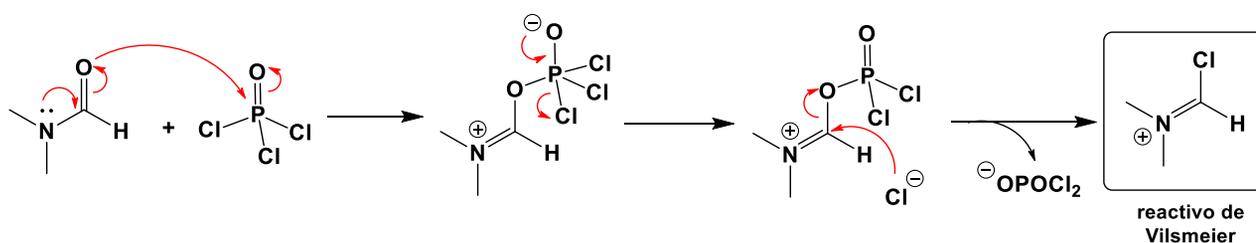


Figura 21. Formación del reactivo de Vilsmeier a partir de DMF y POCl_3 .

El reactivo de Vilsmeier es un electrófilo que es atacado por el átomo de C de la posición 3 del indol, que es altamente nucleofílico y produce un intermediario de iminio que, por hidrólisis permite obtener un aldehído (Figura 22).¹¹⁶ La reacción es selectiva para indoles sustituidos y tolera grupos donadores de electrones como alquilo o alcoxi.¹¹⁷

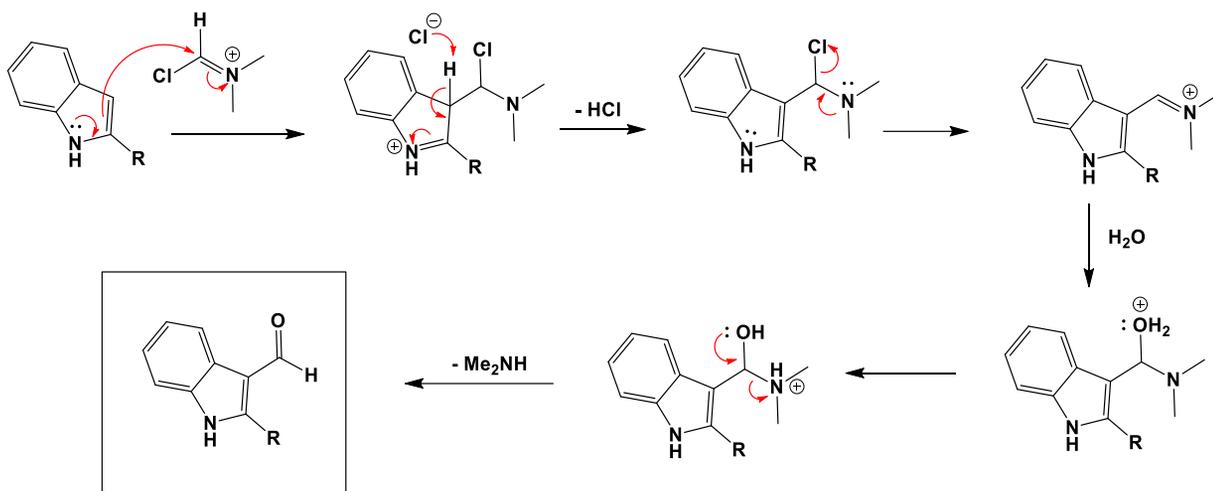


Figura 22. Mecanismo de la formilación del indol en la posición 3 con el reactivo de Vilsmeier.

1.7.2. Alternativas a la reacción de Vilsmeier-Haack

En años recientes se ha desarrollado un número importante de metodologías alternativas que buscan conservar la eficiencia de formilación en la posición 3 del indol al tiempo, empleando agentes formilantes menos agresivos y condiciones de reacción más suaves. Estas estrategias abarcan modificaciones en el sustrato, la generación del agente formilante, la naturaleza de la base, el medio de reacción y la temperatura de operación. A continuación, se analiza cada uno de estos factores (sustrato, agente oxidante/formilante, base, disolvente y temperatura) con un enfoque comparativo.

1.7.2.1. Sustratos

El sustrato empleado en la formilación de Vilsmeier es un indol o un pirrol y los grupos sustituyentes influyen significativamente en la selectividad y el rendimiento de la reacción.¹¹⁸ En el caso de los indoles, aquellos con el grupo N–H libre son los más reactivos. En estudios, se ha mostrado que los indoles con sustituyentes donadores de electrones como metoxi o alquilo, favorecen la formilación en la posición 3 bajo condiciones suaves con HMTA/I₂ (hexametilentetramina/yodo) o TMEDA/I₂ (*N,N,N',N'*-tetrametiletildiamina/yodo), mientras que los sustratos con grupos atractores, como nitros o cianuros, reducen la reactividad y pueden requerir tiempos de reacción más largos (Figura 23).^{119,120}

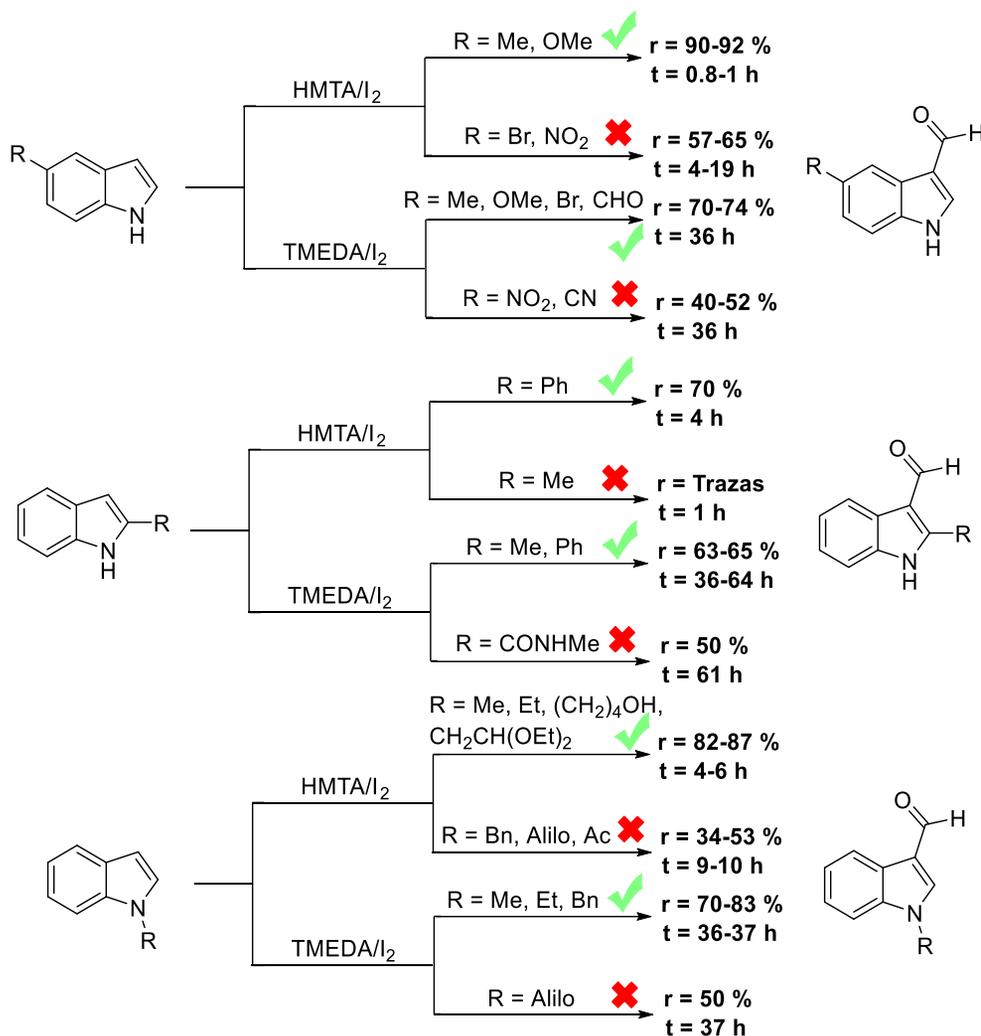


Figura 23. Comparación de sustituyentes para la obtención de 3-formil-indoles en sistemas HMTA/I₂ y TMEDA/I₂.^{119,120}

Por otro lado, en sistemas fotocatalíticos se ha utilizado para la formilación de indoles en la posición 3 bajo irradiación con luz visible empleando un catalizador orgánico como Rosa de Bengala (RB) en condiciones aerobias y libres de metales de transición, lo cual demuestra la tolerancia de indoles sustituidos a irradiación visible y condiciones suaves, evitando degradación térmica u oxidativa del heterociclo.¹²¹

1.7.2.2. Agente oxidante / formilante

El reactivo de Vilsmeier–Haack (POCl₃/DMF) ha sido el método de formilación de indoles y pirroles más empleado. Sin embargo, su elevada acidez y toxicidad limitan su

aplicación en sustratos sensibles.¹²² Por lo que, se han desarrollado alternativas más suaves y sostenibles.¹²³ Por ejemplo, el uso de HMTA en combinación en presencia de I₂ y oxígeno atmosférico lo permite generar *in situ* el equivalente formilo bajo condiciones moderadas, sin necesidad de solventes altamente corrosivos.¹¹⁹ Por otro lado, TMEDA en presencia de I₂ favorece la formación del intermedio iminio, estabilizando especies reactivas sin degradar el sustrato (Figura 24).¹²⁰

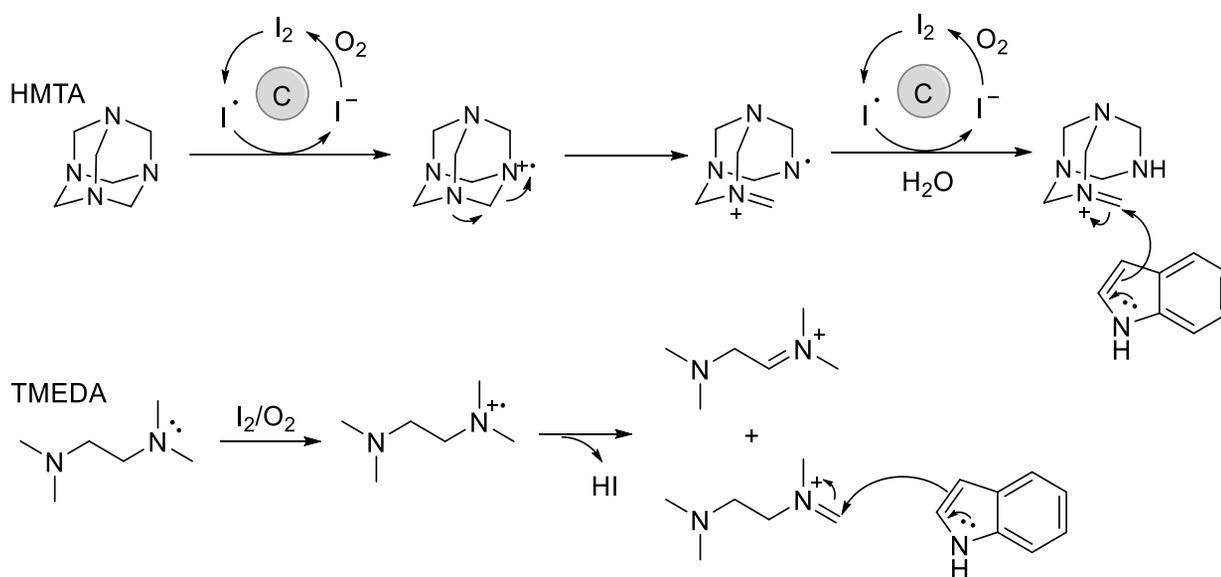


Figura 24. Mecanismo de formación del agente formilante propuesto por Wang et al.¹¹⁹ para HMTA y Zhang et al.¹²⁰ para TMEDA.

De manera complementaria, los sistemas fotocatalíticos con eosina Y y rosa de bengala (4,5,6,7-tetracloro-2',4',5',7'tetrayodofluoresceína) utilizan oxígeno molecular como oxidante, promoviendo la formilación de indoles mediante una oxidación aeróbica controlada, sin necesidad de reactivos halogenados (Figura 25).^{115,121}

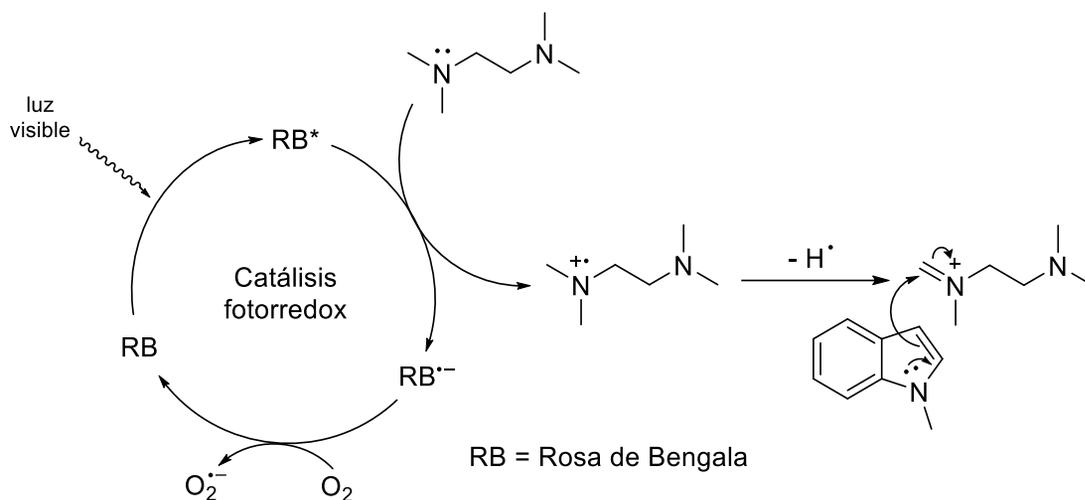


Figura 25. Mecanismo fotocatalítico de formación del agente formilante propuesto por Li et al.¹²¹

Además, otras rutas basadas en sistemas oxidantes de Fe(II)/Fe(III)¹¹⁸ o en el uso de Ph₃P, ICH₂CH₂I, DMF¹²⁴ han mostrado eficacia para introducir el grupo formilo en la posición 3 del indol bajo condiciones redox suaves.

1.7.2.3. Disolventes

El disolvente no solo influye en la solubilidad de los reactivos, sino también en la estabilidad de los intermediarios formilantes.¹²² En los métodos de Vilsmeier (POCl₃, DMF) y Ph₃P, ICH₂CH₂I, la dimetilformamida (DMF) cumple una doble función: actúa como disolvente polar aprótico y como fuente del grupo formilo.¹¹⁸ En los procedimientos de oxidación con HMTA/I₂ o TMEDA/I₂ se emplearon ACN (acetonitrilo), DMSO y MeOH, pero no fue funcional, por lo que el uso de DMF resulto ser igual de eficiente, que ofrece un equilibrio adecuado entre polaridad y estabilidad térmica.^{119,120} Por otro lado, los sistemas fotocatalíticos prefieren disolventes polares y translucidos a la luz visible, como acetonitrilo (ACN), para favorecer la transferencia electrónica y la disolución del catalizador orgánico.^{121,125} En métodos más recientes, la combinación de disolventes acuosos o mixtos ha permitido reducir el uso de solventes tóxicos y mejorar la sostenibilidad del proceso, especialmente en presencia de catalizadores de hierro o condiciones aeróbicas (Figura 26).^{124,123}

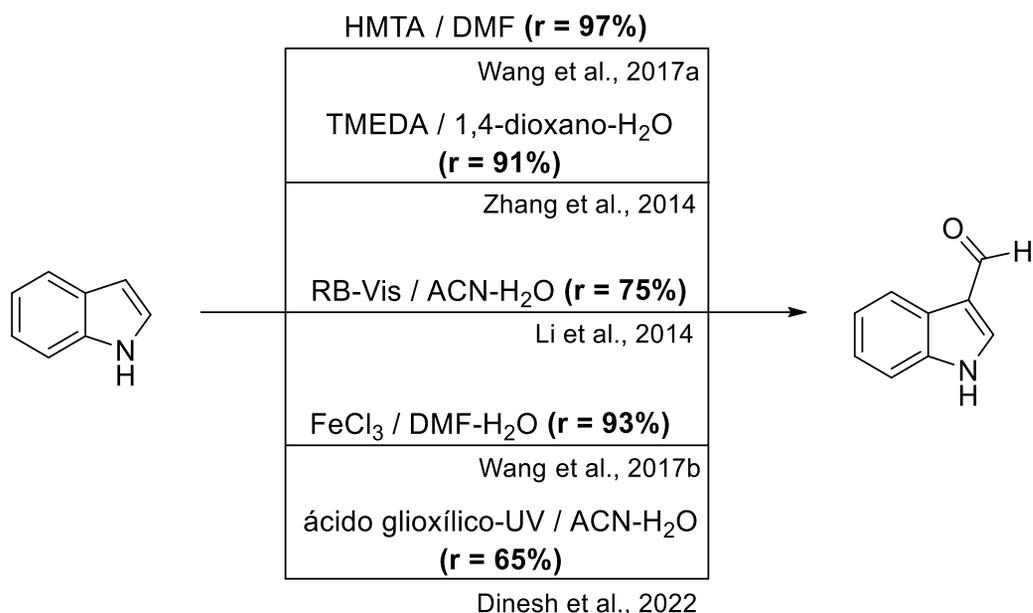


Figura 26. Disolventes con mejor desempeño en diferentes sistemas de reacción para la formación de 3-formil-indoles.

1.7.2.4. Temperatura

La temperatura favorece la generación del agente formilante como la estabilidad del sustrato.¹²³ Los métodos convencionales con POCl_3/DMF no dependen de la temperatura. En cambio, las rutas con HMTA/I_2 se desarrollan eficientemente a $50\text{-}80^\circ\text{C}$, proporcionando buenos rendimientos sin deterioro del producto.¹¹⁹ Por su parte, las metodologías basadas en TMEDA/I_2 requieren temperaturas más altas (hasta 110°C) para promover la formación del intermedio activo.¹²⁰ Por su parte, los procesos fotocatalíticos se llevan a cabo a temperatura ambiente, siendo los más adecuados para sustratos térmicamente inestables.^{121,125}

1.8. Reacción de condensación de Knoevenagel

La reacción de condensación de Knoevenagel es una transformación química que permite la formación de enlaces $\text{C}=\text{C}$ entre un compuesto carbonílico (aldehído o una cetona) y un compuesto activo metilénico (por ejemplo: malononitrilo, éster malónico, acetilacetona). Este proceso se lleva a cabo en presencia de una base débil, típicamente aminas terciarias o secundarias como la piperidina, la morfolina o la piridina.¹²⁶ El

mecanismo de la reacción implica formar un carbanión el cual ataca al grupo carbonilo del sustrato, dando lugar a un intermediario que posteriormente se deshidrata para formar un alqueno conjugado (Figura 27).¹²⁷ El producto resultante, una olefina α,β -insaturada, posee propiedades electrónicas particulares debido a la conjugación entre los sistemas π .¹²⁸

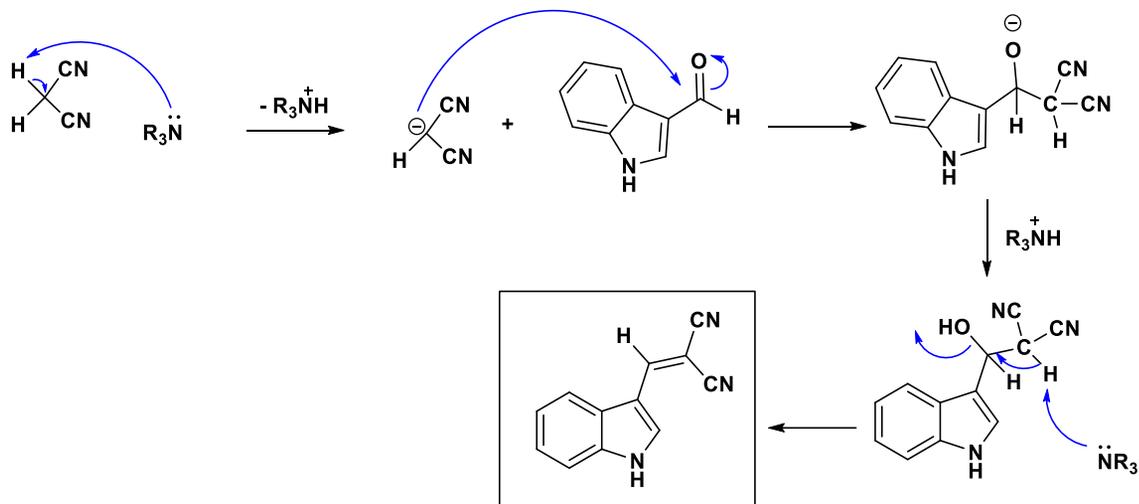


Figura 27. Mecanismo de condensación del 3-formilindol con malonitrilo.

1.8.1. Sustratos

La estructura tanto del aldehído como del metileno activado condiciona decisivamente la elección de las condiciones de reacción. Los aldehídos aromáticos con sustituyentes atractores de electrones presentan mayor electrofilia del carbonilo, lo cual favorece la adición nucleofílica del componente metileno activado.¹²⁹ Mientras que la presencia de sustituyentes donadores o voluminosos puede retardar la reacción o dar lugar a mezcla de isómeros.¹³⁰ De modo similar, los compuestos de metileno activado como malononitrilo, acetonitrilo, malonato de dietilo, ciano-acetato y tiobarbitúricos presentan valores de acidez que permiten la formación del anión correspondiente y la formación del aducto intermedio que luego elimina agua para formar el producto de condensación de Knoevenagel.¹³¹

1.8.2. Base

La base empleada en la condensación de Knoevenagel desempeña un papel esencial al facilitar la generación del enolato (o anión metileno activado) y al promover la eliminación posterior de agua para generar la olefina α,β -insaturada.¹³² En general, se prefieren bases orgánicas de basicidad moderada (aminas secundarias o terciarias) cuando se desean tiempos cortos de reacción y altas conversiones.¹³³ Sin embargo, cuando el sustrato posee grupos funcionales sensibles (heterociclos con grupos N-H, ésteres, nitro), se suelen emplear bases inorgánicas más suaves (carbonatos o bicarbonatos) o catalizadores heterogéneos básicos para evitar efectos secundarios.¹³⁴ La elección de la base también influye en la cinética de la reacción y en la selectividad.¹³⁵

1.8.3. Disolventes

El medio de reacción en la condensación de Knoevenagel condiciona la solubilidad de los reactivos, la estabilización del intermedio aniónico y la eliminación del agua formada.¹³⁶ Los disolventes apróticos polares como dimetilsulfóxido (DMSO), acetonitrilo (ACN) o dimetilformamida (DMF) son muy comunes cuando se trabaja con compuestos de metileno activo y bases solubles, ya que favorecen la formación de aniones estabilizados y aceleran la reacción.¹³⁷ Por otra parte, se han adoptado los disolventes próticos (EtOH, MeOH, mezclas H₂O/EtOH) o incluso reacciones sin disolvente en reacciones “verdes” (amigables con el medio ambiente) de alta conversión sin uso de disolventes tóxicos.¹³⁸ En determinadas metodologías, el disolvente puede funcionar también como co-catalizador o como agente que favorece la eliminación de agua.¹³⁹

1.8.4. Temperatura

La temperatura de la condensación de Knoevenagel ejerce un doble efecto: incrementa la cinética de la reacción (desprotonación y adición) y facilita la eliminación de agua para formar el doble enlace insaturado, pero al mismo tiempo puede favorecer reacciones secundarias (polimerización, oligomerización o degradación del aldehído).¹⁴⁰ Algunas metodologías recientes han logrado llevar a cabo la reacción a temperatura

ambiente cuando se emplean catalizadores adecuados, bases suaves y disolventes más afines, lo que representa una ventaja para sustratos termolábiles o sensibles.¹³¹ En otras metodologías, se requieren temperaturas moderadas (50-80°C) o incluso calentamiento por microondas para alcanzar conversiones óptimas en tiempos cortos.¹³⁹ Las temperaturas más elevadas pueden ser necesarias para sustratos poco reactivos, pero aumentan el riesgo de polimerización del aldehído y la degradación de grupos funcionales.¹³⁵

1.9. Adición nucleofílica a enlaces dobles activados

Las moléculas que poseen un enlace C=C-X conjugado con grupos que retiran densidad electrónica (X = éster, carbonilo, sulfona, nitro, nitrilo) son capaces de llevar a cabo reacciones de adición nucleofílica.^{141,142} La presencia de sustituyentes atractores de electrones genera una densidad de carga positiva parcial sobre el carbono terminal del sistema π. Esta polarización facilita que un nucleófilo Nu ataque al carbono deficiente de electrones, promoviendo la ruptura del enlace π y la formación del enlace C-Nu. La subsecuente protonación del enolato resultante completa la reacción de adición.¹⁴³ (Figura 28).

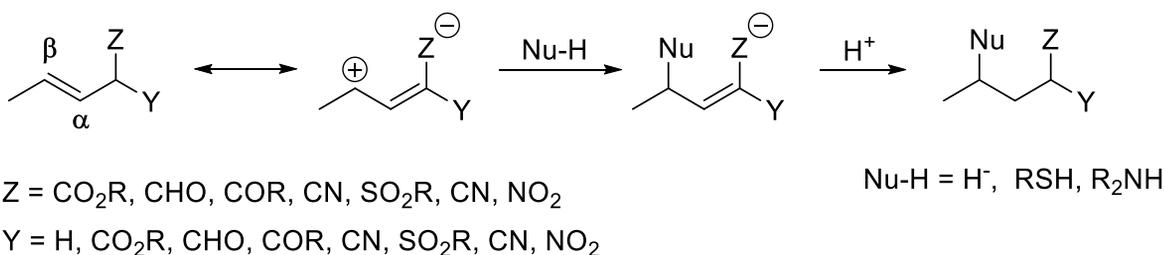


Figura 28. Adición nucleofílica a sistemas α,β insaturados.

2. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de fluoróforos es fundamental para el desarrollo de sondas fluorescentes capaces de detectar y cuantificar moléculas de interés biológico, proporcionando información crucial sobre procesos celulares y patologías. En este trabajo se propone el diseño y estudio exploratorio de una sonda de encendido fluorescente que responde a la supresión de la transferencia de carga interna ICT entre un grupo donador y un aceptor. El compuesto **1** es un derivado fluorescente de 2-arilindol que presenta una absorción máxima en 330 nm y emisión en 399 nm con $\Phi = 100\%$ en solución de tolueno. Se propone que la modificación estructural en la posición 3 del indol con un grupo diciano-vinilideno fuertemente aceptor de electrones, provoque una transferencia interna de carga desde el grupo donador indol al grupo aceptor que extingue la fluorescencia en el compuesto **2**. Es de esperar que la adición de nucleófilos (hidruros, aminas, tioles) al grupo diciano-vinilideno de **2** suprima la transferencia de carga interna al remover el doble enlace y en consecuencia el compuesto **3** exhiba el encendido de la fluorescencia, dando de esta manera una sonda reactiva a nucleófilos de importancia biológica (aminas, tioles, ambiente reductivo). (Figura 29)

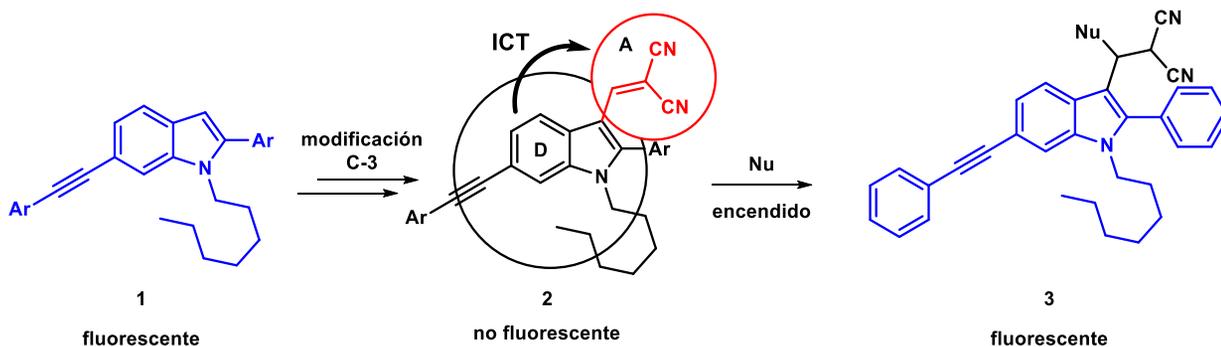


Figura 29. Propuesta de este proyecto de tesis.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Sintetizar el compuesto **2** y estudiar la adición de nucleófilos para determinar si la supresión de la transferencia de carga interna produce el encendido de fluorescencia en el compuesto **3**, mediante la caracterización estructural y fotofísica por métodos espectroscópicos y cálculos DFT/TD-DFT.

3.2. Objetivos específicos

- Preparar el precursor 6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol (**1**).
- Llevar a cabo la formilación en la posición 3 del indol (**1**) y efectuar la condensación de los derivados 3-formil indol con malononitrilo para formar el compuesto (**2**)
- Caracterizar el compuesto (**2**) por métodos espectroscópicos (^1H , ^{13}C RMN, TR-IR, UV-vis).
- Evaluar las propiedades ópticas del compuesto **2** (espectros de absorción y fluorescencia, coeficientes de extinción, desplazamientos de Stokes, rendimiento cuántico de fluorescencia).
- Llevar a cabo reacciones de adición nucleofílica a (**2**) para determinar si se presenta el encendido de la fluorescencia.
- Determinar las propiedades ópticas del compuesto **3** (espectros de absorción y fluorescencia, coeficientes de extinción, desplazamientos de Stokes, rendimiento cuántico de fluorescencia).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Síntesis

4.1.1. Síntesis del 6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol (9)

El trabajo realizado en esta tesis comenzó con la síntesis del indol **1**.⁷ A partir del ácido 2-iodo benzoico (**4**) se preparó el ácido 2,5-diiodo benzoico mediante una iodación utilizando I_2 y $NaIO_4$ en ácido sulfúrico. El átomo de iodo es un grupo director orto-para y dirige el sitio de iodación con alta selectividad. El ácido 2,5-diiodobenzoico (**5**) se trata con cloruro de tionilo para generar el cloruro de acilo correspondiente **6**, que se trata inmediatamente con azida de sodio en acetona anhidra para formar la acil azida **7**. Este compuesto se calienta a reflujo en tolueno para inducir el reordenamiento de Curtius que forma el isocianato **8** que se trata con alcohol bencílico para formar el bencil carbamato **9**. La doble reacción de Sonogashira se adicionó **9** con fenil acetileno y la posterior reacción de ciclación 5-endo-trig promovida por fluoruro forma el indol **11** que finalmente por *N*-alquilación permite obtener el compuesto deseado **1**. (Figura 30)

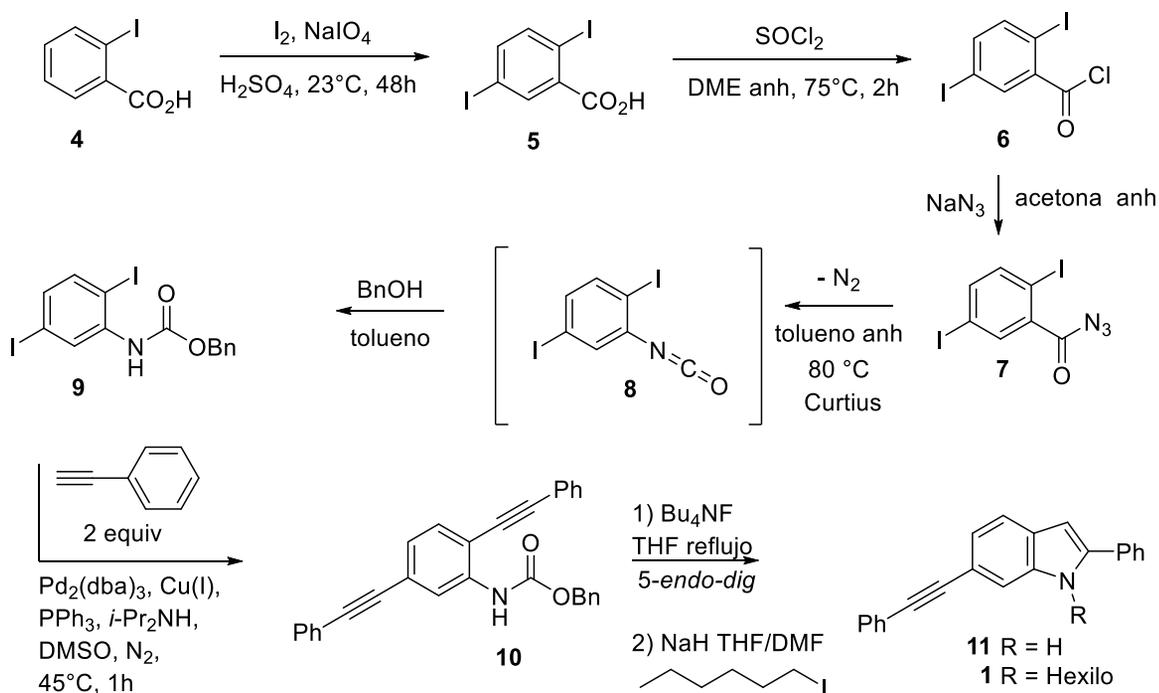


Figura 30. Síntesis del indol **1**.

