

**GRADO EN CIENCIAS EXPERIMENTALES**

**Curso académico 2023/2024**

**Trabajo Fin de Grado**



**Universidad  
Rey Juan Carlos**

**MODULACIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS EN  
8-CARBOXIBODIPYS PARA SU USO EN DIVERSAS  
APLICACIONES**

Autor: D. José Lázaro Godoy

Tutores: Dr. <sup>a</sup> Esther María Márquez Sánchez Carnerero

Dr. Javier Álvarez Conde

4 de octubre de 2024

# Índice

Abreviaturas .....	3
1. Resumen .....	4
2. Introducción.....	5
2.1 Propiedades fotofísicas del cromóforo BODIPY .....	6
2.2 Síntesis y derivatización del cromóforo BODIPY.....	9
2.2.1 Funcionalización de la posición 8 .....	11
2.2.2 Funcionalización en posiciones 2 y 6.....	11
2.2.3 Funcionalización en posiciones 3 y 5.....	11
3. Objetivo.....	13
4. Procedimiento experimental.....	14
4.1 Técnicas de caracterización.....	14
4.1.1 Resonancia magnética nuclear (RMN).....	15
4.1.2 Espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-Vis) .....	15
4.1.3 Espectroscopia de fluorescencia .....	16
4.1.4 Rendimiento cuántico de Fluorescencia .....	17
4.2 Síntesis de derivados de BODIPY.....	18
4.2.1 Síntesis de 4,4'-difluoro-8-metoxicarbonil-1,3,5,7-tetrametil-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno (1):.....	18
4.2.2 Síntesis de 4,4'-difluoro-2,6-diyodo-8-metoxicarbonil-1,3,5,7-tetrametil-4-boro-3a, 4a-diaza-s-indaceno (2): .....	18
4.2.3 Síntesis de 3,5-diestiril-4,4'-difluoruro-1,7-dimetil-8-metoxicarbonil-4-boro-3a, 4a-diaza-s-indaceno (4): .....	19
4.2.4 Procedimiento general para la síntesis de 8-carboxi BODIPYs: .....	19
4.2.4.1. Síntesis de 4,4'-difluoruro-2,6-diyodo-8-carboxi-1,3,5,7-tetrametil-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno (3):.....	19
4.2.4.2. Síntesis de 3,5-diestiril-4,4'-difluoruro-1,7-dimetil-8-carboxi-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno (5):.....	20
5. Discusión de resultados .....	21

5.1 Síntesis .....	21
5.2 Estudio de las propiedades fotofísicas .....	26
6. Conclusiones .....	29
7. Bibliografía.....	30
8. Anexos .....	0

## **Abreviaturas**

**AcOEt:** Acetato de etilo

**BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O:** trifluoruro de boro eterato

**CCF:** cromatografía en capa fina

**CDCl<sub>3</sub>:** Cloroformo deuterado

**DCM:** Diclorometano

**Et<sub>3</sub>N:** trietilamina

**EtOAc:** etil acetato

**Hex:** n-Hexano

**IC:** conversión interna

**ISC:** cruce intersistémico

**MeOD:** Metanol deuterado

**MeOH:** metanol

**MgSO<sub>4</sub>:** sulfato magnésico

**NIR:** infrarrojo cercano

**RMN:** Resonancia magnética nuclear

**ROS:** especies reactivas de oxígeno

**S<sub>E</sub>Ar:** sustitución electrófila aromática

**S<sub>N</sub>Ar:** sustitución nucleófila aromática

**TFD:** terapia fotodinámica

**UV-Vis:** Espectroscopía de ultravioleta-visible

## 1. Resumen

Los compuestos de 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno también conocidos como BODIPYs son fluoróforos orgánicos que han ganado gran popularidad en los últimos años por sus prometedoras características fotofísicas y fotoquímicas. Estos compuestos permiten una gran variedad de funcionalizaciones permitiendo la modulación de las propiedades para su aplicación. De esta forma, el esqueleto básico del BODIPY se puede derivatizar permitiendo el anclaje a nanopartículas mediante un grupo carboxilo en posición *meso*, la producción de ROS mediante la introducción de átomos pesados, como el yodo que promueven el cruce entre sistemas o la extensión de la conjugación con grupos estirilo que desplaza los máximos de absorción y emisión hacia la zona del rojo cercano en el espectro electromagnético, permitiendo su aplicación en biomedicina al disminuir la absorción en tejidos acercándose a la región de la ventana biológica. Durante este Trabajo de Fin de Grado se realizará la síntesis de dos compuestos BODIPY, y se estudiará como varían sus propiedades fotofísicas debido a la derivatización.

## 2. Introducción

En los últimos años, los colorantes fluorescentes han captado la atención en diversas disciplinas. Entre las diferentes clases de compuestos fluorescentes, los 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (BODIPYs) han sido ampliamente estudiados debido a sus interesantes propiedades como son, altos coeficientes de extinción molar (entre 40000 y 110000  $M^{-1}\cdot cm^{-1}$ ) y altos rendimientos cuánticos de fluorescencia, facilidad de funcionalización, longitudes de onda de absorción y emisión modulables, así como una excelente fotoestabilidad y estabilidad química.<sup>1</sup> El primer compuesto de esta clase fue descubierto por Treibs y Kreuzer en 1968,<sup>2</sup> pero hasta finales de los años 80 no fue reconocido su potencial para el etiquetado biológico, desde entonces los BODIPYs han ganado popularidad como colorantes altamente fluorescentes, utilizados en espectroscopia de imagen de fluorescencia. Son altamente destacables por su potencial y sus diversos usos, tales como marcadores fluorescentes en técnicas de imagen celular y de tejidos, sondas para bioimagen,<sup>3</sup> detección de iones y moléculas en dispositivos optoelectrónicos y fotónicos como láseres y dispositivos de almacenamiento de datos, para la creación de tintes, pinturas y otros productos que requieren propiedades luminiscentes y en terapia fotodinámica (TFD).<sup>4</sup> La TFD es un enfoque terapéutico contra el cáncer, de triple modalidad, es decir, combina un fotosensibilizador, oxígeno y luz para generar ROS (por sus siglas en inglés “*reactive oxygen species*”) que causan la muerte celular.

Las ROS son formas parcialmente reducidas o excitadas del oxígeno atmosférico. Funcionan en las células como moléculas de señalización, pero también se las considera subproductos tóxicos inevitables del metabolismo aeróbico.<sup>5</sup> Las ROS comprenden tanto especies radicales como no radicales. Las especies radicales tienen un electrón desapareado en la capa de valencia por lo que son muy reactivas. Una de las características de las especies radicales es que tienen tendencia a crear reacciones en cadena, es decir, un radical genera otro y así de forma sucesiva. Entre ellas encontramos los superóxidos (radical alcóxido,  $O_2^{\cdot-}$ ) y los hidroxilos (radical peróxido,  $OH^{\cdot}$ ).<sup>6</sup> Las especies no radicales no presentan un electrón desapareado por lo tanto son menos reactivas que las especies radicales, aunque pueden participar en procesos de oxidación de forma menos agresiva. Dentro de estas especies encontramos oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), ozono ( $O_3$ ) o peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).<sup>7</sup> Todas estas especies son altamente tóxicas por lo que su producción descontrolada puede alterar o destruir partes celulares.<sup>6</sup> A pesar de su alta toxicidad, se utilizan como moléculas señalizadoras intracelulares, que a diferencia de la señalización convencional, esta se produce a través de reacciones químicas con átomos específicos de proteínas.<sup>8</sup> Otras funciones de los ROS son defensa inmune contra agentes biológicos externos, como moléculas mensajeras<sup>6</sup> y en descontaminación de aguas contaminadas.<sup>9</sup>

Como se ha mencionado anteriormente, los BODIPYs son compuestos muy utilizados en aplicaciones biológicas, aunque el rango típico de absorción de estos fluoróforos se centra alrededor de 500-600 nm, son fáciles de funcionalizar para modular sus propiedades y conseguir un desplazamiento batocrómico

hacia el rango del rojo/infrarrojo cercano (NIR). Trabajar en la región del rojo/NIR del espectro es beneficioso debido a que es donde se ubica la primera "ventana biológica", término que describe el rango del espectro electromagnético donde se minimizan la autofluorescencia y la absorción por tejidos y agua, además de reducir la dispersión de la luz (Figura 1). Esto permite que la luz láser penetre más profundamente (hasta 5 cm) en lo que también se conoce como la "ventana terapéutica". Estos factores, sumados a la disponibilidad de fuentes de excitación y detectores de bajo costo en la región NIR, han impulsado el desarrollo de nuevos fluoróforos con altos coeficientes de absorción molar y un alto rendimiento cuántico de fluorescencia en esta región.<sup>10</sup>

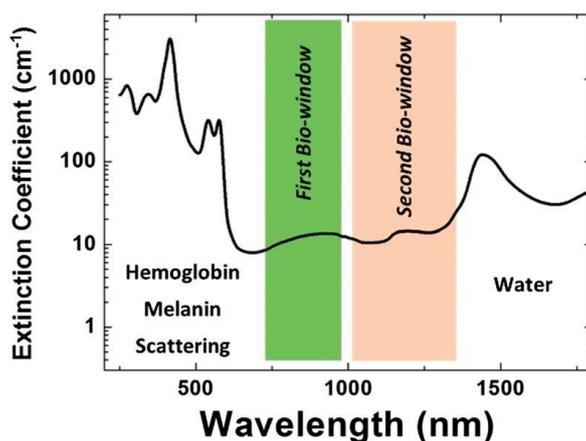
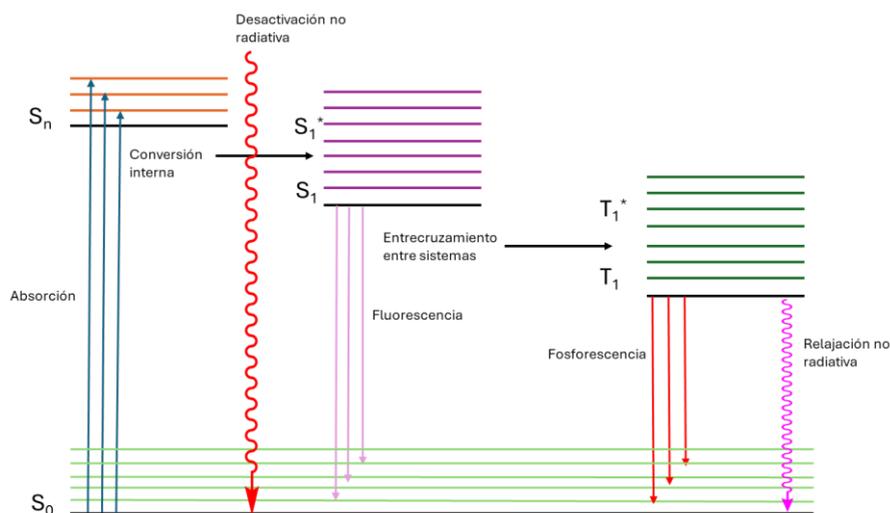


Figura 1. Región de la ventana biológica<sup>11</sup>

## 2.1 Propiedades fotofísicas del cromóforo BODIPY

Mediante el diagrama de Jablonski (Figura 2) se pueden explicar las posibles transiciones que ocurren al excitar una molécula. Cuando se absorbe un fotón, un electrón es promovido del estado fundamental ( $S_0$ ) a un estado singlete excitado ( $S_n$ ) con el mismo número de espín (0). Posteriormente, el electrón promovido a  $S_n$  experimenta una relajación no radiativa ultrarrápida hacia los niveles vibracionales excitados del estado electrónico más bajo ( $S_1^*$ ) en una escala de tiempo de  $10^{-14}$ - $10^{-13}$ s, en un proceso conocido como conversión interna. Posteriormente, se produce la relajación del nivel  $S_1^*$  al nivel vibracional más bajo ( $S_1$ ). La conversión interna y la relajación vibracional transforman el exceso de energía en calor a través de la reorganización de la geometría molecular y la activación de los modos vibracionales, respectivamente.

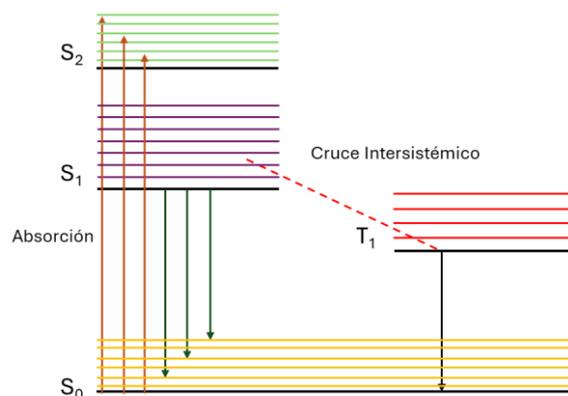
Los procesos de relajación hacia el estado fundamental pueden ocurrir mediante desactivación radiativa o no radiativa. La desactivación radiativa ocurre entre dos estados moleculares (estado excitado y estado fundamental) donde la diferencia de energía se emite en forma de fotones, mientras que la desactivación no radiativa ocurre entre dos estados moleculares sin emisión de fotones.



