



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**DISEÑO DE NUEVOS AZA-HETEROCICLOS FUSIONADOS COMO SENSORES  
LUMINISCENTES SELECTIVOS A HIERRO (III).**

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA

M. en C. DAVID GALLARDO ROSAS

DRA. MARÍA DEL CARMEN V. ORTEGA ALFARO  
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES

CIUDAD DE MÉXICO, MAYO, 2025



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**DISEÑO DE NUEVOS AZA-HETEROCICLOS FUSIONADOS COMO  
SENSORES LUMINISCENTES SELECTIVOS A HIERRO (III).**

**T E S I S**

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**M. en C. DAVID GALLARDO ROSAS**



Ciudad de México, mayo de 2025

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Instituto de Ciencias Nucleares.

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT)** por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado (Número de CVU: 887548).

Al proyecto **PAPIIT IN212363** y **CONAHCyT A1-S-26747** por los fondos otorgados.

Al **Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas**, por el apoyo que me brindó durante el tiempo que pertenezco a su Programa.

A los miembros del **H. Jurado** por sus aportaciones para mejorar este escrito.

A la **Dra. María del Carmen V. Ortega Alfaro** por invitarme a formar parte de su grupo de investigación, por su asesoramiento, por su infinita paciencia y por su invaluable amistad.

Al **Dr. José Guadalupe López Cortés** por su ayuda, los consejos, el apoyo que nunca faltó para la realización de este trabajo y su valiosa amistad.

Al **Dr. Javier Pérez** y la **Dra. Ma. Carmen García González** del Instituto de Química de la UNAM por su ayuda en la realización de las técnicas de espectrometría de masas.

A la Dra. Isabel Chávez del Instituto de Química de la UNAM por su ayuda en la realización de las técnicas de RMN.

a mis padres y hermana, por su apoyo constante a lo largo de estos años; y a Lin, por su amor, su fe en mí y por motivarme cada día.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Precursores Organometálicos del Instituto de Ciencias Nucleares y del laboratorio de Inorgánica 4 del Instituto de Química de la UNAM por su apoyo y amistad.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Precursores Organometálicos del Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica del Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM, bajo la asesoría de la Dra. María de Carmen V. Ortega Alfaro.

## H. Jurado

<b>Presidente</b>	Dra. Silvia Elena Castillo Blum	Facultad de Química, UNAM
<b>Vocal</b>	Dr. Hiram Isaac Beltrán Conde	UAM, Unidad Azcapotzalco
<b>Vocal</b>	Dr. Alejandro Cordero Vargas	Instituto de Química, UNAM
<b>Vocal</b>	Dr. Fernando Ortega Jiménez	FES-Cuautitlán, UNAM
<b>Secretario</b>	Dr. Rafael Omar Arcos Ramos	Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM

## TABLA DE CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE COMPUESTOS .....</b>	<b>xii</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvi</b>
<b>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS .....</b>	<b>xvii</b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Antecedentes .....	3
1.1.1 Sensores .....	3
1.1.2 Tipos de sensores .....	4
1.1.3 Parámetros analíticos que definen a un sensor. ....	5
1.1.4 Fluorescencia. ....	6
1.1.5 Variables que afectan la fluorescencia .....	8
1.1.6 Modos de detección de fluorescencia.....	9
1.1.7 Tipos de sondas fluorescentes. ....	10
1.1.8 Interferencias en el proceso de apagamiento de fluorescencia .....	12
1.1.9 Parámetros a considerar en el diseño de una sonda fluorescente .....	14
1.1.10 Rendimiento cuántico .....	15
1.1.11 Desplazamiento de Stokes .....	17
1.1.12 Importancia de identificación de cationes .....	17
1.1.13 Apagamiento de la fluorescencia mediante cationes metálicos .....	18
1.1.14 4 <i>H</i> -quinolizin-4-onas .....	21
1.1.15 1 <i>H</i> -benzo[4,5]tiazolo[3,2- <i>a</i> ]piridin-1-ona. ....	24
1.1.16 5 <i>H</i> -tiazolo[2,3- <i>a</i> ]piridinona .....	27
1.1.17 Cetenas .....	29
1.1.18 Estructura y propiedades químicas.....	30
1.1.19 Vinilcetenas .....	32
1.1.20 Complejos de vinilcetenas .....	33
1.1.21 Vinilcetenas estabilizadas con hierro .....	35
1.2 Planteamiento del problema .....	37
1.3 Hipótesis.....	38
1.4 Objetivos .....	39
1.4.1 General.....	39