4.1.2. Síntesis de 6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-carbaldehído (12)

A continuación, se procedió a efectuar la formilación en la posición 3 del indol **1** para formar el aldehído **12** y se estudiaron diferentes condiciones. El objetivo principal de esta serie de reacciones fue encontrar una alternativa más accesible al reactivo de Vilsmeier–Haack (POCl_3/DMF) para la formilación del indol **1** en la posición 3. Si bien, el método clásico descrito por Smith¹¹⁴ sigue siendo uno de los más eficientes para generar 3-formilindoles, el uso de POCl_3 implica varios inconvenientes: es un reactivo restringido que requiere permisos de uso para su compra, es altamente corrosivo, tóxico y sensible a la humedad, además de que se descompone paulatinamente formando HCl y subproductos fosforados que dificultan la purificación de los productos de formilación. Por ello, se evaluaron diferentes alternativas de formilación que se muestran en la Tabla 4.¹¹⁴

Los experimentos 1-3 de la Tabla 4 se refieren el uso de tetrametilendiamina (TMEDA) como precursor del respectivo ion iminio como agente formilante bajo la acción de yodo como catalizador de oxidación, aire como agente oxidante y carbonato de sodio como aditivo. La reacción utilizando 1,4 dioxano como disolvente procede con bajo rendimiento (13%, experimento 1), el uso de DMF (26%, experimento 2) y la extensión del tiempo de reacción (39%, experimento 3) mejoran ligeramente el rendimiento de la reacción. Este comportamiento coincide con lo reportado por Zhang et al.¹²⁰ quienes mostraron que la oxidación de una amina al correspondiente intermediario iminio requiere una fuente de formaldehído más estable. En este caso, la baja eficiencia puede atribuirse a la oxidación incompleta del TMEDA y la escasa formación de especies activas de yodo ($\text{I}\cdot/\text{I}^+$) bajo aire como único oxidante.¹²⁰ Por otra parte, se utilizó hexametilentetramina (HMTA) (experimentos 4-8). La reacción no procede en 1,4 dioxano (experimento 4) y en DMF (experimentos 5-8) mejora sustancialmente el rendimiento del producto deseado al aumentar la cantidad de yodo y extender el tiempo de reacción hasta 24 horas hasta alcanzar un rendimiento de 54% (experimento 8).

Tabla 4. Condiciones de reacción para la síntesis del aldehído **12**.

Experimento	Agente formilante	Oxidante	Aditivo	Catalizador	Disolvente	T(°C)	t(h)	Rendimiento (%)
1	TMEDA (2.5 equiv)	Aire	Na ₂ CO ₃ (2.0 equiv)	I ₂ (2.0 equiv)	1,4-dioxano	100	24	13 ^a
2	TMEDA (2.5 equiv)	Aire	Na ₂ CO ₃ (2.0 equiv)	I ₂ (2.0 equiv)	DMF	100	24	26 ^a
3	TMEDA (2.5 equiv)	Aire	Na ₂ CO ₃ (2.0 equiv)	I ₂ (2.0 equiv)	DMF	100	36	39 ^a
4	HMTA (2.0 equiv)	Aire	°CA	I ₂ (20 mol%)	1,4-dioxano	120	12	N.R. ^b
5	HMTA (2.0 equiv)	Aire	°CA	I ₂ (20 mol%)	DMF	120	12	28
6	HMTA (2.0 equiv)	Aire	°CA	I ₂ (40 mol%)	DMF	120	12	33
7	HMTA (2.0 equiv)	Aire	°CA	I ₂ (40 mol%)	DMF	120	24	47
8	HMTA (2.0 equiv)	Aire	°CA	I ₂ (40 mol%)	DMF	120	24	54
9	POCl ₃ (1.0 equiv)/DMF	-	-	-	DMF	25	2	64
10	POCl ₃ (1.2 equiv)/DMF	-	-	-	DMF	25	2	67
11	POCl ₃ (1.2 equiv)/DMF	-	-	-	DMF	0	3	88

^a H₂O (5 eq)

^b N.R. = No reaccionó

^c C.A. = carbón activado, 0.1 g

Este incremento en el rendimiento de la formilación con HMTA comparado a la TMEDA concuerda con el mecanismo propuesto por Wang et al.¹¹⁹ en el que el HMTA, en presencia de yodo, oxígeno y carbón activado, genera radicales iminio reactivos que son atacados por el indol en C3. El carbón activado cumple un papel clave al facilitar la homólisis del I₂, promoviendo la formación del radical I• y estabilizando las especies iónicas en su superficie por adsorción, lo que acelera el ciclo catalítico. La presencia de aire también es un factor clave, ya que esencialmente se necesita O₂ para regenerar las especies de yodo activas mediante la oxidación de I⁻ a I₂. También es importante considerar el impedimento estérico del grupo 2-arilo en el indol **1** que reduce la eficiencia del ataque de la posición 3 al intermedio radicalario.¹¹⁹ Por otra parte, el método clásico de formilación con POCl₃/DMF bajo condiciones suaves (0°C, 3 h) alcanza mejores rendimientos de reacción (64-88%; experimentos 9-11). Esto se debe a que el método de Vilsmeier-Haack genera directamente el ion iminio, altamente electrofílico, *in situ* lo que permite reaccionar con el indol de manera casi inmediata, mientras que los sistemas catalíticos con yodo dependen de una secuencia redox más compleja, en la que la generación del agente formilante activo es gradual y dependiente del oxígeno.¹¹⁴ Sin embargo, desde el punto de vista sintético y ambiental, las condiciones con HMTA/I₂/aire/carbón activado representan una alternativa más verde y económica, evitando el uso de haluros de fósforo y disolventes clorados.

4.1.3. Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metileno)malononitrilo (**7**)

El aldehído **12** se sometió a la reacción de condensación tipo Knoevenagel con malononitrilo en presencia de una amina (morfolina o piperidina) para formar el producto de condensación **2**. La Tabla 5 muestra las condiciones de reacción que se ensayaron para optimizar el rendimiento de la reacción.

Tabla 5. Condiciones de reacción para la síntesis de **2**.

Experimento	Base	Disolvente	T(°C)	t(h)	Rendimiento (%)
1	Morfolina (0.1 equiv)	MeOH	25	3	08
2	Morfolina (0.1 equiv)	MeOH	30	3	15
3	Morfolina (0.1 equiv)	EtOH	30	4	42
4	Morfolina (0.3 equiv)	EtOH	30	4	33
5	Piperidina (0.1 equiv)	MeOH	25	3	16
6	Piperidina (0.1 equiv)	MeOH	30	3	20
7	Piperidina (0.1 equiv)	EtOH	30	4	57
8	Piperidina (0.3 equiv)	EtOH	30	4	79

En la reacción de condensación se evaluaron dos aminas secundarias: morfolina y piperidina en cantidades subestequiométricas (0.1 y 0.3 equivalentes), utilizando metanol o etanol como disolventes. El objetivo principal fue determinar las condiciones que permitieran un mayor rendimiento de reacción y una conversión más eficiente. Los resultados muestran una clara influencia de la base y del disolvente. En metanol, el rendimiento obtenido es bajo (8% morfolina y 16% piperidina) independientemente de la base usada, probablemente debido a la menor solubilidad de los reactivos en este disolvente. En cambio, al emplear etanol como disolvente, el rendimiento aumenta de forma considerable (42 %, morfolina, 0.1 equiv.; 79%. piperidina, 0.3 equiv.). La mayor

basicidad de la piperidina (pKa de su catión ~11.1; morfolina pKa del catión ~8.3-8.5) la hace más efectiva para desprotonar el malononitrilo, generando el carbanión estabilizado por resonancia que actúa como nucleófilo que reacciona con el aldehído. El incremento de la cantidad de piperidina de 0.1 a 0.3 equivalentes mejoró el rendimiento del 57% al 79%. Por otra parte, el incremento de la cantidad de morfolina resultó en una disminución del rendimiento de reacción (de 42% a 33%). Por otra parte, la accesibilidad del nucleófilo al aldehído se ve impedida estéricamente por el grupo arilo en la posición del indol y además el producto formado también experimenta el efecto estérico pues el doble enlace $C=C(CN)_2$ no es coplanar con el indol como se mostrará más adelante, esto explica por qué, incluso bajo condiciones óptimas, el rendimiento máximo obtenido del producto deseado **2** no pudo ser elevado más allá de 79%.

4.1.4. Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metil)malononitrilo (**3**)

El propósito de esta reacción es estudiar la interacción del compuesto **2** con un nucleófilo de H en un ambiente reductivo que modifique la estructura química y encienda la emisión al reducir el doble enlace de vinilo. La reducción del enlace de vinilideno de **2** se llevó a cabo utilizando borohidruro de sodio ($NaBH_4$) en etanol y se obtuvo el compuesto **3** bajo las condiciones experimentales mostradas en la Tabla 6. Los resultados presentados en la Tabla 6 muestran que el uso de disolventes anhidros permitió obtener rendimientos altos (94-96 %), mientras que la reacción en etanol con trazas de agua resultó en bajos rendimientos. Este comportamiento puede atribuirse a la sensibilidad del $NaBH_4$ a la presencia de agua, ya que la hidrólisis parcial del borohidruro disminuye de manera significativa la concentración efectiva del nucleófilo (H^-) y disminuye el rendimiento de la reacción.

Tabla 6. Condiciones de reacción para la síntesis de **3**.

Experimento	Base	Disolvente	t(h)	Rendimiento (%)
1	NaBH ₄ (10 equiv)	EtOH	0.5	trazas
2	NaBH ₄ (1.1 equiv)	MeOH	3	51
3	NaBH ₄ (1.1 equiv)	EtOH	3	72
4	NaBH ₄ (1.0 equiv)	EtOH	2	80
5	NaBH ₄ (1.0 equiv)	EtOH anh/THF anh (1:2)	2	94
6	NaBH ₄ (1.0 equiv)	EtOH anh/THF anh (1:2)	1	96

El diciano-vinilideno de **2** es un alqueno activo, donde el carbono β tiene carga parcial positiva (δ^+), por lo que se esperaba una conversión total con altos rendimientos de **3** (Figura 31). Sin embargo, la reacción dependió de manera significativa de la solubilidad de los reactivos, la proporción de NaBH₄ y las condiciones anhidras del medio.

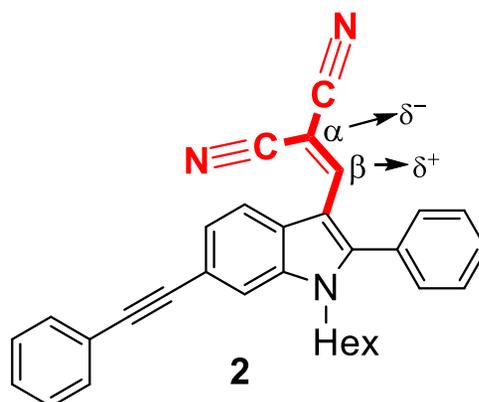


Figura 31. Esquema del diciano-vinilideno de **2**.

En metanol, la solubilidad del compuesto **2** es baja, la alta polaridad de este alcohol limita su capacidad para solvatar de manera efectiva estructuras aromáticas y relativamente hidrofóbicas como las presentes en **2**. Al usar etanol, se observó una mejoría en la solubilidad, ya que al ser menos polar que el metanol permite una mayor solubilidad con el sistema π -conjugado de **2**, facilitando la interacción entre reactivos. La situación cambió de manera notable cuando el etanol se combinó con un disolvente polar aprótico, como THF, favoreciendo la solubilidad de los reactivos y la estabilidad del boro hidruro de sodio. En consecuencia, estos cambios dieron los rendimientos más altos (94-96 %). Por otro lado, la cantidad de NaBH_4 en relación con **2** es el parámetro más importante que determina el éxito de la reducción del doble enlace, ya que un exceso de hidruro provoca la descomposición acelerada del reactivo **2** disminuyendo drásticamente el rendimiento. El uso de una relación estequiométrica 1:1 de **2** con NaBH_4 permitió una conversión de **3** más completa y limpia, sin subproductos. En cuanto a los tiempos de reacción, se observa que tiempos más largos no benefician la conversión, sugiriendo degradación del producto o rutas de reacción alternas inducidas por el exceso de hidruro remanente. Con las condiciones óptimas, reducir el tiempo a 1 h provocó un aumento del rendimiento, y sobre todo realizar rápidamente el proceso de purificación por cromatografía en columna.

4.2. Caracterización espectroscópica

Los compuestos obtenidos se caracterizaron por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN), obteniéndose los espectros de ^1H y ^{13}C , así como experimentos de correlación bidimensional COSY, HSQC y HMBC de los compuestos **2**, **3** y **12**. También se realizó la caracterización mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). A continuación, se presenta el análisis de los espectros, la espectroscopía completa se muestra en el Apartado 8.

4.2.1. Análisis de RMN

En el espectro de ^1H RMN del compuesto **12** se observa una señal simple en 9.67 ppm correspondiente al H del aldehído (H26) que integra para un protón. En el espectro de ^{13}C RMN se observa la señal del C de aldehído (C26) en 186.67 ppm. En el espectro de HSQC se observa la correlación del H26 con el C26 (Figura 32).

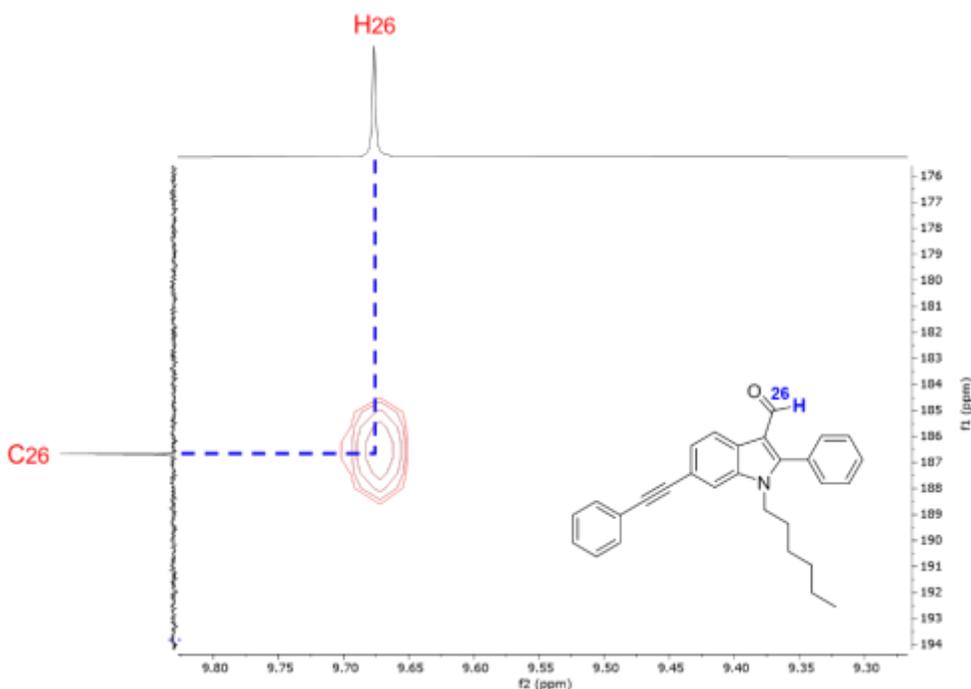


Figura 32. Fragmento del diagrama HSQC del compuesto **12**.

En el experimento HMBC se observan correlaciones de H26 (9.67 ppm) con C3 a (125.6 ppm) indicando la distancia que hay entre ellos a dos enlaces y que coincide con

la propuesta de que la reacción de formilacion se llevó a cabo en la posición 3 del indol. En otra de las correlaciones se observan dos señales satélite simétricas a 116.3 ppm que correlacionan a tres enlaces con C9. En la tercera se observan dos señales satélite, una 9.89 ppm y la otra en 9.45 ppm. La diferencia exacta entre ambas señales es de 0.44 ppm, lo que en un equipo de 400 MHz corresponde a aproximadamente 176 Hz. Esta separación es característica de un acoplamiento directo $^1J(^1\text{H}-^{13}\text{C})$, esto coincide con los valores reportados para protones de aldehídos. (Figura 33).

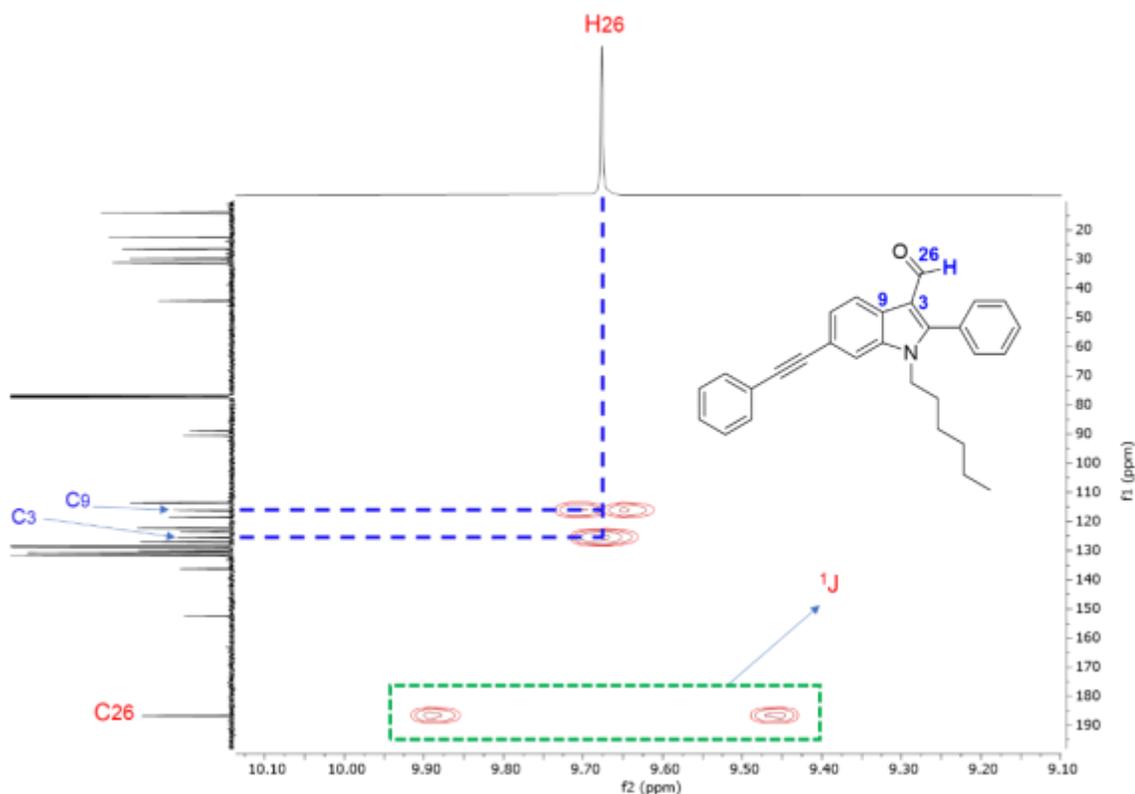


Figura 33. Fragmento del diagrama HMBC del compuesto **12**.

Al comparar los espectros de ^1H RMN del indol **1** y el aldehído **12** podemos no observar la señal simple del protón en 6.54 ppm correspondiente al hidrogeno en posición 3 del indol y observar la señal del H de aldehído en 8.5 ppm La señal asignada al protón H4 del anillo de indol experimenta un desplazamiento hacia campo bajo en la transformación de **1** a **12**, fenómeno atribuido al efecto de anisotropía magnética asociado al carbonilo (Figura 34).

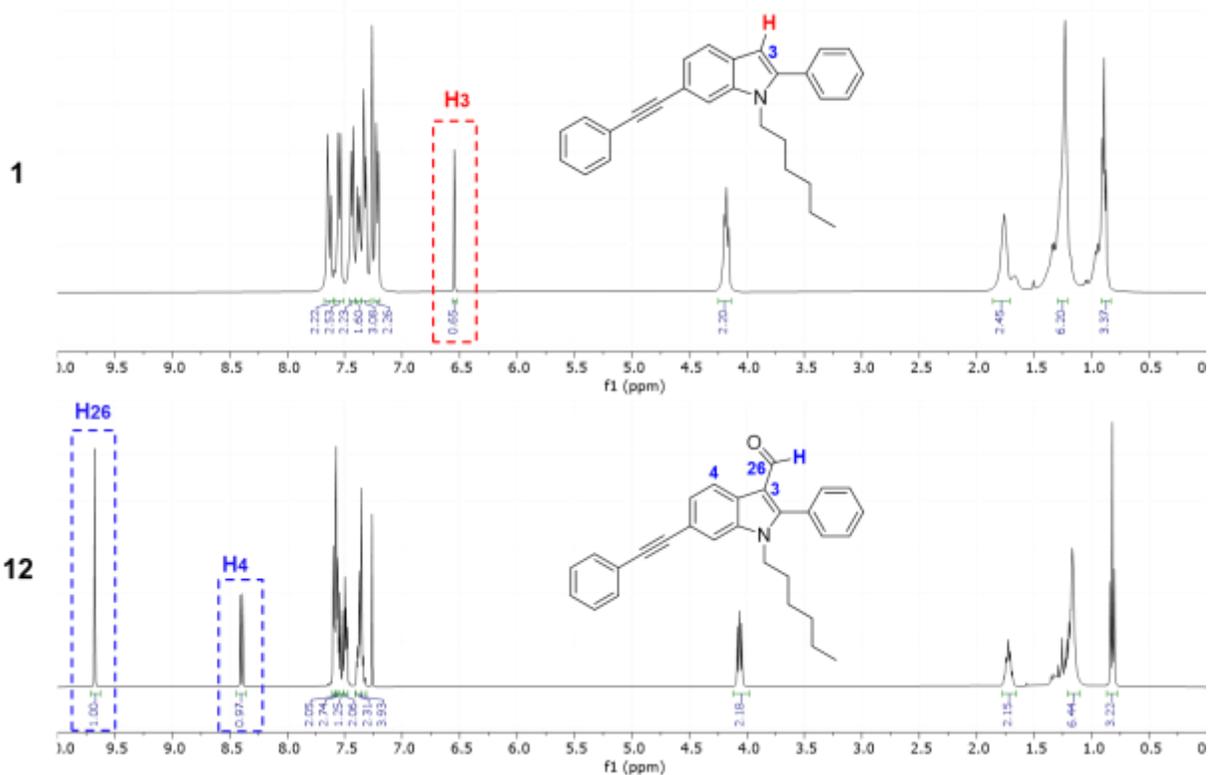


Figura 34. Comparación de los espectros de RMN de ¹H de los compuestos **1** y **12**.

En el espectro de ¹H RMN del compuesto vinilideno (**2**) se observa la señal del H de vinilideno que integra para un protón en 7.39 ppm. Aunque los protones de alquenos (vinílicos, C=C-H) normalmente se observan entre 4.6 y 5.9 ppm¹⁴⁴, en el sistema conjugado C=C-CN los grupos nitrilo fuertemente electroattractores hacen que la señal de este H se desplace a campo bajo.¹⁴⁵ Por otro lado, la señal de H4 sufrió un leve desplazamiento químico a campo alto debido a la modificación en el sistema π después de la condensación con malononitrilo. Este incremento en densidad electrónica alrededor de H4 es consistente con un cambio en la distribución electrónica del anillo de indol, lo que provoca un apantallamiento adicional del protón, reflejándose en el ligero desplazamiento a campo alto. (Figura 35)

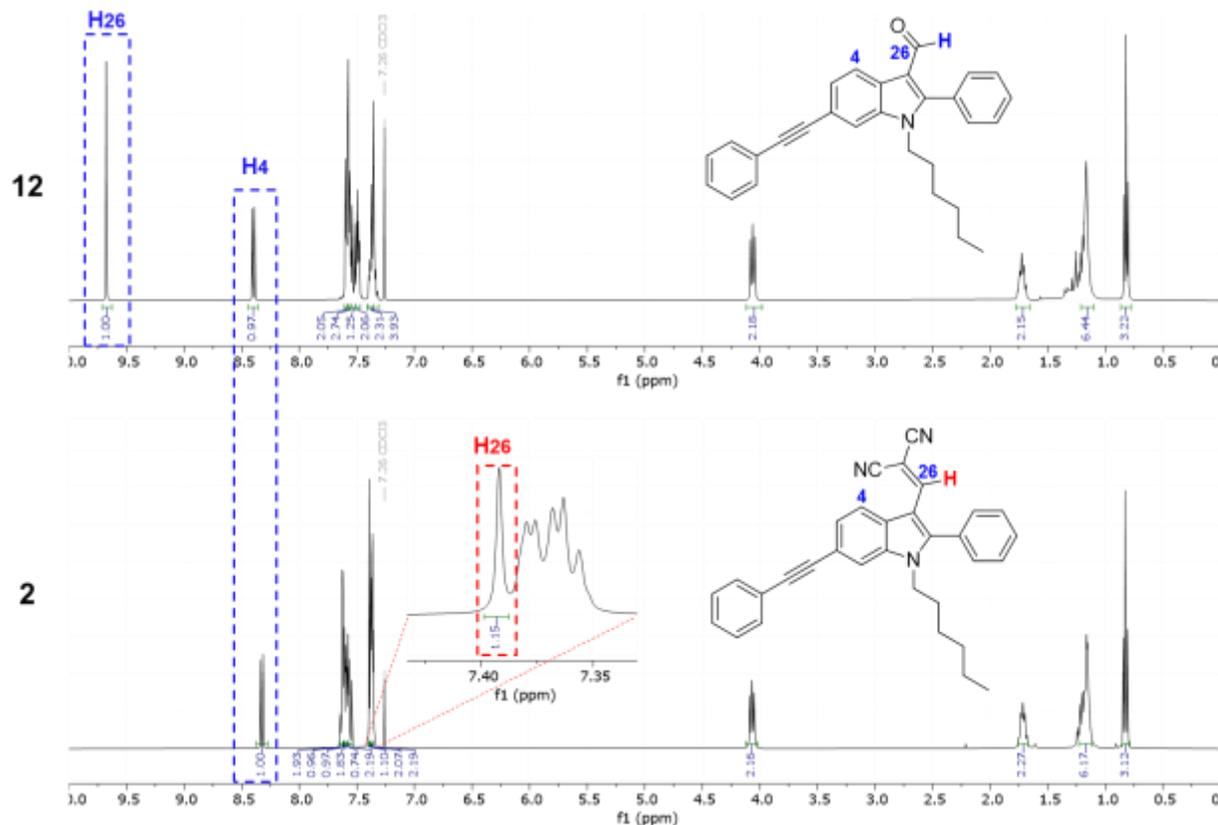


Figura 35. Comparación de los espectros de RMN de ¹H de los compuestos **2** y **12**.

El espectro de ¹³C del compuesto vinilideno **2** presenta señales de carbono correspondientes al grupo malononitrilo: ¹⁴⁴ 73.5 ppm (C27), 116.5 ppm (C28), 124.1 ppm (C29), 153.3 ppm (C26). La señal del carbono C27 a campo alto contrasta con el desplazamiento de la señal de C26 a campo bajo, lo que indica el carácter electrofílico de C26 y que promueve un ataque nucleofílico en esta posición (Figura 36).

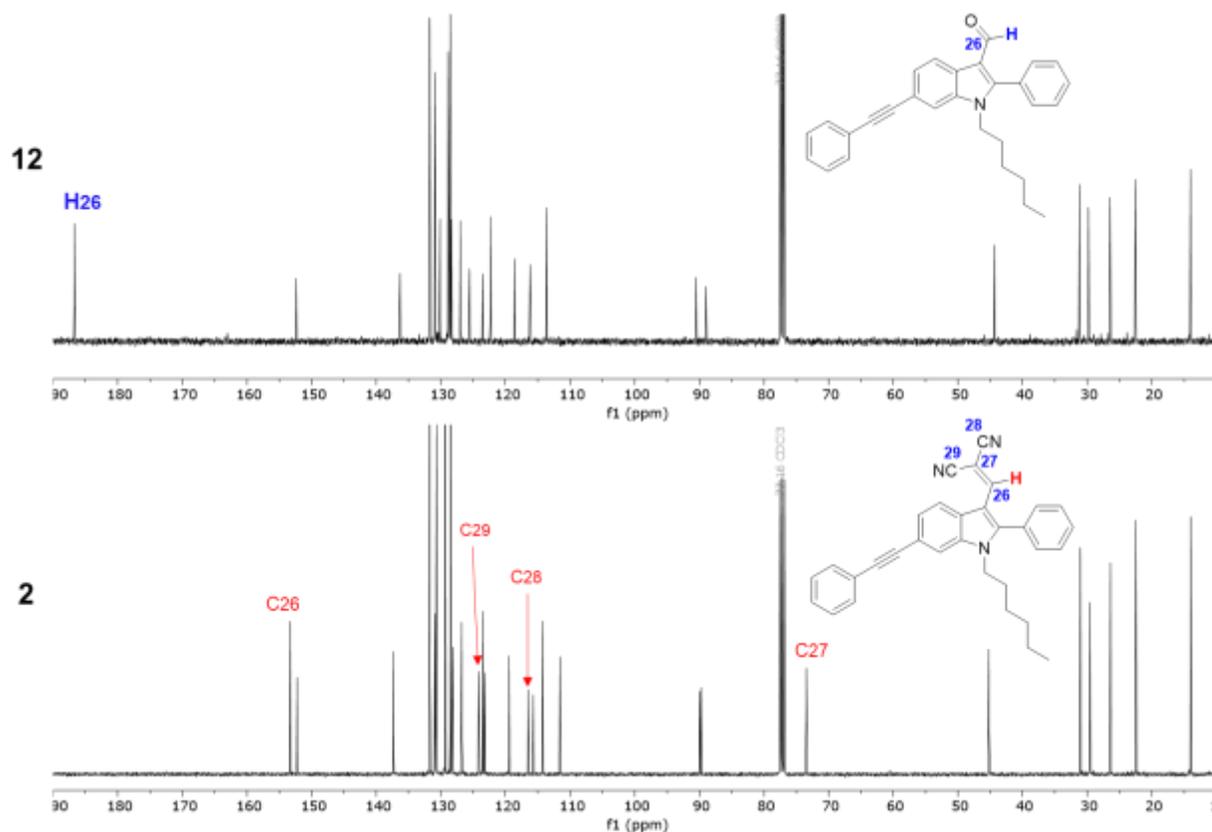


Figura 36. Comparación de los espectros de RMN de ¹³C de los compuestos **2** y **12**.

En el experimento de HSQC se observa la única correlación perteneciente a C26-H26 coincidiendo con la estructura esperada, donde el carbono β está enlazado al único hidrogeno de ese grupo. Por otro lado, en HMBC se observan correlaciones de H26 con las señales C27, C28 y C29, y también las señales que corresponden a las del indol (C2 y C9). Todas estas señales nos establecen un sistema conjugado polarizado que puede modular el proceso de fluorescencia (Figura 37).