**Figura 2.** Diagrama de Jablonski

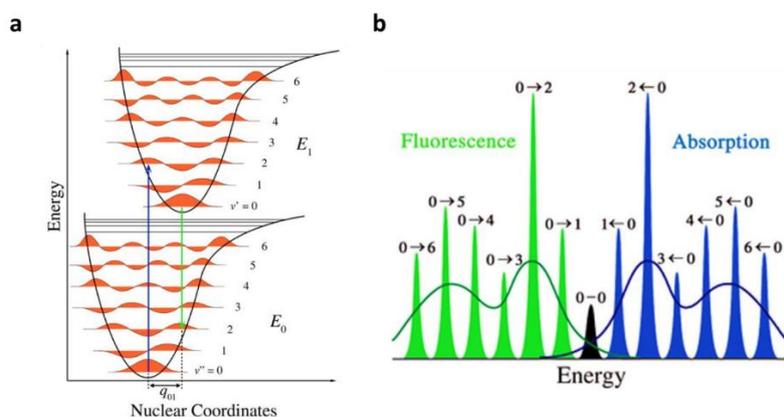
Tras la relajación a  $S_1$ , pueden ocurrir varios procesos competidores. Primero, puede tener lugar la desactivación radiativa  $S_1-S_0$  mediante la emisión de un fotón (fluorescencia), en una escala de tiempo de  $10^{-10}$ - $10^{-8}$ s. También puede ocurrir la desactivación no radiativa hasta  $S_0$ , limitando el rendimiento cuántico de la fluorescencia. Finalmente, también es posible la relajación no radiativa entre dos estados electrónicos de diferente multiplicidad. Como se muestra en el diagrama de Jablonski (Figura 2) para pasar del estado  $S_1$  al estado  $T_1$  tiene lugar un cruce entre sistemas (ISC). Este es un proceso foto-físico en el que una molécula en estado excitado singlete (con espines apareados), pasa a un estado triplete (con espines desapareados). Este proceso se ve favorecido por un acoplamiento espín-orbita, concretamente en moléculas que contienen átomos pesados. El ISC es crucial para la generación de ROS más concretamente de oxígeno singlete.<sup>7</sup>

Una vez ha tenido lugar el ISC, el electrón en  $T_1$  puede decaer radiativamente (vía fosforescencia) o no radiativamente a  $S_0$  (Figura 3). Dado que este fenómeno requiere nuevamente una inversión de espín, ocurre en dominios de tiempo largos ( $10^{-6}$ - $10^{-3}$  s), siendo considerablemente comprometido por canales de decaimiento no radiativo  $T_1-S_0$  más rápidos. Dado que el estado triplete  $T_1$  se encuentra por debajo del estado singlete  $S_1$  más bajo, la fosforescencia se observa a longitudes de onda más largas con respecto a la fluorescencia.<sup>12</sup>



**Figura 3.** Diagrama representativo del ISC

Como se ha explicado anteriormente, cuando se excita una molécula, esta absorbe energía y posteriormente la libera, es decir emite esta energía. Al representar gráficamente las bandas de absorción y emisión podemos observar que son imágenes especulares (Figura 4b). Esto se explica mediante el principio de Franck-Condon y la regla de Kasha. El principio de Franck-Condon (Figura 4a) establece que las curvas de energía potencial del estado fundamental y del estado excitado son similares, lo que provoca que las bandas vibrónicas dominantes en absorción y emisión tengan un espaciado similar.<sup>13</sup> Sin embargo, las posiciones espectrales de las bandas 0-0 en absorción y fluorescencia no coinciden exactamente; esta diferencia se conoce como desplazamiento de Stokes. Esto se debe a que el estado excitado es generalmente más polarizable y puede ser más polar que el estado fundamental, lo que resulta en que la banda de absorción esté a mayor frecuencia que la de emisión. En algunos casos, el estado excitado puede ser menos polar que el fundamental, lo que llevaría a un desplazamiento anti-Stokes, donde la banda de fluorescencia aparece a mayor frecuencia que la de absorción.<sup>13</sup> Es importante mencionar que el término desplazamiento de Stokes también se refiere a la diferencia entre los máximos de las bandas de absorción y emisión, que puede ser mucho mayor que el desplazamiento entre las bandas 0-0.<sup>13</sup>

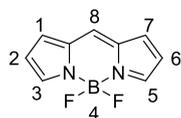


**Figura 4.** a) Principio de Fran-Condon; b) Espectro de absorción y emisión<sup>14</sup>

Además, la regla de Kasha establece que las moléculas poliatómicas emiten luminiscencia, generalmente, solo desde el estado excitado más bajo de una multiplicidad dada, debido a la rápida conversión interna (IC) de los estados superiores hacia este. Sin embargo, hay excepciones, como la fluorescencia desde el segundo estado excitado ( $S_2$ ), que puede ocurrir cuando la brecha energética entre  $S_2$  y  $S_1$  es grande, cuando la transición  $S_0 \rightarrow S_2$  tiene una gran fuerza de oscilador, o bajo condiciones de alta sensibilidad experimental, como en la aniquilación triplete-triplete.<sup>15</sup>

## 2.2 Síntesis y derivatización del cromóforo BODIPY

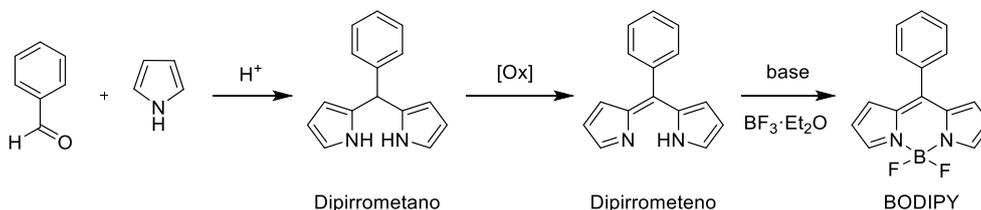
La estructura básica de los cromóforos BODIPY se muestra en la Figura 5. Consta de dos anillos de pirrol, unidos por un puente en la posición 8 y coordinados por  $\text{BF}_2$  en los nitrógenos de los pirroles. La posición 8 también se designa como *meso* y las posiciones 3 y 5 también son denominadas  $\alpha$ , además los BODIPYs comunes suelen tener un par de átomos de flúor en la posición 4, es decir, unidos al Boro.



**Figura 5.** Estructura básica del BODIPY

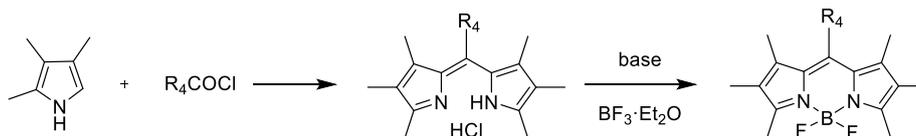
Esta estructura o esqueleto del BODIPY es fácil de preparar partiendo de pirroles, siguiendo 2 estrategias de síntesis.

La primera estrategia se muestra en el Esquema 1, consiste en la condensación de aldehídos aromáticos con pirroles en presencia de un medio ácido, para dar lugar a un dipirrometano intermedio, el cual es utilizado de forma inmediata ya que es sensible a la luz y el aire. Posteriormente su oxidación con agentes oxidantes como *p*-cloranilo o 2,3-diciano-5,6-dicloro-1,4-benzoquinona (DDQ) conduce a dipirrometenos o dipirrinos que por adición de una base como por ejemplo trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) y posterior complejación con trifluoruro de boro eterato ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) dará lugar a los BODIPYs.<sup>16</sup>



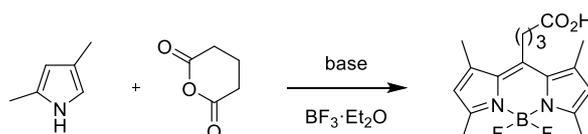
**Esquema 1.** Síntesis de BODIPYs a partir de pirroles y aldehídos

La segunda vía de síntesis de estos compuestos es partiendo de pirroles y cloruros de ácido como se muestra en el Esquema 2. Esta es la vía más directa para sintetizar BODIPYs simétricos sustituidos y consiste en la condensación de cloruros de ácido con pirroles  $\alpha$ -H. Los hidroccloruros de dipirrometano reaccionan *in situ* con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  en presencia de una base, lo que da lugar al BODIPY.



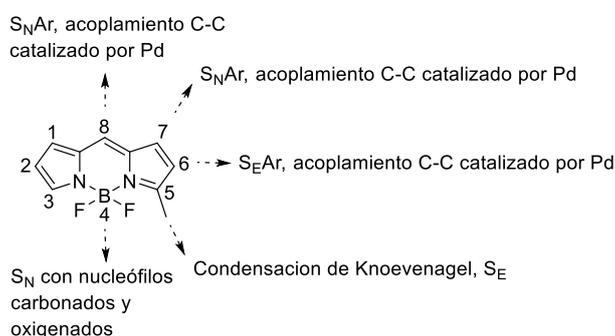
**Esquema 2.** Síntesis de BODIPYs partiendo de pirroles y cloruros de ácido

Siguiendo esta ruta sintética, también se pueden utilizar anhídridos en lugar de cloruros de ácido, donde se obtienen BODIPYs con un grupo carboxilo en posición *meso*, que puede ser utilizado para su posterior anclaje.



**Esquema 3.** Síntesis de BODIPYs a partir de anhídridos

Como se ha mencionado anteriormente, las propiedades fotofísicas del BODIPY pueden ser moduladas mediante la derivatización de la plataforma.<sup>17</sup> En la Figura 6 se puede observar todas las posibles funcionalizaciones que se pueden realizar en estos compuestos. Este trabajo se centrará en la funcionalización de las posiciones 2,6 y 3,5.



**Figura 6.** Reactividad del núcleo del BODIPY

Como puede verse en la Figura 6, una de las posibles funcionalizaciones es la reacción de sustitución nucleófila aromática ( $S_NAr$ ) en posiciones 1/3/5/7 y sustitución nucleófila en el átomo de boro. También pueden sufrir acoplamientos cruzados C-C en posiciones 1/2/6/7/8. Sin embargo, los coeficientes más bajos del BODIPY en el orbital LUMO en posiciones 2,6 dificultan la sustitución nucleofílica, por lo que en esas posiciones ocurren reacciones de sustitución electrófila aromática ( $S_EAr$ ), como la halogenación.<sup>17</sup>

## 2.2.1 Funcionalización de la posición 8

En la posición 8 o *meso* se puede introducir varios grupos funcionales mediante dos posibles rutas sintéticas:

- A partir de aldehídos aromáticos o equivalentes acilo (ver en Esquemas 1, 2 o 3). Este método implica la reacción directa de aldehídos aromáticos o cloruros de ácido para introducir grupos funcionales en la posición 8.<sup>18</sup>
- Mediante halogenación seguida de reacciones de acoplamiento catalizadas por paladio (Figura 6), en este caso se encuentra una diversidad de grupos funcionales en la posición 8 mediante reacciones de acoplamiento selectivas.<sup>18</sup>

## 2.2.2 Funcionalización en posiciones 2 y 6

Como ya se ha mencionado, las posiciones 2,6 del BODIPY sufren reacciones de  $S_EAr$ , como la halogenación. La introducción de halógenos en esas posiciones permite también las reacciones de acoplamiento cruzado C-C catalizadas con paladio, como las arilaciones de Suzuki y Stille, las reacciones de Heck y las alquilaciones de Sonogashira que permiten extender la conjugación del cromóforo.<sup>4</sup>

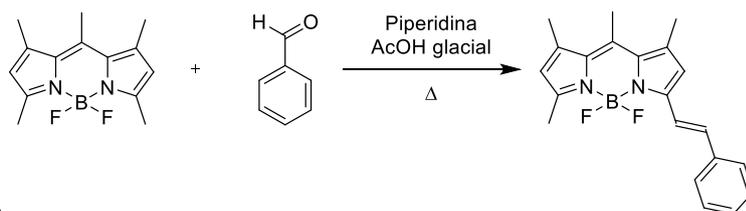
La sustitución con átomos pesados como bromo o yodo en las posiciones 2,6, dan lugar a ISC, sin embargo, si la sustitución con dichos átomos se realiza en las posiciones 3,5 se observa que esta sustitución promueve la fluorescencia.<sup>4</sup>

## 2.2.3 Funcionalización en posiciones 3 y 5.

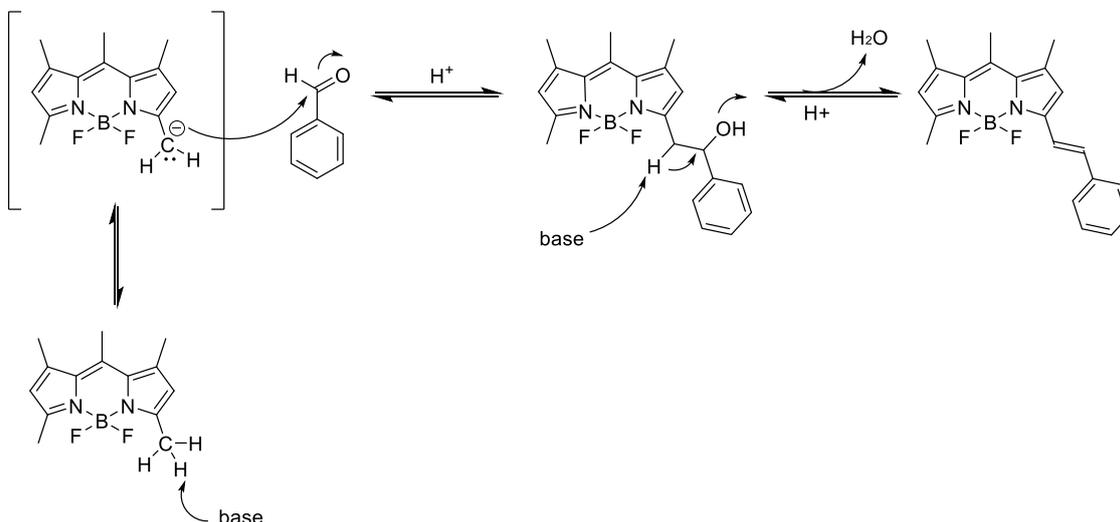
La acidez de los grupos metilo en posiciones 3,5 (también en 1,7) puede dar lugar a reacciones de condensación con reactivos aromáticos mediante la condensación de Knoevenagel, resultando en BODIPYs con extensión de la conjugación.<sup>18</sup>

La reacción de condensación de Knoevenagel, consiste en la formación de un doble enlace C-C a través de la reacción de compuestos carbonílicos con compuestos con grupos metilos activos (ácidos). Esta ruta es una de las más primitivas para sintetizar compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados mediante la condensación de aldehídos y cetonas con compuestos que contienen grupos metileno ácido C-H seguida de una deshidratación.<sup>19</sup> El mecanismo de esta reacción se puede observar en el Esquema 4.

a) Reacción



b) Mecanismo



**Esquema 4.** a) Reacción de Knoevenagel; b) Mecanismo de la reacción de Knoevenagel

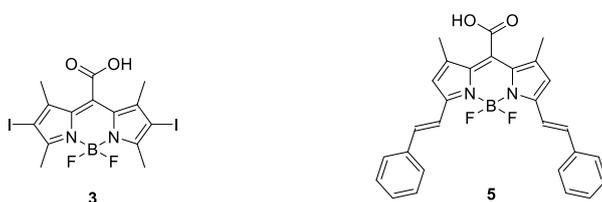
Como se muestra en el Esquema 4b, la base extrae el protón ácido del metilo en posición 3 y 5 formando un carbanión, que actúa como nucleófilo y ataca al grupo carbonilo del aldehído. El intermedio hidroxílico en presencia de la base deshidrata y forma un enlace doble entre el carbono  $\alpha$  y el carbono  $\beta$ .