1.4.2	Particulares.....	39
<b>CAPÍTULO 2. DISEÑO Y SÍNTESIS DE LAS SONDAS FLUORESCENTES BASADAS EN 4H-QUINOLIZIN-4-ONAS.....</b>		<b>40</b>
2.1	Base estructural para el diseño de las sondas .....	40
2.2	Incorporación de los sitios de coordinación .....	41
2.3	Propuesta 1. Funcionalización sobre la posición 6 del anillo de 4 <i>H</i> -quinolizin-4-ona .	43
2.3.1	Análisis retrosintético.....	43
2.3.2	Halogenación.....	47
2.3.3	Litiación .....	48
2.3.4	Funcionalización previa .....	50
2.4	Propuesta 2. Cambio del grupo fenilo por 2-piridilo en el andamio principal.....	52
2.5	Propuesta 3. Funcionalización sobre la posición 2 del anillo de fenilo.....	55
<b>CAPÍTULO 3. MODIFICACIÓN ESTRUCTURAL Y CAMBIO DE POSICIÓN DE GRUPOS COORDINANTES.....</b>		<b>69</b>
3.1	Ajuste estructural para mejorar la capacidad de coordinación.....	69
3.1.1	Análisis retrosintético.....	70
3.1.2	Obtención del compuesto 5a a partir de 4a. ....	71
3.2	Cambio de posición del grupo coordinante en la 4 <i>H</i> -quinolizin-4-ona .....	75
<b>CAPÍTULO 4. SÍNTESIS DE SONDAS FLUORESCENTES BASADAS EN 4H-BENZOTIAZOLOPIRIDIN-4-ONAS.....</b>		<b>79</b>
4.1	Obtención de la 2-(2-metoxifenil)-1 <i>H</i> -benzo[4,5]tiazolo[3,2- <i>a</i> ]piridin-1-ona. ....	79
4.1.1	Análisis retrosintético.....	80
4.1.2	Síntesis del benzotiazol-2-carboxaldehído. ....	80
4.2	Obtención de la 2-(2-hidroxifenil)-1 <i>H</i> -benzo[4,5]tiazolo[3,2- <i>a</i> ]piridin-1-ona. ....	93
4.3	Obtención de la 6-(2-hidroxifenil)-3-metil-5 <i>H</i> -tiazolo[3,2- <i>a</i> ]piridin-5-ona. ....	95
<b>CAPÍTULO 5. ESTUDIO DE RESPUESTA ÓPTICA.....</b>		<b>98</b>
5.1	Caracterización óptica mediante espectroscopía UV-Visible y de fluorescencia .....	99
5.1.1	Barrido de disolventes .....	99
5.1.2	Estudio del sistema de disolventes binario DMSO:H <sub>2</sub> O. ....	105
5.1.3	Determinación de la longitud de onda de excitación óptima en el sistema DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 .....	107
5.2	Determinación de los rendimientos cuánticos.....	109
5.2.1	Espectros de absorción y emisión de los compuestos sintetizados .....	111
5.3	Determinación de los desplazamientos de Stokes .....	117