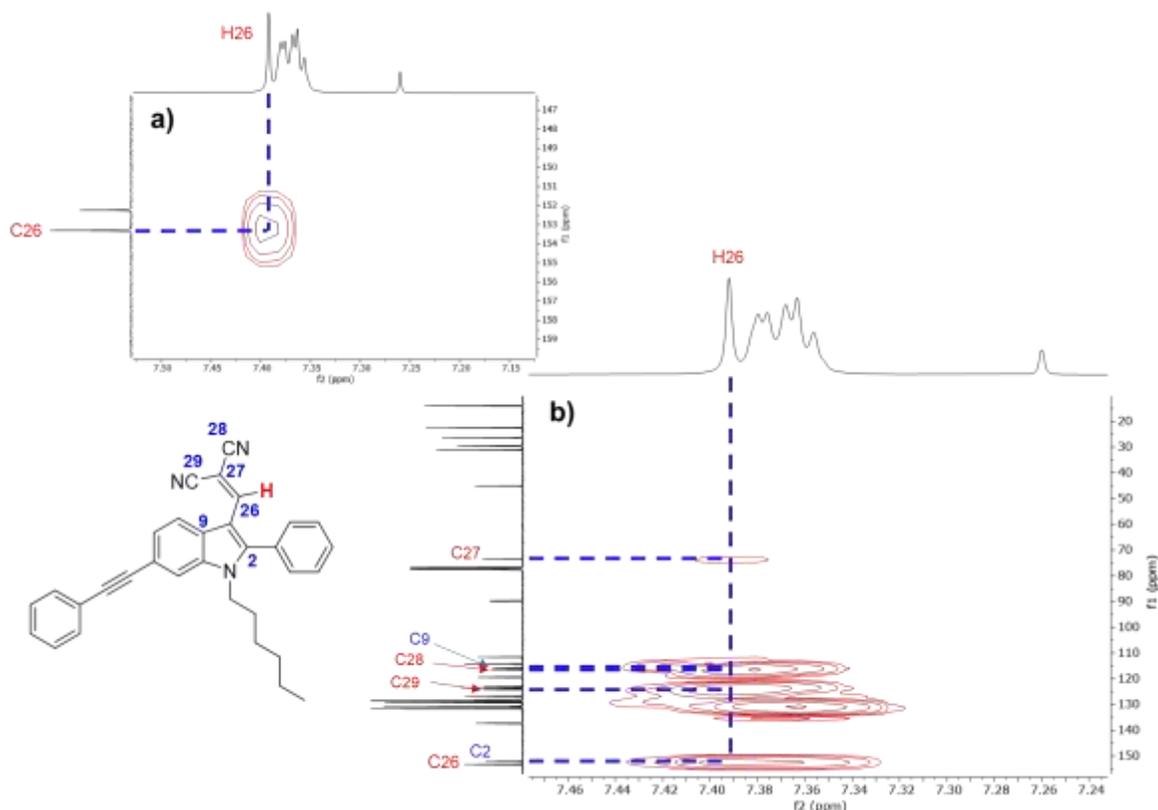


Figura 37. Fragmentos de los diagramas de HSQC (a) y HMBC (b) del compuesto **2**.

Para el compuesto reducido **3** se observan varios cambios en el espectro de RMN de ^1H , no se observa la señal H26 de H vinílico en 7.39 ppm (en cuadro rojo del espectro de **2**) y se observa una señal doble que integra para dos protones a 3.42 ppm (H26) y una señal triple que integra a un protón en 3.88 ppm (H27). El desplazamiento químico se debe al grupo electroattractor ciano (Figura 38). La señal H4 del anillo de benceno también se ve afectada al reducir el doble enlace y queda en la zona de átomos de H aromáticos comunes.

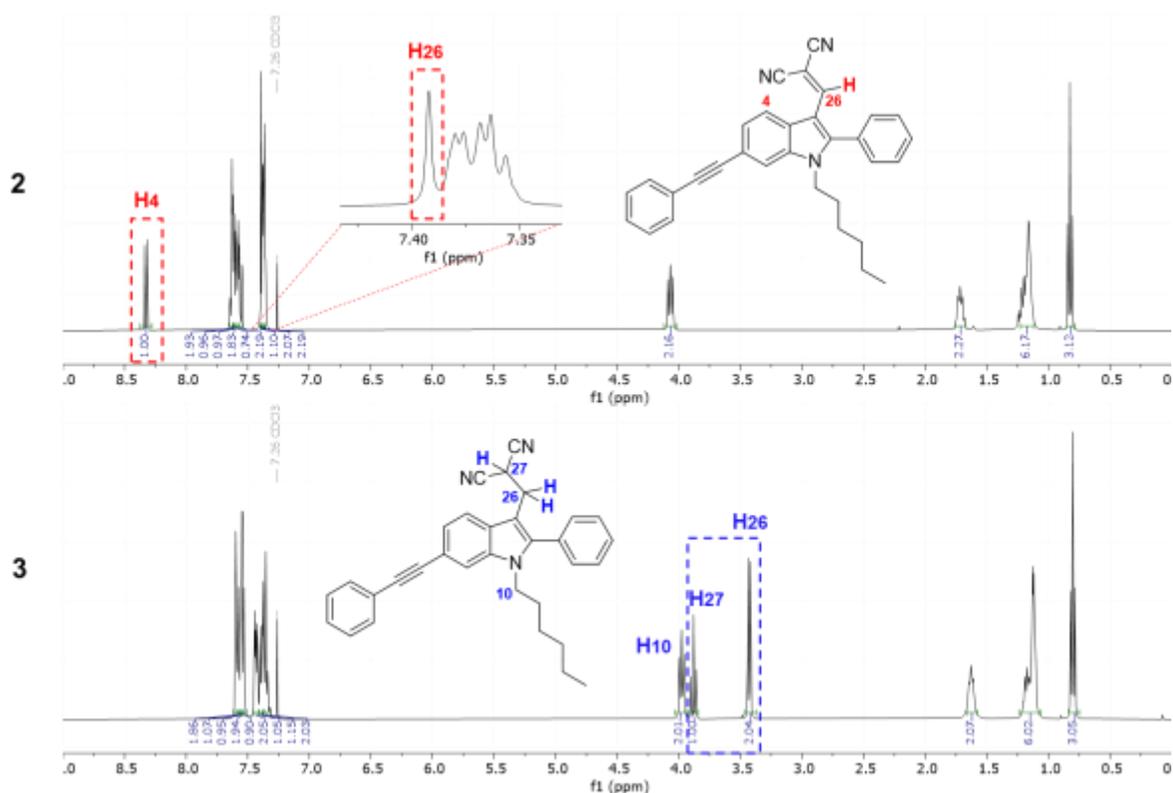


Figura 38. Comparación de los espectros de RMN de ¹H de los compuestos **2** y **3**.

Las señales H26 y H27 presentan constantes de acoplamiento de 8 Hz, valores que corresponden protones vecinales alifáticos (Figura 39). En el experimento bidimensional HSQC se aprecian las correlaciones directas a un enlace pudiendo así asignar los desplazamientos de C26 y C27 que se observan en la zona alifática. En HMBC se observan las correlaciones H27-C26 y H26-C27 indicando separación a dos enlaces del grupo metileno y metino. (Figura 40).

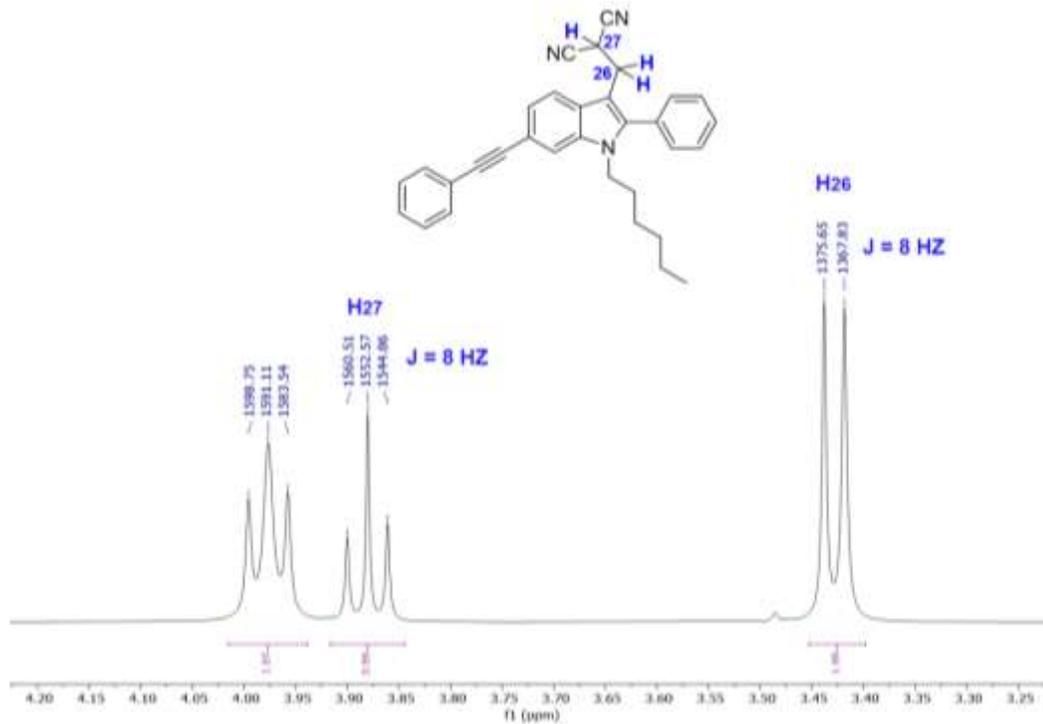


Figura 39. Constantes de acoplamiento de H26 Y H27 del compuesto 3.

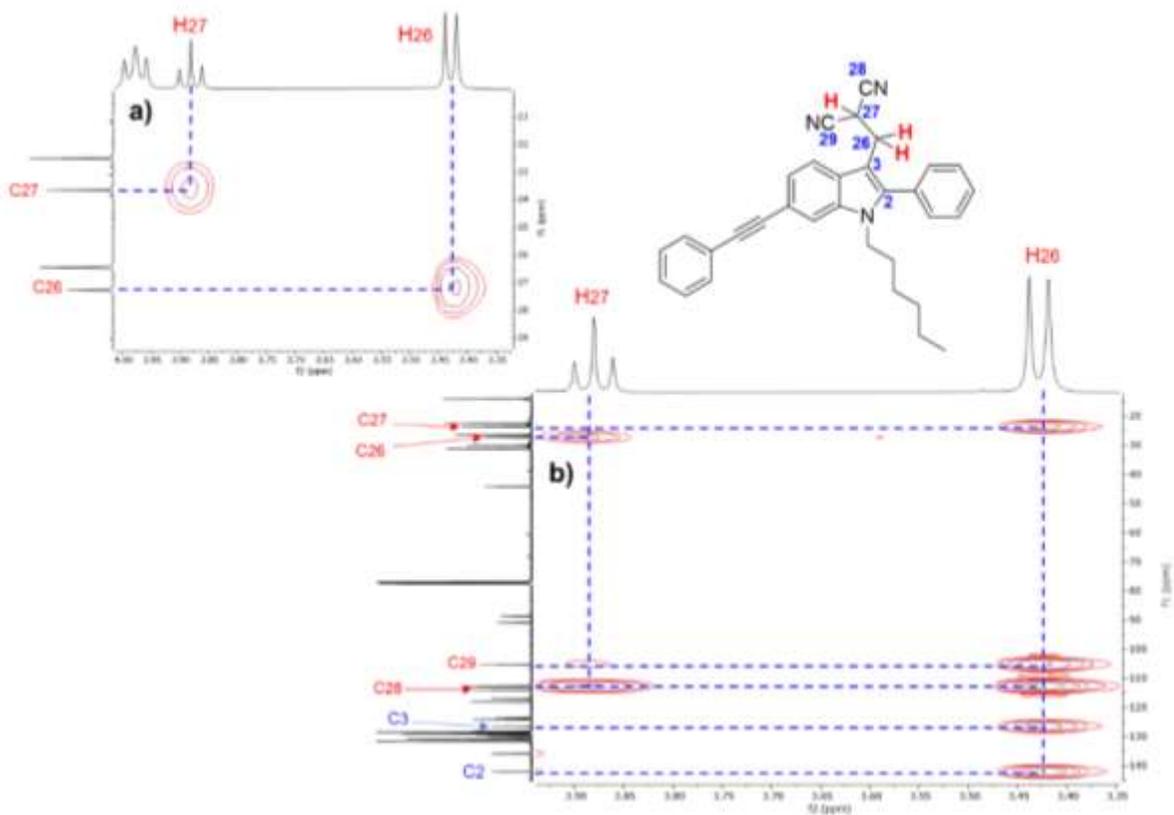


Figura 40. Fragmentos de los diagramas de HSQC (a) y HMBC (b) del compuesto 3.

4.2.2. Análisis de FTIR-ATR

El espectro FTIR-ATR del compuesto **1** muestra únicamente las vibraciones propias del indol y los fenilos. El aldehído **12** exhibe una banda intensa y bien definida en 1649 cm^{-1} , asignada al modo de estiramiento del carbonilo ($\nu\text{C=O}$). Esta frecuencia se encuentra dentro del rango típico para carbonilos aldehídicos conjugados, que suelen disminuir ligeramente respecto a aldehídos alifáticos debido al efecto de deslocalización electrónica sobre el enlace C=O . Los compuestos **2** y **3** presentan una banda intensa y muy definida en la región de $2200\text{-}2220\text{ cm}^{-1}$, correspondiente al modo de estiramiento del nitrilo ($\nu\text{C}\equiv\text{N}$). Para el compuesto **2** con grupo vinilideno, esta banda se observa en 2218 cm^{-1} , mientras que en el compuesto reducido **3** se desplaza ligeramente hacia 2205 cm^{-1} . Esta diferencia es interesante ya que puede atribuirse a efectos electrónicos derivados del entorno molecular principalmente de la reducción del doble enlace que pierde así la conjugación electrónica entre los grupos nitrilo y el anillo de indol. Adicionalmente, el compuesto **2** la señal perteneciente al estiramiento del doble enlace conjugado ($\nu\text{C=C}$) en 1581 cm^{-1} . Esta banda es de un sistema conjugado que incluye el indol, el doble enlace y los grupos nitrilo. Su ausencia en el compuesto **3** confirma la reducción del doble enlace, coherente con los datos obtenidos por RMN. (Figura 41)

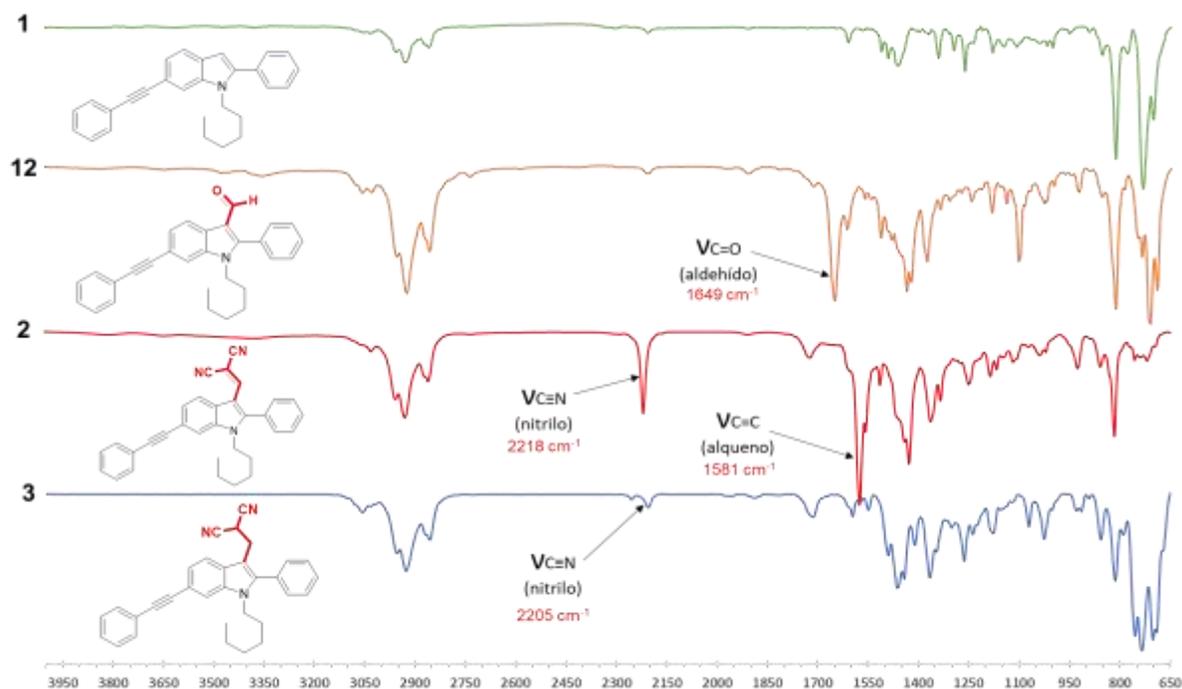


Figura 41. Comparación de los espectros de FTIR-ATR de los compuestos **1**, **2**, **3** y **12**.

4.3. Propiedades fotofísicas

La validación de los cálculos teóricos se llevó a cabo mediante la comparación directa entre los espectros de absorción UV-Vis experimentales y los espectros simulados empleando TD-DFT (CAM-B3LYP). Para ello, las longitudes de onda experimentales se transformaron a energía utilizando la relación $E(\text{eV})=1240/\lambda(\text{nm})$, lo que permitió expresar ambas predicciones en la misma magnitud física y cuantificar las desigualdades energéticas de manera directa. Las intensidades fueron normalizadas respecto al máximo de absorción con el fin de eliminar efectos asociados a concentración y respuesta instrumental, facilitando así la comparación de la forma espectral, la posición de las bandas y las intensidades relativas (Figura 42).^{146 147}

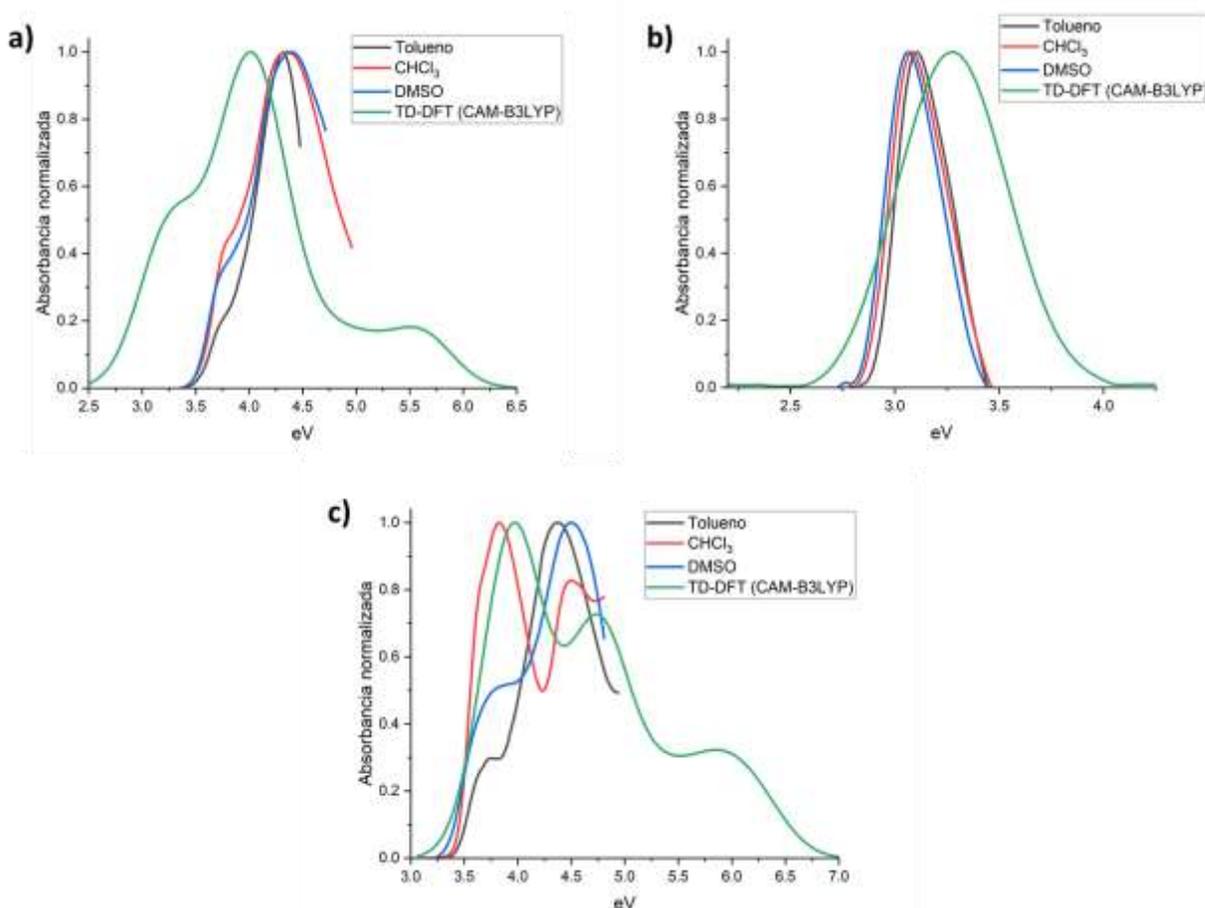


Figura 42. Comparación de espectro experimental y espectro teórico por método TD-DFT (CAM-B3LYP) de UV-vis de los compuestos **2** (b), **3** (c) y **12** (a).

Los criterios cuantitativos de validación en términos de diferencia energética se encuentran en estudios de benchmarking específicos de excitaciones electrónicas, los cuales reportan que los métodos TD-DFT con funcionales híbridos presentan errores típicos en energías de excitación del orden de 0.1-0.5 eV para transiciones de valencia.¹⁴⁷ En este contexto, se considera que una concordancia dentro de dicho intervalo corresponde a una descripción teórica razonablemente precisa, mientras que discrepancias menores a 0.1-0.2 eV indican una excelente correlación teórico-experimental.¹⁴⁶

Bajo este criterio, las diferencias energéticas observadas entre los máximos de absorción experimentales y teóricos obtenidos en este trabajo se encuentran dentro del rango esperado para el método empleado, lo que respalda la confiabilidad del modelo computacional. La coincidencia en la posición de las bandas, la forma general del espectro y los pequeños desplazamientos energéticos obtenidos permiten considerar los resultados teóricos como validados y apropiados para la interpretación de las propiedades fotofísicas de los compuestos de este proyecto.

El análisis de los orbitales frontera calculados mediante DFT para los compuestos **2**, **3** y **12** permite correlacionar directamente la distribución electrónica, las longitudes de absorción teóricas, el *band gap* (Tabla 7) y la eficiencia del proceso ICT. En los tres sistemas, el indol sustituido por grupos arilo en C2 y arilacetileno en C6 actúa como el donador principal, mientras que las variaciones estructurales en C3 con grupos aldehído o diciano-vinilideno modulan la fuerza aceptora y el grado de conjugación π , definiendo así el comportamiento fotofísico (Figura 43).

Así para el aldehído **12**, la absorción teórica se observa en 344 nm, los cálculos indican un HOMO situado en -5.65 eV y un LUMO en -1.74 eV, produciendo un *band gap* teórico de 3.91 eV, el mayor de la serie. Esta separación energética relativamente amplia refleja un proceso ICT fuerte, donde el HOMO se localiza principalmente en el indol, mientras que el LUMO se distribuye por toda la molécula sin una separación clara. Esta transferencia de carga limitada es suficiente para generar un ligero desplazamiento

batocrómico respecto al indol no sustituido, y se correlaciona con su fluorescencia azul tenue y un rendimiento cuántico bajo.

En el compuesto **2**, la conversión del aldehído en un sistema diciano-vinilideno fuertemente atractor produce un cambio notable en los parámetros electrónicos. Su absorción teórica se desplaza a 376 nm, se reduce el *band gap* (3.36 eV, el más pequeño de la serie). El HOMO se encuentra a -5.87 eV, mientras que el LUMO se estabiliza hasta -2.51 eV debido a la fuerte capacidad aceptora del malononitrilo. El LUMO, ahora localizado casi exclusivamente en la región del diciano-vinilideno, incrementa el carácter ICT. La fuerte polarización del estado excitado favorece procesos no radiativos, lo que prácticamente extingue la fluorescencia, en concordancia con el comportamiento de cromóforos con ICT intenso.

En el compuesto reducido **3**, la absorción teórica se observa a 332 nm, con un incremento del *band gap* hasta 3.89 eV (HOMO = -5.59 eV; LUMO = -1.70 eV). La reducción del doble enlace del sistema diciano-vinilideno rompe la conjugación extendida y debilita la capacidad aceptora del fragmento malononitrilo. Esto provoca que el LUMO no sea tan localizado en el grupo nitrilo sino en toda la molécula, mientras que el HOMO continúa centrado en el indol. Experimentalmente, esto se refleja en la recuperación de la fluorescencia y la reaparición de la emisión en la región azul, junto con rendimientos cuánticos moderados.

Tabla 7. Valores teóricos de HOMO y LUMO de **10**, **11** y **12**.

Compuesto	λ_{teor} [nm]	HOMO _{teor} [eV]	LUMO _{teor} [eV]	Eg _{teor} [eV]
12	344	-5.65	-1.74	3.91
2	376	-5.87	-2.51	3.36
3	332	-5.59	-1.70	3.89

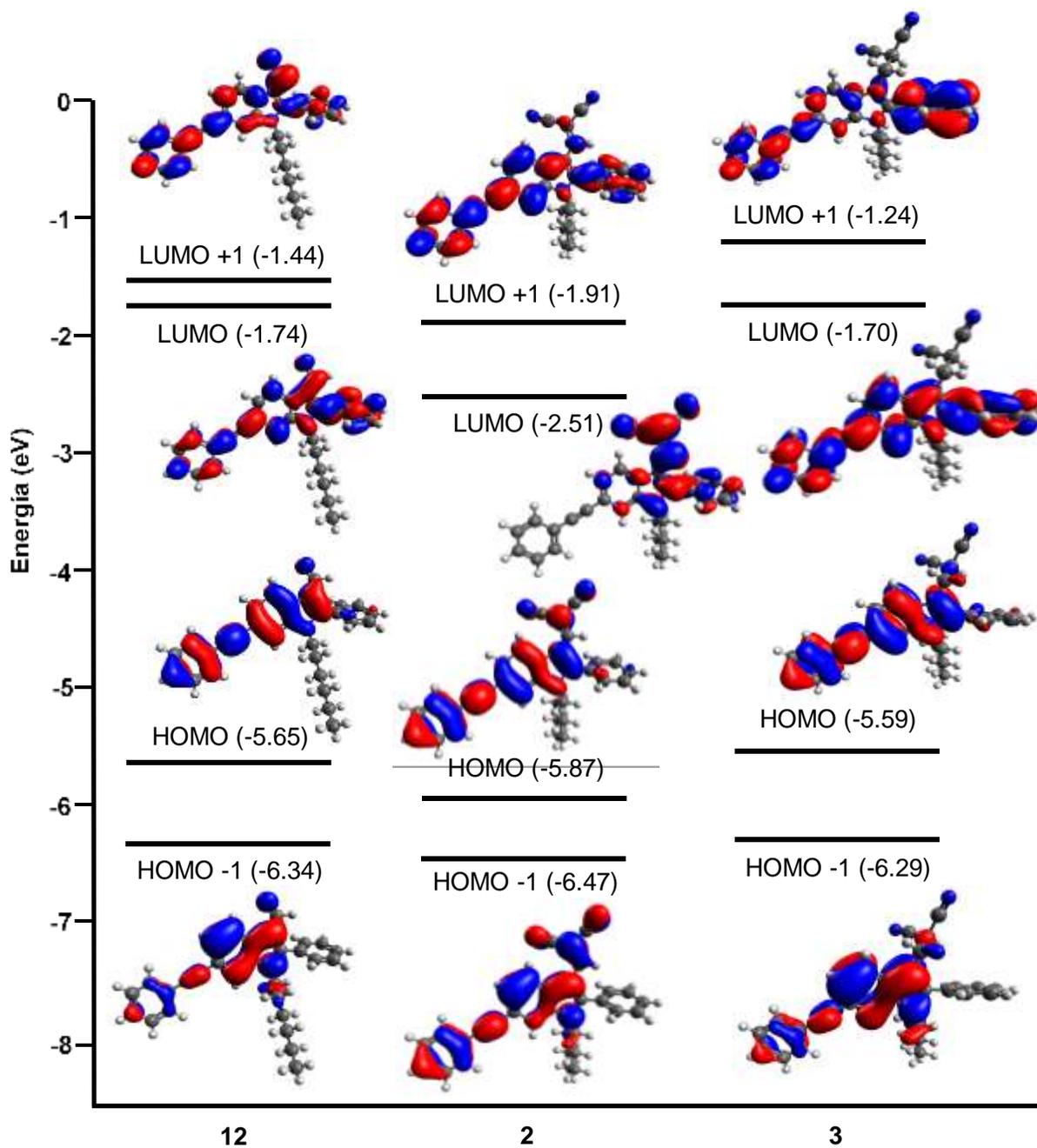


Figura 43. HOMO y LUMO calculados por DFT para los compuestos 2, 3 y 12.

Para determinar experimentalmente las propiedades fotofísicas de los compuestos **12**, **2** y **3** se obtuvieron los espectros de absorción y emisión en disolventes con diferente polaridad como tolueno, CHCl_3 y DMSO (Figuras 44, 45, 46). Los datos obtenidos (Tabla 8) revelan que el sustituyente en C-3 modula el carácter electrónico del sistema y, en particular, la intensidad del proceso de transferencia de carga interna (ICT). El indol **1** absorbe en la región UV (330-333 nm), al introducir un grupo formilo en la posición 3 (compuesto **12**), el sistema sufre un desplazamiento hipsocrómico (a frecuencias más altas) en el intervalo 282-287 nm generando un HOMO ligeramente más bajo en energía, mientras que el LUMO no sufre cambios significativos y se observa un incremento en el *band gap*. En el compuesto **2**, la unión del grupo diciano-vinilideno con el indol produce un incremento importante en la polarización del sistema π , lo cual provoca un desplazamiento batocrómico pronunciado hacia el visible (399-405 nm). Este desplazamiento provoca una estabilización del LUMO, que favorece la formación de un estado excitado con alto carácter ICT. La consecuencia es una disminución del *band gap* óptico, que alcanza valores de 3.08-3.11 eV, los valores más bajos de la serie. Esta alta polarización del estado electrónico excitado promueve procesos no radiativos que da una supresión casi total de la fluorescencia en este compuesto. Finalmente, al reducir el doble enlace de vinilideno en **3**, la conjugación y la polarización disminuyen; λ_{abs} se desplaza hacia longitud de onda menor (276-324 nm) y el *band gap* aumenta nuevamente hasta 3.83-4.49 eV, restaurando una transferencia de carga más moderada entre HOMO-LUMO y con ello, una emisión de fluorescencia más eficiente.

El análisis del punto máximo de emisión (λ_{em}), el ancho de banda de emisión a la mitad de la máxima altura (HHBW_{em}) y el desplazamiento de Stokes ($\Delta\tilde{\nu}$) nos permitió identificar en estos compuestos el comportamiento de la fluorescencia y su relación con la polarización/ICT. Para los sistemas con absorciones desplazadas al rojo como el diciano-vinilideno **2** (399-405 nm) también emite en el visible (442-464 nm) pero con HHBW_{em} muy amplios (51-98 nm) y desplazamientos de Stokes pequeños 2438-3324 cm^{-1} lo que indica un estado excitado fuertemente polarizado. El hecho de que el compuesto **2** tenga las bandas de emisión más anchas con los desplazamientos de Stokes más bajos sugiere que los procesos de transferencia de carga interna (ICT) son

muy intensos llegando a un estado de polarización que puede favorecer los procesos no radiativos y que el estado excitado se vuelva mucho más sensible a interacciones con el disolvente. Al observar la representación gráfica de los orbitales HOMO-LUMO por medio de cálculos DFT se aprecia una diferenciación entre el donador (indol) y el aceptor (diciano-vinilideno) implicando que la transición electrónica genera un estado excitado con carácter de carga desplazada modulada por el grupo malononitrilo.

Por otro lado, en los sistemas **3** (alquilo en la posición C3 reducido) y **12** (formilindol), los desplazamientos de Stokes son muy grandes: $9076-11106\text{ cm}^{-1}$ para **3** en tolueno y $9781-10770\text{ cm}^{-1}$ para **12** en DMSO. Los valores de HHBW_{em} 52-69 nm para **3** y **12** son comparables a los del indol **1** de 56-59 nm, lo que indica una transferencia de carga interna eficiente. Los datos fotofísicos de **3** son similares a los del indol **1** lo que concuerda con la visualización de HOMO-LUMO obtenidos por cálculos DFT y en ellos se puede explicar el proceso de transferencia de carga donde el anillo de indol actúa como grupo donador y los sustituyentes actúan como grupos aceptores.

El aldehído **12** tiene un rendimiento cuántico de fluorescencia bajo, $\Phi = 0.11$ en tolueno y 0.18 en CHCl_3 , valores similares al diciano-vinilideno (**2**) $\Phi = 0.06$ en tolueno y 0.18 en CHCl_3 . Esto indica que la mayor parte de la energía excitada se pierde por vías no radiativas. Por otro lado, la reducción del vinilideno produce el compuesto **3** que muestra mayor emisión de fluorescencia: $\Phi = 0.45$ en CHCl_3 , 0.19 en DMSO y 0.05 en tolueno. La reducción del grupo vinilideno suprime significativamente la transferencia de carga (ICT) hacia los grupos nitrilo. El grupo diciano-vinilideno incrementa el carácter donador-aceptor y conduce a la formación de un estado excitado altamente polarizado provocado por la transferencia de carga.