Los BODIPYs que han sido funcionalizados con grupos estirilo en las posiciones 3 y 5 están siendo aplicados en campos avanzados de tecnología y ciencia ya que la extensión de la conjugación permite alcanzar longitudes de onda de entre 650 y 1000 nm, donde se encuentra la franja de la ventana biológica o ventana terapéutica (ver en Figura 1). Algunas aplicaciones de estos compuestos son tinción fluorescente de peroxidasa en células y tejidos fijados, agentes de imagen para placas de beta-amiloide dentro del contexto de la enfermedad de Alzheimer<sup>20</sup> y transistores de película delgada y láseres de fibra de 1064 nm<sup>21</sup> y cromóforos ópticos no lineales<sup>22</sup>, por lo que estos compuestos se pueden emplear en biomedicina, dispositivos electrónicos y ópticos. Su alta sensibilidad estabilidad y versatilidad los hacen adecuados para una variedad de usos avanzados, desde la detección de biomoléculas hasta el desarrollo de componentes electrónicos robustos y estables.<sup>23</sup>

### 3 Objetivo

El objetivo principal de este trabajo consiste en la síntesis de *meso*-carboxi BODIPYs. El grupo carboxilo en posición *meso* permite su anclaje a distintos soportes o nanopartículas para su uso posterior en distintas aplicaciones. En primer lugar se ha reproducido la síntesis del BODIPY **3**<sup>24</sup> (Figura 7) para la producción de oxígeno singlete en tratamiento de aguas.<sup>9</sup> Este compuesto presenta un alto rendimiento cuántico de oxígeno singlete del 72% debido al efecto del átomo pesado de los sustituyentes yodo.<sup>24</sup>

En segundo lugar, se ha desarrollado la síntesis y caracterización del BODIPY **5** (Figura 7) con el objetivo de extender la conjugación del cromóforo para poder aproximarse a longitudes de onda cercanas a la ventana biológica, permitiendo así su uso en bioimagen.<sup>25</sup>



**Figura 7.** Estructura de los BODIPYS **3** y **5** objeto de este trabajo

## 4. Procedimiento experimental

**Materiales:** Se emplearon reactivos y disolventes de la más alta pureza disponible, tal como se adquirieron, además de gel de sílice para cromatografía en columna y placas de cromatografía en capa fina recubiertas con gel de sílice. Los disolventes utilizados fueron purificados y secados según los procedimientos estándar para cada caso. Los reactivos se obtuvieron de diversas compañías comerciales y se utilizaron sin purificaciones adicionales con la información de cada reactivo descrita en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Tabla con los compuestos químicos utilizados en este trabajo.

Compuesto	Pureza	CAS
n-Hexano (Hex)	96%	110-54-3
Tolueno	99.9%	108-88-3
Diclorometano (DCM)	99.9%	75-09-2
Acetato de etilo (AcOEt)	99.5%	141-78-6
Metanol deuterado (MeOD)	98%	811-98-3
Cloroformo deuterado (CDCl <sub>3</sub> )	99.8%	865-49-6
ICl	1 M	7790-99-0
2,4-dimetilpirrol	97%	625-52-1
Cloruro de metil oxalilo	97%	5781-53-3
Benzaldehído	98%	100-52-7
Ácido acético glacial	99.5%	64-19-7
Piperidina	99%	110-89-4
BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O	46.5%	109-63-7
Et <sub>3</sub> N	99.5%	121-44-8
Ácido clorhídrico	37%	7647-01-0
Sulfato de magnesio anhidro	97%	7487-88-9

El progreso de todas las reacciones se controló mediante cromatografía en capa fina (CCF), con revelado por irradiación UV ( $\lambda = 256$  nm). Para la separación y purificación de productos se empleó cromatografía de elución utilizando gel de sílice Merck 60 (230-400 mesh ASTM) como soporte.

### 4.1 Técnicas de caracterización

Durante este trabajo se utilizaron diversas técnicas de caracterización, para estudiar cada compuesto. A continuación, se describe brevemente cada técnica:

### 4.1.1 Resonancia magnética nuclear (RMN)

La técnica fundamental para identificar la estructura de moléculas orgánicas es la RMN. Consiste en el análisis de los núcleos de ciertos átomos dentro de una molécula mediante su interacción con un campo magnético fuerte y radiación de radiofrecuencia. Los espectros de RMN proporcionan información crucial para la elucidación estructural de compuestos orgánicos mediante las señales que proporcionan los núcleos atómicos con espín nuclear distinto de cero como  $^1\text{H}$  o  $^{13}\text{C}$  que son dependientes del entorno químico de estos. Por tanto, los núcleos en diferentes entornos químicos presentan señales diferentes, lo que permite determinar la estructura molecular. Los espectros de RMN se han registrado en un espectrómetro de Bruker 400 MHz para  $^1\text{H}$  RMN y 100 MHz para  $^{13}\text{C}$  RMN (Figura 8), a 22 °C, utilizando la señal residual del disolvente como referencia interna. Se expresa el desplazamiento químico,  $\delta$  en partes por millón (ppm), la multiplicidad de los sistemas de espines, s (singlete), d (doblete), t (triplete), c (cuadruplete), q (quintuplete), m (multiplete), etc., el valor de las constantes de acoplamiento ( $J$ ) y el número de protones que integra cada señal. Las muestras se han preparado disolviendo una pequeña cantidad del compuesto sintetizado, típicamente alrededor de 2 mg para  $^1\text{H}$  RMN y 20 mg para  $^{13}\text{C}$  RMN, en 0.6 mL de cloroformo o metanol deuterado, dependiendo de la solubilidad del compuesto.



**Figura 8.** Equipo de RMN utilizado

### 4.1.2 Espectroscopia de ultravioleta-visible (UV-Vis)

Otra técnica de caracterización que se ha empleado en este trabajo es la espectroscopía UV-Vis. Esta técnica es utilizada para analizar cómo los compuestos absorben luz en las regiones ultravioletas (200-400 nm) y la región visible (400-800 nm). Al exponer la muestra a un haz de luz, algunos electrones en la molécula pueden saltar a niveles de energía superiores absorbiendo la radiación incidente. El espectrofotómetro mide la luz absorbida a diferentes longitudes de onda, generando un espectro que

refleja estas transiciones. Esta información es útil para identificar compuestos y estudiar sus características optoelectrónicas. Esta técnica se basa en la ley de Beer-Lambert, que se expresa con la Ecuación 1:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde A es la absorbancia,  $\varepsilon$  es el coeficiente de absorción molar, c es la concentración del soluto y l es la longitud del camino óptico, en el caso de este trabajo de 1 cm. Los espectros de absorción UV-Vis se registraron en un espectrofotómetro Jenway Espectrofotómetro de haz único UV/Visible modelo 7315 (Figura 9). Todas estas medidas de espectroscopia se han realizado utilizando disoluciones diluidas ( $10^{-5}$ - $10^{-6}$  M) en cubetas de cuarzo de 1 cm de camino óptico.



**Figura 9.** Espectrofotómetro de UV-Vis utilizado

### 4.1.3 Espectroscopia de fluorescencia

Las técnicas de emisión analizan las propiedades de una sustancia a través de la luz emitida cuando sus átomos o moléculas son excitados. Al volver a su estado fundamental, liberan energía en forma de luz, la cual proporciona información sobre la composición de la muestra. Todas estas medidas de fluorescencia se han realizado utilizando disoluciones diluidas ( $10^{-6}$  M) en cubetas de cuarzo de 1 cm de camino óptico. Las medidas de fluorescencia se realizaron en un espectrómetro de fluorescencia FL8500 (PerkinElmer) equipado con un haz de luz continuo proporcionado por una arc-lampara libre de ozono de 150 W (Figura 10).



**Figura 10.** Espectrómetro de fluorescencia utilizado

#### 4.1.4 Rendimiento cuántico de Fluorescencia

El rendimiento cuántico de fluorescencia es una medida de la eficiencia del proceso de fluorescencia. Muestra la relación entre el número de moléculas que emiten fluorescencia y el número total de moléculas excitadas. También podría decirse que es la relación entre los fotones emitidos respecto a los absorbidos (Ecuación 2).

$$\phi = \frac{\text{fotones emitidos}}{\text{fotones absorbidos}} \quad \text{Ecuación 2}$$

El rendimiento cuántico se representa utilizando la letra griega  $\phi$  y puede variar entre 0 y 1 (o entre 0% y 100%). Cuando se tienen moléculas altamente fluorescentes se obtendrá un dato muy próximo a la unidad, sin embargo, cuando la fluorescencia apenas se aprecia este valor será próximo a cero. Esta medida es crucial en diversas aplicaciones, como en el diseño de materiales fluorescentes para sensores y dispositivos optoelectrónicos.

Para determinar el rendimiento cuántico de fluorescencia existen dos métodos, el método absoluto y el método relativo. El método absoluto permite calcular este rendimiento tanto de especies líquidas como en fase sólida; sin embargo, el método relativo solo admite especies en disolución. El método absoluto requiere del uso de una esfera integradora (Figura 11), un dispositivo diseñado para captar la emisión de luz de la muestra desde cualquier ángulo, de modo que durante el proceso de medición la radiación es emitida en todas las direcciones. En el caso del método relativo, este se basa en comparar la emisión de la muestra con la de materiales patrón que tienen un rendimiento perfectamente conocido.<sup>26</sup>



**Figura 11.** Esfera de integración

En este trabajo, los rendimientos cuánticos de fluorescencia se han determinado como valores absolutos utilizando una esfera de integración acoplada al espectrómetro de fluorescencia mencionado anteriormente.

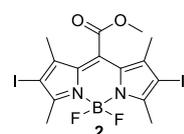
## 4.2 Síntesis de derivados de BODIPY

### 4.2.1 Síntesis de 4,4'-difluoro-8-metoxicarbonil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (1):



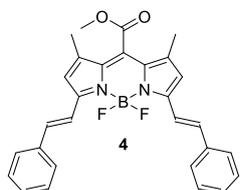
En dos matraces Schlenk de 100 mL se realizan ciclos de vacío-nitrógeno. En uno de ellos se introduce 2,4-dimetilpirrol (923 mg, 9.71 mmol, 1 mL) disuelto en DCM anhidro (10 mL), y en el segundo matraz, cloruro de metil oxalilo (0.36 mL, 3.88 mmol, 1 eq), disuelto en DCM anhidro (25 mL), a temperatura ambiente. A continuación, se agrega la disolución de cloruro de metil oxalilo gota a gota sobre la disolución de 2,4-dimetilpirrol en atmósfera inerte. Esta mezcla se deja agitando durante 4 h y pasado ese tiempo, se enfría a 0 °C. Entonces se añade trietilamina (2.7 mL, 19.41 mmol, 5 eq) y 5 min después  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (5.2 mL, 19.41 mmol, 5 eq). Esta mezcla se agita a temperatura ambiente durante 8 h, transcurrido ese tiempo se añade HCl acuoso (10%, 30 mL) y la mezcla se extrae con DCM (3x30 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio anhidro ( $\text{MgSO}_4$ ) para retirar todos los restos posibles de agua, se filtra para retirar el  $\text{MgSO}_4$  y se elimina el disolvente a presión reducida. El producto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice como fase estacionaria y como eluyente se usa una mezcla de Hex/DCM (7:3). El sólido obtenido se recristaliza disolviendo primero en una pequeña cantidad de DCM y agregando Hex hasta observar turbidez y filtrando en placa porosa. Se obtienen 155.3 mg (13 %) de **1** como sólido naranja.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , ppm: 6.06 (s, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.53 (s, 6H), 2.12 (s, 6H) (Figura S1). Los datos espectroscópicos coinciden con los descritos en la bibliografía.<sup>24</sup>

### 4.2.2 Síntesis de 4,4'-difluoro-2,6-diiodo-8-metoxicarbonil-1,3,5,7-tetrametil-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno (2):



En un matraz Schlenk de 50 mL se realizan ciclos de vacío-nitrógeno y se introduce **1** (111 mg, 0.36 mmol, 1 eq) en DCM anhidro (30 mL) y se le añade una disolución de ICl en DCM (146 mg, 0.9 mmol, 2.5 eq) en atmósfera inerte. La mezcla se mantiene agitando a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 h. El curso de la reacción se sigue por CCF. Una vez finalizada la reacción se añade agua a la mezcla y se extrae con DCM (3x20 mL). La fase orgánica obtenida se seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro para retirar el agua restante, se filtra y se concentra a presión reducida. El producto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hex/DCM (8:2). Se obtienen 143.5 mg (71 %) de **2** como un sólido dorado.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , ppm: 4.00 (s, 3H), 2.62 (s, 6H), 2.13 (s, 6H). (Figura S2). Los datos espectroscópicos coinciden con los descritos en la bibliografía.<sup>24</sup>

### 4.2.3 Síntesis de 3,5-diestiril-4,4'-difluoruro-1,7-dimetil-8-metoxycarbonil-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno (4):

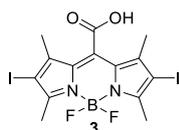


En un matraz Schlenk de 100 mL con tamices moleculares previamente activados en la estufa se realizan ciclos de vacío-nitrógeno y se introducen, **1** (100 mg, 0.33 mmol, 1 eq), benzaldehído (305 mg, 3.3 mmol, 10 eq), ácido acético glacial (297 mg, 4.95 mmol, 15 eq), piperidina (421 mg, 4.95 mmol, 15 eq) y tolueno anhidro como disolvente (15 mL). La reacción se calienta a reflujo a 110 °C durante 2 h, observándose un cambio de color y siguiendo el transcurso mediante CCF. Una vez observado la finalización de la reacción por CCF, se elimina el disolvente a presión reducida, se añade agua, y la mezcla se extrae con DCM (3×10 mL). La fase orgánica se lava con agua y se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y concentra a presión reducida. Finalmente, el producto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hex/DCM (6:4) para una primera purificación y una usando como eluyente Hex/EtOAc, (9:1). Se obtiene 23 mg (15%) de **4** como un sólido azul. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ, ppm: 7.71-7.62 (m, 6H), 7.43-7.32 (m, 8H), 6.74 (s, 2H), 4.00 (s, 3H), 2.19 (s, 6H) (Figura S4). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ, ppm: 166.1 (C), 154.3 (C), 140.0 (C), 137.5 (CH), 136.5 (C), 131.2 (C), 129.4 (CH), 128.9 (CH), 127.9 (CH), 126.1 (C), 119.2 (CH), 118.0 (CH), 53.2 (OCH<sub>3</sub>), 13.1 (CH<sub>3</sub>) (Figura S6).

### 4.2.4 Procedimiento general para la síntesis de 8-carboxi BODIPYs:

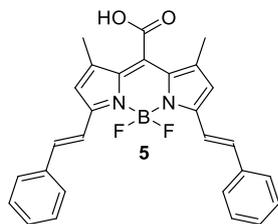
En un matraz Schlenk de 50 mL se realizan ciclos de vacío-nitrógeno y se introducen, LiI (10 eq) y el BODIPY-8-metil-ester (1 eq) y se disuelven en EtOAc anhidro bajo atmósfera inerte. La reacción se calienta a reflujo a 80 °C durante la noche. La reacción se sigue por CCF. Cuando se observa que la reacción ha finalizado, se enfría a temperatura ambiente y se agrega HCl (37%) (0.2 mL). Se añade agua, y la mezcla se extrae con EtOAc (3×20 mL). La fase orgánica se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y concentra a presión reducida. El producto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice usando como eluyente una mezcla de EtOAc/Metanol (9:1).