<b>CAPÍTULO 6. ESTUDIOS DE SELECTIVIDAD.....</b>	<b>122</b>
6.1 Selectividad del compuesto 4a .....	122
6.2 Selectividad del compuestos 4d y 4e.....	123
6.3 Selectividad del compuesto 5a .....	124
6.4 Selectividad del compuesto 5b .....	126
6.5 Selectividad del compuesto 5c .....	127
6.5.1 Reconocimiento selectivo de Fe <sup>3+</sup> frente a Fe <sup>2+</sup> .....	128
6.6 Determinación de parámetros analíticos .....	128
6.6.1 Cálculo de límites de detección y cuantificación .....	129
6.6.2 Estudio de estequiometría de los complejos formados.....	133
6.6.3 Determinación de las constantes de asociación ( <i>K<sub>a</sub></i> ) .....	135
6.7 Aislamiento y caracterización del complejo 6a .....	139
6.7.1 Aislamiento del complejo .....	139
6.7.2 Caracterización espectroscópica y espectrométrica del complejo 5a-Fe(III).....	140
6.7.3 Confirmación del complejo mediante UV-Visible y fluorescencia.....	143
6.8 Cálculos teóricos .....	144
6.8.1 Análisis de la función de onda .....	146
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>149</b>
7.1 Impacto y perspectivas.....	150
<b>METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>151</b>
8.1 Equipos e instrumentos .....	151
8.2 Síntesis y caracterización de compuestos.....	153
8.2.1 Síntesis de la fuente de hierro Fe <sub>2</sub> (CO) <sub>9</sub> .....	153
8.2.2 Síntesis de las cetonas $\alpha,\beta$ -insaturadas .....	153
8.2.3 Síntesis de los complejos $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO) <sub>4</sub> ] .....	155
8.2.4 Síntesis de los complejos $\eta^4$ -vinilcetona [Fe(CO) <sub>3</sub> ] .....	156
8.2.5 Síntesis de los compuestos 4a, 4b, 4c y 4d.....	157
8.2.6 Síntesis de los ligantes 5a, 5b y 5c.....	159
8.3 Caracterización espectroscópica .....	161
<b>ANEXO 1 PUBLICACIONES.....</b>	<b>163</b>

## Índice de figuras

Figura 1 Modelo de acción de una sonda fluorescente. ....	3
Figura 2 Etapas básicas en el funcionamiento de un sensor químico .....	4
Figura 3 Algunas propiedades que se pueden medir con sensores ópticos.....	5
Figura 4 Posibles vías de relajación de moléculas excitadas.....	7
Figura 5 Diagrama de Jablonski (promoción de un electrón a un estado excitado por la absorción de luz y relajación a un estado basal por distintas vías). ....	8
Figura 6 Factores que pueden tener un efecto sobre la fluorescencia. ....	9
Figura 7 Ejemplo general de una sonda fluorescente de tipo PET.....	10
Figura 8 Ejemplo general del funcionamiento de una sonda fluorescente de tipo PCT con grupos electrodonadores (GED) y grupos electroattractores (GEA). ....	11
Figura 9 Representación general del funcionamiento de sondas fluorescentes por formación de excímeros. ....	11
Figura 10 Ejemplo general de sondas fluorescentes con respuesta de tipo FRET. ....	12
Figura 11 Diagrama de flujo entre el medio y el mecanismo de apagamiento fluorescencia, clasificando los mecanismos como enfriamiento dinámico, estático o trivial. ....	13
Figura 12 Diagrama de transiciones simplificado para un complejo con un metal d6 con coordinación octaédrica y un ligante de campo alto. ....	19
Figura 13 Apagamiento de la fluorescencia mediante un proceso de transferencia de electrones de M a F*. El metal debe de ser fácilmente oxidable. ....	19
Figura 14 Apagamiento de la fluorescencia mediante un proceso de transferencia de electrones de F* a M. ....	20
Figura 15 Apagamiento de la fluorescencia mediante un proceso de transferencia de energía (TE).....	20
Figura 16 Estructura resonante de la 4H-quinolizin-4-ona. ....	21
Figura 17 Sondas fluorescentes que incorporan 4H-quinolizin-4-onas en su estructura. ....	21
Figura 18 Compuestos con actividad biológica que incluyen 4H-quinolizin-4-onas en su estructura. ....	22
Figura 19 Estructura resonante de la 4H-quinolizin-4-ona. ....	24
Figura 20 Ejemplos de compuestos reportados en la literatura que incorporan en su estructura un centro de BTP. ....	24
Figura 21 Compuestos con actividad biológica que incluyen BTP en su estructura. ....	25
Figura 22 Estructura resonante de la 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona.....	27
Figura 23 Compuestos con actividad biológica que incluyen 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona en su estructura. ....	28
Figura 24 Estructura general de las cetenas.....	30
Figura 25 a) Orbitales moleculares HOMO y LUMO y b) estructuras resonantes de la etenona. ....	31
Figura 26 Deslocalización electrónica de una vinilcetena. ....	33
Figura 27 Representaciones principales de los complejos $\eta^4$ vinilcetena.....	34
Figura 28 Estructura base propuesta .....	40
Figura 29 Estructura de algunos compuestos reportados previamente por nuestro grupo de investigación. ....	41
Figura 30 Estructuras propuestas para las sondas fluorescentes. ....	42