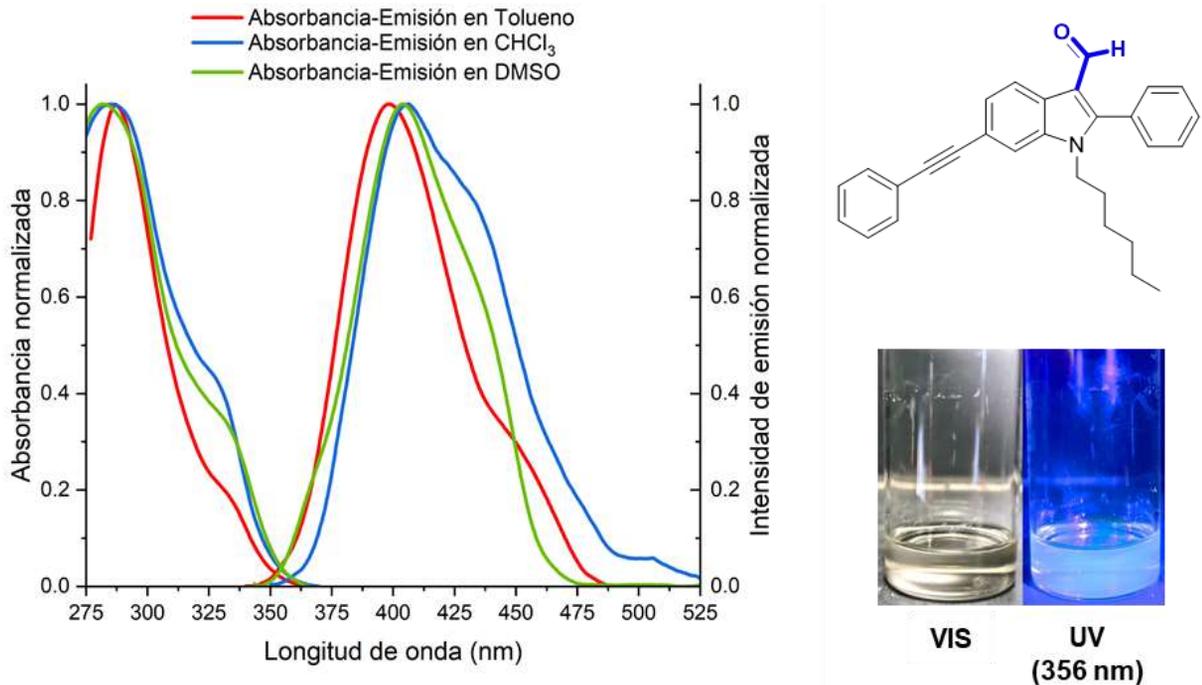


Figura 44. Comparación de los espectros de absorción y emisión normalizados del compuesto **12** en diferentes disolventes.

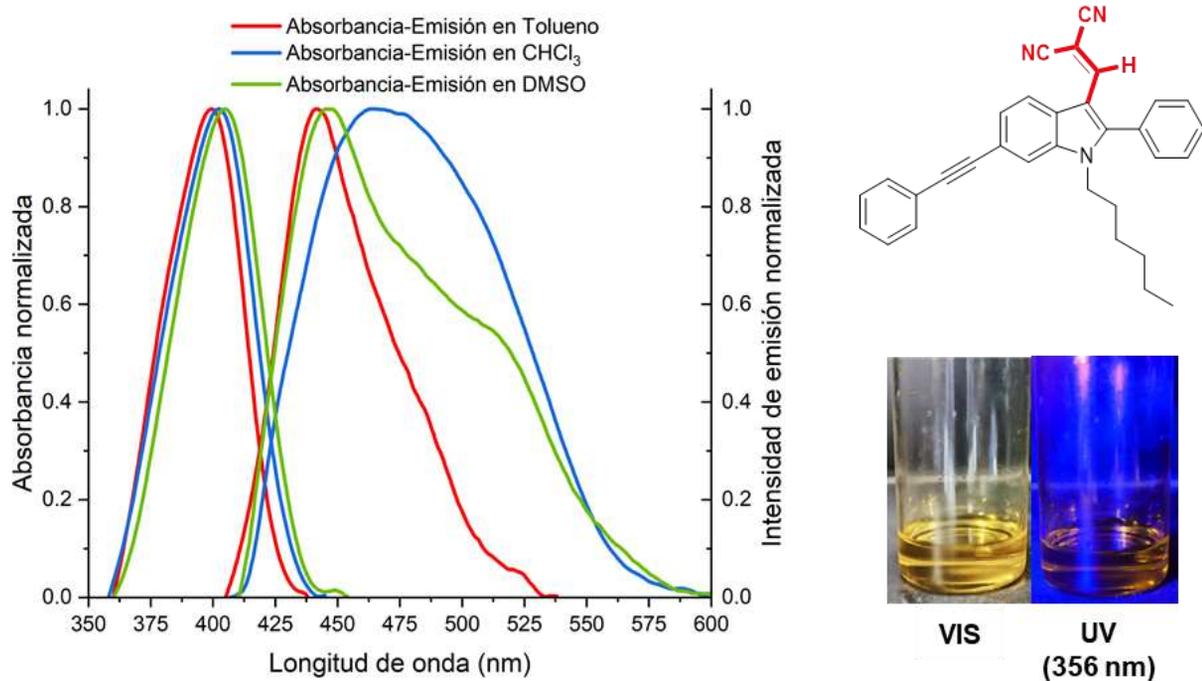


Figura 45. Comparación de los espectros de absorción y emisión normalizados del compuesto **2** en diferentes disolventes.

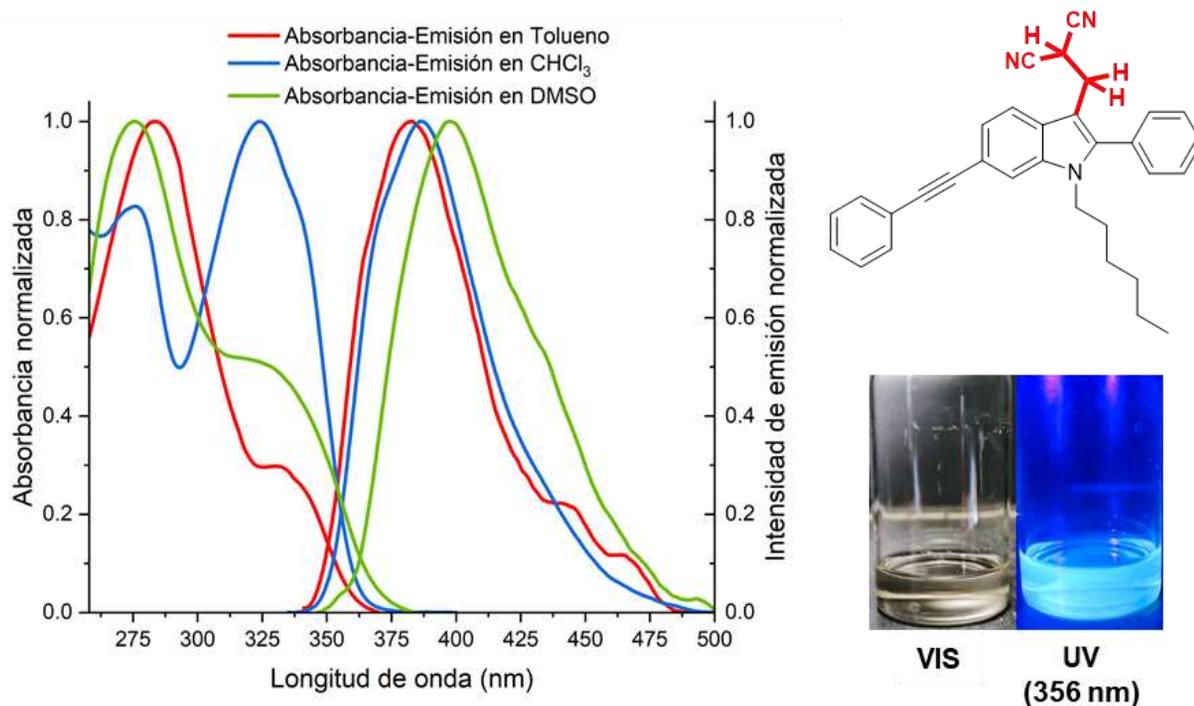


Figura 46. Comparación de los espectros de absorción y emisión normalizados del compuesto **3** en diferentes disolventes polares.

Tabla 8. Propiedades fotofísicas de los compuestos **1**, **2**, **3** y **12**.

Compuesto	Disolvente	λ_{abs} [nm]	λ_{em} [nm]	$\Delta\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹]	Φ	E_{gopt} [eV]	HHBW_{em} [nm]	ϵ [M ⁻¹ cm ⁻¹]
1	Tolueno	330	399	4125	1.09	3.31	56	23000
	CH ₂ Cl ₂	332	399	4281	1.20	3.33	59	131000
	DMSO	333	403	5216	0.89	3.27	58	46000
12	Tolueno	287	399	9781	0.11	4.32	53	10961
	CHCl ₃	285	406	10458	0.18	4.35	67	76407
	DMSO	282	405	10770	0.05	4.40	69	59333
2	Tolueno	399	442	2438	0.06	3.11	51	41418
	CHCl ₃	402	464	3324	0.07	3.08	98	44518
	DMSO	405	446	2270	0.18	3.06	95	34951
3	Tolueno	284	383	9076	0.05	4.37	52	56738
	CHCl₃	324	387	5024	0.45	3.83	53	24836
	DMSO	276	398	11106	0.19	4.49	62	105649

λ_{abs} longitud de onda máxima absorción UV; λ_{em} longitud de onda máxima fluorescencia; $\Delta\tilde{\nu}$ el desplazamiento de Stokes; Φ rendimiento cuántico de fluorescencia determinado con sulfato de quinina en H₂SO₄ 0.1M como estándar con slit de excitación de 15 y emisión de 3, $\pm 10\%$ de error; E_{gopt} *band gap* óptico; HHBW_{em} ancho de la banda de emisión a la mitad de la máxima altura; ϵ coeficiente de extinción molar.

Dado que el dimetilsulfóxido (DMSO) es el disolvente de mayor polaridad entre los empleados en este estudio, se esperaba que en este medio se observaran mayores rendimientos cuánticos de fluorescencia, sin embargo, los compuestos muestran baja solubilidad en DMSO, y se atribuye a la formación de microagregados o nanoagregados que no siempre son visibles macroscópicamente, pero que afectan directamente los parámetros fotofísicos. En un medio donde la solvatación no es completa los agregados son poco emisivos, reduciendo de manera notable tanto el coeficiente de extinción molar como el rendimiento cuántico de fluorescencia.

La pérdida de fluorescencia con el grupo diciano-vinilideno en **2** puede deberse a un ICT excesivo que aumenta de manera considerable la polarización y el momento dipolar del estado excitado. Dicho estado polar es fuertemente estabilizado por el entorno y, al mismo tiempo, altamente susceptible al acoplamiento con modos vibracionales de baja energía, lo que promueve la conversión interna y la relajación no radiativa. En el compuesto **3**, la reducción del doble enlace y la consecuente debilitación del aceptor disminuyen la polarización del estado excitado, obteniendo rendimientos cuánticos moderados (hasta 0.45 en CHCl_3) característico de una sonda fluorescente de “encendido”.

4.4. Análisis de estructural (rayos X y cálculos teóricos)

Por último, se obtuvieron los diagramas ORTEP por difracción de rayos X de monocristal de los compuestos **2** y **12**, así como su estructura tridimensional generada mediante cálculos teóricos a nivel de teoría de funcional de la densidad (DFT) para los compuestos **2**, **3** y **12**.

Mediante cálculos teóricos DFT (Teoría del Funcional de la Densidad) que se llevó a cabo con el programa Gaussian16 a un nivel CAM-B3LYP con una base 6-31+G(d,p) se obtuvo la estructura de los compuestos **2**, **3** y **12** que muestran la presencia de dos planos, uno corresponde al anillo de indol y otro al grupo fenilo de la posición C2 (Figura 47). En el análisis geométrico presentado en la Tabla 9 los valores de los ángulos entre

los planos muestran que en el compuesto **12** son esencialmente coplanares ($\alpha \approx 3^\circ$ según DFT y rayos X) porque no hay una interacción estérica significativa entre el grupo fenilo en C2 y el aldehído en C3. Por el contrario, en el compuesto de vinilideno **2** ya existe un cambio importante en el ángulo entre los planos del indol y el fenilo ($\alpha \approx 24-30^\circ$) por la interacción estérica entre estos grupos. En el compuesto **3** la torsión entre los planos es más pronunciada ($\alpha \approx 69^\circ$ por DFT) por el aumento del volumen del grupo en C3. Esta variación geométrica concuerda con los cambios fotofísicos observados y con el comportamiento de las señales de los átomos de ^1H y ^{13}C (C28 y C29) en los espectros de RMN. Los valores de los ángulos entre los planos de los compuestos **2** y **12**, calculados por métodos teóricos, concuerdan con los valores obtenidos de la estructura de rayos X de estos compuestos.

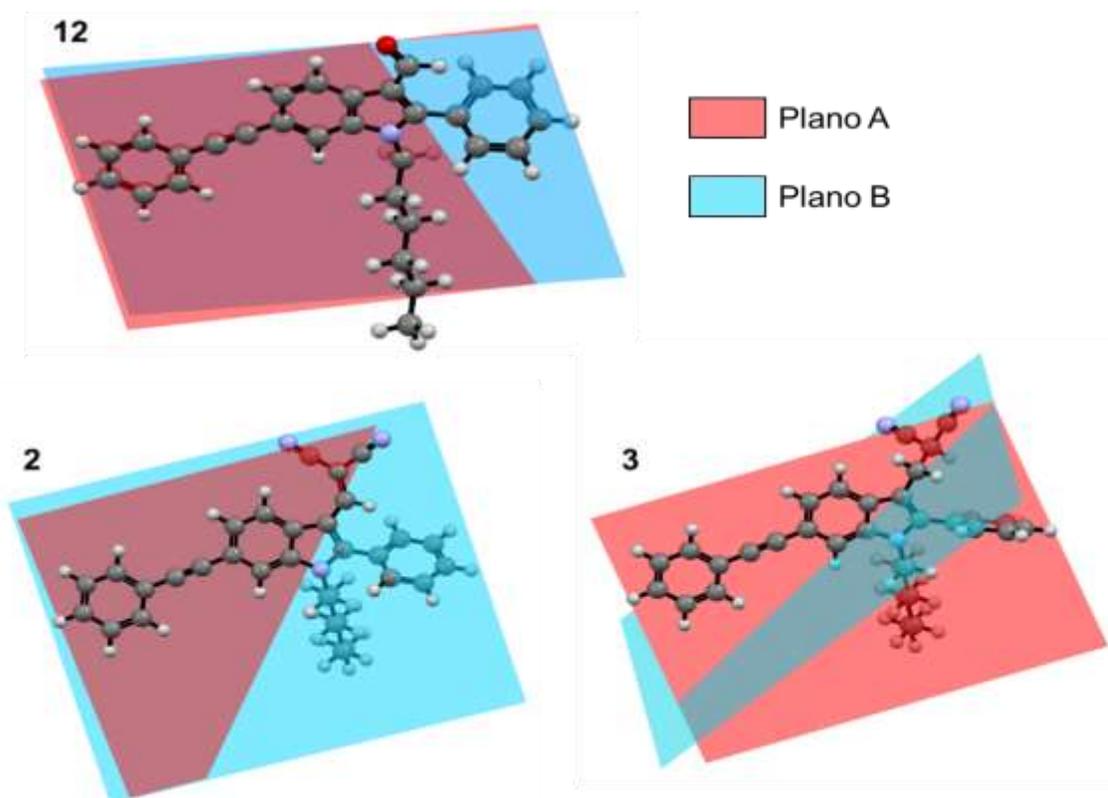


Figura 47. Estructura de los compuestos **2**, **3** y **12** obtenida por cálculos teóricos que muestra al anillo de indol en un plano y al grupo fenilo en C2 en diferentes planos.

Tabla 9. Ángulos (α) entre los planos A y B de **2**, **3** y **12**.

Compuesto	α (°)	
	Calculo DFT	Rayos X
12	3.13	2.93
2	24.47	30.33
3	69.18	N/D

N/D = No disponible

Para realizar los estudios de estructura por difracción de rayos X de monocristal, el aldehído **12** se cristalizó por evaporación lenta de una solución del compuesto en acetona a temperatura ambiente. La colección de datos se llevó a cabo a 293 K empleando la radiación de Mo K α ($\lambda = 0.71073$ Å). La estructura cristalina se resolvió en el sistema cristalino ortorrómbico, perteneciente al grupo espacial no centrosimétrico Pna2₁. Los parámetros de celda unitaria fueron: $a = 17.615(2)$ Å, $b = 9.0577(7)$ Å y $c = 28.907(2)$ Å, con ángulos $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ dando un volumen de celda de $4612.2(8)$ Å³ y $Z = 8$, lo que indica la presencia de ocho moléculas por celda unitaria. La densidad cristalina calculada fue de 1.168 g·cm⁻³, que está relacionado a un empaquetamiento molecular de compuestos orgánicos aromáticos.

En el aldehído **12**, la baja interacción estérica entre el grupo aldehído en C3 y el fenilo en C2 permite la coplanaridad del sistema y favorece la conjugación π donador-aceptor entre el indol y el aldehído, misma que reduce parcialmente la emisión de fluorescencia por un proceso ICT a través de enlace. (Figura 48)

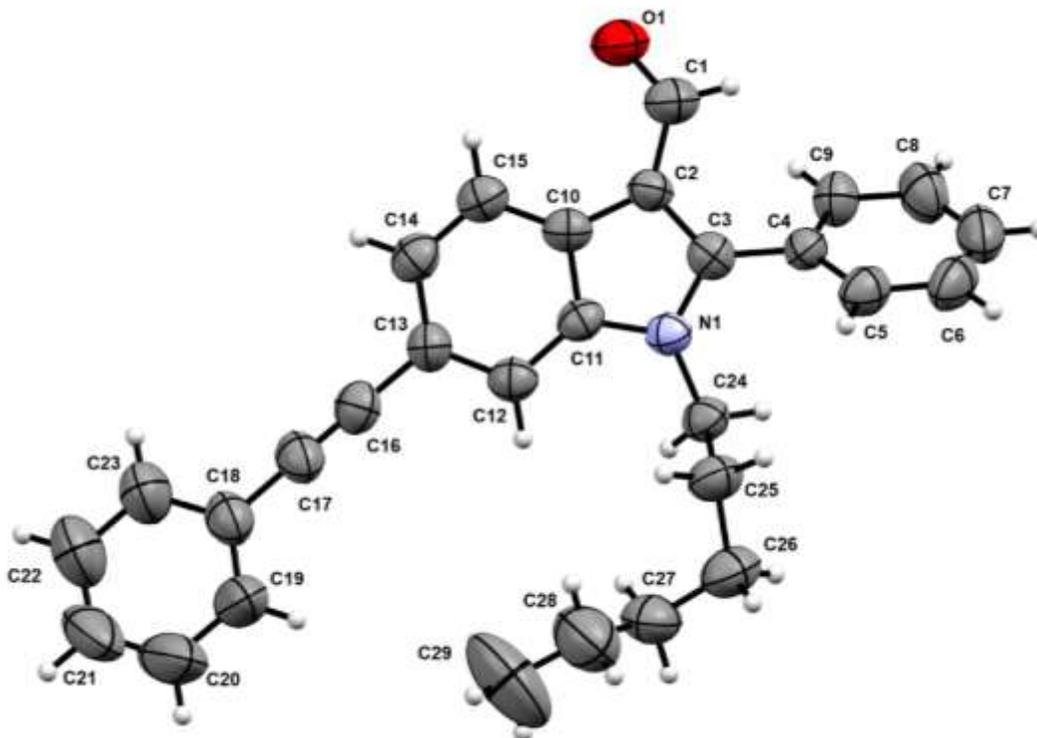


Figura 48. Diagrama ORTEP del compuesto **12**. Elipsoides se muestran al 50% de probabilidad.

El compuesto **2** con el grupo diciano-vinilideno se cristalizó por difusión lenta de *n*-hexano sobre una solución del compuesto en THF a temperatura ambiente. El análisis por difracción de rayos X de monocristal a 293 K se llevó a cabo utilizando radiación Mo K α ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). La estructura cristalina ortorrómbica, pertenece al grupo espacial centrosimétrico Pbc_a. Los parámetros de la celda unitaria fueron: $a = 10.3554(5) \text{ \AA}$, $b = 18.2767(10) \text{ \AA}$ y $c = 27.7804(15) \text{ \AA}$, con ángulos $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, lo que define un volumen de celda de $5257.8(5) \text{ \AA}^3$. La celda unitaria contiene $Z = 8$ moléculas, con una densidad calculada de $1.146 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

En el compuesto **2** el ángulo entre los planos es mayor ($24\text{-}30^\circ$, Figura 49) y es factible la formación de un estado excitado con carácter de transferencia de carga a través del espacio. La torsión moderada entre planos indica que es posible que el sistema pueda cambiar hacia conformaciones más torsionadas por giro del anillo de

fenilo en C2 en el estado excitado S_1 aumentando las posibilidades de desactivación no radiativa. El efecto de polarización por proceso ICT a través del espacio y la flexibilidad de rotación del grupo fenilo en el estado excitado que favorece la desactivación no radiativa contribuyen a la drástica disminución de la emisión de fluorescencia observada en este compuesto.

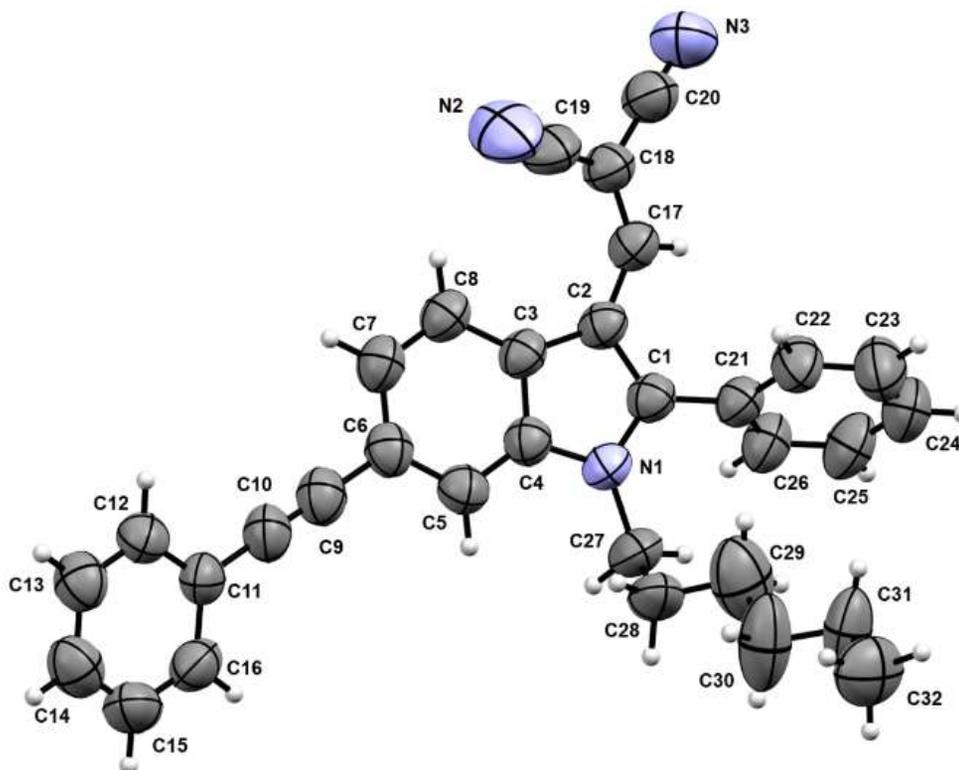


Figura 49. Diagrama ORTEP del compuesto **2**. Elipsoides se muestran al 50% de probabilidad.

Por otra parte, el mapa de potencial electrostático (MEP) de la molécula **2** permite visualizar la distribución de densidad electrónica en el sistema diciano-vinilideno, aportando evidencia adicional sobre la reactividad propuesta. En la representación del estado basal (Figura 50a), las zonas coloreadas en tonalidad azul indican regiones electrónicamente deficientes, y dentro de ellas se observa que el carbono β del sistema vinilo presenta un potencial positivo, señalado mediante el recuadro rojo de la Figura 50.

Al analizar la estructura en el estado excitado (Figura 50b) mediante cálculos teóricos TD-DFT (Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo) considerando los primeros 30 estados electrónicos excitados singulete que se llevó a cabo con el programa Gaussian16 a un nivel CAM-B3LYP con una base 6-31+G(d,p), se evidencia una redistribución de carga, donde la región adyacente al carbono β incrementa su carácter electrofílico. El potencial positivo se intensifica respecto al estado basal, sugiriendo que la excitación conduce a un sistema más polarizado, que disminuye la emisión fluorescencia. Este cambio electrónico es consistente con el comportamiento fotofísico observado experimentalmente en el compuesto reducido **3**, ya que al reducir el doble enlace vinilo, se elimina la fuerte polarizabilidad (ICT que suprime la fluorescencia del cromóforo), y permite el encendido o restablecimiento de la emisión. En la estructura de **3** hay un cambio significativo en la torsión de los planos A-B ($\alpha \approx 69^\circ$), debido al mayor volumen del grupo alifático que incrementa la interacción estérica entre los sustituyentes de las posiciones 3 y 2 del indol.

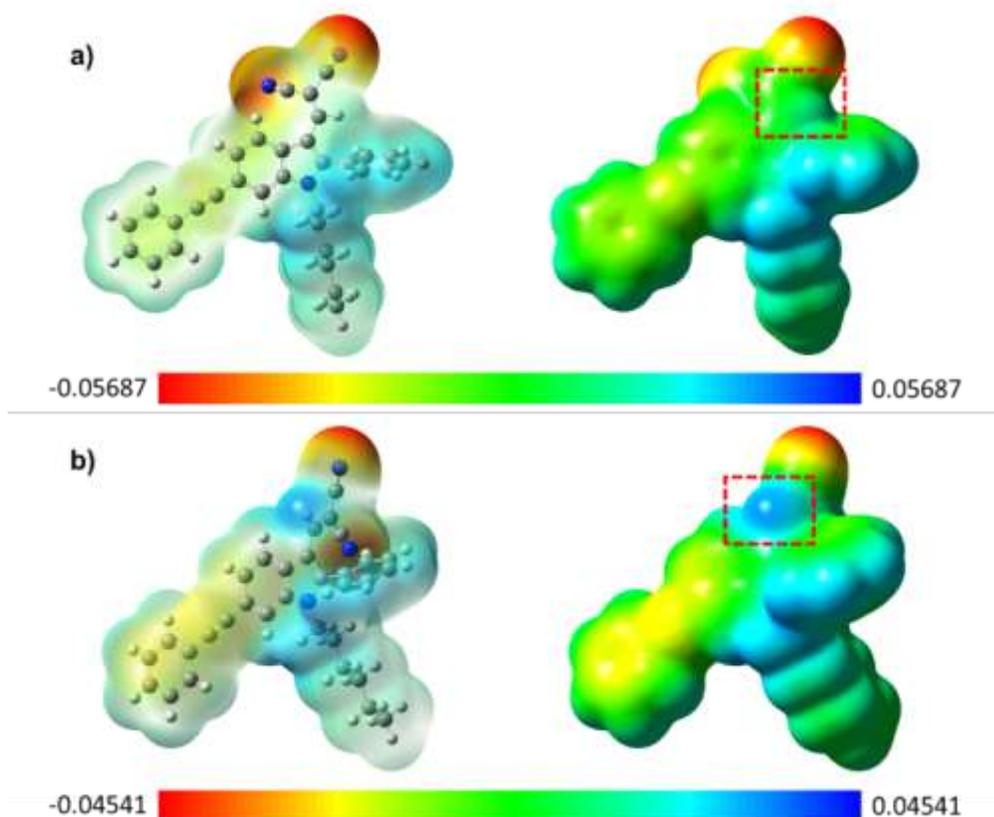


Figura 50. Mapa de potencial electrostático molecular del diciano-vinilideno **2** en el estado basal (a) y en el estado excitado (b).

5. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se logró establecer una ruta de síntesis eficiente y accesible para la obtención del compuesto indol-diciano-vinilideno (**2**), alcanzando rendimientos aceptables y condiciones experimentales confiables. La formilación del indol en la posición 3 se obtuvo con alto rendimiento (88%), utilizando POCl_3 -DMF y además se estudiaron otras reacciones de formilación. El uso del sistema HMTA/ I_2 para formilar indoles demostró ser una alternativa viable al uso del reactivo POCl_3 que es un material controlado.

La caracterización estructural mediante técnicas espectroscópicas (RMN, FT-IR por ATR) y difracción de rayos X de monocristal confirma de manera inequívoca la estructura de los compuestos obtenidos.

Los cálculos teóricos realizados mediante DFT, junto con el análisis del mapa de potencial electrostático (MEP) explican el comportamiento fotofísico de estos sistemas. La representación gráfica de HOMO y LUMO del compuesto **2** permitió corroborar que el proceso ICT se extiende a través del sistema conjugado, involucrando directamente al grupo diciano-vinilideno funcionalizado al indol. Asimismo, el análisis del MEP evidenció un aumento significativo de la densidad electrónica sobre el fragmento vinilideno, así como torsión estructural en el estado excitado, lo que conduce a una fuerte polarización a través del espacio y favorece procesos de desactivación no radiativa que disminuyen la emisión de fluorescencia.

El grupo diciano-vinilideno produce una transferencia de carga interna (ICT) desde el núcleo de indol que apaga la emisión de fluorescencia del compuesto **2**. Se demostró que la reducción de este grupo con borohidruro de sodio suprime o reduce significativamente la transferencia de carga interna y reestablece la emisión de fluorescencia por lo cual el compuesto es potencialmente adecuado para la detección por “encendido” de la fluorescencia de nucleófilos biológicamente relevantes como tioles y aminas que sean capaces de efectuar adición conjugada al sistema diciano-vinilideno.

6. PARTE EXPERIMENTAL

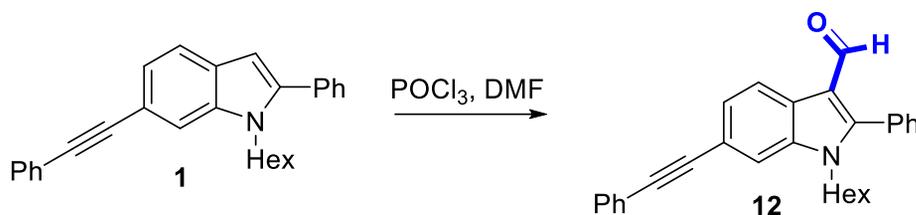
6.1 GENERALIDADES

Todos los reactivos comerciales incluyendo POCl_3 (ReagentPlus®, 99%), $\text{CH}_2(\text{CN})_2$ ($\geq 99\%$), Morfolina ($\geq 99\%$, liquid, ReagentPlus®), Piperidina (ReagentPlus®, 99%), *N,N,N',N'*-Tetrametiletilendiamina (ReagentPlus®, 99%), Hexametilentetramina (Reagent Plus®, $\geq 99.5\%$) y NaBH_4 (Reagent Plus®, 99%) se obtuvieron de Aldrich y se usaron sin purificación. Los disolventes EtOH y DMF secos se adquirieron de la marca J. T Baker. El THF fue destilado de sodio/benzofenona antes de usarse. Las reacciones fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina (TLC) en placas de aluminio recubiertas con sílica gel F254 marca Merck y fondo fluorescente. Las manchas fueron visualizadas en una lámpara UV a 254 y a 365 nm. La cromatografía rápida en columna se realizó usando sílica gel Whatman 60 (malla 230-400). Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz y ^{13}C a 100 MHz fueron adquiridos en un espectrómetro Bruker Ascend™ 400 usando tetrametilsilano (TMS $\delta = 0.0$ ppm) o CDCl_3 ($\delta = 77.16$ ppm) como estándar interno. Los espectros de infrarrojo por transformada de Fourier (ATR-FTIR) se obtuvieron utilizando un accesorio de reflexión total atenuada (ATR) acoplado a un espectrómetro Perkin-Elmer FT-IR Spectrum GX. Las muestras se aplicaron directamente sobre el cristal ATR, empleando diclorometano como disolvente durante su preparación. Los espectros de absorción UV fueron medidos en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda XLS. El *band gap* óptico ($E_{g\text{opt}}$) se determinó a partir del cruce del eje de las X con la tangente trazada a partir de la parte lineal del espectro de absorción a una absorbancia de 0.1. El desplazamiento de Stokes ($\delta\nu$) fue determinado como la diferencia entre el máximo de absorción de menor energía y el máximo de emisión de mayor energía en unidades de número de onda. Los espectros de emisión y de excitación se midieron con un espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS 50B. El espectro de excitación se obtuvo al fijar la longitud de onda de emisión a la longitud de onda del máximo de emisión. El rendimiento cuántico de fluorescencia en solución (ϕ) fue determinado por método indirecto usando como referencia sulfato de quinina en H_2SO_4 0.1 M ($\phi = 0.54$ a 310 nm) de acuerdo con el procedimiento reportado.¹⁴⁸ La

longitud de onda de excitación para medir el rendimiento cuántico de fluorescencia fue 10 nm menor del máximo de absorción. Se analizaron tres soluciones de cada compuesto con absorbancia a la longitud de onda de excitación menor a 0.1 de intensidad y el rendimiento cuántico obtenido fue promediado.