#### 4.2.4.1. Síntesis de 4,4'-difluoruro-2,6-diiodo-8-carboxi-1,3,5,7-tetrametil-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno (3):



Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 4.2.4 se hacen reaccionar (100 mg, 0.18 mmol, 1 eq) de **2** con (240 mg, 1.79 mmol, 10 eq) de LiI disuelto en EtOAc anhidro (50 mL). El producto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla de EtOAc/Metanol (9:1). Se obtienen 93 mg (95%) de **3** como un sólido rojo. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ, ppm: 2.54 (s, 6H), 2.38 (s, 6H) (Figura S3). Los datos espectroscópicos corresponden con los descritos en la bibliografía.<sup>24</sup>

#### 4.2.4.2. Síntesis de 3,5-diestiril-4,4'-difluoruro-1,7-dimetil-8-carboxi-4-boro-3a,4a-diazas-indaceno (5):



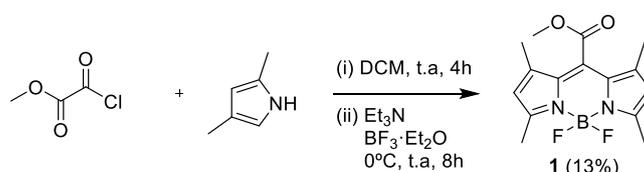
Siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 4.2.4, se hacen reaccionar (47 mg, 0.1 mmol, 1 eq) de **4** con (129 mg, 0.97 mmol, 10 eq) de LiI en 50 mL de EtOAc anhidro. El producto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla de EtOAc/Metanol (9:1). Se obtienen 26.5 mg (58%) de **5** como un sólido rojo.

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ , ppm: 7.66-7.61 (m, 6H), 7.42-7.29 (m, 8H), 6.84 (s, 2H), 2.45 (s, 6H) (Figura S5).  $^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ , ppm: 171.4 (C), 153.3 (C), 144.2 (C), 138.5 (C), 138.2 (CH), 136.6 (CH), 131.4 (C), 130.0 (CH), 129.9 (C), 128.3 (CH), 120.2 (CH), 117.7 (CH), 13.2 ( $\text{CH}_3$ ) (Figura S7).

## 5. Discusión de resultados

### 5.1 Síntesis

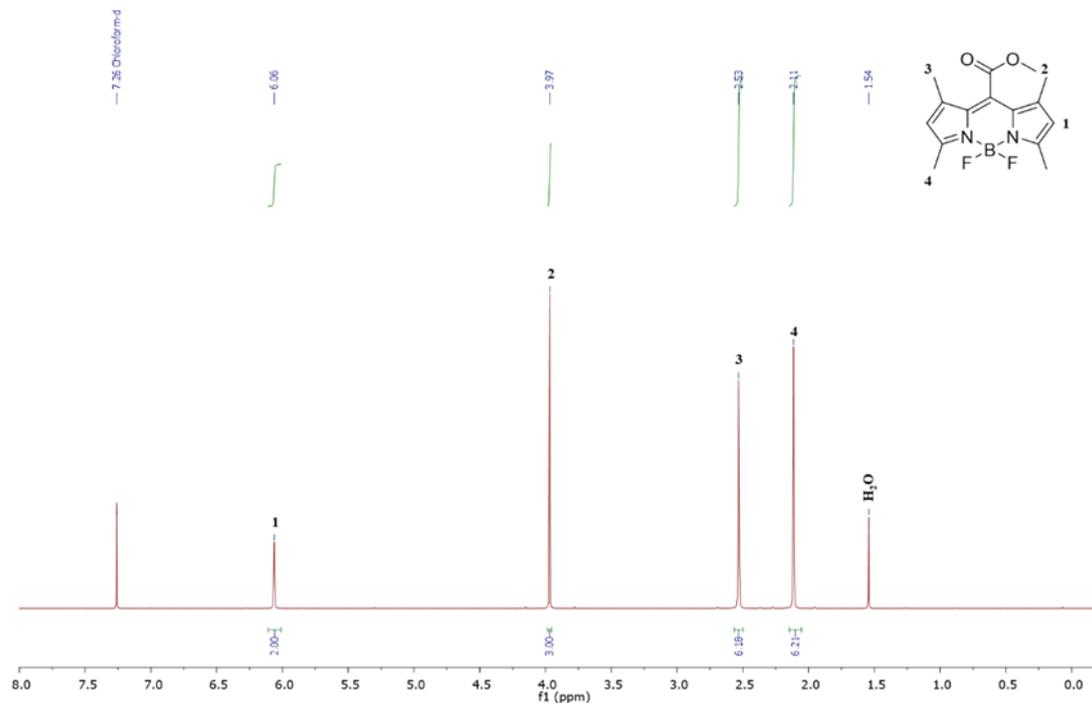
La ruta sintética comienza con la preparación del compuesto **1**. Este compuesto se obtiene por condensación del 2,4-dimetilpirrol y cloruro de metil oxalilo (Esquema 5) utilizando un procedimiento previamente descrito en la bibliografía.<sup>27</sup> El cloruro de metil oxalilo se utiliza con la intención de introducir un éster metílico en la posición *meso*. Los metilos introducidos por el 2,4-dimetilpirrol, en las posiciones 1/3/5/7 del núcleo permitirán la posterior derivatización.



**Esquema 5.** Esquema sintético para la obtención del compuesto **1**

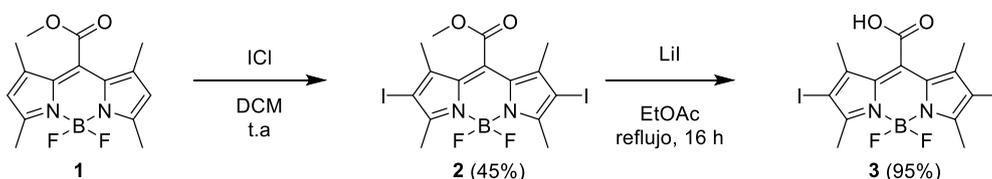
La síntesis se realiza bajo atmósfera de nitrógeno y con disolventes anhidros para evitar la presencia de humedad en la síntesis, ya que el agua puede hidrolizar el cloruro de metil oxalilo, dando como producto el ácido carboxílico. El 2,4-dimetilpirrol se agrega mediante una cánula manteniendo así la atmósfera inerte y evitando en la medida de lo posible, la formación de polímeros de pirrol. Durante el transcurso de la reacción, el matraz se cubre con papel de aluminio para evitar la exposición a la luz ya que el compuesto generado es fotosensible. Tras 4 horas de agitación a temperatura ambiente, la mezcla se enfría a 0 °C, y se adiciona Et<sub>3</sub>N para extraer un protón del dipirrometeno formado (ver en Esquema 2 en el apartado 2.2). A continuación, se añade BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O que se complejará a los átomos de nitrógeno dando lugar al BODIPY. La mezcla debe enfriarse a 0 °C ya que tanto la extracción del protón por medio de la base como la complejación con BF<sub>3</sub> es exotérmica. Una vez finalizada la reacción, el crudo se lava con HCl para neutralizar la base utilizada y poder extraer la fase orgánica. Durante la extracción se observa gran cantidad de polímero de color rojizo lo que dificulta la extracción, pero mediante cromatografía en gel de sílice se consigue separar el polímero de nuestro compuesto ya que el polímero se queda retenido en la gel de sílice. Finalmente, el sólido obtenido después de la cromatografía en gel de sílice se recrystaliza en una mezcla de DCM/hex, para eliminar una impureza que presenta un factor de retención semejante a **1**. Se obtiene **1** como un sólido naranja cristalino con un rendimiento del 13%. El rendimiento de **1** es bastante bajo, debido a la formación de polímeros de pirrol que dificultan la extracción y reducen el rendimiento. En la Figura 12 se muestra el espectro de <sup>1</sup>H RMN de **1**. En el espectro se observa un único singlete correspondiente a los dos protones aromáticos de las posiciones 2,6 a 6.06 ppm debido a la simetría axial de la molécula, la señal correspondiente al grupo metilo del éster aparece como un singlete a 3.97 ppm y las dos señales correspondientes a los metilos en posiciones

1,3,5,7 como dos singletes a 2.53 y 2.11 ppm. Las señales aparecen como singletes porque no existe acoplamiento con otros núcleos.



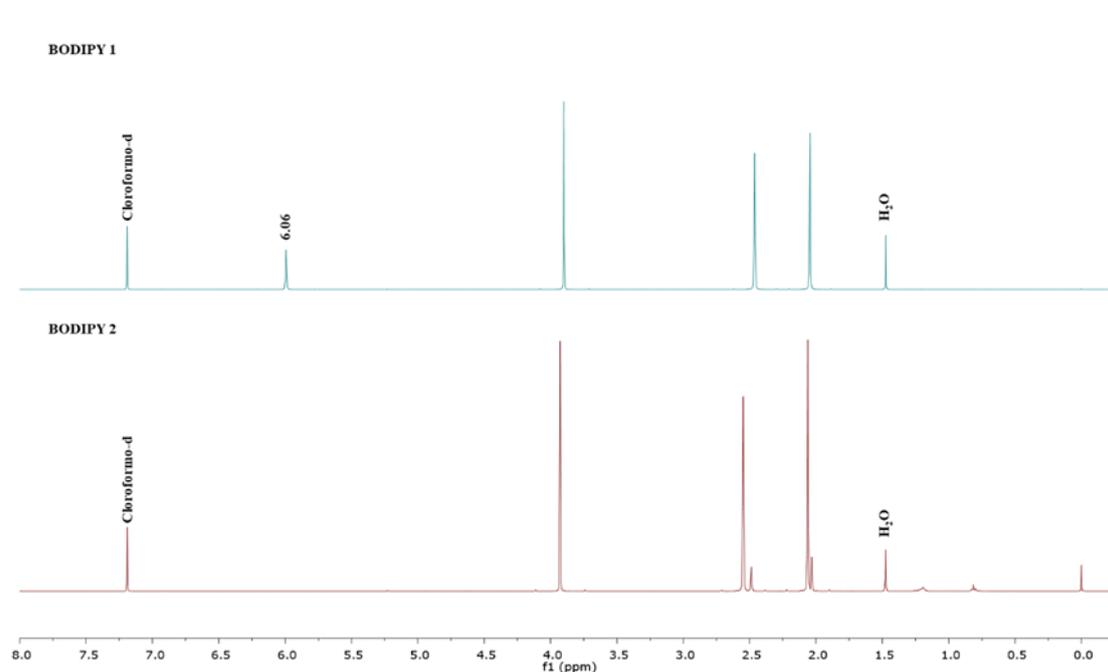
**Figura 12** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de **1** en  $\text{CDCl}_3$

El compuesto **2** fue sintetizado a partir de **1**, mediante una reacción de  $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$ . Para ello se utilizó  $\text{ICl}$  para introducir los átomos de yodo en las posiciones 2,6 (Esquema 6).



**Esquema 6** Esquema sintético para la obtención de los compuestos **2** y **3**

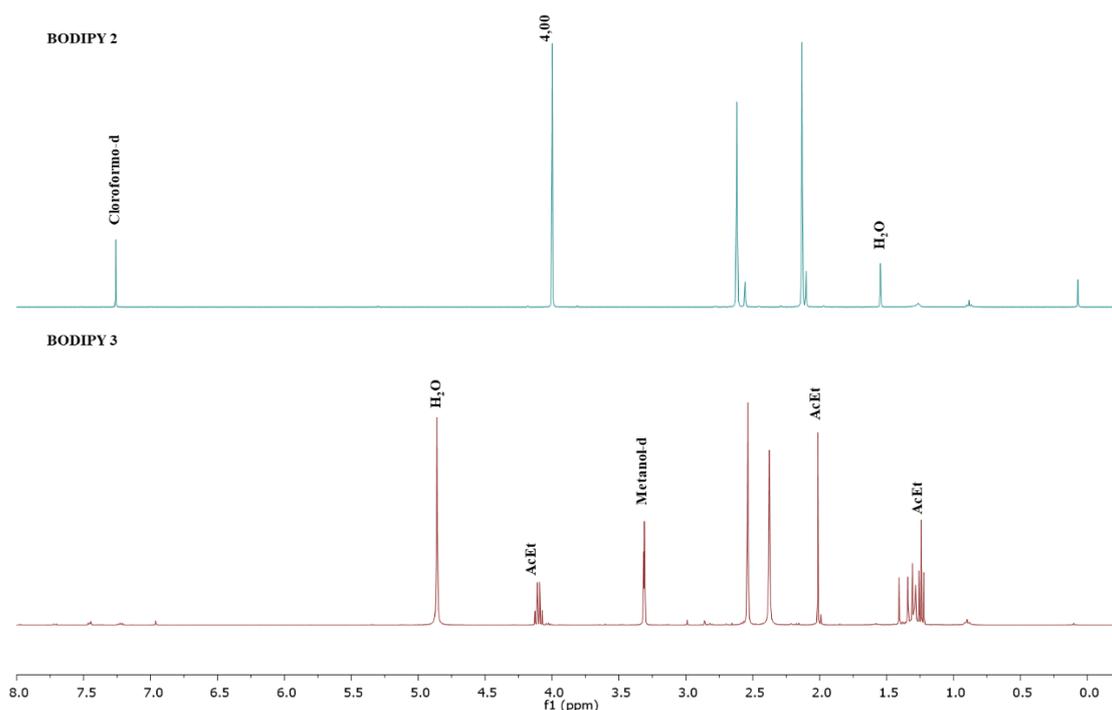
La síntesis se realiza bajo atmósfera de nitrógeno y utilizando disolventes anhidros para evitar la presencia de humedad. El matraz se cubre con papel de aluminio para evitar la exposición a la luz ya que el compuesto es fotosensible. La reacción se agita a temperatura ambiente, siguiendo su curso mediante CCF. En los primeros minutos, tras la adición del  $\text{ICl}$  se puede apreciar el cambio de color del crudo de reacción a color morado. El compuesto **2** es más apolar que **1** por lo que se debe usar una mezcla de eluyentes más apolar para su purificación. En la CCF se puede observar la formación del compuesto mono iodo, aunque los equivalentes utilizados de  $\text{ICl}$  en la reacción son suficientes como para que esto no ocurriera (2.5 eq). El BODIPY **2** se obtiene como un sólido de color dorado con un rendimiento del 45%. En el  $^1\text{H}$  RMN de **2** (Figura 13) se observa la desaparición de la señal a 6.06 ppm correspondiente a los protones aromáticos debido a la sustitución por los yodos.



**Figura 13.** Comparación de los espectros de RMN de **1** y **2** en  $\text{CDCl}_3$

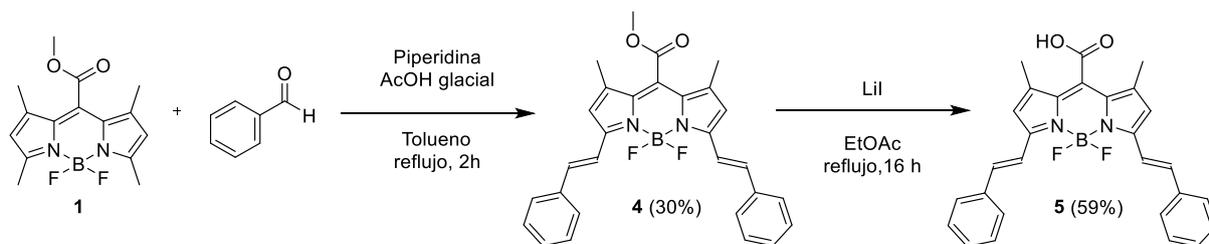
Para la obtención del grupo carboxílico en la posición *meso* se lleva a cabo la desprotección del metil éster **2** con LiI (Esquema 6). La síntesis se realiza en atmósfera inerte de nitrógeno a reflujo de EtOAc anhidro evitando la humedad del ambiente y el matraz se cubre con papel de aluminio. Cuando se observa la desaparición del producto de partida por CCF, se deja enfriar a temperatura ambiente. El crudo de reacción se neutraliza con HCl para protonar el carboxilato y se extrae con EtOAc. El ácido obtenido **3** es mucho más polar que el metil éster **2**. El ácido **3** es parcialmente soluble en DCM y necesita una mezcla de eluyentes más polar (AcOEt/MeOH) que **2** en su purificación en gel de sílice. Se obtiene **3** como un sólido de color morado con un rendimiento del 95%.