Figura 31 Propuesta inicial de la estructura de la sonda fluorescente.....	43
Figura 32 Segunda propuesta estructural de sonda fluorescente. ....	53
Figura 33 Tercera propuesta estructural de sonda fluorescente. ....	55
Figura 34 Modelo de Dewar-Chatt-Duncanson para Metal-Alquenos. ....	57
Figura 35 Interacción de orbitales en complejos M-CO.....	59
Figura 36 Geometrías posibles de complejos Fe(CO) <sub>5</sub> y Fe(CO) <sub>4</sub> L. ....	60
Figura 37 Estructuras resonantes del complejo η <sup>4</sup> -vinilcetena [Fe(CO) <sub>3</sub> ] <b>3a</b> . ....	63
Figura 38 Geometrías posibles para el complejo Fe(CO) <sub>3</sub> L <sub>2</sub> .....	64
Figura 39 Geometría más probable del complejo η <sup>4</sup> -vinilcetena [Fe(CO) <sub>3</sub> ]. ....	64
Figura 40 Estructura de la primera sonda fluorescente 3-(2-metoxifenil)-4H-quinolizin-4-ona <b>4a</b> disuelta en CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> observado bajo la lampara de UV-Visible a 364 nm. ....	68
Figura 41 Estructura propuesta de sonda fluorescente <b>5a</b> . ....	69
Figura 42 Propuestas de cambio de posición del grupo metoxilo. ....	75
Figura 43 Estructura de la 1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona (BTP). ....	79
Figura 44 Estructura propuesta de la sonda fluorescente <b>4d</b> . ....	79
Figura 45 Luminiscencia del 2-(2-metoxifenil)-1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona <b>4d</b> disuelta en CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> observado bajo la lampara de UV-Visible a 364 nm. ....	92
Figura 46 Estructura de los compuestos a estudiar como sondas fluorescentes. ....	98
Figura 47 Restricción conformacional inducida por puente de hidrógeno en sondas fluorescentes.....	116
Figura 48 Comparación estructural de los rendimientos cuánticos de fluorescencia en función del núcleo de las sondas fluorescentes.....	116
Figura 49 Posibles estructuras resonantes de los heterociclos que presentan un átomo de azufre en su estructura. ....	117
Figura 50 Estructura de los compuestos <b>4d</b> y <b>4e</b> . ....	124
Figura 51 Estructura del complejo <b>6a</b> .....	141
Figura 52 Orbitales de transición natural involucrados en la emisión de los sistemas <b>5a</b> y <b>6a</b> . ....	146
Figura 53 División de los compuestos <b>5a</b> y <b>6a</b> en grupos funcionales para el análisis de la transferencia de carga electrónica debido a la transición S <sub>1</sub> → S <sub>0</sub> .....	147
Figura 54 Estructura de las sondas fluorescentes selectivas a Fe(III).....	149