Los cálculos estructurales se llevaron a cabo con el programa Gaussian16. El primer confórmero al equilibrio y el estado basal de cada molécula se calcularon con un nivel AM1 y posteriormente, la geometría fue optimizada a través de la Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) a un nivel CAM-B3LYP con una base 6-31+G(d,p). Las coordenadas generadas en la optimización por DFT fueron el punto de partida para el cálculo de la geometría en el estado excitado por TD-DFT con la misma base de datos, en el vacío.

6.2 Síntesis de 6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-carbaldehído

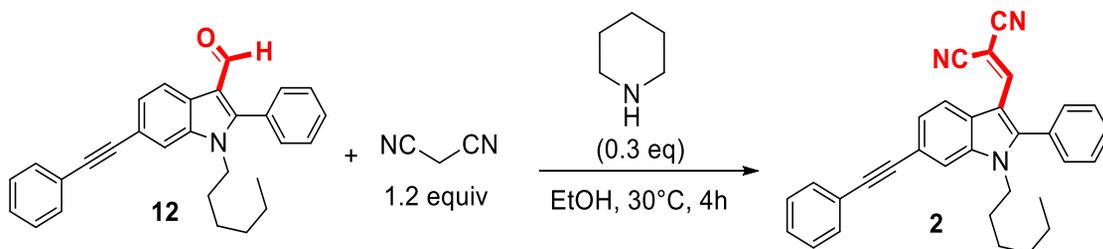


En un matraz de fondo redondo de 10 mL provisto de tapón de goma y agitación magnética, se añadieron 1.2 mmol de *N,N*-dimetilformamida (DMF, 93 μ L, 1.2 equiv.) bajo atmósfera inerte (N₂). La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo, y posteriormente se adicionó lentamente mediante jeringa 1.2 mmol de tricloruro de fósforo (POCl₃, 110 μ L, 1.2 equiv.), cuidando que la temperatura no supere los 5°C. Tras la adición, se agitó la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente para generar el complejo de Vilsmeier. Transcurrido ese tiempo, se añadió 1 mmol (378 mg) del compuesto **1** disuelto en 2 mL de DMF, a temperatura ambiente bajo agitación durante 2 horas, monitoreando el progreso de la reacción por cromatografía en capa fina (TLC). Una vez completada la reacción, la mezcla se agregó cuidadosamente sobre una mezcla de hielo y una solución acuosa de carbonato de sodio saturado (5 mL), con agitación vigorosa. Se extrajo el producto con acetato de etilo (20 mL), y las fases orgánicas se lavaron con agua destilada y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro

(Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna con sílica gel utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo (9:1), obteniéndose el compuesto **1** como un sólido de color blanco, con rendimientos del 83-88%, y fue caracterizado mediante espectroscopía (¹H RMN, ¹³C RMN, IR) para confirmar su estructura.

El aldehído **12** se obtuvo como un polvo blanco; punto de fusión: 164.7-166.2°C; RF: 0.47 (90% Hex/AcOEt); FT-IR (ATR, película formada a partir de CH₂Cl₂, cm⁻¹): 3500 cm⁻¹ (sobretono de C=O de aldehído), 2923 y 2855 cm⁻¹ (ν_{C-H} aldehído, alcano, aromático), 2205 cm⁻¹ (ν_{C≡C} alquino), 1652 cm⁻¹ (ν_{C=O} aldehído), 1437 y 1468 cm⁻¹ (ν_{C=C} aromático). 1382 cm⁻¹ (ν_{C-N}), 1376 cm⁻¹ (δ_{C-H} alcano, aromático), 1035 cm⁻¹ (ω_{C-H} alcano), 714 cm⁻¹ (ω_{C-H} aromático); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9.68 (s, 1H), 8.40 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.59 (dt, *J* = 4, 1 Hz, 2H), 7.58-7.56 (m, 3H), 7.53 (dd, *J* = 8, 1 Hz, 1H), 7.51-7.47 (m, 2H), 7.41-7.31 (m, 4H), 4.12-3.98 (m, 2H), 1.78-1.66 (m, 2H), 1.21-1.10 (m, 6H), 0.82 (t, *J* = 7 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 186.7, 152.4, 136.3, 131.8, 131.8, 131.7, 130.8, 130.1, 128.9, 128.8, 128.6, 128.5, 128.3, 127.0, 125.5, 123.5, 122.3, 118.6, 116.2, 113.6, 90.5, 89.0, 44.3, 31.2, 29.8, 26.5, 22.5, 14.0.

6.3 Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metileno)malononitrilo

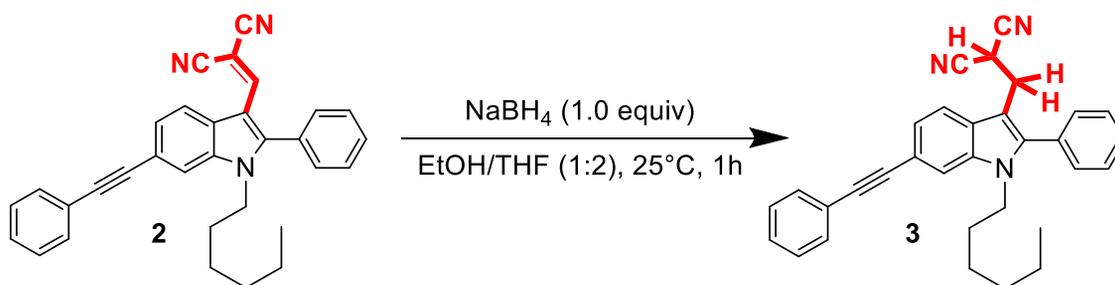


En un matraz de fondo redondo de 10 mL provisto con agitación magnética, se disolvieron 405 mg (1 mmol) del aldehído **12**, 1.2 mmol de malononitrilo (79 mg, 1.2 equiv.) en 5 mL de etanol absoluto durante 30 minutos en agitación. Una vez disuelto se adicionó 0.3 mmol de piperidina (30 μL, 0.3 equiv.) y la mezcla se mantuvo bajo agitación a temperatura de 30°C durante 4 horas, monitoreando el progreso de la reacción mediante cromatografía en capa fina (TLC). Una vez completada la reacción, se extrajo el producto con acetato de etilo (20 mL), y las fases orgánicas se lavaron con agua destilada y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) y se

concentraron a presión reducida. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna con sílica gel utilizando una mezcla de hexano/acetato de etilo (8:2), obteniéndose el compuesto **2** como un sólido de color amarillo, con rendimientos de 76-79%. La estructura del compuesto obtenido fue dilucidada por espectroscopía de RMN de ^1H y ^{13}C RMN y por espectroscopía IR.

El compuesto **2** se obtuvo como un polvo amarillo-naranja; punto de fusión: 135.3-136.7°C; RF: 0.42 (90% Hex/AcOEt; FT-IR (ATR, película formada a partir de CH_2Cl_2 , cm^{-1}): 2933 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático), 2857 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ alcano), 2218 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$), 1575 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ alqueno), 1427 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ aromático), 1420 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$ alqueno), 1364 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$ (CH_3 , CH_2) alcano), 1334 cm^{-1} ($\omega_{\text{C-H}}$ alqueno), 1250 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-N}}$), 1102 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático), 817 cm^{-1} ($\omega_{\text{C-H}}$ alqueno) y 755 cm^{-1} ($\omega_{\text{C-H}}$ aromático); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8.33 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.66-7.62 (m, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.60-7.58 (m, 2H), 7.58-7.54 (m, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 2$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 2$ Hz, 2H), 7.36 (s, 1H), 4.12-4.01 (m, 2H), 1.72 (p, $J = 7$ Hz, 2H), 1.23-1.12 (m, 6H), 0.83 (t, $J = 7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 153.3, 152.2, 137.3, 131.7, 130.9, 130.7, 129.3, 128.5, 128.2, 126.75, 124.2, 123.5, 123.2, 119.4, 116.5, 115.7, 114.3, 111.6, 89.9, 89.7, 73.5, 45.2, 31.1, 29.6, 26.4, 22.5, 14.0.

6.4 Síntesis de 2-((6-feniletinil-2-fenil-1-hexilindol-3-il)metil)malononitrilo



En un matraz de fondo redondo de 10 mL provisto con agitación magnética, se disolvió 1.0 mmol de NaBH_4 (38 mg, 1 equiv.) en una mezcla de etanol anhidro y THF (1:2, 3 mL en total) bajo agitación durante 10 minutos para asegurar una completa solubilización del reactivo. Posteriormente, se añadió 1.0 mmol del compuesto **2** (453 mg), manteniendo la mezcla en agitación constante. La mezcla se mantuvo bajo agitación a 25°C durante 1 hora, monitoreando el avance de la reacción mediante cromatografía en capa fina (TLC), y el crudo obtenido se purificó inmediatamente en

columna con sílica gel empleando una mezcla hexano/acetato de etilo (8:2), aislándose el compuesto **3** como un líquido viscoso de color blanco con un rendimiento del 96%. Finalmente, el producto fue caracterizado mediante espectroscopía (^1H RMN, ^{13}C RMN, FTIR-ATR), confirmando la reducción del doble enlace vinilo.

Líquido translucido viscoso; punto de fusión: 25°C ; RF: 0.59 (90% Hex/AcOEt); FT-IR (ATR, película formada a partir de CH_2Cl_2 , cm^{-1}): 2926 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ aromático), 2857 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ alcano), 2255 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$ alquino), 2205 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$), 1462 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ aromático), 1347 y 1367 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$ (CH_3 , CH_2) alcano), 1265 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-N}}$), 1027 cm^{-1} ($\delta_{\text{C-H}}$ aromático) y 749 cm^{-1} ($\omega_{\text{C-H}}$ aromático); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.59 (d, $J = 2$ Hz, 2H), 7.59-7.57 (m, 1H), 7.56 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 2$ Hz, 2H), 7.53 (s, 1H), 7.43 (dd, $J = 7$, 3 Hz, 2H), 7.41-7.38 (m, 1H), 7.38-7.37 (m, 1H), 7.36-7.31 (m, 2H), 4.03-3.93 (m, 2H), 3.88 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 3.43 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 1.66-1.58 (m, 2H), 1.23-1.06 (m, 6H), 0.80 (t, $J = 7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 142.1, 135.9, 131.6, 130.9, 130.2, 129.5, 129.0, 128.5, 128.2, 126.5, 124.04, 123.7, 118.0, 117.0, 114.0, 112.7, 105.3, 90.9, 88.6, 44.2, 31.2, 30.0, 27.3, 26.5, 23.65, 22.5, 14.0.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Kwon, N.; Baek, G.; Swamy, K. M. K.; Lee, M.; Xu, Q.; Kim, Y.; Kim, S.-J.; Yoon, J. Naphthoimidazolium Based Ratiometric Fluorescent Probes for F⁻ and CN⁻, and Anion-Activated CO₂ Sensing. *Dyes and Pigments* **2019**, *171*, 107679. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107679>.
- (2) Kojima, H.; Nakatsubo, N.; Kikuchi, K.; Kawahara, S.; Kirino, Y.; Nagoshi, H.; Hirata, Y.; Nagano, T. Detection and Imaging of Nitric Oxide with Novel Fluorescent Indicators: Diaminofluoresceins. *Anal. Chem.* **1998**, *70* (13), 2446–2453. <https://doi.org/10.1021/ac9801723>.
- (3) Kapuscinski, J. DAPI: A DNA-Specific Fluorescent Probe. *Biotechnic & Histochemistry* **1995**, *70* (5), 220–233. <https://doi.org/10.3109/10520299509108199>.
- (4) Gökerküçük, E. B.; Tramier, M.; Bertolin, G. Imaging Mitochondrial Functions: From Fluorescent Dyes to Genetically-Encoded Sensors. *Genes (Basel)*. **2020**, *11* (2), 125. <https://doi.org/10.3390/genes11020125>.
- (5) Ching-Roa, V. D.; Huang, C. Z.; Ibrahim, S. F.; Smoller, B. R.; Giacomelli, M. G. Real-Time Analysis of Skin Biopsy Specimens With 2-Photon Fluorescence Microscopy. *JAMA Dermatol.* **2022**, *158* (10), 1175. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2022.3628>.
- (6) Terai, T.; Nagano, T. Fluorescent Probes for Bioimaging Applications. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12* (5), 515–521. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.08.007>.
- (7) Flores-Jarillo, M.; Alvarez-Hernandez, A.; Vazquez-García, R. Á.; Arias, E.; Moggio, I.; Torres, J. R. Synthesis and Photophysical Properties of Highly Fluorescent 2-Aryl-6-(Aryleneethynylene)-1H-Indoles. *Dyes and Pigments* **2016**, *133*, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.05.017>.
- (8) Cao, Y.; Xi, Y.; Teng, X.; Li, Y.; Yan, X.; Chen, L. Alkoxy Substituted D-π-A Dimethyl-4-Pyrone Derivatives: Aggregation Induced Emission Enhancement, Mechanochromic and Solvatochromic Properties. *Dyes and Pigments* **2017**, *137*, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.09.063>.

- (9) Tissue, B. M. Ultraviolet and Visible Absorption Spectroscopy. In *Characterization of Materials*; Wiley, 2003. <https://doi.org/10.1002/0471266965.com059>.
- (10) Redondo-Plaza, A.; Morales-Aragonés, J. I.; Gallardo-Saavedra, S.; Mateo-Romero, H. F.; Araujo-Rendón, S.; Zorita-Lamadrid, Á. L.; Alonso-Gómez, V.; Hernández-Callejo, L. Passive Electroluminescence and Photoluminescence Imaging Acquisition of Photovoltaic Modules. *Sensors* **2024**, *24* (5), 1539. <https://doi.org/10.3390/s24051539>.
- (11) Gol'dman, A. G.; Korol'ko, B. N.; Lysenko, S. F. Comparison of Electroluminescence and Photoluminescence Spectra of Zn(S_{100-n}Se_n)-Cu, I at 77 and 300° K. *J. Appl. Spectrosc.* **1968**, *8* (6), 571–573. <https://doi.org/10.1007/BF00618367>.
- (12) Tzani, M. A.; Gioftsidou, D. K.; Kallitsakis, M. G.; Pliatsios, N. V.; Kalogiouri, N. P.; Angaridis, P. A.; Lykakis, I. N.; Terzidis, M. A. Direct and Indirect Chemiluminescence: Reactions, Mechanisms and Challenges. *Molecules* **2021**, *26* (24), 7664. <https://doi.org/10.3390/molecules26247664>.
- (13) Dagli Gul, A. S.; ARIHAN, O. A Light To Our Darkness: Bioluminescence And Its Uses In Medical Research. *Eastern Journal Of Medicine* **2023**, *28* (1), 68–74. <https://doi.org/10.5505/ejm.2023.59862>.
- (14) Brenner, M. P.; Hilgenfeldt, S.; Lohse, D. Single-Bubble Sonoluminescence. *Rev. Mod. Phys.* **2002**, *74* (2), 425–484. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.74.425>.
- (15) Nichols, E. L.; Howes, H. L. The Luminescence of Incandescent Solids. *Physical Review* **1922**, *19* (4), 300–318. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.19.300>.
- (16) Kimura, S.; Kimura, S.; Nishihara, H.; Kusamoto, T. Excimer Emission and Magnetoluminescence of Radical-Based Zinc(II) Complexes Doped in Host Crystals. *Chemical Communications* **2020**, *56* (76), 11195–11198. <https://doi.org/10.1039/D0CC04830E>.
- (17) Paul, S.; Ho, Y. K. Three-Photon Transitions in the Hydrogen Atom Immersed in Debye Plasmas. *Phys. Rev. A (Coll Park)*. **2009**, *79* (3), 032714. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.79.032714>.

- (18) Li, J.; Li, Z.; Liu, H.; Gong, H.; Zhang, J.; Yao, Y.; Guo, Q. Organic Molecules with Inverted Singlet-Triplet Gaps. *Front. Chem.* **2022**, *10*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.999856>.
- (19) Bixon, M.; Jortner, J. Intramolecular Radiationless Transitions. *J. Chem. Phys.* **1968**, *48* (2), 715–726. <https://doi.org/10.1063/1.1668703>.
- (20) Minaev, B.; Tunell, I.; Salek, P.; Loboda, O.; Vahtras, O.; Ågren *, H. Singlet–Triplet Transitions in Three-Atomic Molecules Studied by Time-Dependent MCSCF and Density Functional Theory. *Mol. Phys.* **2004**, *102* (13), 1391–1406. <https://doi.org/10.1080/00268970410001668435>.
- (21) Spectrofluorometer. In *Compendium of Biomedical Instrumentation*; Wiley, 2020; pp 1787–1791. <https://doi.org/10.1002/9781119288190.ch339>.
- (22) Moses Kayanda Kiteto; Cleophas Achisa Mecha. Insight into the Bouguer-Beer-Lambert Law: A Review. *Sustainable Chemical Engineering* **2024**, 567–587. <https://doi.org/10.37256/sce.5220245325>.
- (23) Birks, J. B. Fluorescence Quantum Yield Measurements. *J. Res. Natl. Bur. Stand. A Phys. Chem.* **1976**, *80A* (3), 389. <https://doi.org/10.6028/jres.080A.038>.
- (24) Brouwer, A. M. Standards for Photoluminescence Quantum Yield Measurements in Solution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **2011**, *83* (12), 2213–2228. <https://doi.org/10.1351/PAC-REP-10-09-31>.
- (25) Shen, J.; Snook, R. D. Thermal Lens Measurement of Absolute Quantum Yields Using Quenched Fluorescent Samples as References. *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *155* (6), 583–586. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(89\)87477-9](https://doi.org/10.1016/0009-2614(89)87477-9).
- (26) Gilmore, E. H.; Gibson, G. E.; McClure, D. S. Absolute Quantum Efficiencies of Luminescence of Organic Molecules in Solid Solution. *J. Chem. Phys.* **1952**, *20* (5), 829–836. <https://doi.org/10.1063/1.1700579>.
- (27) Jun, J. V.; Chenoweth, D. M.; Petersson, E. J. Rational Design of Small Molecule Fluorescent Probes for Biological Applications. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18* (30), 5747–5763. <https://doi.org/10.1039/D0OB01131B>.
- (28) Suzuki, K.; Kobayashi, A.; Kaneko, S.; Takehira, K.; Yoshihara, T.; Ishida, H.; Shiina, Y.; Oishi, S.; Tobita, S. Reevaluation of Absolute Luminescence Quantum Yields of Standard Solutions Using a Spectrometer with an Integrating Sphere and

- a Back-Thinned CCD Detector. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2009**, *11* (42), 9850. <https://doi.org/10.1039/b912178a>.
- (29) Liu, X.; Xu, Z.; Cole, J. M. Molecular Design of UV–Vis Absorption and Emission Properties in Organic Fluorophores: Toward Larger Bathochromic Shifts, Enhanced Molar Extinction Coefficients, and Greater Stokes Shifts. *The Journal of Physical Chemistry C* **2013**, *117* (32), 16584–16595. <https://doi.org/10.1021/jp404170w>.
- (30) Cho, B.; Tiwari, V.; Jonas, D. M. Simultaneous All-Optical Determination of Molecular Concentration and Extinction Coefficient. *Anal. Chem.* **2013**, *85* (11), 5514–5521. <https://doi.org/10.1021/ac400656r>.
- (31) Crosby, G. A.; Demas, J. N. Measurement of Photoluminescence Quantum Yields. Review. *J. Phys. Chem.* **1971**, *75* (8), 991–1024. <https://doi.org/10.1021/j100678a001>.
- (32) Zhu, X.-Y.; Yao, H.-W.; Fu, Y.-J.; Guo, X.-F.; Wang, H. Effect of Substituents on Stokes Shift of BODIPY and Its Application in Designing Bioimaging Probes. *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1048*, 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.10.038>.
- (33) Neto, B. A. D.; Carvalho, P. H. P. R.; Correa, J. R. Benzothiadiazole Derivatives as Fluorescence Imaging Probes: Beyond Classical Scaffolds. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48* (6), 1560–1569. <https://doi.org/10.1021/ar500468p>.
- (34) Patalag, L. J.; Werz, D. B. Benzothiadiazole Oligoene Fatty Acids: Fluorescent Dyes with Large Stokes Shifts. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2016**, *12*, 2739–2747. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.270>.
- (35) Wang, F.; He, M.; Huang, B.; Tang, T.; Liu, F.; Cui, R.; Qian, J.; Zhang, M.; Sun, T. Band Gap Engineering Improves Three-Photon Luminescence of Quantum Dots for Deep Brain Imaging. *Anal. Chem.* **2023**, *95* (29), 10947–10956. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c00845>.
- (36) Zhao, M.-X.; Zeng, E.-Z. Application of Functional Quantum Dot Nanoparticles as Fluorescence Probes in Cell Labeling and Tumor Diagnostic Imaging. *Nanoscale Res. Lett.* **2015**, *10* (1), 171. <https://doi.org/10.1186/s11671-015-0873-8>.
- (37) Qi, J.; Duan, X.; Cai, Y.; Jia, S.; Chen, C.; Zhao, Z.; Li, Y.; Peng, H.-Q.; Kwok, R. T. K.; Lam, J. W. Y.; Ding, D.; Tang, B. Z. Simultaneously Boosting the Conjugation,

- Brightness and Solubility of Organic Fluorophores by Using AI Egens. *Chem. Sci.* **2020**, *11* (32), 8438–8447. <https://doi.org/10.1039/D0SC03423A>.
- (38) Zheng, Q.; Juette, M. F.; Jockusch, S.; Wasserman, M. R.; Zhou, Z.; Altman, R. B.; Blanchard, S. C. Ultra-Stable Organic Fluorophores for Single-Molecule Research. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (4), 1044–1056. <https://doi.org/10.1039/C3CS60237K>.
- (39) Ha, J. M.; Hur, S. H.; Pathak, A.; Jeong, J.-E.; Woo, H. Y. Recent Advances in Organic Luminescent Materials with Narrowband Emission. *NPG Asia Mater.* **2021**, *13* (1), 53. <https://doi.org/10.1038/s41427-021-00318-8>.
- (40) Lee, S.; Heo, J.; Woo, H. C.; Lee, J.; Seo, Y. H.; Lee, C.; Kim, S.; Kwon, O. Fluorescent Molecular Rotors for Viscosity Sensors. *Chemistry – A European Journal* **2018**, *24* (52), 13706–13718. <https://doi.org/10.1002/chem.201801389>.
- (41) Fery-Forgues, S.; Lavabre, D. Are Fluorescence Quantum Yields So Tricky to Measure? A Demonstration Using Familiar Stationery Products. *J. Chem. Educ.* **1999**, *76* (9), 1260. <https://doi.org/10.1021/ed076p1260>.
- (42) Datta, R.; Heaster, T. M.; Sharick, J. T.; Gillette, A. A.; Skala, M. C. Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy: Fundamentals and Advances in Instrumentation, Analysis, and Applications. *J. Biomed. Opt.* **2020**, *25* (07), 1. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.25.7.071203>.
- (43) Berezin, M. Y.; Achilefu, S. Fluorescence Lifetime Measurements and Biological Imaging. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (5), 2641–2684. <https://doi.org/10.1021/cr900343z>.
- (44) Bitton, A.; Sambrano, J.; Valentino, S.; Houston, J. P. A Review of New High-Throughput Methods Designed for Fluorescence Lifetime Sensing From Cells and Tissues. *Front. Phys.* **2021**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphy.2021.648553>.
- (45) Meredith, S. A.; Kusunoki, Y.; Connell, S. D.; Morigaki, K.; Evans, S. D.; Adams, P. G. Self-Quenching Behavior of a Fluorescent Probe Incorporated within Lipid Membranes Explored Using Electrophoresis and Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy. *J. Phys. Chem. B* **2023**, *127* (8), 1715–1727. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c07652>.

- (46) Ghosh, A.; Karedla, N.; Thiele, J. C.; Gregor, I.; Enderlein, J. Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy: Basics and Applications. *Methods* **2018**, *140–141*, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2018.02.009>.
- (47) Day, R. N.; Davidson, M. W. The Fluorescent Protein Palette: Tools for Cellular Imaging. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (10), 2887. <https://doi.org/10.1039/b901966a>.
- (48) Silpcharu, K.; Sam-ang, P.; Chansaenpak, K.; Sukwattanasinitt, M.; Rashatasakhon, P. Selective Fluorescent Sensors for Gold(III) Ion from N-Picolyl Sulfonamide Spirobifluorene Derivatives. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2020**, *402*, 112823. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112823>.
- (49) Czaplńska, B.; Malarz, K.; Mrozek-Wilczkiewicz, A.; Slodek, A.; Korzec, M.; Musiol, R. Theoretical and Experimental Investigations of Large Stokes Shift Fluorophores Based on a Quinoline Scaffold. *Molecules* **2020**, *25* (11), 2488. <https://doi.org/10.3390/molecules25112488>.
- (50) Zhao, L.; Li, J.; Li, L.; Hu, W. Recent Advances in Small-Molecule Organic Fluorescent Semiconductors. *J. Mater. Chem. C Mater.* **2024**, *12* (35), 13745–13761. <https://doi.org/10.1039/D4TC01801J>.
- (51) Yamaguchi, Y.; Matsubara, Y.; Ochi, T.; Wakamiya, T.; Yoshida, Z. How the π Conjugation Length Affects the Fluorescence Emission Efficiency. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (42), 13867–13869. <https://doi.org/10.1021/ja8040493>.
- (52) Humbert-Droz, M.; Piguet, C.; Wesolowski, T. A. Fluorescence Quantum Yield Rationalized by the Magnitude of the Charge Transfer in π -Conjugated Terpyridine Derivatives. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2016**, *18* (42), 29387–29394. <https://doi.org/10.1039/C6CP04252J>.
- (53) Dawson, W. R.; Windsor, M. W. Fluorescence Yields of Aromatic Compounds. *J. Phys. Chem.* **1968**, *72* (9), 3251–3260. <https://doi.org/10.1021/j100855a027>.
- (54) Zhang, H.-X.; Ding, X.-L. DFT Investigations on AuVO₃⁺, a Barrier-Free Catalyst for Oxidation of CO with O₂. *Chem. Phys.* **2016**, *475*, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2016.06.009>.
- (55) Li, Y.; Liu, T.; Sun, J. Recent Advances in N-Heterocyclic Small Molecules for Synthesis and Application in Direct Fluorescence Cell Imaging. *Molecules* **2023**, *28* (2), 733. <https://doi.org/10.3390/molecules28020733>.

- (56) Wang, J.; Wu, Q.; Yu, C.; Wei, Y.; Mu, X.; Hao, E.; Jiao, L. Aromatic Ring Fused BOPHYs as Stable Red Fluorescent Dyes. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (22), 11316–11323. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b02291>.
- (57) Malinge, A.; Kumar, S.; Chen, D.; Zysman-Colman, E.; Kéna-Cohen, S. Heavy Atom Effect in Halogenated MCP and Its Influence on the Efficiency of the Thermally Activated Delayed Fluorescence of Dopant Molecules. *The Journal of Physical Chemistry C* **2024**, *128* (3), 1122–1130. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c05567>.
- (58) Sindhurattavej, N.; Jampana, S.; Pham, M. P.; Romero, L. C.; Rogers, A. G.; Stevens, G. A.; Fowler, W. C. Tuning Molecular Motion Enhances Intrinsic Fluorescence in Peptide Amphiphile Nanofibers. *Biomacromolecules* **2024**, *25* (4), 2531–2541. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.4c00050>.
- (59) Tu, Y.; Zhao, Z.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Mechanistic Connotations of Restriction of Intramolecular Motions (RIM). *Natl. Sci. Rev.* **2021**, *8* (6). <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa260>.
- (60) McFarland, S. A.; Finney, N. S. Fluorescent Chemosensors Based on Conformational Restriction of a Biaryl Fluorophore. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (6), 1260–1261. <https://doi.org/10.1021/ja005701a>.
- (61) Wandell, R. J.; Younes, A. H.; Zhu, L. Metal-Coordination-Mediated Sequential Chelation-Enhanced Fluorescence (CHEF) and Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) in a Heteroditopic Ligand System. *New Journal of Chemistry* **2010**, *34* (10), 2176. <https://doi.org/10.1039/c0nj00241k>.
- (62) Hsu, C.-P.; Song, X.; Marcus, R. A. Time-Dependent Stokes Shift and Its Calculation from Solvent Dielectric Dispersion Data. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101* (14), 2546–2551. <https://doi.org/10.1021/jp9630885>.
- (63) Braem, O.; Penfold, T. J.; Cannizzo, A.; Chergui, M. A Femtosecond Fluorescence Study of Vibrational Relaxation and Cooling Dynamics of UV Dyes. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14* (10), 3513. <https://doi.org/10.1039/c2cp23167k>.
- (64) Bryce, R. A.; Vincent, M. A.; Malcolm, N. O. J.; Hillier, I. H.; Burton, N. A. Cooperative Effects in the Structuring of Fluoride Water Clusters: Ab Initio Hybrid

- Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Model Incorporating Polarizable Fluctuating Charge Solvent. *J. Chem. Phys.* **1998**, *109* (8), 3077–3085. <https://doi.org/10.1063/1.476900>.
- (65) Tan, X.; Gustafson, T. L. Solvent–Solute Interactions Probed by Picosecond Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy: Lifetime and Anisotropy Study of S1 Trans-4,4'-Diphenylstilbene. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104* (19), 4469–4474. <https://doi.org/10.1021/jp993389p>.
- (66) Hoche, J.; Schulz, A.; Dietrich, L. M.; Humeniuk, A.; Stolte, M.; Schmidt, D.; Brixner, T.; Würthner, F.; Mitric, R. The Origin of the Solvent Dependence of Fluorescence Quantum Yields in Dipolar Merocyanine Dyes. *Chem. Sci.* **2019**, *10* (48), 11013–11022. <https://doi.org/10.1039/C9SC05012D>.
- (67) Mennucci, B. Modeling Absorption and Fluorescence Solvatochromism with QM/Classical Approaches. *Int. J. Quantum Chem.* **2015**, *115* (18), 1202–1208. <https://doi.org/10.1002/qua.24889>.
- (68) Sabek, H. A. Z.; Alazaly, A. M. M.; Salah, D.; Abdel-Samad, H. S.; Ismail, M. A.; Abdel-Shafi, A. A. Photophysical Properties and Fluorosolvatochromism of D– π –A Thiophene Based Derivatives. *RSC Adv.* **2020**, *10* (71), 43459–43471. <https://doi.org/10.1039/D0RA08433F>.
- (69) Eftink, M. R. Fluorescence Quenching: Theory and Applications. In *Topics in Fluorescence Spectroscopy*; Kluwer Academic Publishers: Boston; pp 53–126. https://doi.org/10.1007/0-306-47058-6_2.
- (70) Wagner, N. L.; Greco, J. A.; Enriquez, M. M.; Frank, H. A.; Birge, R. R. The Nature of the Intramolecular Charge Transfer State in Peridinin. *Biophys. J.* **2013**, *104* (6), 1314–1325. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.01.045>.
- (71) Liu, H.-W.; Chen, L.; Xu, C.; Li, Z.; Zhang, H.; Zhang, X.-B.; Tan, W. Recent Progresses in Small-Molecule Enzymatic Fluorescent Probes for Cancer Imaging. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47* (18), 7140–7180. <https://doi.org/10.1039/C7CS00862G>.
- (72) Carter, K. P.; Young, A. M.; Palmer, A. E. Fluorescent Sensors for Measuring Metal Ions in Living Systems. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (8), 4564–4601. <https://doi.org/10.1021/cr400546e>.