En la Figura 14 se muestra una comparación de los espectros de  $^1\text{H}$  RMN del metil éster **2** (en  $\text{CDCl}_3$ ) y el ácido **3** (MeOD). Los espectros se realizan en distintos disolventes deuterados debido a la solubilidad de los compuestos. En el espectro del ácido **3** desaparece la señal a 4.00 ppm correspondiente al grupo metilo del éster, que aparece desapantallada debido al efecto del oxígeno.



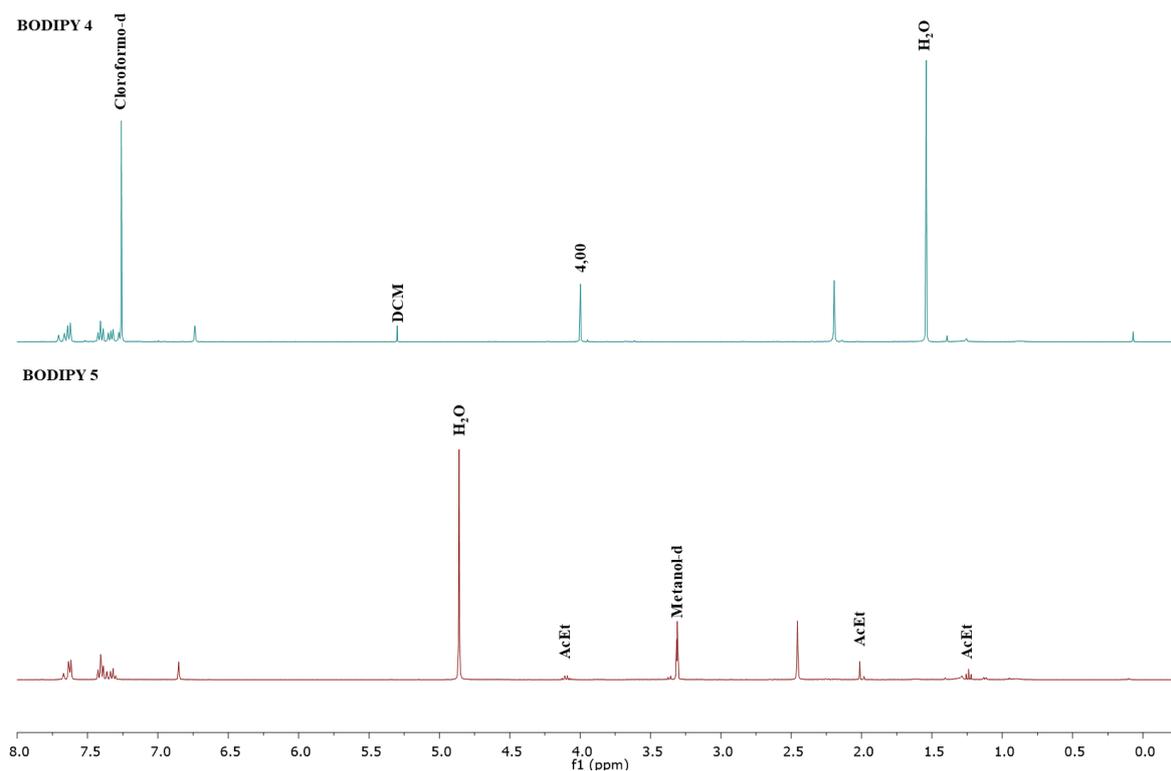
**Figura 14.** Comparación de espectros de  $^1\text{H}$  RMN de **2** (en  $\text{CDCl}_3$ ) y de **3** (en MeOD)

La síntesis de **4** se realiza mediante una reacción de Knoevenagel como se muestra en el Esquema 7. Se utiliza piperidina como base y se añade ácido acético glacial para protonar el oxígeno del carbonilo haciendo ese carbono más electrófilo. La base extrae el protón ácido del metilo en posiciones 3 y 5 de **1** formándose un carboanión que actúa como nucleófilo y ataca al grupo carbonilo del benzaldehído. El intermedio hidroxílico formado deshidrata en presencia de la base formándose un doble enlace entre el carbono  $\alpha$  y el carbono  $\beta$  del carbonilo (ver en Esquema 4 en el apartado 2.2.2). La síntesis se realiza bajo atmósfera inerte de nitrógeno y con tamices moleculares para eliminar el agua, subproducto de la reacción, y así desplazar el equilibrio hacia la formación de **4**. También se utiliza ácido acético glacial con una pureza de casi el 100%, para evitar la presencia de agua y como disolvente se emplea tolueno anhidro. Durante la reacción el matraz se protege de la luz con papel de aluminio, pero se pudo observar un cambio de color de rosa a azul. Para la obtención del compuesto **4** puro fueron necesarias dos cromatografías en gel de sílice. La primera purificación se realizó utilizando una mezcla de Hex/DCM y la segunda con una mezcla Hex/EtOAc. Se obtuvo **4** como un sólido de color azul con un rendimiento del 15%.



**Esquema 7** Esquema sintético para la obtención de los compuestos **4** y **5**

Al igual que para el compuesto **3**, la obtención del grupo carboxílico en la posición *meso* se lleva a cabo mediante la desprotección del metilo éster **4** con LiI. Al igual que **3**, **5** es mucho más polar que el éster de partida **4**, por lo que se requiere una mezcla de eluyentes más polar para su purificación en gel de sílice. Se obtiene **5** como un sólido de color rojo con un rendimiento del 58%, rendimiento más bajo que en la anterior desprotección para la obtención de **3** que tuvo un rendimiento de 95%. En la Figura 15 se muestra una comparación de los espectros de  $^1\text{H}$  RMN del éster **4** y el ácido **5**. El ácido **5** no presenta la señal del grupo metilo del éster mientras que el compuesto de partida si presenta dicha señal a 4.00 ppm.



**Figura 15.** Comparación de espectros de  $^1\text{H}$  RMN de **4** (en  $\text{CDCl}_3$ ) y de **5** (en MeOD)

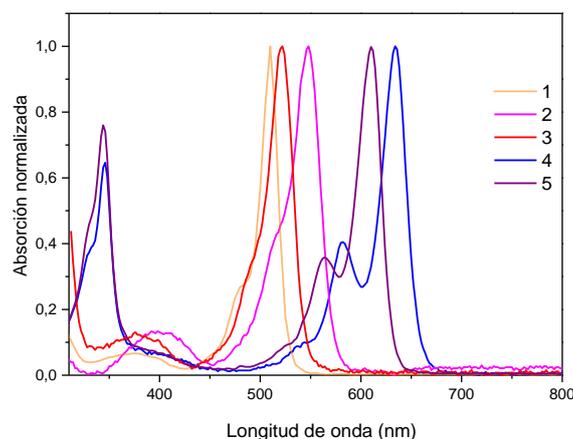
## 5.2 Estudio de las propiedades fotofísicas

Una vez sintetizados todos los compuestos, se estudiaron sus propiedades fotofísicas, para poder observar cómo varían, según la funcionalización que se ha realizado al BODIPY 1. En la Tabla 2, se recogen todos los resultados obtenidos de longitud de onda del máximo de absorción y emisión, coeficiente de absorción molar y rendimiento cuántico de fluorescencia.

**Tabla 2.** Propiedades fotofísicas de los BODIPYs sintetizados, medidas realizadas en metanol ( $c \approx 10^{-6}$  M)

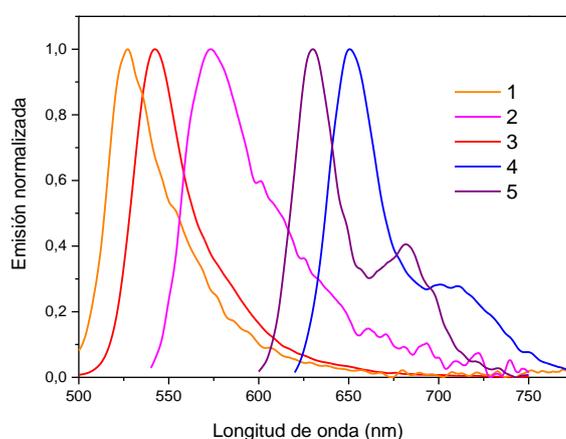
Compuesto	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Abs}}/\text{nm}$	$\epsilon/10^4\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Emi}}/\text{nm}$	$\Phi_{fa}$
1	510	1.81	527	>1%
2	548	1.05	573	>1%
3	522	1.07	543	>1%
4	634	2.03	650	>1%
5	610	9.48	630	68%

Todas las medidas fueron realizadas en metanol, para evitar el efecto del disolvente en las medidas. Todos los compuestos analizados tienen valores de  $\epsilon$  entre  $1-9.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (valores típicos de  $\epsilon$  en estos cromóforos).<sup>28</sup> Analizando los máximos de absorción de los metil éster sintetizados **1**, **2** y **4**, observamos que las longitudes de onda del máximo de absorción en los compuestos **2** y **4** presentan un desplazamiento batocrómico si los comparamos con el BODIPY **1**. Destaca el notable desplazamiento que presenta el compuesto **4** (de más 120 nm), debido a la extensión de la conjugación que existe en el compuesto **4**. En el caso de los ácidos **3** y **5**, si los comparamos con sus ésteres correspondientes **2** y **4**, observamos un desplazamiento hipsocrómico (de unos 25 nm). En la Figura 16, se representan los espectros de absorción medidos en metanol de cada uno de los BODIPYs sintetizados.



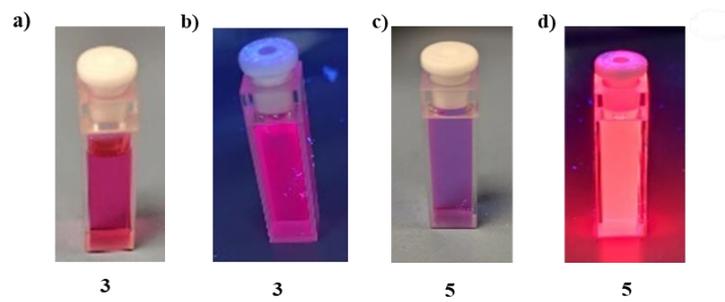
**Figura 16.** Espectros de absorción normalizada de los BODIPYs sintetizados medidos en metanol ( $c \approx 10^{-6}$  M)

En la Figura 17 se muestran los espectros de emisión de los BODIPYs sintetizados medidos en metanol. Si comparamos los espectros de emisión de los ésteres **1**, **2** y **4** observamos un comportamiento semejante al observado en los espectros de absorción debido a que el espectro de absorción y emisión son imágenes especulares.<sup>13</sup> Tanto **2** como **4** presentan un desplazamiento batocrómico respecto del BODIPY **1**, destacando el desplazamiento observado en **4** (de más de 120 nm) debido a la extensión de la conjugación que presenta este compuesto. También es destacable la presencia de ruido en el espectro de emisión de **2** debido a la presencia de átomos pesados, que desactivan la emisión.<sup>7</sup> Si comparamos los ácidos **3** y **5** con sus correspondientes ésteres **2** y **4** ocurre un comportamiento semejante que el observado en los espectros de absorción, presentan un desplazamiento hipsocrómico (de unos 20-30 nm).



**Figura 17.** Espectros de emisión de los BODIPYs sintetizados medidos en metanol ( $c \approx 10^{-6}$  M)

En cuanto al rendimiento cuántico de fluorescencia, se puede observar en la Tabla 2, que todos los ésteres sintetizados muestran un rendimiento inferior al 1%. Esto es debido al giro libre que presenta el enlace O-CH<sub>3</sub><sup>29</sup> dándose una relajación no radiativa por lo que no se observa fluorescencia. En el caso de los ácidos, el BODIPY **3** presenta un bajo rendimiento cuántico de fluorescencia debido a que este presenta ISC, lo que conduce a una relajación no radiativa. El ácido **5** es el único que presenta alta fluorescencia (68%) debido a la rigidez de su estructura y que no presenta ISC al no tener átomos pesados lo que promueve la fluorescencia. En la Figura 18 se muestran fotografías de las disoluciones en metanol de los BODIPYs **3** y **5** bajo la lámpara UV ( $\lambda = 256$  nm). En esta figura se puede apreciar como el BODIPY **5** emite fluorescencia bajo la luz de la lámpara ya que tiene un alto coeficiente de rendimiento cuántico sin embargo el BODIPY **3** presenta menor fluorescencia.



**Figura 18.** Fotografías de los BODIPYs **3** y **5** en metanol ( $c \approx 10^{-6}$  M); a,c) **3** y **5** bajo luz ambiente, b,d) **3** y **5** bajo la lampara UV ( $\lambda = 256$  nm)

## 6. Conclusiones

Las conclusiones del presente trabajo se exponen a continuación:

Se ha reproducido de forma exitosa la síntesis del BODIPY **3** y realizado su caracterización estructural y fotofísica.

Se ha conseguido la síntesis y caracterización estructural y fotofísica del compuesto nuevo **5**.

Los compuestos sintetizados muestran altos valores de  $\epsilon$  ( $1-9.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) típicos de estos compuestos. Analizando las propiedades ópticas, se observa que se han conseguido modular estas propiedades mediante la derivatización del esqueleto base del cromóforo, alcanzando un desplazamiento batocrómico de hasta 120 nm en absorción y fluorescencia.

La funcionalización en posiciones 2,6 con átomos pesados, favorece el ISC disminuyendo la fluorescencia y aumentando la producción de ROS, lo que permite su aplicación en descontaminación de aguas.