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Variación de condiciones para la condensación aldólica (se muestran resultados más significativos). .....	44
<b>Tabla 2</b> Resultados de optimización para la formación del complejo $\eta^2$ -vinilcetona $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ . (se muestran los resultados más significativos) .....	45
<b>Tabla 3</b> Resultados de optimización para la formación del compuesto 3-fenil-4H-quinolizin-4-ona .....	46
<b>Tabla 4</b> Variaciones de la reacción de litiación de la 3-fenil-4H-quinolizin-4-ona .....	48
<b>Tabla 5</b> Variación de condiciones para la condensación aldólica. ....	53
<b>Tabla 6</b> Variación de condiciones para la formación del complejo $\eta^2$ -vinilcetona $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ (se muestran los resultados más significativos). ....	54
<b>Tabla 7</b> Resultados obtenidos para la formación del compuesto 3-(2-metoxifenil)-4H-quinolizin-4-ona <b>4a</b> .....	65
<b>Tabla 8</b> Variación de condiciones para la reacción de protección de la 2'-hidroxiacetofenona. .	71
<b>Tabla 9</b> Variaciones de las condiciones de reacción de desmetilación en la reacción modelo. .	72
<b>Tabla 10</b> Variaciones de la reacción de desmetilación para la síntesis de <b>5a</b> .....	72
<b>Tabla 11</b> Rendimientos de reacción para las tres cetonas $\alpha,\beta$ -insaturadas. ....	76
<b>Tabla 12</b> Rendimientos de reacción para los complejos $\eta^2$ -vinilcetona $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ .....	77
<b>Tabla 13</b> Rendimientos de reacción para los complejos $\eta^4$ -vinilcetona $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ .....	77
<b>Tabla 14</b> Rendimientos de reacción para la reacción de anillación de los compuestos <b>4a</b> , <b>4b</b> y <b>4c</b> .....	78
<b>Tabla 15</b> Variación de condiciones para la reacción de formilación del benzotiazol por litiación. ....	81
<b>Tabla 16</b> Variación de condiciones para la obtención del aldehído del benzotiazol por oxidación con $\text{SeO}_2$ .....	81
<b>Tabla 17</b> Variación de las condiciones de reacción para la condensación aldólica (se muestran los resultados más significativos) .....	82
<b>Tabla 18</b> Variación de condiciones para la formación del complejo $\eta^2$ -vinilcetona $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ .....	84
<b>Tabla 19</b> Rendimientos de la reacción de anillación para la obtención del compuesto <b>4d</b> .....	90
<b>Tabla 20</b> Rendimientos de reacción de desmetilación. ....	93
<b>Tabla 21</b> Rendimientos obtenidos en la reacción de desmetilación del compuesto <b>4e</b> .....	96
<b>Tabla 22</b> Viscosidad de distintos disolventes en mPas (cP). ....	104
<b>Tabla 23</b> Comparación de la longitud de onda máxima de absorción ( $\lambda_{\text{abs}}$ ) y longitud de onda de excitación óptima en $\text{DMSO}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1. ....	109
<b>Tabla 24</b> Comparación de las longitudes de onda de absorción, excitación (obtenida por intersección con el compuesto de referencia), emisión y rendimientos cuánticos. ....	115
<b>Tabla 25</b> Resumen de las longitudes de onda de absorción, emisión y desplazamientos de Stokes de las sondas sintetizadas. ....	121
<b>Tabla 26</b> Resumen de valores de LD y LC obtenidos para las sondas fluorescentes <b>5a</b> , <b>5b</b> y <b>5c</b> . ....	133
<b>Tabla 27</b> Constantes de asociación calculadas para las sondas fluorescentes <b>5a</b> , <b>5b</b> y <b>5c</b> . ...	138
<b>Tabla 28</b> Comparación de los porcentajes de C, H y N obtenidos mediante análisis elemental del complejo <b>6a</b> en comparación con los valores teóricos .....	141
<b>Tabla 29</b> Cargas de los grupos funcionales de las especies <b>5a</b> y <b>6a</b> mostradas en la Figura 47 en los estados electrónicos $S_1$ y $S_0$ (ecuación (3)). También se presentan los cambios correspondientes en dichas cargas debido a la transición $S_1 \rightarrow S_0$ (fórmula (5)). Todas las unidades están expresadas en unidades atómicas. ....	148
<b>Tabla 30</b> Parámetros seleccionados para la obtención de datos de UV-Visible .....	151
<b>Tabla 31</b> Parámetros seleccionados para la obtención de datos de fluorescencia .....	152