- (73) Tian, X.; Murfin, L. C.; Wu, L.; Lewis, S. E.; James, T. D. Fluorescent Small Organic Probes for Biosensing. *Chem. Sci.* **2021**, *12* (10), 3406–3426. <https://doi.org/10.1039/D0SC06928K>.
- (74) Sun, X.; Gao, A.; Zhang, H. Sensing Mechanism of a Ratiometric Near-Infrared Fluorescent Chemosensor for Cysteine Hydropersulfide: Intramolecular Charge Transfer. *Sci. Rep.* **2020**, *10* (1), 711. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57631-5>.
- (75) Goshisht, M. K.; Tripathi, N.; Patra, G. K.; Chaskar, M. Organelle-Targeting Ratiometric Fluorescent Probes: Design Principles, Detection Mechanisms, Bio-Applications, and Challenges. *Chem. Sci.* **2023**, *14* (22), 5842–5871. <https://doi.org/10.1039/D3SC01036H>.
- (76) Sasaki, S.; Drummen, G. P. C.; Konishi, G. Recent Advances in Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) Fluorescence and Related Phenomena in Materials Chemistry. *J. Mater. Chem. C Mater.* **2016**, *4* (14), 2731–2743. <https://doi.org/10.1039/C5TC03933A>.
- (77) Grabowski, Z. R.; Rotkiewicz, K.; Rettig, W. Structural Changes Accompanying Intramolecular Electron Transfer: Focus on Twisted Intramolecular Charge-Transfer States and Structures. *Chem. Rev.* **2003**, *103* (10), 3899–4032. <https://doi.org/10.1021/cr940745l>.
- (78) El-Zohry, A. M.; Orabi, E. A.; Karlsson, M.; Zietz, B. Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) Controlled by Dimerization: An Overlooked Piece of the TICT Puzzle. *J. Phys. Chem. A* **2021**, *125* (14), 2885–2894. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.1c00629>.
- (79) Wang, C.; Chi, W.; Qiao, Q.; Tan, D.; Xu, Z.; Liu, X. Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) and Twists beyond TICT: From Mechanisms to Rational Designs of Bright and Sensitive Fluorophores. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50* (22), 12656–12678. <https://doi.org/10.1039/D1CS00239B>.
- (80) Li, H.; Zhang, J.; Li, H.; Zhang, E.; Kong, W.; Kong, R.; Zhao, Y.; Qu, F.; Tan, W. Twisted Intramolecular Charge Transfer-Based Viscosity-Responsive Probe Reveals Lysosomal Degradation Process of Endocytosed Foreign Bodies. *Anal. Chem.* **2024**. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c02729>.

- (81) Ren, M.; Deng, B.; Kong, X.; Zhou, K.; Liu, K.; Xu, G.; Lin, W. A TICT-Based Fluorescent Probe for Rapid and Specific Detection of Hydrogen Sulfide and Its Bio-Imaging Applications. *Chemical Communications* **2016**, 52 (38), 6415–6418. <https://doi.org/10.1039/C6CC00966B>.
- (82) Uoyama, H.; Goushi, K.; Shizu, K.; Nomura, H.; Adachi, C. Highly Efficient Organic Light-Emitting Diodes from Delayed Fluorescence. *Nature* **2012**, 492 (7428), 234–238. <https://doi.org/10.1038/nature11687>.
- (83) Weissleder, R.; Pittet, M. J. Imaging in the Era of Molecular Oncology. *Nature* **2008**, 452 (7187), 580–589. <https://doi.org/10.1038/nature06917>.
- (84) Deori, U.; Nanda, G. P.; Murawski, C.; Rajamalli, P. A Perspective on Next-Generation Hyperfluorescent Organic Light-Emitting Diodes. *Chem. Sci.* **2024**, 15 (43), 17739–17759. <https://doi.org/10.1039/D4SC05489J>.
- (85) Muñoz-García, A. B.; Benesperi, I.; Boschloo, G.; Concepcion, J. J.; Delcamp, J. H.; Gibson, E. A.; Meyer, G. J.; Pavone, M.; Pettersson, H.; Hagfeldt, A.; Freitag, M. Dye-Sensitized Solar Cells Strike Back. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50 (22), 12450–12550. <https://doi.org/10.1039/D0CS01336F>.
- (86) Hu, X.-L.; Gan, H.-Q.; Meng, F.-D.; Han, H.-H.; Shi, D.-T.; Zhang, S.; Zou, L.; He, X.-P.; James, T. D. Fluorescent Probes and Functional Materials for Biomedical Applications. *Front. Chem. Sci. Eng.* **2022**, 16 (10), 1425–1437. <https://doi.org/10.1007/s11705-022-2163-1>.
- (87) Reineke, S.; Schwartz, G.; Walzer, K.; Leo, K. Direct Observation of Host–Guest Triplet–Triplet Annihilation in Phosphorescent Solid Mixed Films. *physica status solidi (RRL) – Rapid Research Letters* **2009**, 3 (2–3), 67–69. <https://doi.org/10.1002/pssr.200802266>.
- (88) Chalfie, M.; Tu, Y.; Euskirchen, G.; Ward, W. W.; Prasher, D. C. Green Fluorescent Protein as a Marker for Gene Expression. *Science (1979)*. **1994**, 263 (5148), 802–805. <https://doi.org/10.1126/science.8303295>.
- (89) Sakinala, P.; Rahaman, K. S. shaikabdul; Mounika, V.; Sathvika, K. A Comprehensive Knowledge on Review of Indole Derivatives. *Int. J. Life Sci. Pharma Res.* **2021**. <https://doi.org/10.22376/ijpbs/lpr.2021.11.4.P19-P24>.

- (90) Chen, Y.; Barkley, M. D. Toward Understanding Tryptophan Fluorescence in Proteins. *Biochemistry* **1998**, *37* (28), 9976–9982. <https://doi.org/10.1021/bi980274n>.
- (91) Sravanthi, T. V.; Manju, S. L. Indoles — A Promising Scaffold for Drug Development. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2016**, *91*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.05.025>.
- (92) Chrostowska, A.; Xu, S.; Mazière, A.; Boknevitiz, K.; Li, B.; Abbey, E. R.; Dargelos, A.; Graciaa, A.; Liu, S.-Y. UV-Photoelectron Spectroscopy of BN Indoles: Experimental and Computational Electronic Structure Analysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (33), 11813–11820. <https://doi.org/10.1021/ja5063899>.
- (93) Deka, B.; Deb, M. L.; Baruah, P. K. Recent Advances on the C2-Functionalization of Indole via Umpolung. *Top. Curr. Chem.* **2020**, *378* (2), 22. <https://doi.org/10.1007/s41061-020-0287-7>.
- (94) Lakhdar, S.; Westermaier, M.; Terrier, F.; Goumont, R.; Boubaker, T.; Ofial, A. R.; Mayr, H. Nucleophilic Reactivities of Indoles. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (24), 9088–9095. <https://doi.org/10.1021/jo0614339>.
- (95) Chen, C. G.; Giustini, M.; D'Abramo, M.; Amadei, A. Unveiling the Excited State Dynamics of Indole in Solution. *J. Chem. Theory Comput.* **2023**, *19* (13), 4114–4124. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.3c00221>.
- (96) Merrer, D. C.; Ozcetinkaya, S.; Shinnar, A. E. Experimental and Theoretical Ultraviolet Spectra of Haloindoles. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45* (25), 4899–4902. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.04.128>.
- (97) Andrews, L. J.; Forster, L. S. FLUORESCENCE CHARACTERISTICS OF INDOLES IN NON-POLAR SOLVENTS: LIFETIMES, QUANTUM YIELDS AND POLARIZATION SPECTRA. *Photochem. Photobiol.* **1974**, *19* (5), 353–360. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1974.tb06523.x>.
- (98) Kumar, G.; Kellogg, M.; Dey, S.; Oliver, T. A. A.; Bradforth, S. E. Unraveling the Photoionization Dynamics of Indole in Aqueous and Ethanol Solutions. *J. Phys. Chem. B* **2024**, *128* (17), 4158–4170. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.4c01223>.

- (99) Sukhodola, A. A. Red-Edge Excitation Effect on the Intersystem Crossing of Indole Solution in Ethanol at 77 K. *Chem. Phys. Lett.* **2020**, *754*, 137674. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2020.137674>.
- (100) van DUUREN, B. L. Solvent Effects in the Fluorescence of Indole and Substituted Indoles. *J. Org. Chem.* **1961**, *26* (8), 2954–2960. <https://doi.org/10.1021/jo01066a079>.
- (101) Ghosh, P.; Karak, A.; Mahapatra, A. K. Small-Molecule Fluorogenic Probes Based on Indole Scaffold. *Org. Biomol. Chem.* **2024**, *22* (14), 2690–2718. <https://doi.org/10.1039/D3OB02057F>.
- (102) Liu, H.-L.; Zhan, K.; Zhong, K.-L.; Chen, X.-L.; Xia, X.-H. A Novel Indole Derivative with Superior Photophysical Performance for Fluorescent Probe, PH-Sensing, and Logic Gates. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24* (2), 1711. <https://doi.org/10.3390/ijms24021711>.
- (103) Choe, D.; So, H.; Park, S.; Lee, H.; Chae, J. B.; Kim, J.; Kim, K.-T.; Kim, C. An Indole-Based Fluorescent Chemosensor for Detecting Zn²⁺ in Aqueous Media and Zebrafish. *Sensors* **2021**, *21* (16), 5591. <https://doi.org/10.3390/s21165591>.
- (104) Karakuş, E.; Erdemir, E.; Suna, G.; Liv, L.; Gunduz, S.; Can, Ş. A. Fluorescein Based Three-Channel Probe for the Selective and Sensitive Detection of CO₃²⁻ Ions in an Aqueous Environment and Real Water Samples. *J. Fluoresc.* **2021**, *31* (6), 1617–1625. <https://doi.org/10.1007/s10895-021-02779-0>.
- (105) Aksungur, T.; Aydinler, B.; Seferoğlu, N.; Özkütük, M.; Arslan, L.; Reis, Y.; Açık, L.; Seferoğlu, Z. Coumarin-Indole Conjugate Donor-Acceptor System: Synthesis, Photophysical Properties, Anion Sensing Ability, Theoretical and Biological Activity Studies of Two Coumarin-Indole Based Push-Pull Dyes. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1147*, 364–379. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.06.079>.
- (106) Samanta, S. K.; Ali, S. S.; Gangopadhyay, A.; Maiti, K.; Pramanik, A. K.; Guria, U. N.; Ghosh, A.; Datta, P.; Mahapatra, A. K. A Highly Selective Ratiometric Fluorescent Probe for H₂S Based on New Heterocyclic Ring Formation and Detection in Live Cells. *Supramol. Chem.* **2019**, *31* (5), 349–360. <https://doi.org/10.1080/10610278.2019.1590573>.

- (107) Wang, L.; Yang, W.; Song, Y.; Gu, Y.; Hu, Y. A Double-Indole Structure Fluorescent Probe for Monitoring Sulfur Dioxide Derivatives with Distinct Ratiometric Fluorescence Signals in Mammalian Cells. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2020**, *225*, 117495. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117495>.
- (108) Lv, Y.; Zhu, L.; Liu, H.; Wu, Y.; Chen, Z.; Fu, H.; Tian, Z. Single-Fluorophore-Based Fluorescent Probes Enable Dual-Channel Detection of Ag⁺ and Hg²⁺ with High Selectivity and Sensitivity. *Anal. Chim. Acta* **2014**, *839*, 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.06.010>.
- (109) Chen, J.; Jiang, W.; Lu, W.; Xu, L.; Yang, S.; Xue, H.; Shi, J.; Sun, X. A Study on the Interaction between New Indole Amide Compound and Aluminum(III) Ion. *ChemistrySelect* **2019**, *4* (14), 4371–4375. <https://doi.org/10.1002/slct.201900217>.
- (110) Kar, C.; Adhikari, M. D.; Ramesh, A.; Das, G. NIR- and FRET-Based Sensing of Cu²⁺ and S²⁻ in Physiological Conditions and in Live Cells. *Inorg. Chem.* **2013**, *52* (2), 743–752. <https://doi.org/10.1021/ic301872q>.
- (111) Meghdadi, S.; Khodaverdian, N.; Amirnasr, A.; French, P. J.; van Royen, M. E.; Wiemer, E. A. C.; Amirnasr, M. A New Carboxamide Probe as On-Off Fluorescent and Colorimetric Sensor for Fe³⁺ and Application in Detecting Intracellular Fe³⁺ Ion in Living Cells. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2020**, *389*, 112193. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.112193>.
- (112) Joshi, S.; Kumari, S.; Sarmah, A.; Pant, D. D.; Sakhuja, R. Detection of Hg²⁺ Ions in Aqueous Medium Using an Indole-Based Fluorescent Probe: Experimental and Theoretical Investigations. *J. Mol. Liq.* **2017**, *248*, 668–677. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.10.081>.
- (113) Iyappan, M.; Dhineshkumar, E.; Anbuselvan, C. Synthesis of Schiff Based E-4-(((1H-Indol-3-Yl)Methylene) Amino)-N-(Pyrimidin-2-Yl)Benzenesulfonamide It's Highly Sensitive and Selective of Turn-on Chemosensor for Recognition of Pb²⁺ Ion; 2019; p 020024. <https://doi.org/10.1063/1.5135199>.
- (114) Smith, G. F. Indoles. Part I. The Formylation of Indole and Some Reactions of 3-Formylindole. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1954**, 3842. <https://doi.org/10.1039/jr9540003842>.

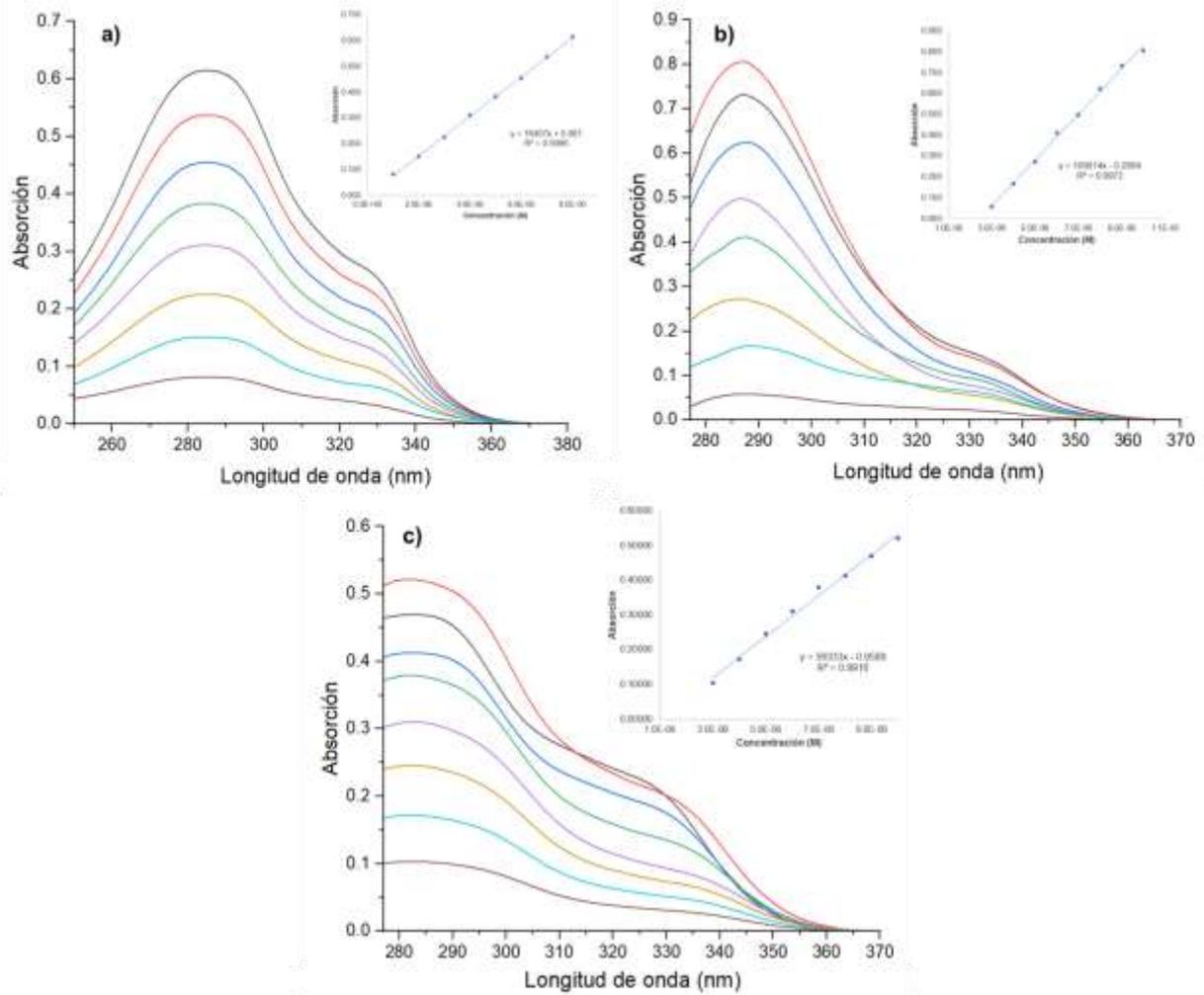
- (115) Zhao, Y.; Li, H.; Yin, S.; Wu, Y.; Ni, G. Visible-Light-Promoted Indole C-3 Formylation Using Eosin Y as a Photoredox Catalyst. *Synlett* **2022**, 33 (07), 659–663. <https://doi.org/10.1055/a-1777-2556>.
- (116) Park, S.-E.; Kang, S.; Jung, K.-J.; Won, J.-E.; Lee, S.-G.; Yoon, Y.-J. Efficient Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Chlorides Using Dicyclohexylamino[(2,6-Dimethyl)Morpholino]Phenylphosphine as a PN₂ Ligand. *Synthesis (Stuttg)*. **2009**, 2009 (05), 815–823. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1083337>.
- (117) Gerrein, T. A.; Elbatrawi, Y. M.; Del Valle, J. R. Diastereoselective Synthesis of (3R,5R)- γ -Hydroxypiperazic Acid. *Synlett* **2021**, 32 (17), 1747–1750. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1719824>.
- (118) Zhu, Y.-R.; Lin, J.-H.; Xiao, J.-C. Triphenylphosphine/1,2-Diiodoethane-Promoted Formylation of Indoles with N,N-Dimethylformamide. *Synlett* **2022**, 33 (03), 259–263. <https://doi.org/10.1055/a-1675-1043>.
- (119) Wang, Q.-D.; Yang, J.-M.; Fang, D.; Ren, J.; Zeng, B.-B. Iodine-Catalyzed C₃-Formylation of Indoles Using Hexamethylenetetramine and Air. *Tetrahedron Lett.* **2017**, 58 (30), 2877–2880. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.05.050>.
- (120) Zhang, B.; Liu, B.; Chen, J.; Wang, J.; Liu, M. I₂-Mediated C₃-Formylation of Indoles by Tertiary Amine and H₂O. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55 (41), 5618–5621. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.08.024>.
- (121) Li, X.; Gu, X.; Li, Y.; Li, P. Aerobic Transition-Metal-Free Visible-Light Photoredox Indole C-3 Formylation Reaction. *ACS Catal.* **2014**, 4 (6), 1897–1900. <https://doi.org/10.1021/cs5005129>.
- (122) Ye, Y.; Cheung, K. P. S.; He, L.; Tsui, G. C. Synthesis of 2-(Trifluoromethyl)Indoles via Domino Trifluoromethylation/Cyclization of 2-Alkynylanilines. *Org. Lett.* **2018**, 20 (6), 1676–1679. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b00509>.
- (123) Wang, Q.-D.; Zhou, B.; Yang, J.-M.; Fang, D.; Ren, J.; Zeng, B.-B. Iron-Catalyzed C₃-Formylation of Indoles with Formaldehyde and Aqueous Ammonia under Air. *Synlett* **2017**, 28 (19), 2670–2674. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1589079>.
- (124) Dinesh, V.; Nagarajan, R. Photochemical Decarboxylative Formylation of Indoles with Aqueous Glyoxylic Acid. *Synlett* **2023**, 34 (07), 855–857. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1719936>.

- (125) Zhao, Y.; Li, H.; Yin, S.; Wu, Y.; Ni, G. Visible-Light-Promoted Indole C-3 Formylation Using Eosin Y as a Photoredox Catalyst. *Synlett* **2022**, 33 (07), 659–663. <https://doi.org/10.1055/a-1777-2556>.
- (126) van Beurden, K.; de Koning, S.; Molendijk, D.; van Schijndel, J. The Knoevenagel Reaction: A Review of the Unfinished Treasure Map to Forming Carbon–Carbon Bonds. *Green Chem. Lett. Rev.* **2020**, 13 (4), 349–364. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1851398>.
- (127) Meng, D.; Qiao, Y.; Wang, X.; Wen, W.; Zhao, S. DABCO-Catalyzed Knoevenagel Condensation of Aldehydes with Ethyl Cyanoacetate Using Hydroxy Ionic Liquid as a Promoter. *RSC Adv.* **2018**, 8 (53), 30180–30185. <https://doi.org/10.1039/C8RA06506C>.
- (128) Appaturi, J. N.; Ratti, R.; Phoon, B. L.; Batagarawa, S. M.; Din, I. U.; Selvaraj, M.; Ramalingam, R. J. A Review of the Recent Progress on Heterogeneous Catalysts for Knoevenagel Condensation. *Dalton Transactions* **2021**, 50 (13), 4445–4469. <https://doi.org/10.1039/D1DT00456E>.
- (129) Ravikumar, M. V.; Raj, A. K.; Rajeswara Rao, M.; Lakshmi, V. Structure-Property Evaluation of Knoevenagel-Derived π -Conjugated Organic Systems. *European J. Org. Chem.* **2025**, 28 (13). <https://doi.org/10.1002/ejoc.202401367>.
- (130) Panja, S. K.; Dwivedi, N.; Saha, S. First Report of the Application of Simple Molecular Complexes as Organo-Catalysts for Knoevenagel Condensation. *RSC Adv.* **2015**, 5 (80), 65526–65531. <https://doi.org/10.1039/C5RA09036A>.
- (131) Fadda, A. A.; El-Mekabaty, A.; Mousa, I. A.; Elattar, K. M. Chemistry of 3-(1H-Indol-3-Yl)-3-Oxopropanenitrile. *Synth. Commun.* **2014**, 44 (11), 1579–1599. <https://doi.org/10.1080/00397911.2013.861915>.
- (132) Li, G.; Xiao, J.; Zhang, W. Knoevenagel Condensation Catalyzed by a Tertiary-Amine Functionalized Polyacrylonitrile Fiber. *Green Chemistry* **2011**, 13 (7), 1828. <https://doi.org/10.1039/c0gc00877j>.
- (133) Ren, Y.; Lu, J.; Jiang, O.; Cheng, X.; Chen, J. Amine-Grafted on Lanthanide Metal-Organic Frameworks: Three Solid Base Catalysts for Knoevenagel Condensation Reaction. *Chinese Journal of Catalysis* **2015**, 36 (11), 1949–1956. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(15\)60945-7](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(15)60945-7).

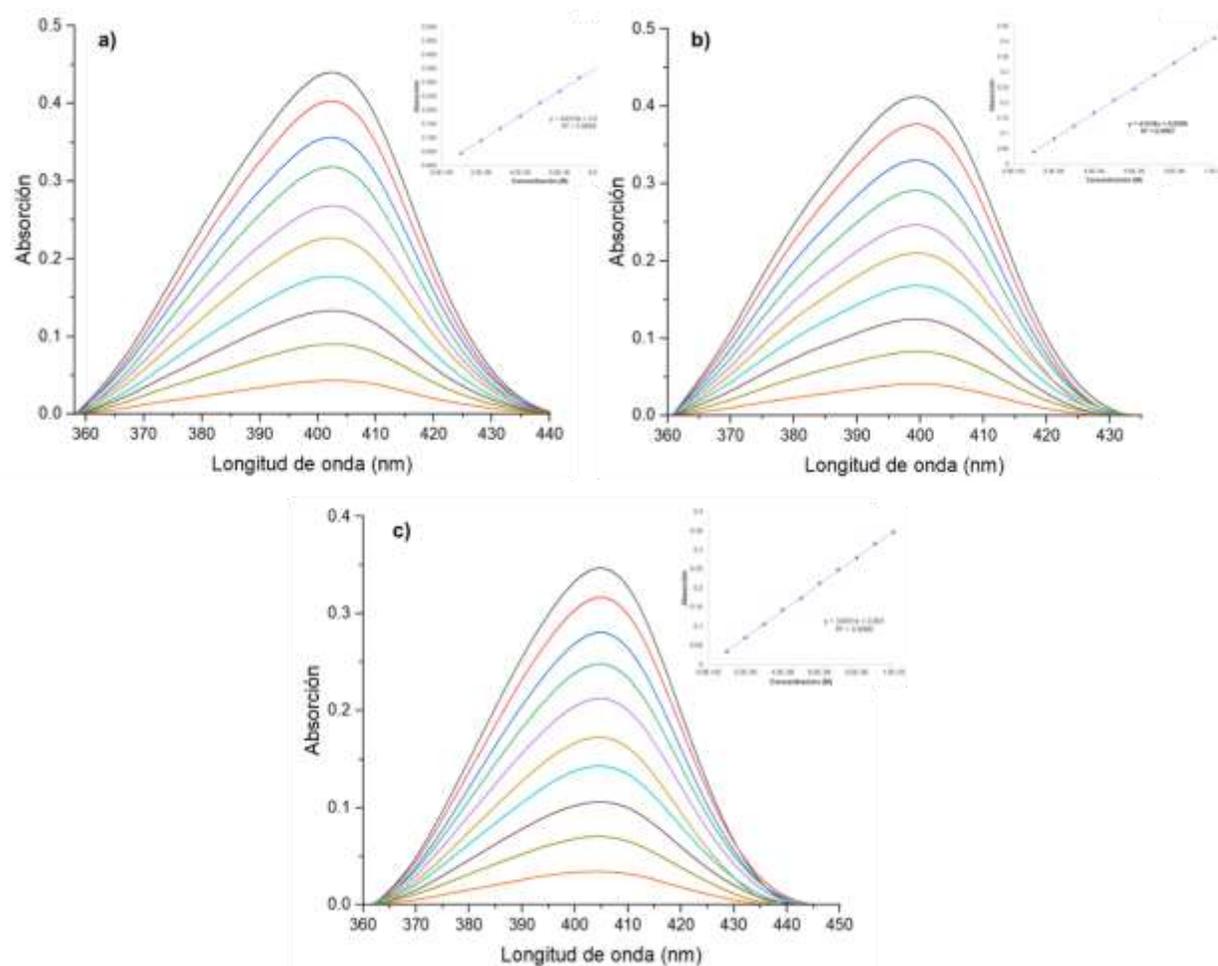
- (134) Yadav, J. S.; Reddy, B. V. S.; Basak, A. K.; Visali, B.; Narsaiah, A. V.; Nagaiah, K. Phosphane-Catalyzed Knoevenagel Condensation: A Facile Synthesis of A-Cyanoacrylates and A-Cyanoacrylonitriles. *European J. Org. Chem.* **2004**, *2004* (3), 546–551. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200300513>.
- (135) Ranise, A.; Lucchesini, F.; Caviglia, M.; Alfei, S.; Spallarossa, A.; Caneva, C. Unconventional Stereoselective One-Pot Synthesis of Knoevenagel-Type Indoles via in Situ Condensation of Iminium Salts with Active Methylene Reagents. *Tetrahedron* **2013**, *69* (51), 10858–10868. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.10.086>.
- (136) Kolagkis, P. X.; Serviou, S. K.; Stini, N. A.; Demertzidou, V. P.; Poursaitidis, E. T.; Galathri, E. M.; Mountanea, O. G.; Skolia, E.; Kokotos, C. G. Deciphering the Knoevenagel Condensation: Towards a Catalyst-Free and Water-Mediated Process. *Org. Biomol. Chem.* **2024**, *22* (41), 8293–8299. <https://doi.org/10.1039/D4OB01420K>.
- (137) Dyachenko, V. D.; Matusov, I. O.; Dyachenko, I. V.; Nenajdenko, V. G. Knoevenagel Reactions of Indole-3-Carbaldehyde. Synthesis of 3-Substituted Indole Derivatives. *Russian Journal of Organic Chemistry* **2018**, *54* (12), 1777–1784. <https://doi.org/10.1134/S1070428018120060>.
- (138) Narsaiah, A. V.; Basak, A. K.; Visali, B.; Nagaiah, K. An Eco-Friendly Synthesis of Electrophilic Alkenes Catalyzed by Dimethylaminopyridine Under Solvent-Free Conditions. *Synth. Commun.* **2004**, *34* (16), 2893–2901. <https://doi.org/10.1081/SCC-200026625>.
- (139) Tayyari, F.; Wood, D.; Fanwick, P.; Sammelson, R. Monosubstituted Malononitriles: Efficient One-Pot Reductive Alkylations of Malononitrile with Aromatic Aldehydes. *Synthesis (Stuttg)*. **2008**, *2008* (2), 279–285. <https://doi.org/10.1055/s-2007-990945>.
- (140) Trotzki, R.; Hoffmann, M. M.; Ondruschka, B. The Knoevenagel Condensation at Room Temperature. *Green Chemistry* **2008**, *10* (8), 873. <https://doi.org/10.1039/b808265k>.

- (141) Zhang, S.; Neumann, H.; Beller, M. Synthesis of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds by Carbonylation Reactions. *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49* (10), 3187–3210. <https://doi.org/10.1039/C9CS00615J>.
- (142) Cristina Silva Costa, D. Additions to Non-Activated Alkenes: Recent Advances. *Arabian Journal of Chemistry* **2020**, *13* (1), 799–834. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.07.017>.
- (143) Ashtekar, K. D.; Veticatt, M.; Yousefi, R.; Jackson, J. E.; Borhan, B. Nucleophile-Assisted Alkene Activation: Olefins Alone Are Often Incompetent. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (26), 8114–8119. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b02877>.
- (144) *Structure Determination of Organic Compounds*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2009. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-93810-1>.
- (145) Abraham, R. J.; Canton, M.; Reid, M.; Griffiths, L. Proton Chemical Shifts in NMR. Part 14. Proton Chemical Shifts, Ring Currents and π Electron Effects in Condensed Aromatic Hydrocarbons and Substituted Benzenes. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **2000**, No. 4, 803–812. <https://doi.org/10.1039/a907830d>.
- (146) Bertoloni, R. R.; Ramos, V. M.; de Lima Batista, A. P.; de Oliveira-Filho, A. G. S. Benchmarking Structures and UV–Vis Spectra of Iron Complexes Against Experimental Data. *J. Phys. Chem. A* **2025**, *129* (45), 10481–10495. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.5c06391>.
- (147) Zobel, J. P.; González, L. The Quest to Simulate Excited-State Dynamics of Transition Metal Complexes. *JACS Au* **2021**, *1* (8), 1116–1140. <https://doi.org/10.1021/jacsau.1c00252>.
- (148) Würth, C.; Grabolle, M.; Pauli, J.; Spieles, M.; Resch-Genger, U. Relative and Absolute Determination of Fluorescence Quantum Yields of Transparent Samples. *Nat. Protoc.* **2013**, *8* (8), 1535–1550. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.087>.