La funcionalización con grupos estirilo en posiciones 3 y 5 extiende la conjugación a longitudes de onda más largas, próximas al NIR, permitiendo su uso en biomedicina ya que se encuentra dentro del rango de la ventana biológica. El mayor rendimiento cuántico de fluorescencia se observa en el ácido **5** (68%) ya que no presenta giro libre en el enlace O-CH<sub>3</sub> presente en el éster **4** y por la alta rigidez de la estructura

## 7. Bibliografía

- (1) Lu, H.; Shen, Z. Editorial: BODIPYs and Their Derivatives: The Past, Present and Future. *Front. Chem.* **2020**, *8*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00290>.
- (2) Treibs, A.; Kreuzer, F.-H. Difluorboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *718* (1), 208–223. <https://doi.org/10.1002/jlac.19687180119>.
- (3) Szalai, A. M. Sondas fluorescentes para marcación y localización de proteínas en microscopías de súper resolución. **2018**.
- (4) Gibbs, J. H.; Zhou, Z.; Kessel, D.; Fronczek, F. R.; Pakhomova, S.; Vicente, M. G. H. Synthesis, Spectroscopic, and in Vitro Investigations of 2,6-Diiodo-BODIPYs with PDT and Bioimaging Applications. *J. Photochem. Photobiol. B* **2015**, *145*, 35–47. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.02.006>.
- (5) Mittler, R. ROS Are Good. *Trends Plant Sci.* **2017**, *22* (1), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>.
- (6) CARVAJAL CARVAJAL, Carlos. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, **2019**, vol. 36, no 1, p. 91-100.
- (7) CARVAJAL CARVAJAL, Carlos. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, **2019**, vol. 36, no 1, p. 91-100.
- (8) Ksenofontova, K. V.; Kerner, A. A.; Ksenofontov, A. A.; Shagurin, A. Yu.; Bocharov, P. S.; Lukanov, M. M.; Kayumov, A. R.; Zhuravleva, D. E.; Iskhakova, Z. I.; Molchanov, E. E.; Merkushev, D. A.; Khodov, I. A.; Marfin, Y. S. Amine-Reactive BODIPY Dye: Spectral Properties and Application for Protein Labeling. *Molecules* **2022**, *27* (22), 7911. <https://doi.org/10.3390/molecules27227911>.
- (9) Hernández, E. J. Desinfección de aguas mediante oxígeno singlete. *TECNIA* **2010**, *20* (2), 15–21. <https://doi.org/10.21754/tecnia.v20i2.101>.
- (10) Rurack, K.; Kollmannsberger, M.; Daub, J. Molecular Switching in the Near Infrared (NIR) with a Functionalized Boron-Dipyrromethene Dye. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2001**, *40* (2), 385–387. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010119\)40:2<385::AID-ANIE385>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010119)40:2<385::AID-ANIE385>3.0.CO;2-F).
- (11) Jaque, D.; Martínez Maestro, L.; del Rosal, B.; Haro-González, P.; Benayas, A.; Plaza, J.; Martín Rodríguez, E.; Solé, J. Nanoparticles for Photothermal Therapies. *Nanoscale* **2014**, *6*. <https://doi.org/10.1039/c4nr00708e>.
- (12) Granite, S. web creado por. *Jablonski Diagram | What is it?*. Edinburgh Instruments. <https://www.edinst.com/blog/jablonski-diagram-2/> (accessed 2024-08-02).
- (13) Photochemical Reaction Mechanisms and Reaction Intermediates. In *Photochemistry of Organic Compounds*; John Wiley & Sons, Ltd, **2009**; pp 183–226. <https://doi.org/10.1002/9781444300017.ch5>.

- (14) Alvarez Conde, J. Synthesis and Photophysical Studies of Novel Azaindole Derivatives in Solution and Self-Assembled Crystals. doctoralThesis, **2022**. <https://repositorio.uam.es/handle/10486/706237> (accessed 2024-09-18).
- (15) Álvarez-Conde, J.; Garzón-Ruiz, A.; Navarro, A.; Jiménez-Pulido, S. B.; González-Rodríguez, P.; Cabanillas-González, J.; García-Frutos, E. M. The Role of the Diyne Bond on the Excited State Deactivation of Diyne-Bridged 7-Azaindoles in Solution and Solid State. *J. Mol. Liq.* **2022**, *368*, 120728. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120728>.
- (16) Durán Sampedro, G. Nuevos sistemas de colorantes orgánicos para aplicaciones láser y biofotónicas. **2015**.
- (17) Palao, E.; Slanina, T.; Klán, P. Construction of the Carbon–Chalcogen (S, Se, Te) Bond at the 2,6-Positions of BODIPY via Stille Cross-Coupling Reaction. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (80), 11951–11954. <https://doi.org/10.1039/C6CC06923A>.
- (18) Boens, N.; Verbelen, B.; Dehaen, W. Postfunctionalization of the BODIPY Core: Synthesis and Spectroscopy. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015* (30), 6577–6595. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201500682>.
- (19) Álvarez, L.; Hidalgo-Carrillo, J.; Marinas, A.; Marinas, J. M.; Urbano, F. J. Sustainable C–C bond formation through Knoevenagel reaction catalyzed by MgO-based catalysts. *React. Kinet. Mech. Catal.* **2016**, *118* (1), 247–265. <https://doi.org/10.1007/s11144-016-1003-z>.
- (20) Abramchuk, D.; Voskresenskaya, A.; Kuzmichev, I.; Erofeev, A.; Gorelkin, P.; Abakumov, M.; Beloglazkina, E.; Krasnovskaya, O. BODIPY in Alzheimer’s Disease Diagnostics: A Review. *Eur. J. Med. Chem.* **2024**, *276*, 116682. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116682>.
- (21) Onur, S.; Ayhanci, A. Relationship Between Acrylamide and Oxidative Stress; **2023**; pp 77–97.
- (22) BODIPYs no convencionales para aplicaciones fotónicas avanzadas. <https://docta.ucm.es/entities/publication/a0e406d1-ffaf-429d-83a9-5e6e123012e1> (accessed 2024-09-19).
- (23) Deligeorgiev, T.; Vasilev, A.; Kaloyanova, S.; Vaquero, J. J. Styryl Dyes – Synthesis and Applications during the Last 15 Years. *Color. Technol.* **2010**, *126* (2), 55–80. <https://doi.org/10.1111/j.1478-4408.2010.00235.x>.
- (24) Sánchez-Carnerero, E. M.; Russo, M.; Jakob, A.; Muchová, L.; Vítek, L.; Klán, P. Effects of Substituents on Photophysical and CO-Photoreleasing Properties of 2,6-Substituted Meso-Carboxy BODIPY Derivatives. *Chemistry* **2021**, *3* (1), 238–255. <https://doi.org/10.3390/chemistry3010018>.
- (25) Collado-Martín, D.; Pérez-de-Inestrosa-Villatoro, E.; Vida-Pol, Y.; Nájera-Albendín, F.; Ramon, P.; Pischel, U. *Sistema fluorescentes multifotónicos con aplicaciones en bioimagen*; **2013**.
- (26) García Suárez, A. Determinación de rendimientos cuánticos de fluorescencia por métodos indirectos. master thesis, **2015**. <https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/32363> (accessed 2024-09-16).

- (27) Sánchez-Carnerero, E. M.; Russo, M.; Jakob, A.; Muchová, L.; Vitek, L.; Klán, P. Effects of Substituents on Photophysical and CO-Photoreleasing Properties of 2,6-Substituted Meso-Carboxy BODIPY Derivatives. *Chemistry* **2021**, *3* (1), 238–255. <https://doi.org/10.3390/chemistry3010018>.
- (28) Zhu, S.; Zhang, J.; Vegesna, G. K.; Pandey, R.; Luo, F.-T.; Green, S.; Liu, H. One-Pot Efficient Synthesis of Dimeric, Trimeric, and Tetrameric BODIPY Dyes for Panchromatic Absorption. *Chem. Commun. Camb. Engl.* **2011**, *47*, 3508–3510. <https://doi.org/10.1039/c0cc05303a>.
- (29) Smyk, B.; Mędza, G.; Kasparek, A.; Pyrka, M.; Gryczynski, I.; Maciejczyk, M. Spectroscopic Properties and Conformational Analysis of Methyl Ester of Sinapic Acid in Various Environments. *J. Phys. Chem. B* **2017**, *121* (30), 7299–7310. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b05508>.

## 8. Anexos

### Índice

<b>Espectros de RMN</b> .....	1
<b>Figura S1.</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN de <b>1</b> en $\text{CDCl}_3$ .....	1
<b>Figura S2.</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN de <b>2</b> en $\text{CDCl}_3$ .....	2
<b>Figura S3.</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN de <b>3</b> en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	3
<b>Figura S4.</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN de <b>4</b> en $\text{CDCl}_3$ .....	4
<b>Figura S5.</b> Espectro de $^1\text{H}$ -RMN de <b>5</b> en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	5
<b>Figura S6.</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN de <b>4</b> en $\text{CDCl}_3$ .....	6
<b>Figura S7.</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN de <b>5</b> en $\text{CD}_3\text{OD}$ .....	7
<b>Espectros de absorción y emisión</b> .....	8
<b>Figura S8.</b> Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada; $\lambda_{\text{exc}} = 490 \text{ nm}$ ) de <b>1</b> ( $c \approx 10^{-6} \text{ M}$ en metanol).....	8
<b>Figura S9.</b> Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada; $\lambda_{\text{exc}} = 540 \text{ nm}$ ) de <b>2</b> ( $c \approx 10^{-6} \text{ M}$ en metanol).....	8
<b>Figura S10.</b> Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada; $\lambda_{\text{exc}} = 490 \text{ nm}$ ) de <b>3</b> ( $c \approx 10^{-6} \text{ M}$ en metanol).....	9
<b>Figura S11.</b> Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada; $\lambda_{\text{exc}} = 620 \text{ nm}$ ) de <b>4</b> ( $c \approx 10^{-6} \text{ M}$ en metanol).....	9
<b>Figura S12.</b> Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada; $\lambda_{\text{exc}} = 590 \text{ nm}$ ) de <b>5</b> ( $c \approx 10^{-6} \text{ M}$ en metanol).....	10

# Espectros de RMN

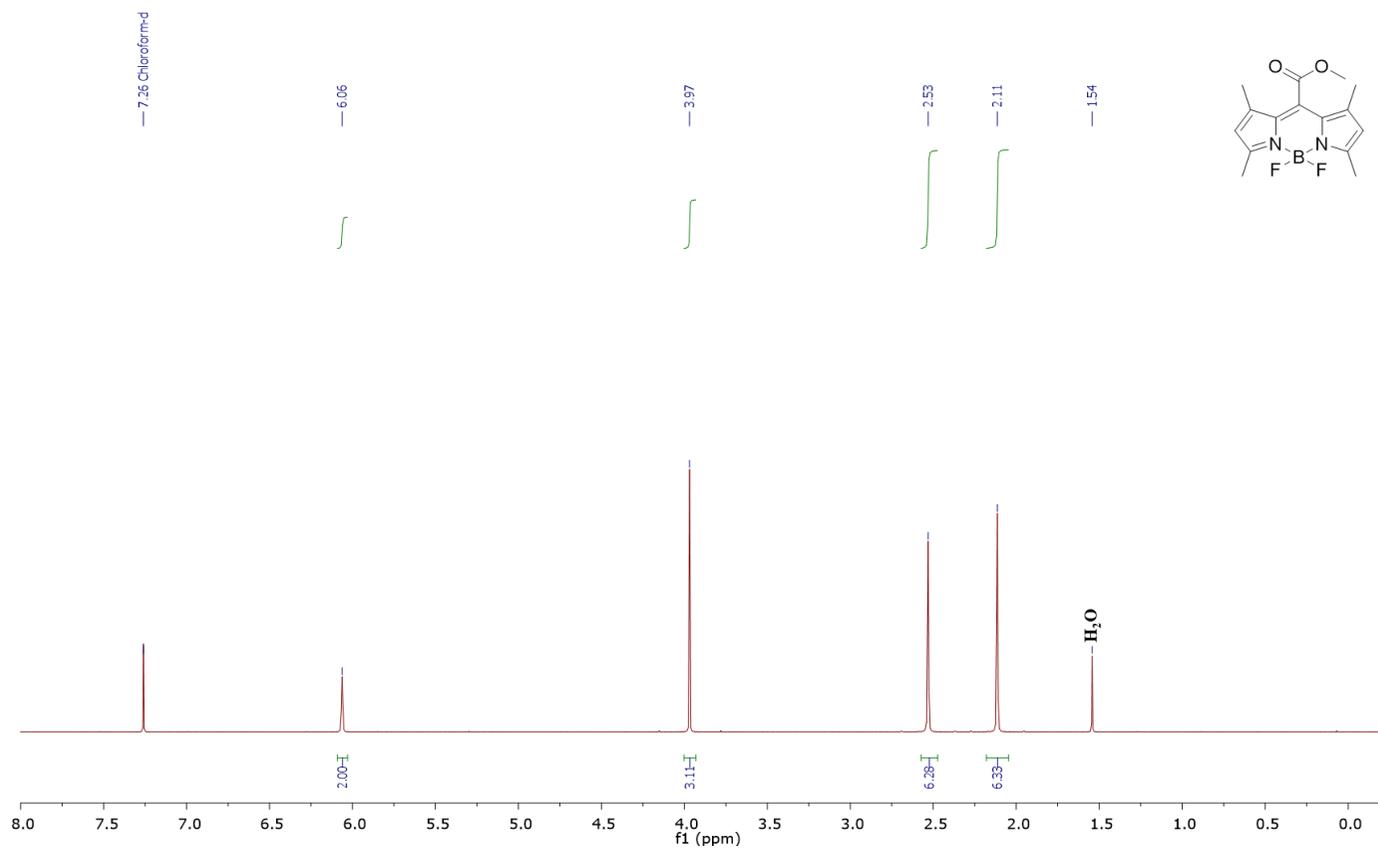
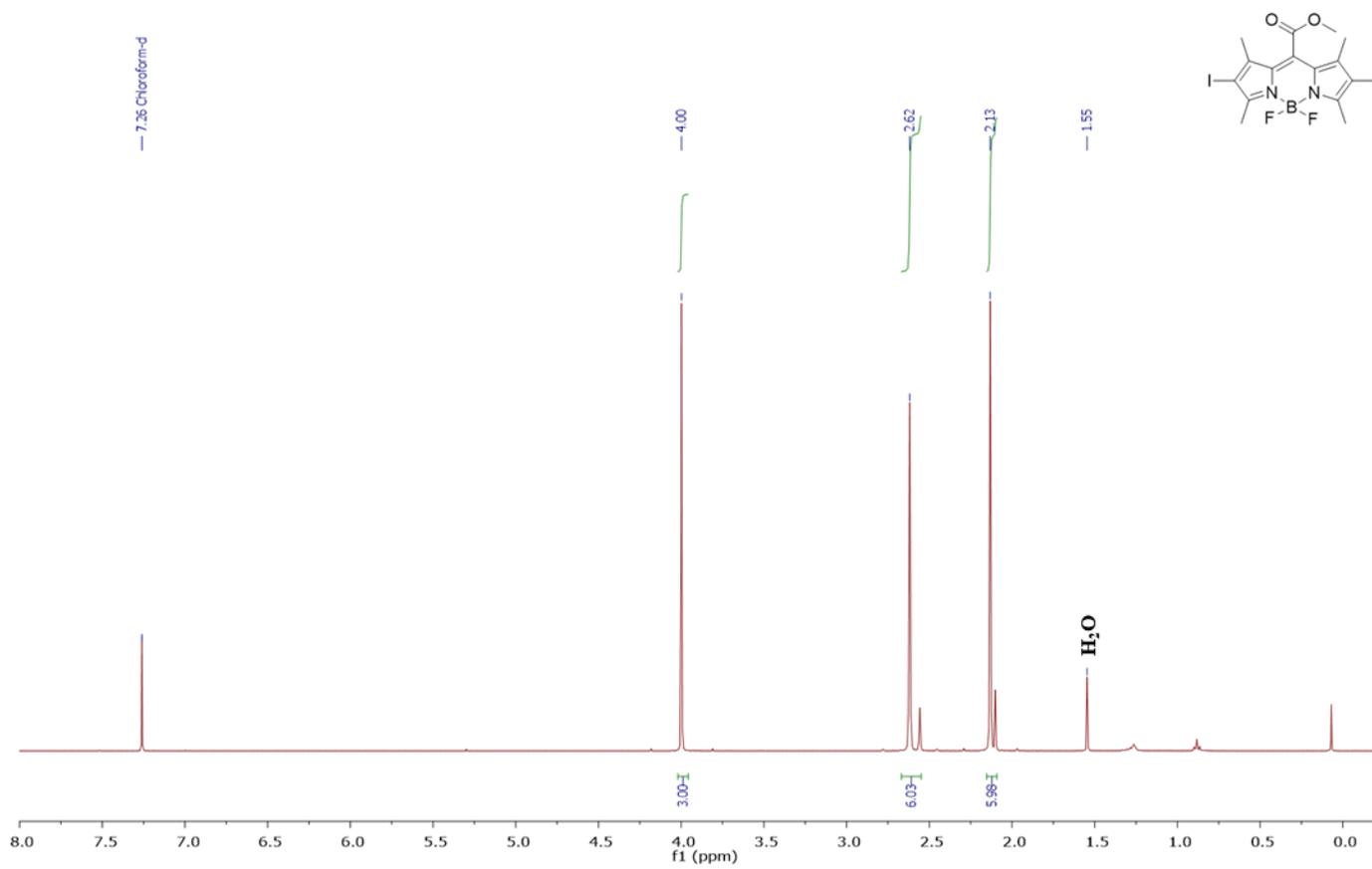