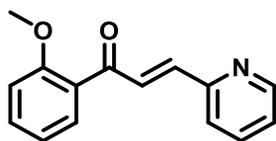
## Índice de gráficas

Gráfica 1 Espectros de absorción del compuesto <b>4c</b> en distintos disolventes ( $5 \times 10^{-6}$ M).....	99
Gráfica 2 Espectros de emisión del compuesto <b>4c</b> en distintos disolventes ( $5 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{ex}=402$ nm).....	100
Gráfica 3 Espectros de absorción del compuesto <b>5a</b> en distintos disolventes ( $1 \times 10^{-5}$ M).....	101
Gráfica 4 Espectros de emisión del compuesto <b>5a</b> en distintos disolventes ( $1 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{ex}=402$ nm).....	101
Gráfica 5 Espectros de absorción del compuesto <b>5b</b> en distintos disolventes ( $7.5 \times 10^{-6}$ M). ....	102
Gráfica 6 Espectros de emisión del compuesto <b>5b</b> en distintos disolventes ( $7.5 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{ex}=385$ nm).....	102
Gráfica 7 Espectros de absorción del compuesto <b>5c</b> en distintos disolventes ( $1.5 \times 10^{-5}$ M).....	103
Gráfica 8 Espectros de emisión del compuesto <b>5c</b> en distintos disolventes ( $1.5 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{ex}=392$ nm).....	103
Gráfica 9 Espectro de fluorescencia de <b>5a</b> en mezclas DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 ( $2.02 \times 10^{-5}$ M, $\lambda_{ex}=390$ nm).....	106
Gráfica 10 Espectro de fluorescencia del compuesto <b>5b</b> en mezclas DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 ( $7.5 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{ex}=385$ nm).....	106
Gráfica 11 Espectro de fluorescencia del compuesto <b>5c</b> en mezclas DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 ( $5 \times 10^{-6}$ M, $\lambda_{ex}=392$ nm).....	106
Gráfica 12 Respuesta fluorescente de la sonda <b>5a</b> en función de la longitud de onda de excitación (DMSO: H <sub>2</sub> O 1:1) .....	107
Gráfica 13 Respuesta fluorescente de la sonda <b>5b</b> en función de la longitud de onda de excitación (DMSO: H <sub>2</sub> O 1:1) .....	108
Gráfica 14 Respuesta fluorescente de la sonda <b>5c</b> en función de la longitud de onda de excitación (DMSO: H <sub>2</sub> O 1:1) .....	108
Gráfica 15 Espectros de absorción del sulfato de quinina disuelto en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.1M a distintas concentraciones.....	109
Gráfica 16 Espectros de emisión del sulfato de quinina disuelto en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.1M a distintas concentraciones ( $\lambda_{ex} = 350$ nm).....	110
Gráfica 17 Área bajo la curva de los espectros de emisión vs máximos de absorción a 346 nm para el sulfato de quinina.....	110
Gráfica 18 Comparación de los espectros de absorción del sulfato de quinina y del compuesto <b>4a</b> , marcando el punto de intersección de ambos espectros.....	111
Gráfica 19 Espectros de absorción del compuesto <b>4a</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 para la determinación del $\Phi$ . .....	112
Gráfica 20 Espectros de emisión ( $\lambda_{ex} = 364$ nm) del compuesto <b>4a</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 para la determinación del $\Phi$ . .....	112
Gráfica 21 Fluorescencia integrada vs absorción máxima para el compuesto <b>4a</b> . .....	113
Gráfica 22 Espectros de absorción del compuesto <b>5a</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 para la determinación del $\Phi$ . .....	113
Gráfica 23 Espectros de emisión ( $\lambda_{ex} = 360$ nm) del compuesto <b>5a</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 para la determinación del $\Phi$ . .....	114
Gráfica 24 Fluorescencia integrada vs absorción máxima para el compuesto <b>5a</b> . .....	114
Gráfica 25 Absorción (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) normalizadas de los compuestos <b>4a</b> , <b>4b</b> y <b>4c</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1.....	118