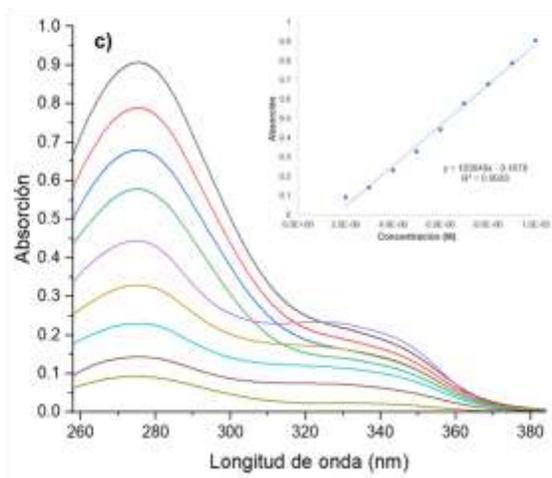
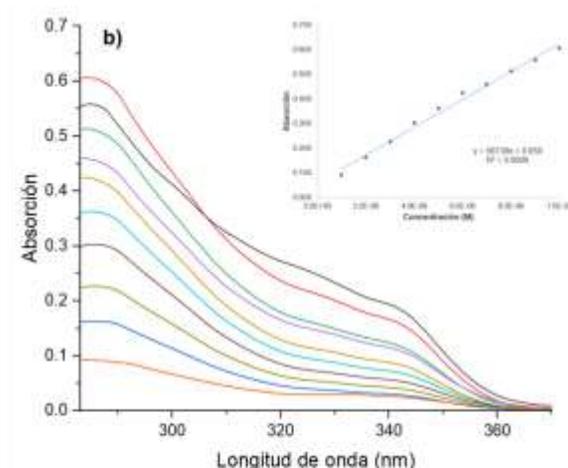
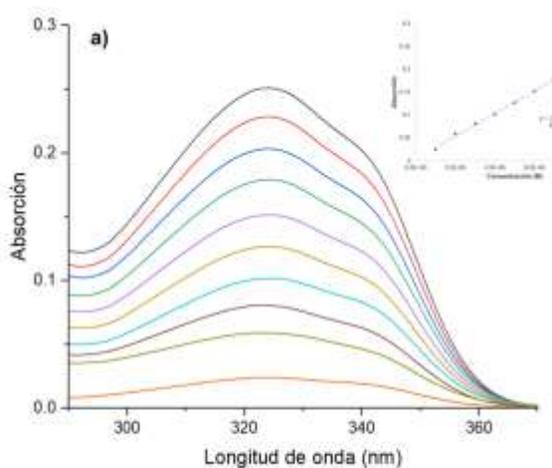
8. ANEXOS



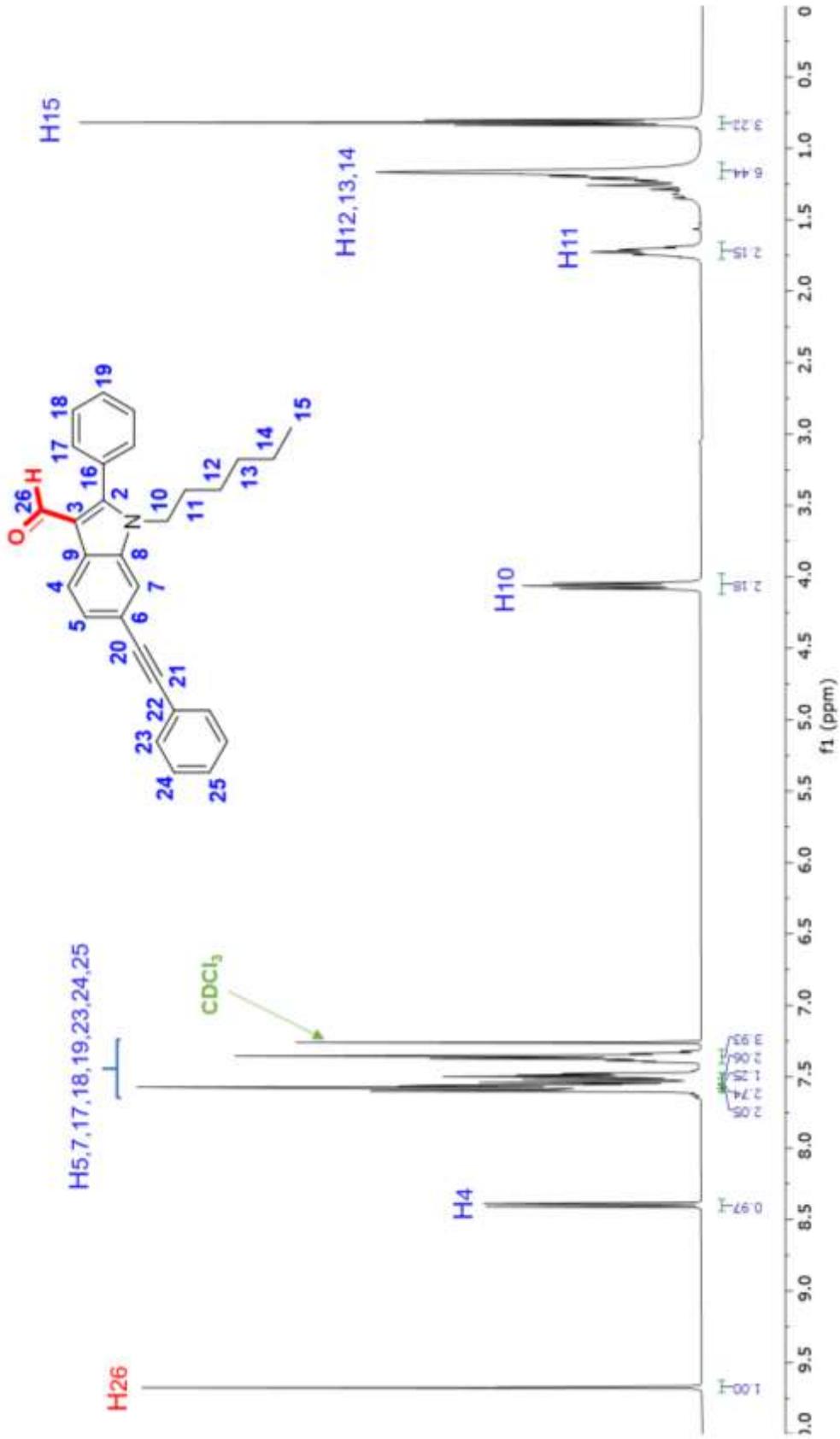
Bandas de absorción a diferentes concentraciones del compuesto **12** en disolventes **a)** CHCl₃, **b)** Tolueno y **c)** DMSO en el recuadro curva de calibración de los datos de absorción/concentración.



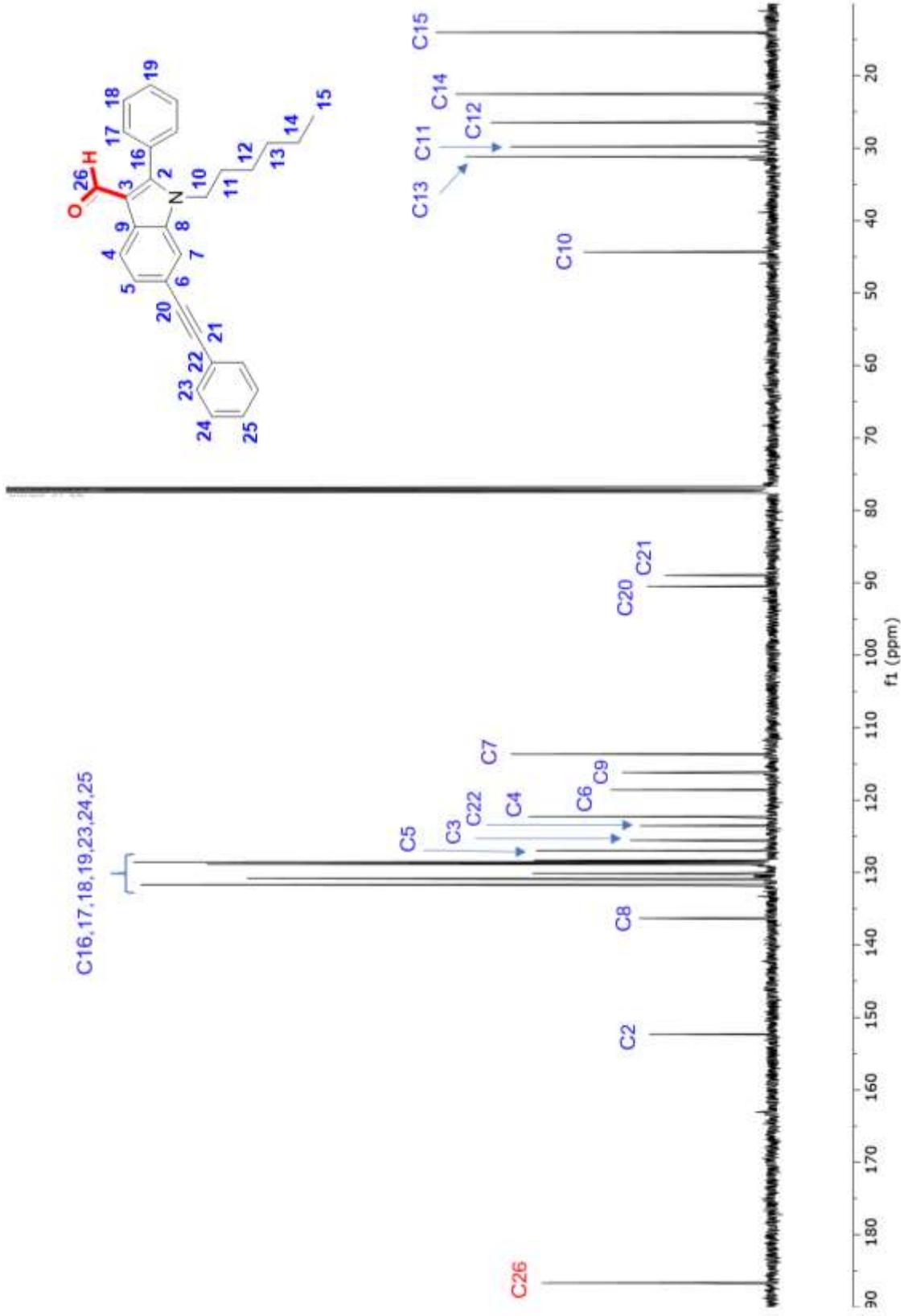
Bandas de absorción a diferentes concentraciones del compuesto **2** en disolventes **a)** CHCl_3 , **b)** Tolueno y **c)** DMSO en el recuadro curva de calibración de los datos de absorción/concentración.



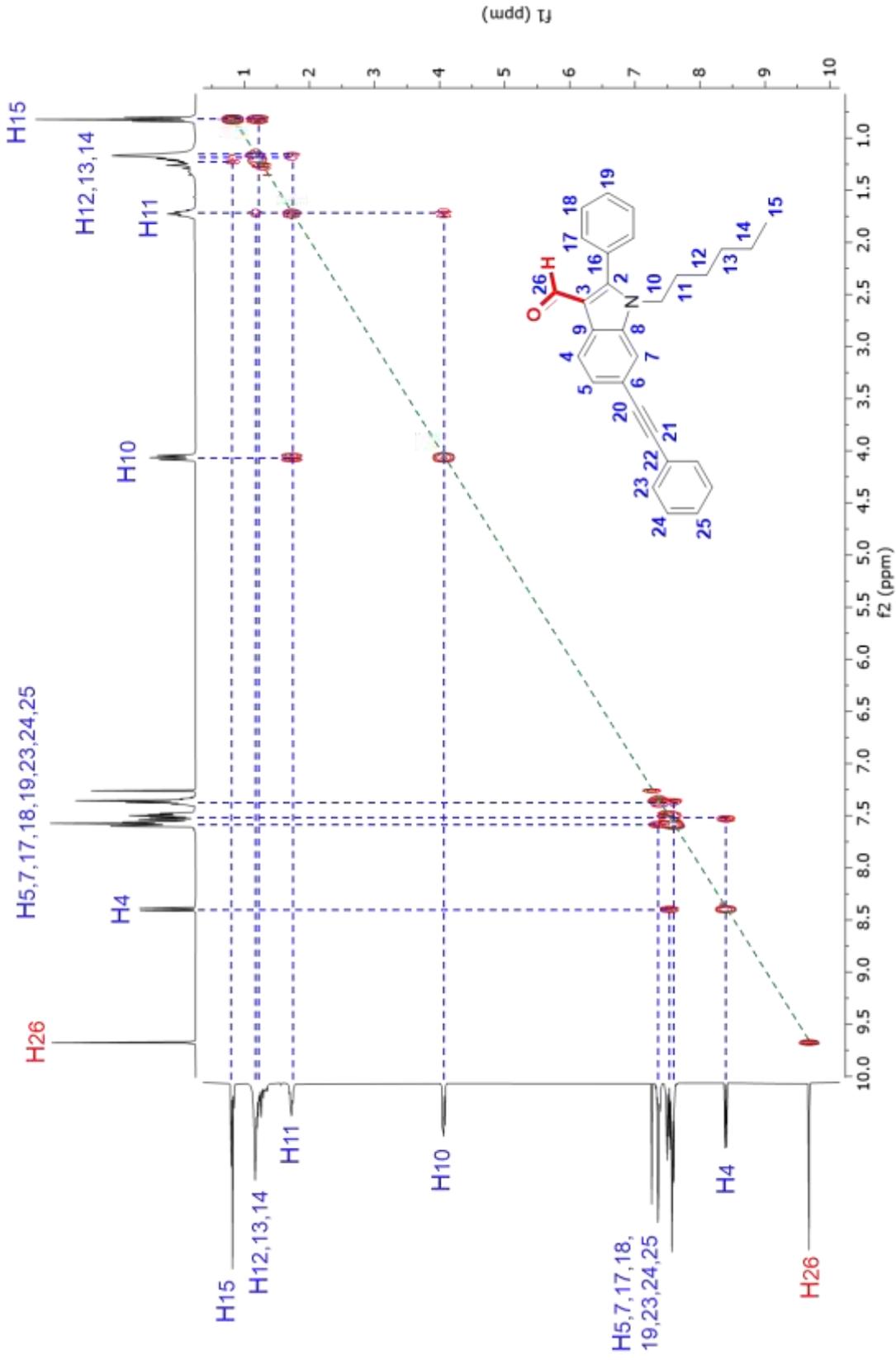
Bandas de absorción a diferentes concentraciones del compuesto **3** en disolventes **a)** CHCl_3 , **b)** Tolueno y **c)** DMSO en el recuadro curva de calibración de los datos de absorción/concentración.



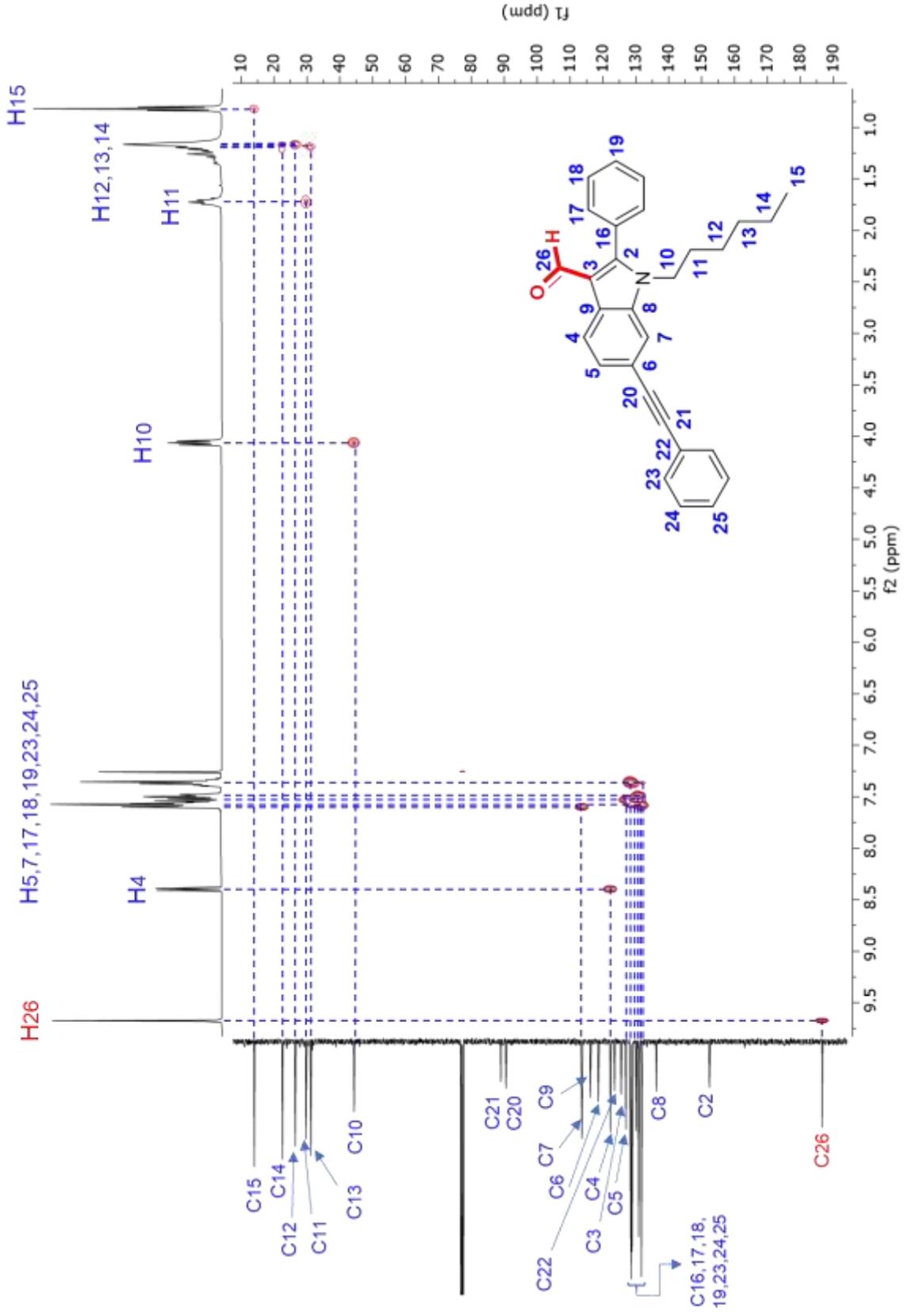
Espectro de RMN de ¹H del compuesto **12** en CDCl₃ a 400 MHz



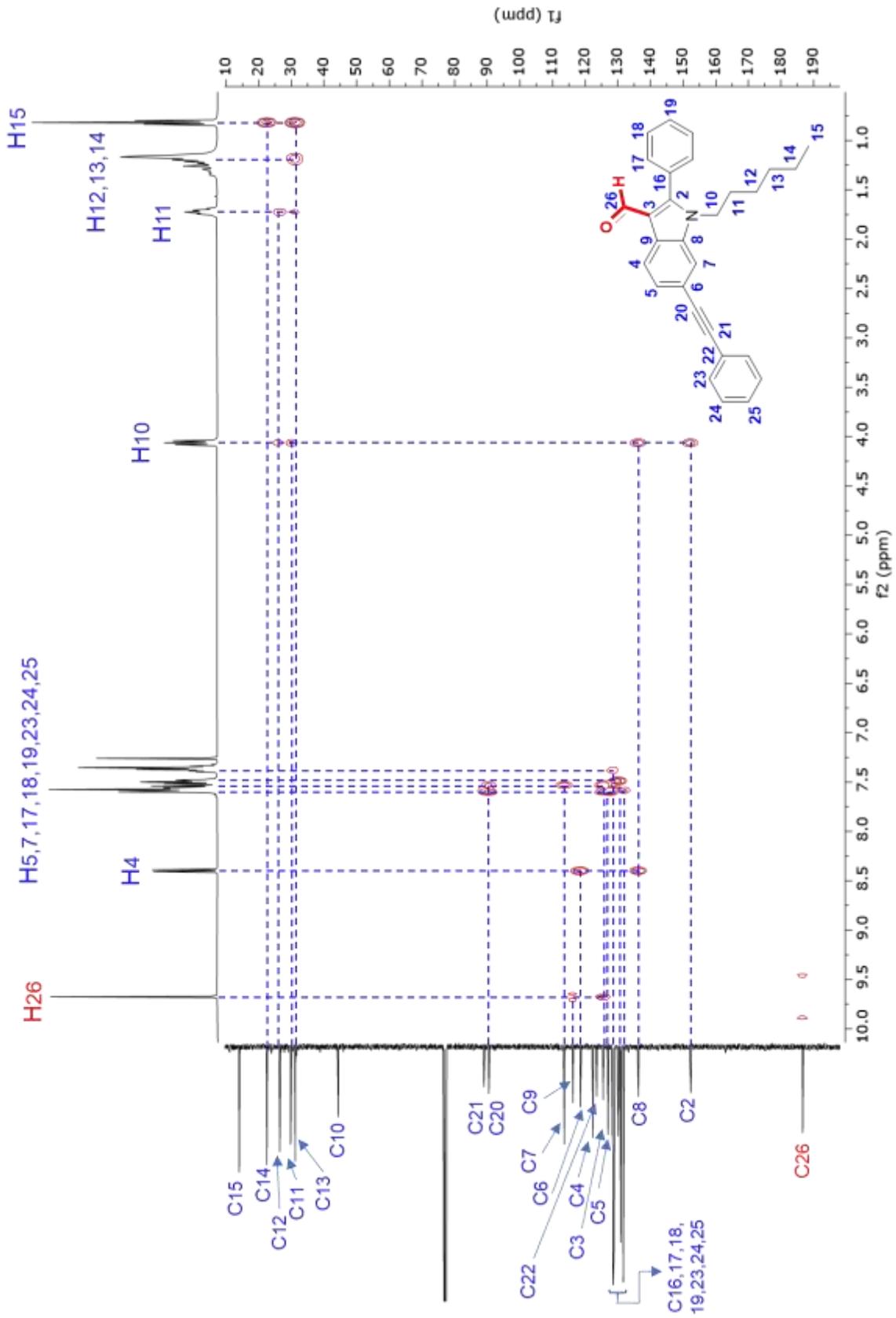
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto **12** en CDCl₃ a 100 MHz



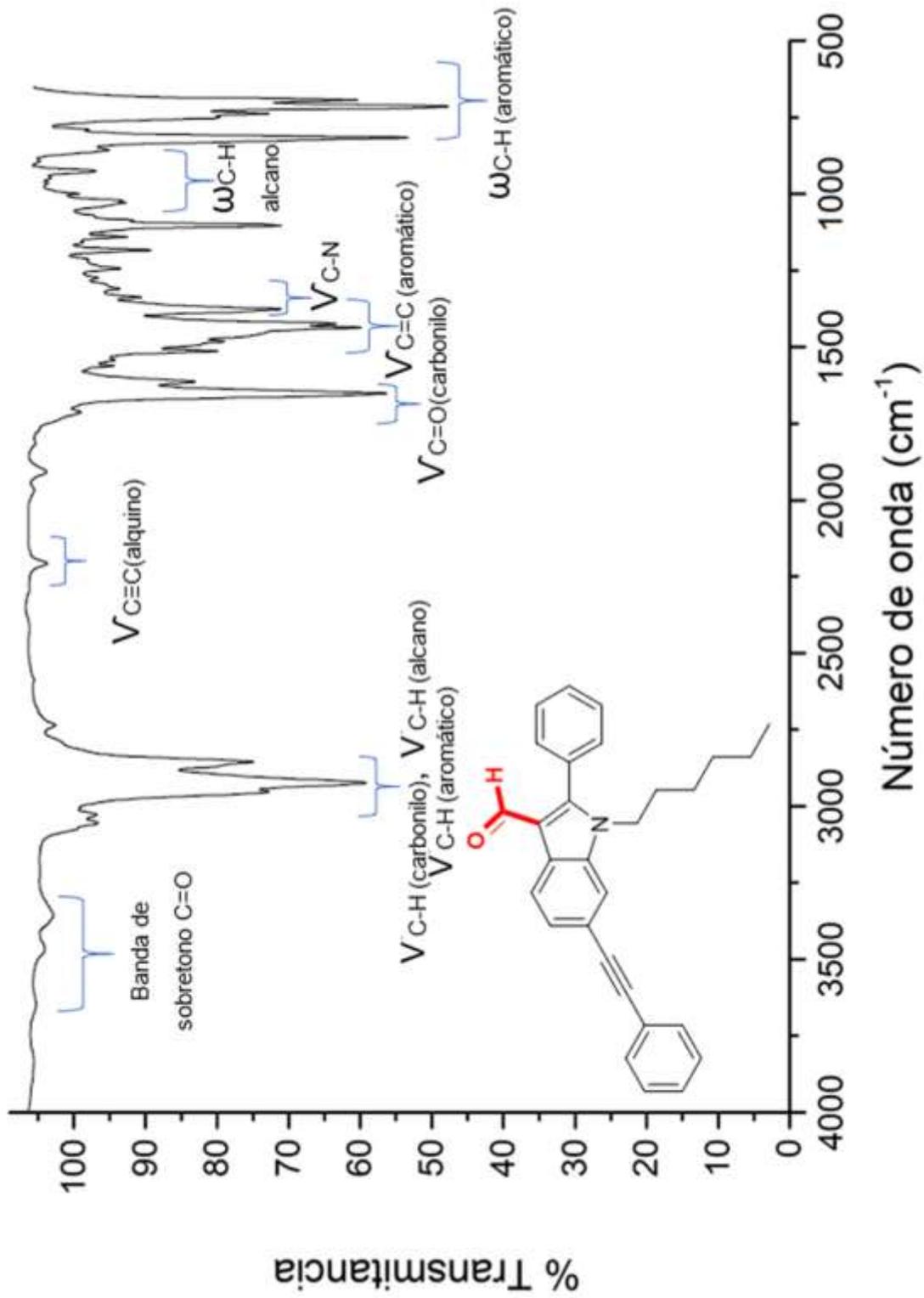
Espectro de RMN de COSY del compuesto **12** en CDCl_3



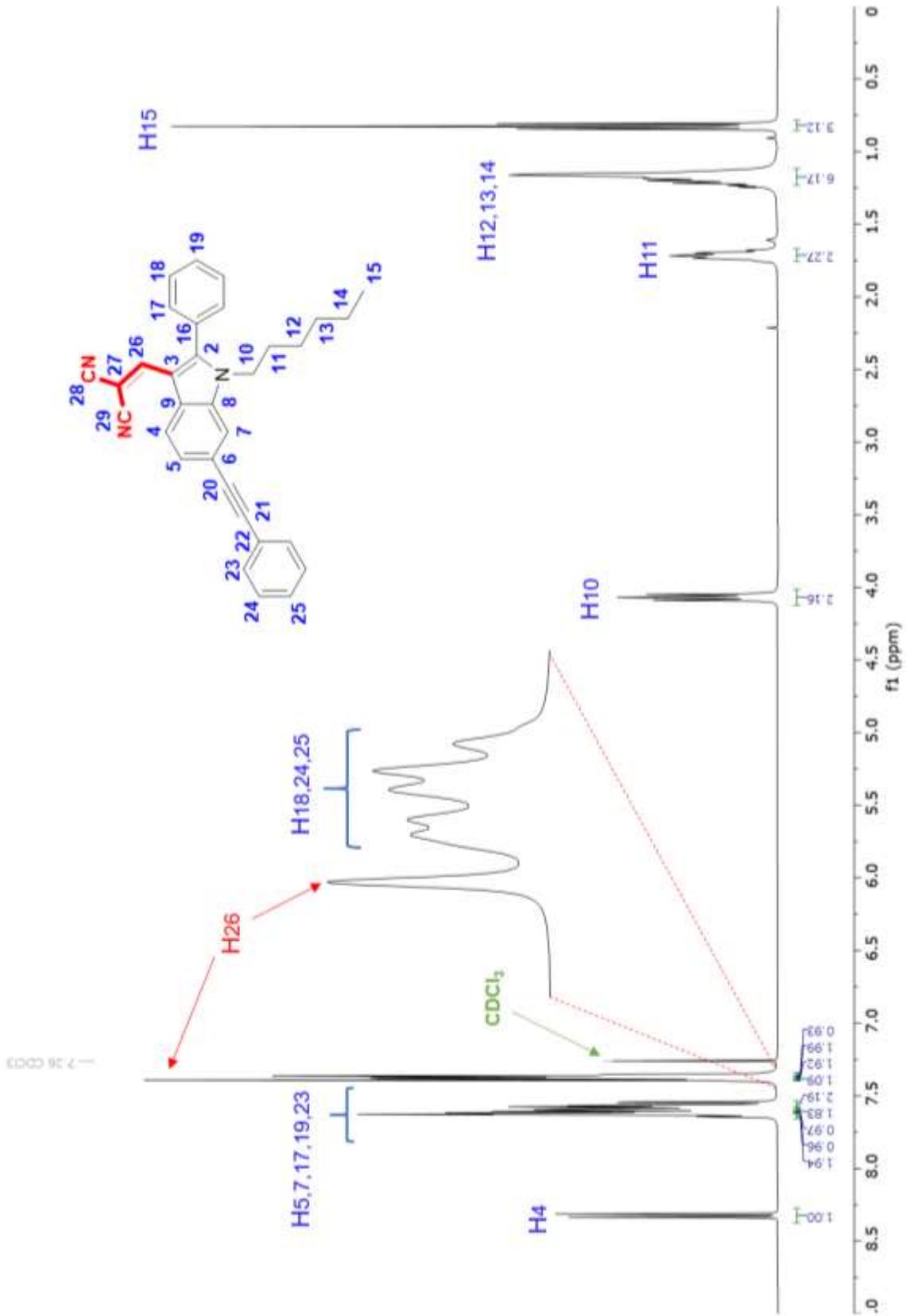
Espectro de RMN de HSQC del compuesto **12** en CDCl₃



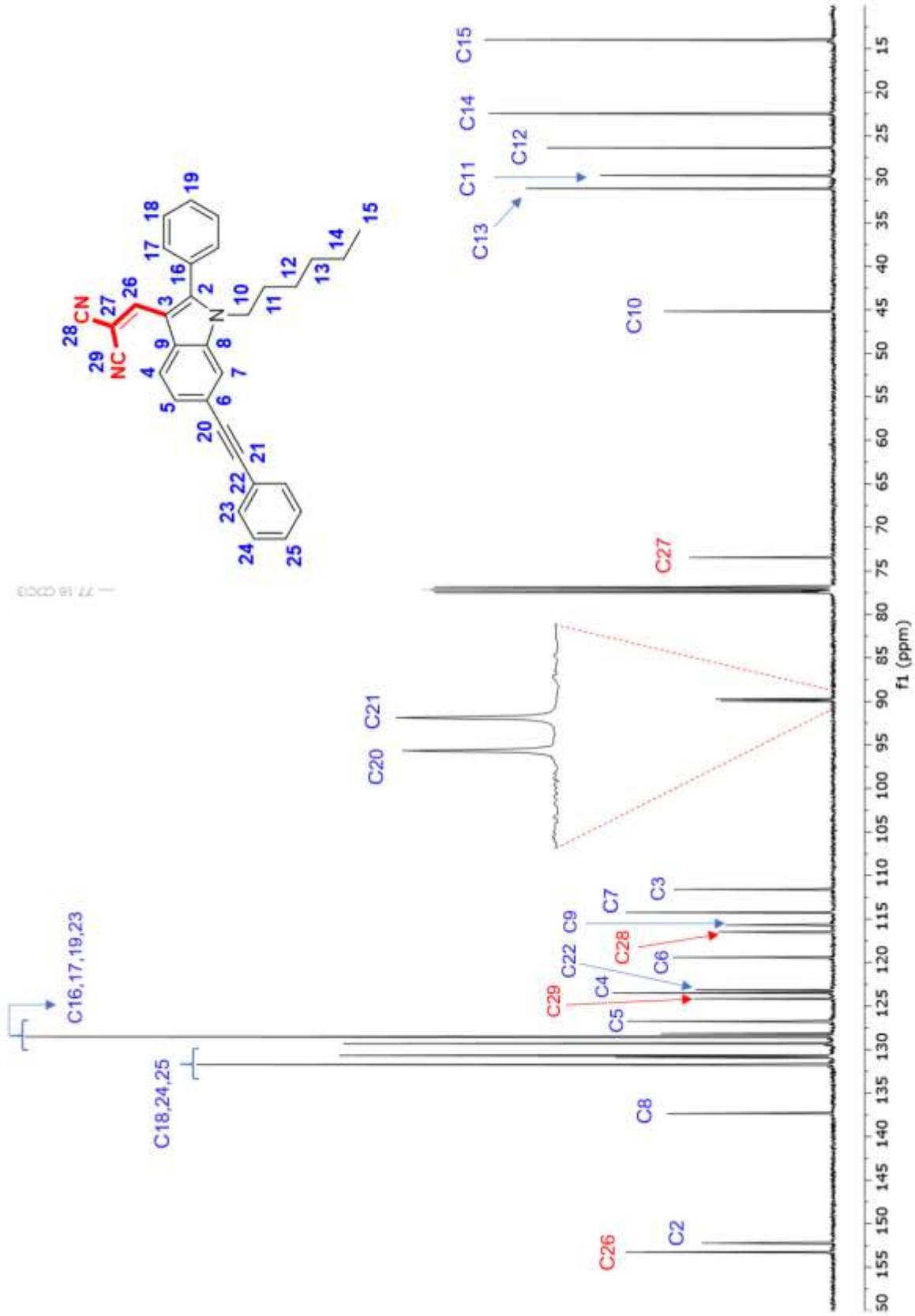
Espectro de RMN de HMBC del compuesto 12 en CDCl₃