Figura S1. Espectro de <sup>1</sup>H-RMN de **1** en CDCl<sub>3</sub>



**Figura S2.** Espectro de <sup>1</sup>H-RMN de **2** en CDCl<sub>3</sub>

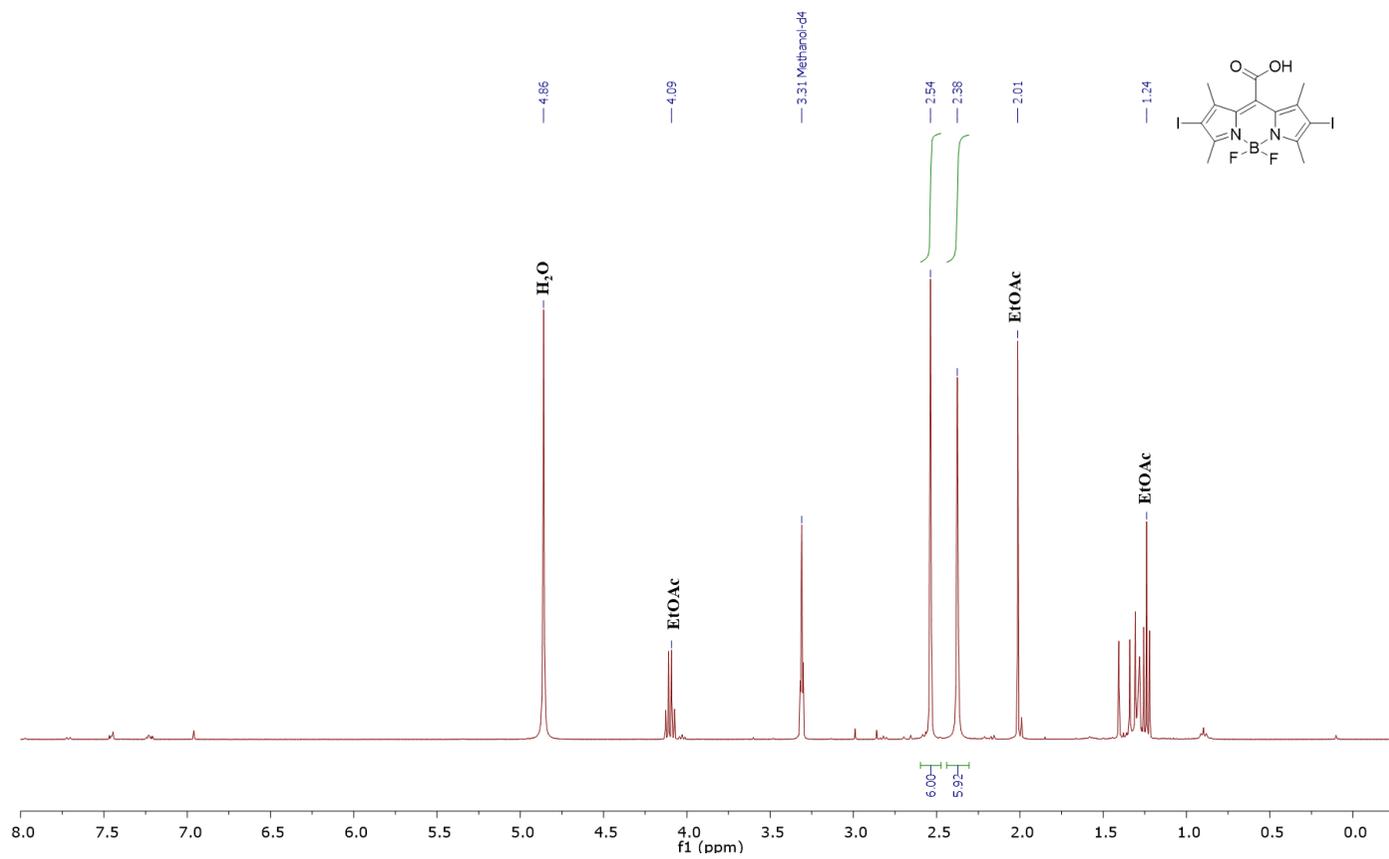


Figura S3. Espectro de <sup>1</sup>H-RMN de 3 en CD<sub>3</sub>OD

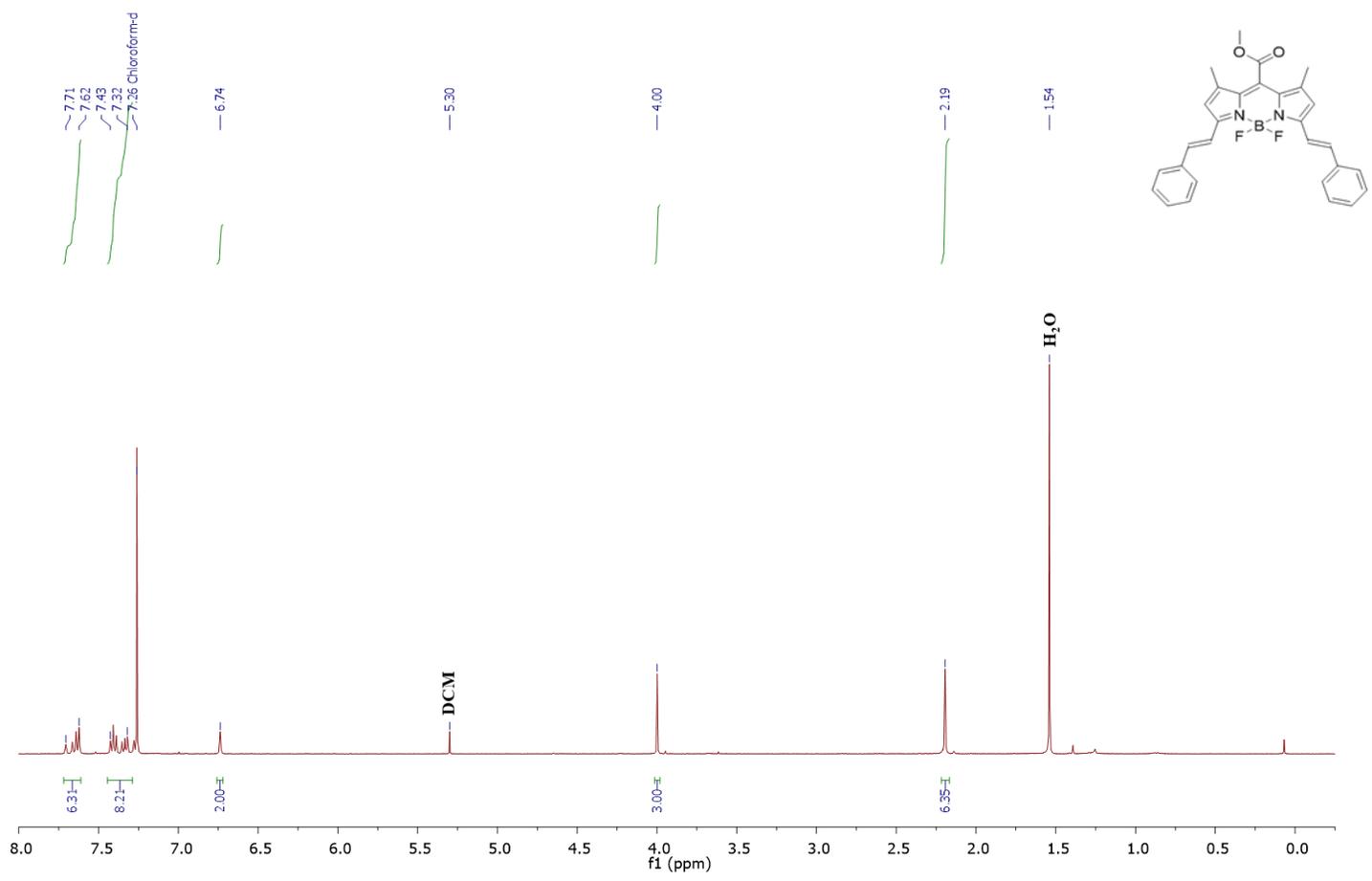


Figura S4. Espectro de <sup>1</sup>H-RMN de 4 en CDCl<sub>3</sub>

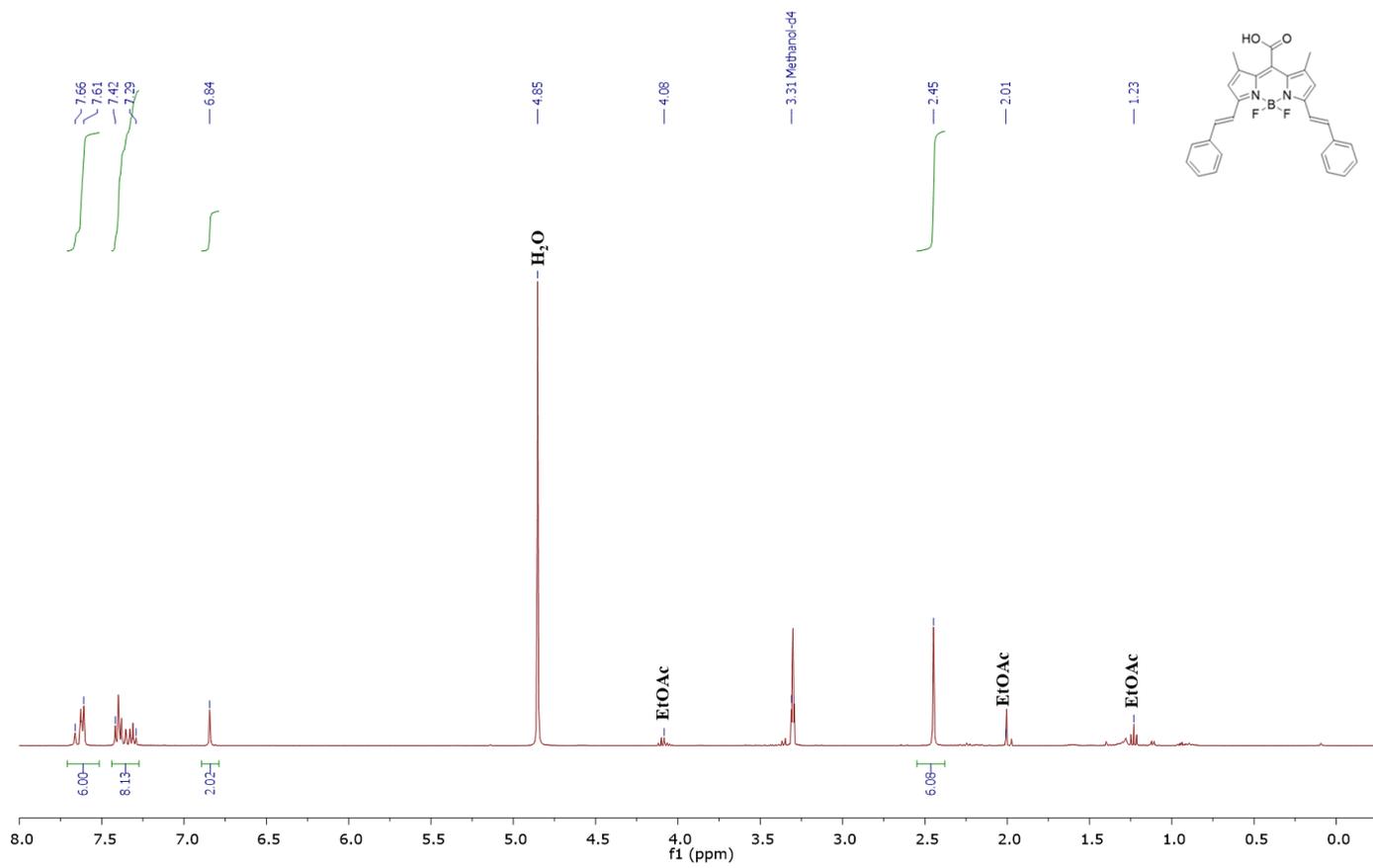


Figura S5. Espectro de <sup>1</sup>H-RMN de **5** en CD<sub>3</sub>OD

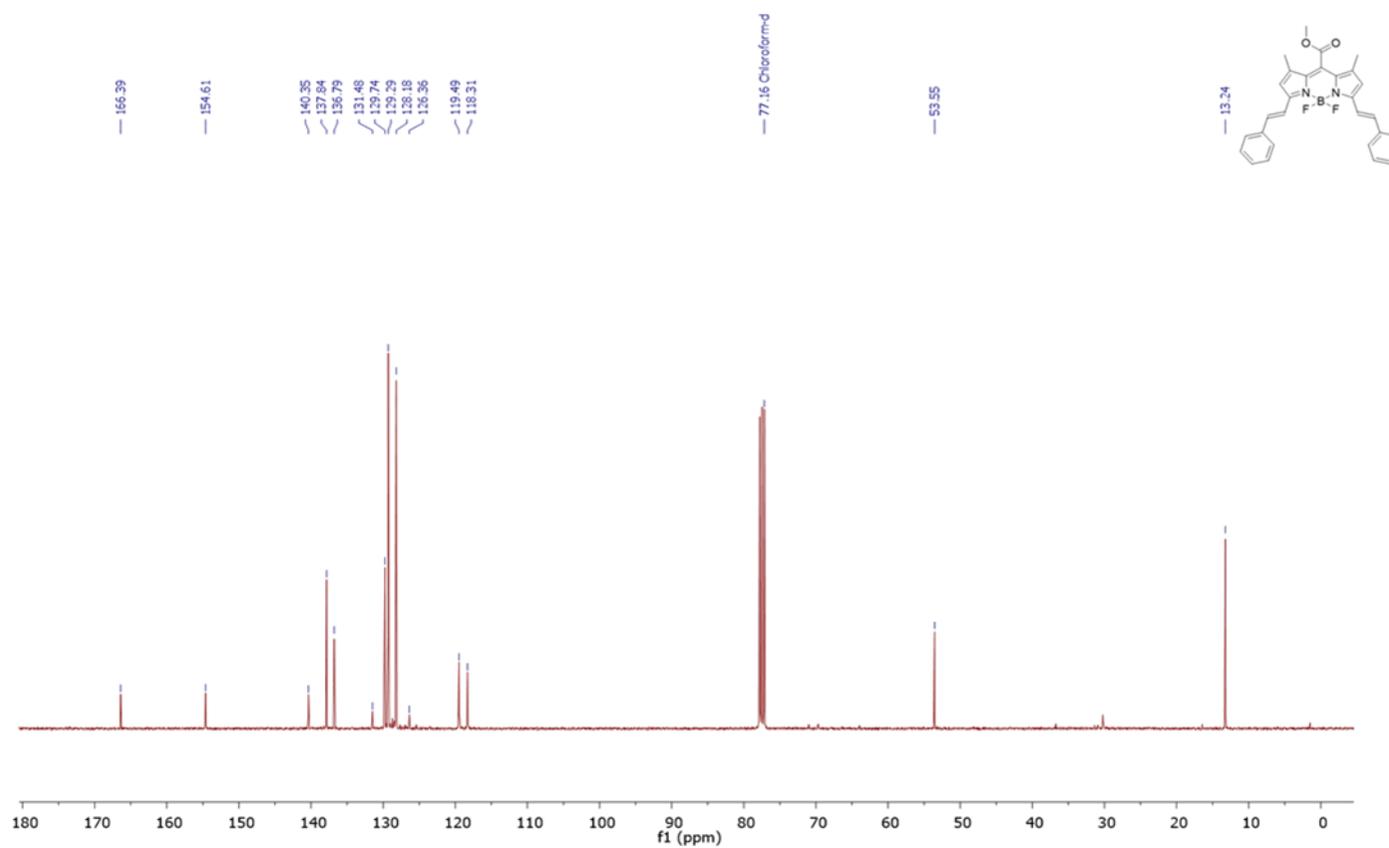


Figura S6. Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de **4** en  $\text{CDCl}_3$

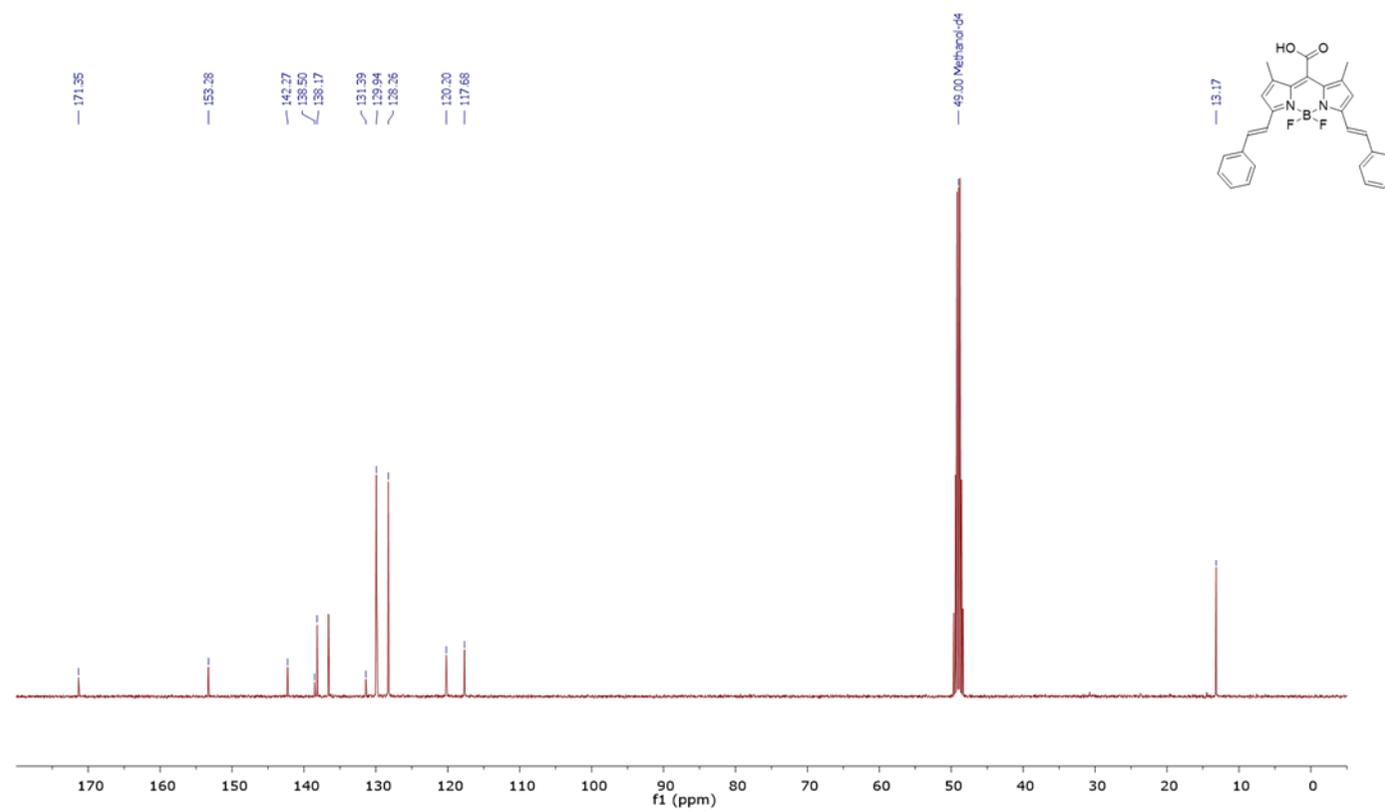
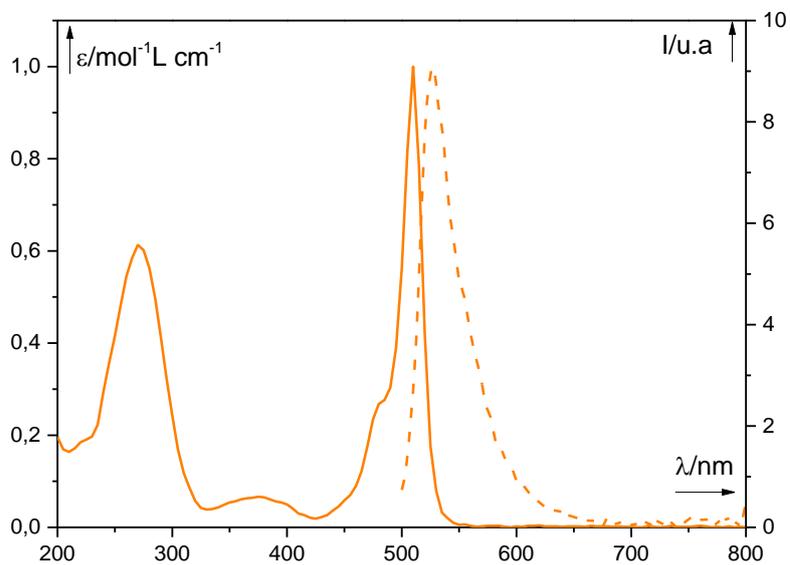
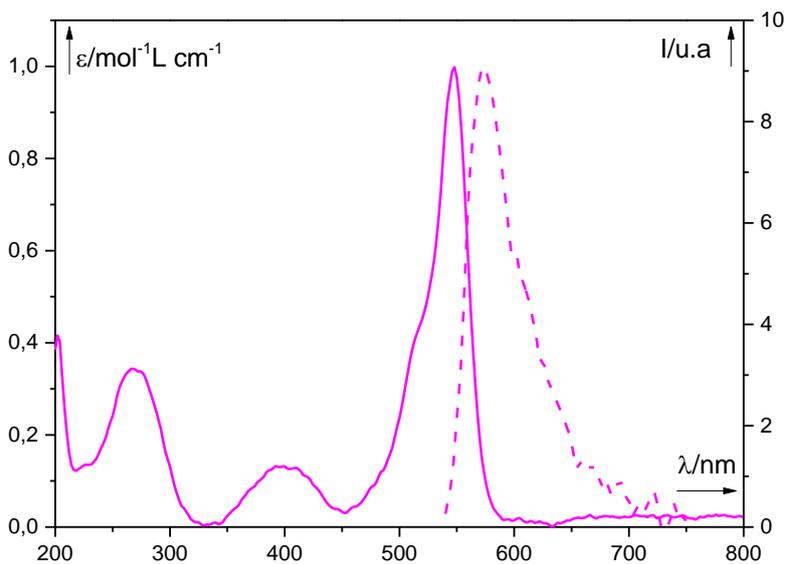


Figura S7. Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de **5** en  $\text{CD}_3\text{OD}$

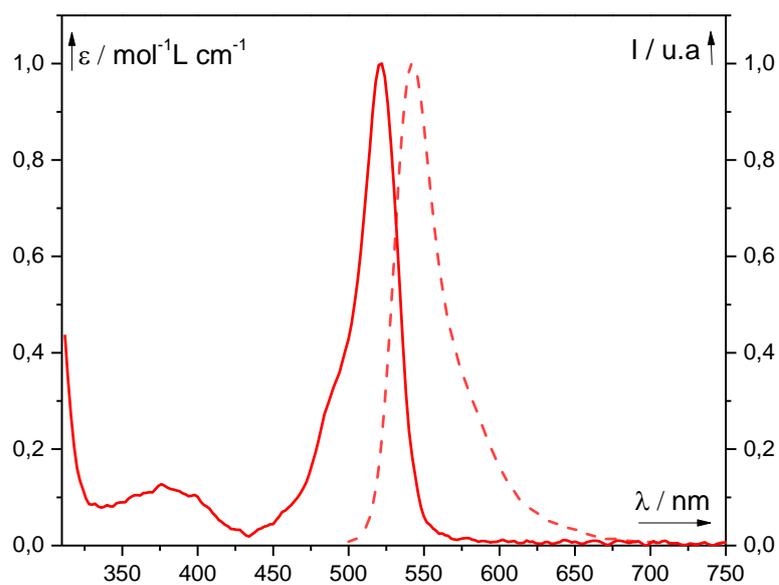