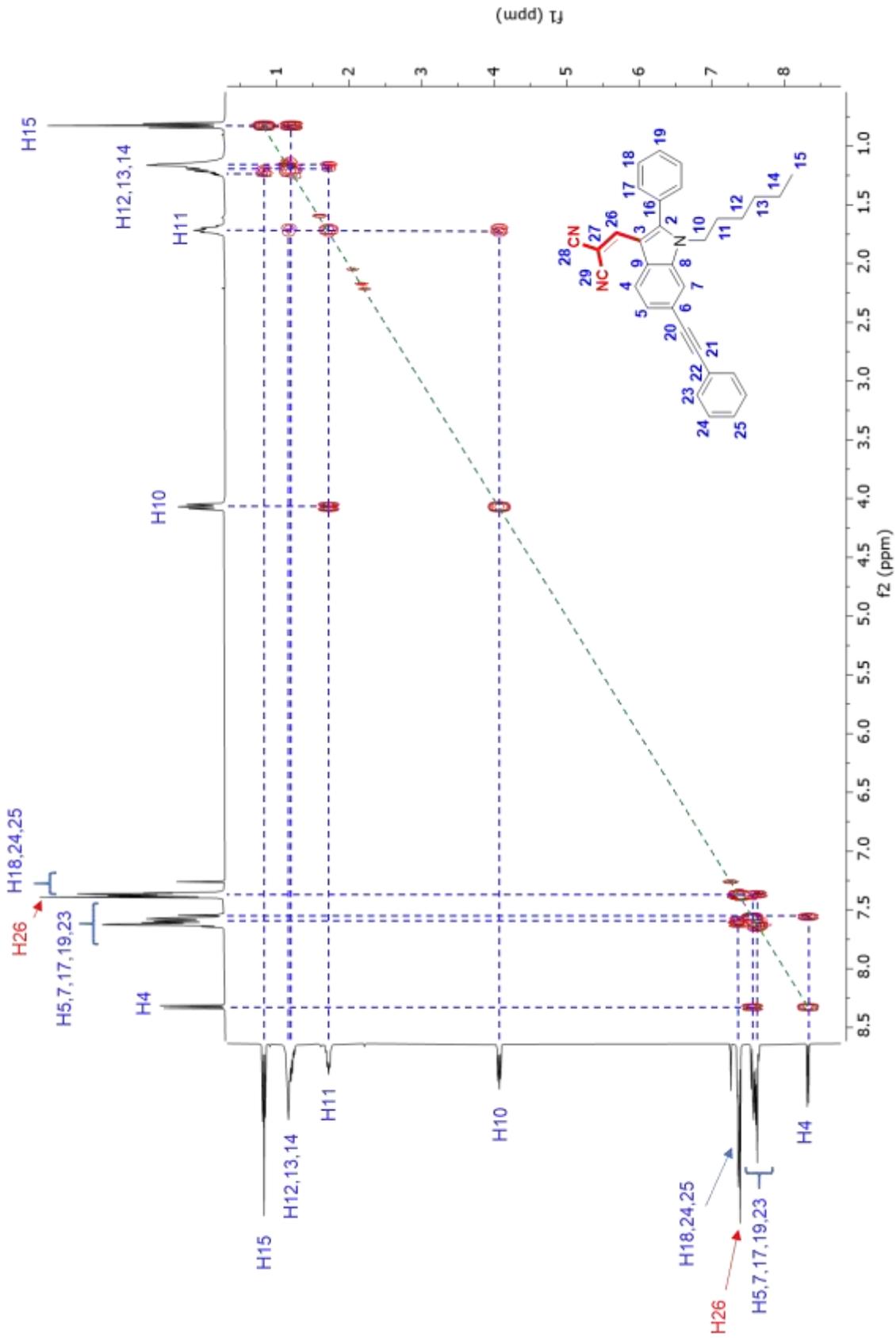
Espectro de FTIR-ATR del compuesto 12



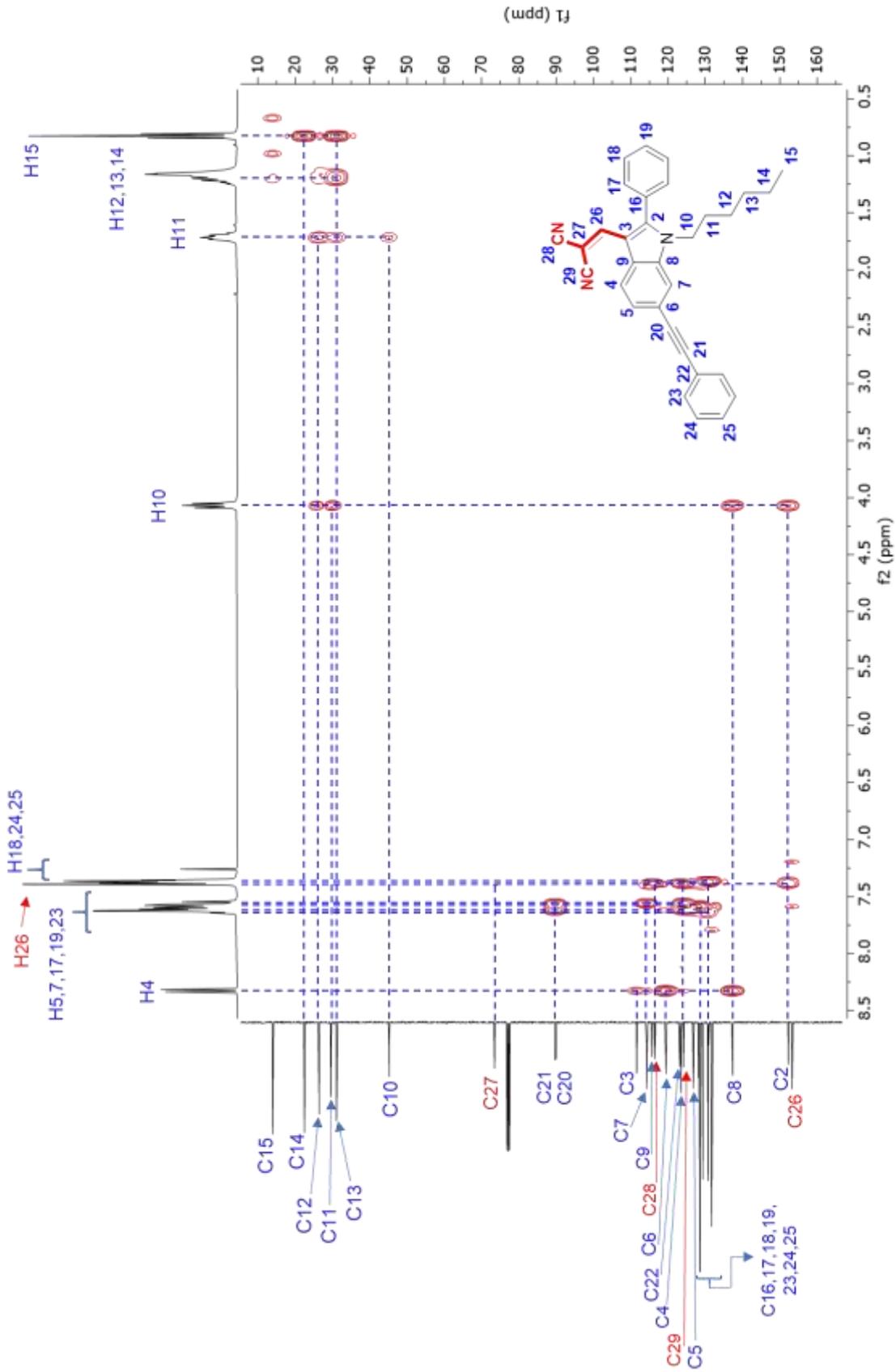
Espectro de RMN de ¹H del compuesto **2** en CDCl₃ a 400 MHz



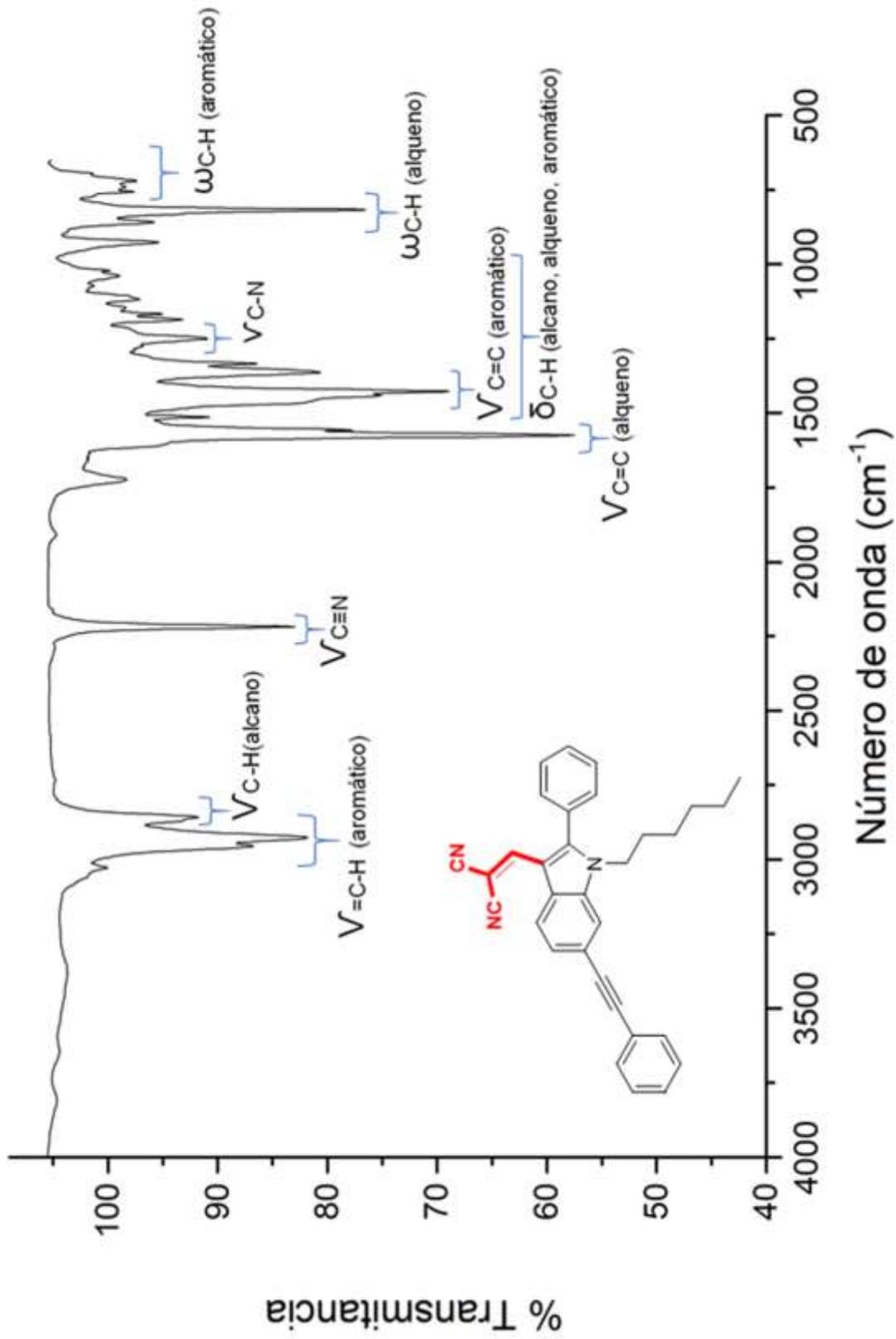
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 2 en CDCl_3 a 100 MHz



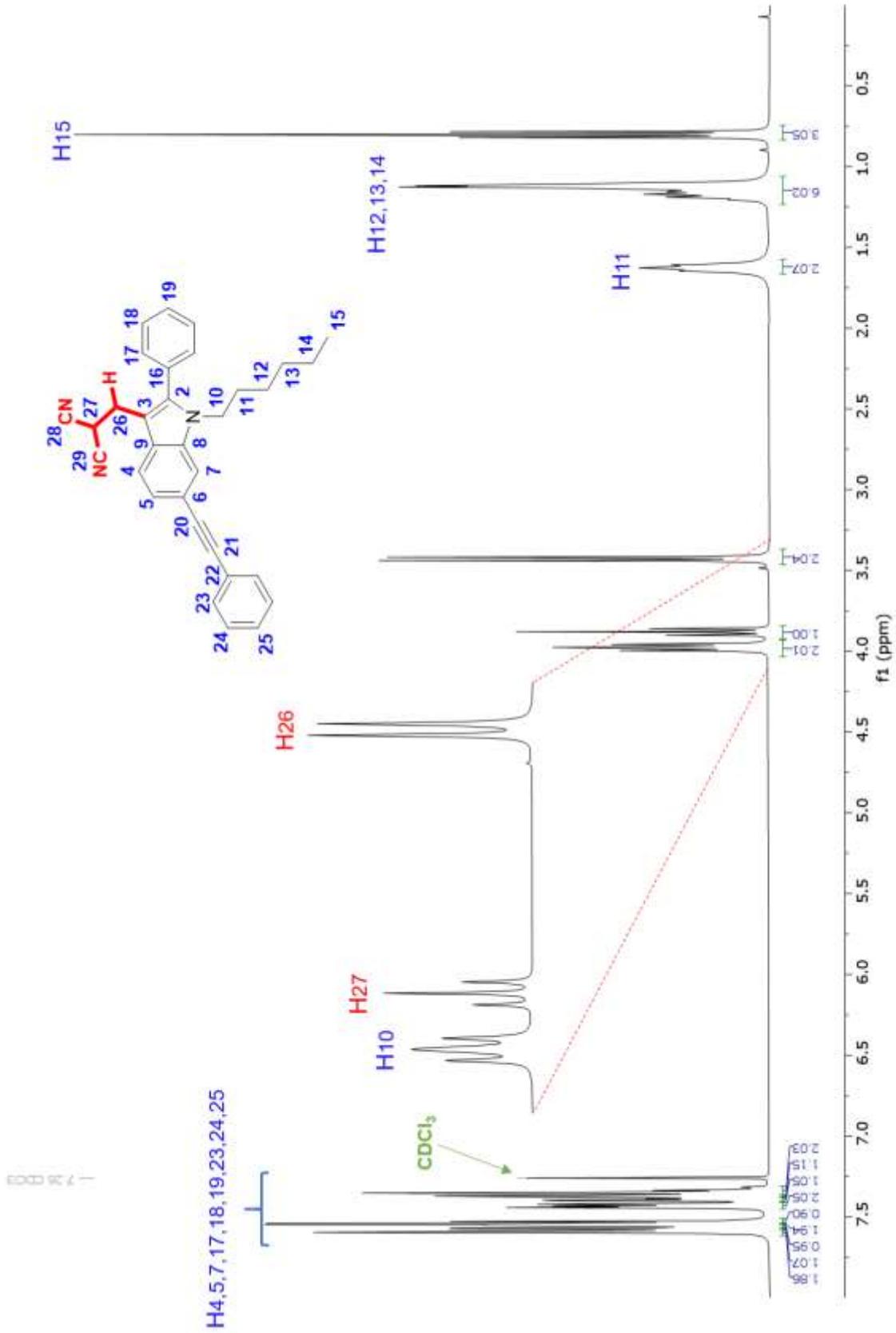
Espectro de RMN de COSY del compuesto **2** en CDCl_3



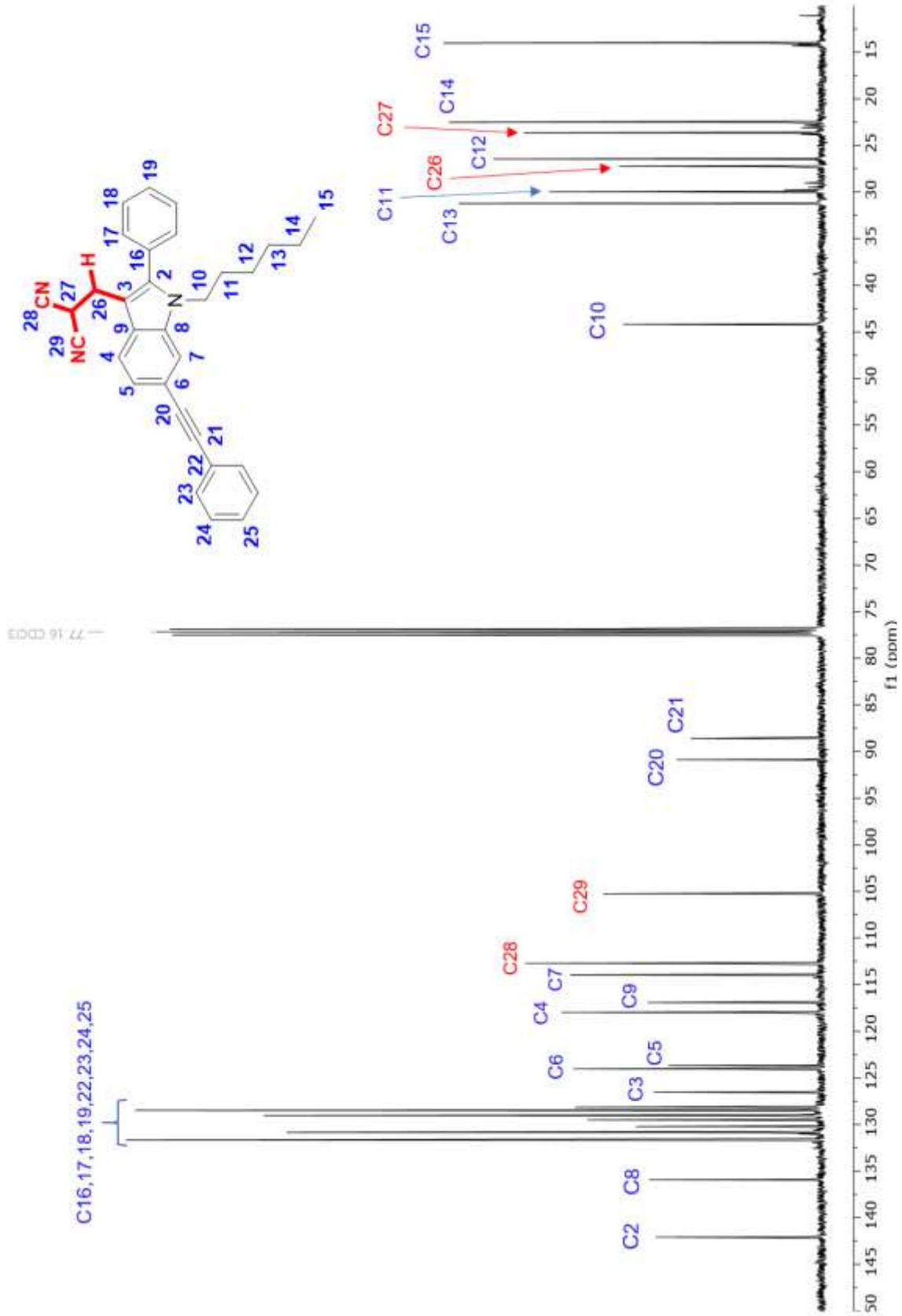
Espectro de RMN de HMBC del compuesto 2 en CDCl_3



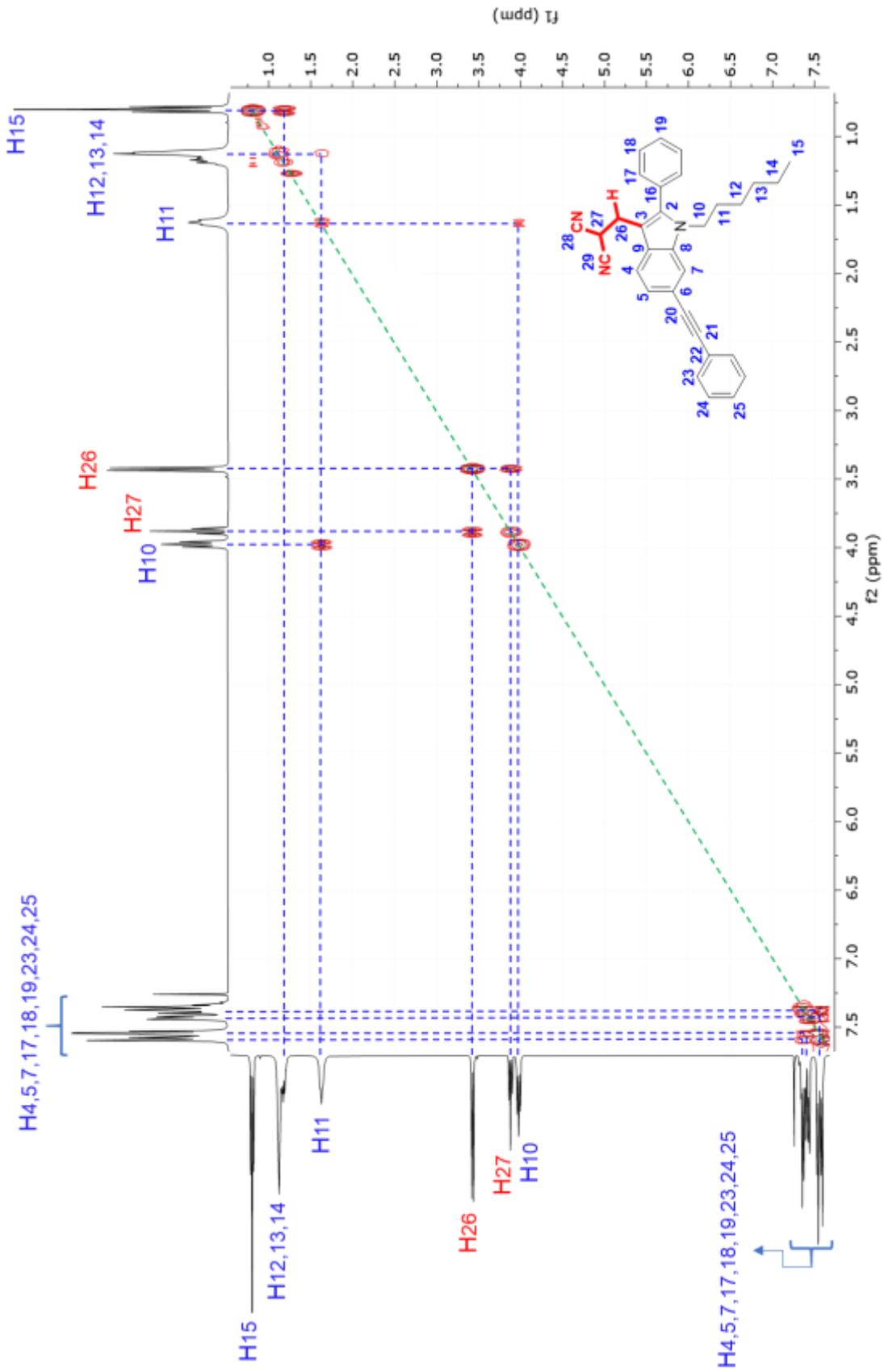
Espectro de FTIR-ATR del compuesto 2



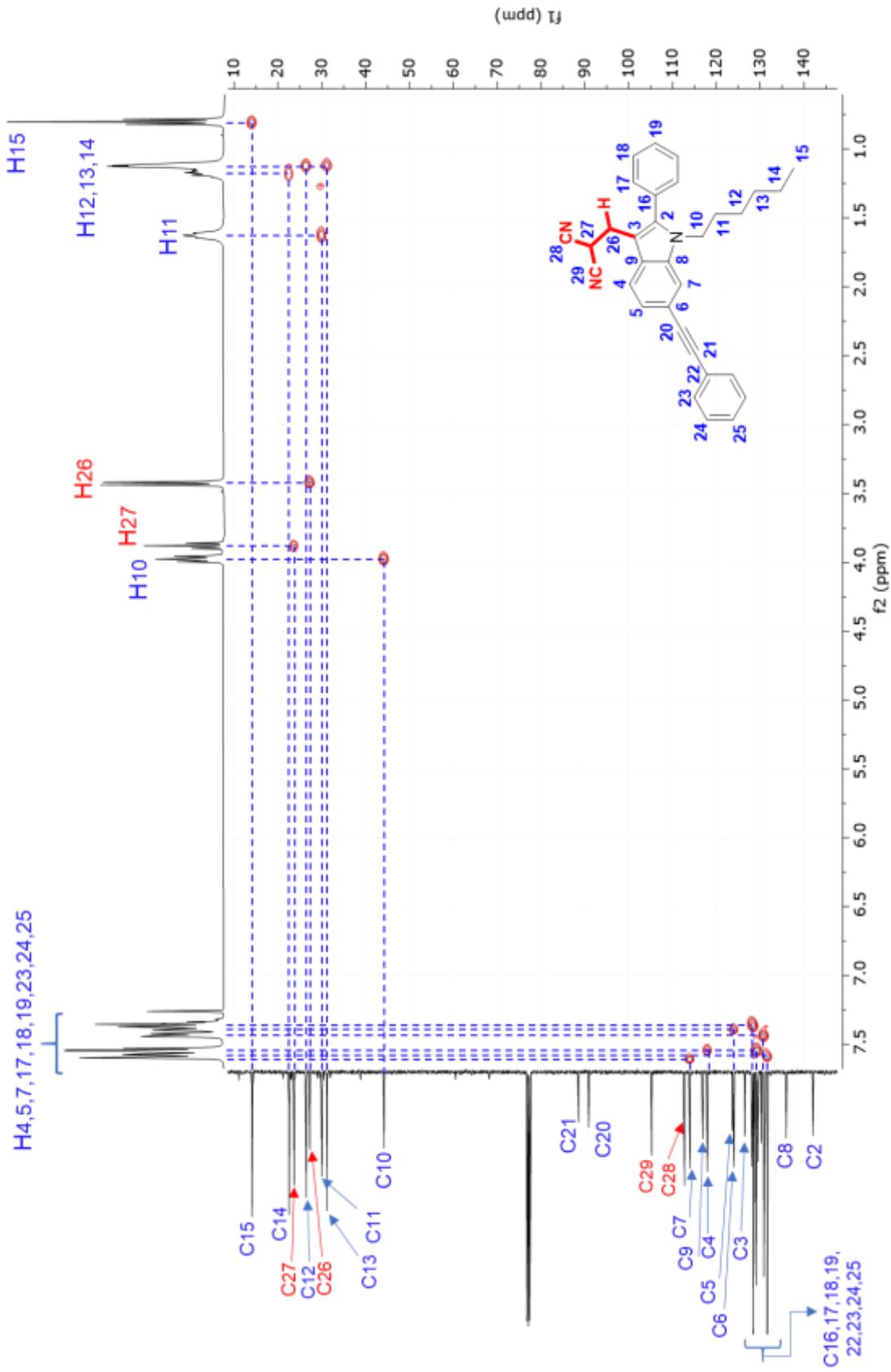
Espectro de RMN de ¹H del compuesto 3 en CDCl₃ a 400 MHz



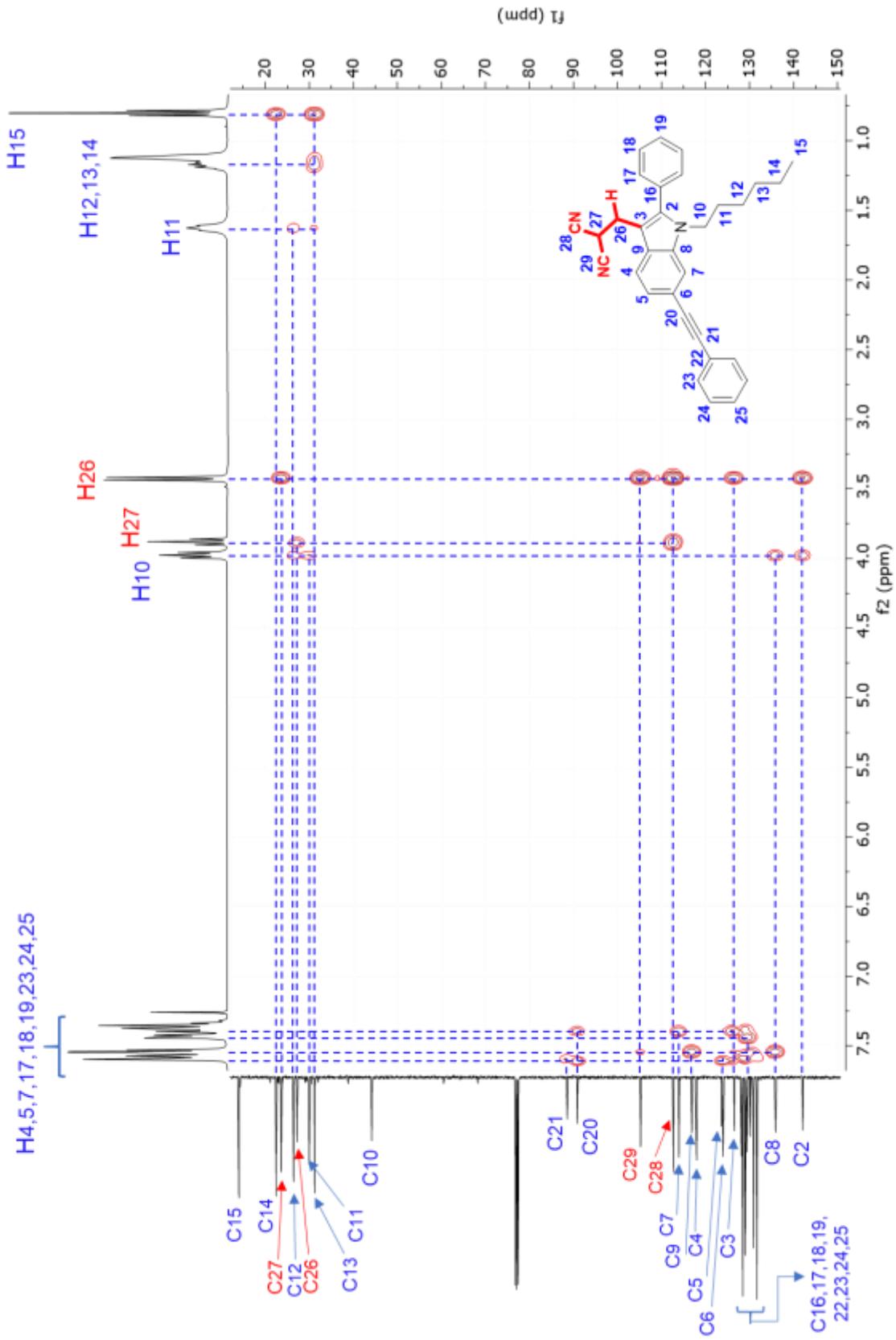
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 3 en CDCl_3 a 100 MHz



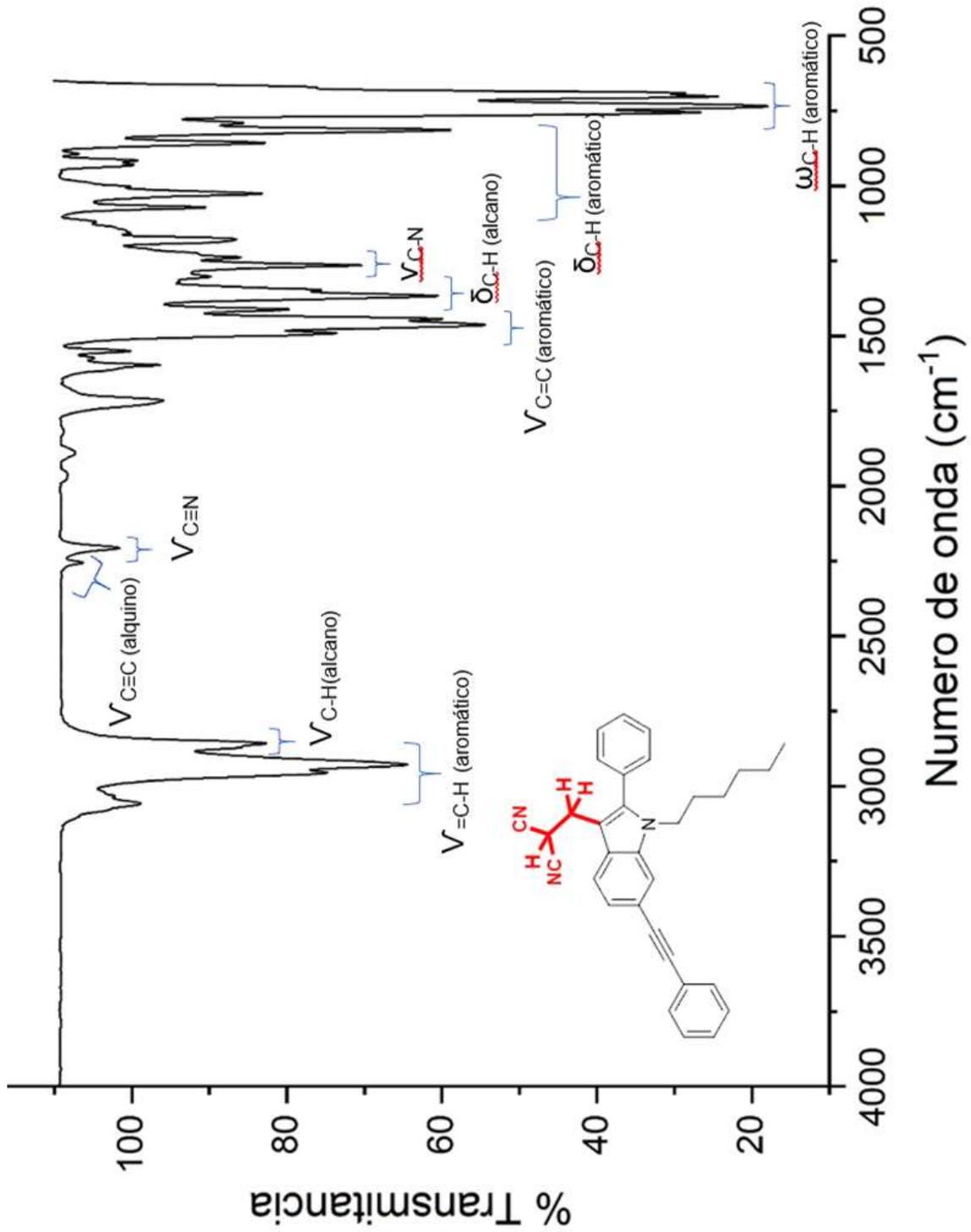
Espectro de RMN de COSY del compuesto **3** en CDCl_3



Espectro de RMN de HSQC del compuesto **3** en CDCl₃



Espectro de RMN de HMBC del compuesto **3** en CDCl₃



Espectro de FTIR-ATR del compuesto 3