## Espectros de absorción y emisión



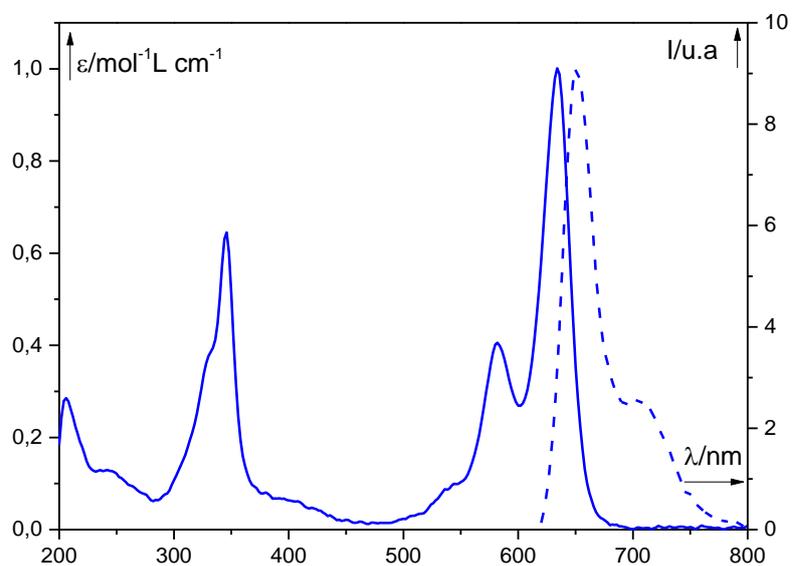
**Figura S8.** Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada;  $\lambda_{\text{exc}} = 490$  nm) de **1** ( $c \approx 10^{-6}$  M en metanol)



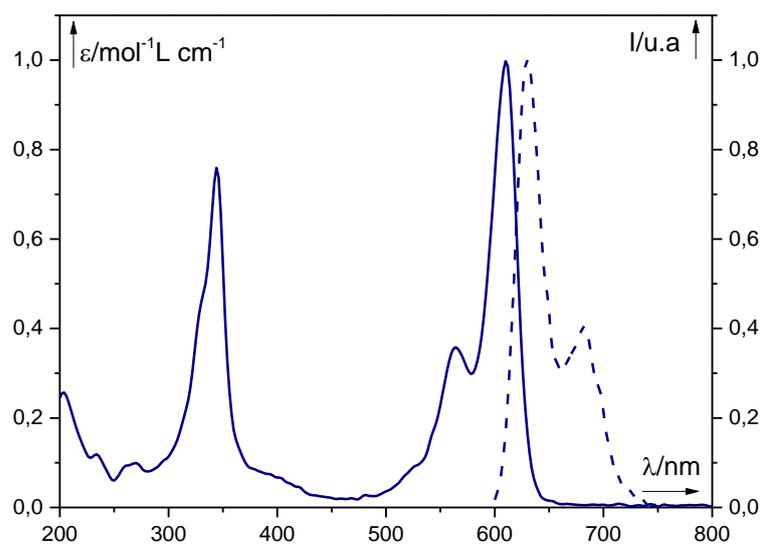
**Figura S9.** Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada;  $\lambda_{\text{exc}} = 540$  nm) de **2** ( $c \approx 10^{-6}$  M en metanol)



**Figura S10.** Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada;  $\lambda_{exc} = 490$  nm) de **3** ( $c \approx 10^{-6}$  M en metanol)



**Figura S11.** Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada;  $\lambda_{exc} = 620$  nm) de **4** ( $c \approx 10^{-6}$  M en metanol)



**Figura S12.** Espectro de absorción normalizada (línea sólida) y emisión normalizada (línea punteada;  $\lambda_{\text{exc}} = 590 \text{ nm}$ ) de **5** ( $c \approx 10^{-6} \text{ M}$  en metanol)