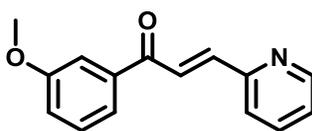
Gráfica 26 Absorción (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) normalizada de los compuestos <b>4a</b> y <b>5a</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1.....	119
Gráfica 27 Absorción (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) normalizadas de los compuestos <b>4d</b> y <b>5b</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1. ....	120
Gráfica 28 Absorción (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) normalizadas de los compuestos <b>4e</b> y <b>5c</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1.....	120
Gráfica 29 Respuesta de fluorescencia del compuesto <b>4a</b> ( $\lambda_{\text{ex}} = 402 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1. ....	122
Gráfica 30 Respuesta de fluorescencia del compuesto <b>4a</b> ( $\lambda_{\text{ex}} = 402 \text{ nm}$ ) en presencia de aniones en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1. ....	123
Gráfica 31 Respuesta de fluorescencia del compuesto <b>5a</b> ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1. ....	124
Gráfica 32 Respuesta de fluorescencia del compuesto <b>5a</b> ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) en presencia de aniones en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1. ....	125
Gráfica 33 Respuesta de fluorescencia del compuesto <b>5b</b> ( $\lambda_{\text{ex}} = 385 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1. ....	126
Gráfica 34 Respuesta de fluorescencia del compuesto <b>5c</b> ( $\lambda_{\text{ex}} = 392 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1. ....	127
Gráfica 35 Espectro de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) de la titulación del compuesto <b>5a</b> (22.5 $\mu\text{M}$ ) con cantidades crecientes de Fe(III) hasta 10 equivalentes en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1).....	130
Gráfica 36 Curva de calibración de intensidad de fluorescencia contra concentración de Fe(III) en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1), $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ y monitoreado a $\lambda_{\text{em}} = 473 \text{ nm}$ . ....	130
Gráfica 37 Espectro de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 385 \text{ nm}$ ) de la titulación del compuesto <b>5b</b> (7.5 $\mu\text{M}$ ) con cantidades crecientes de Fe(III) hasta 50 equivalentes en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1).....	131
Gráfica 38 Curva de calibración de intensidad de fluorescencia contra concentración de Fe(III) en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1), $\lambda_{\text{ex}} = 385 \text{ nm}$ y monitoreado a $\lambda_{\text{em}} = 439 \text{ nm}$ . ....	131
Gráfica 39 Espectro de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 392 \text{ nm}$ ) de la titulación del compuesto <b>5c</b> (15 $\mu\text{M}$ ) con cantidades crecientes de Fe(III) hasta 30 equivalentes en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1).....	132
Gráfica 40 Curva de calibración de intensidad de fluorescencia contra concentración de Fe(III) en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1), $\lambda_{\text{ex}} = 392 \text{ nm}$ y monitoreado a $\lambda_{\text{em}} = 440 \text{ nm}$ . ....	132
Gráfica 41 Gráfica de Jobs para determinar el número de ligantes por metal en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1), $\lambda_{\text{em}} = 473 \text{ nm}$ para el compuesto <b>5a</b> .....	134
Gráfica 42 Gráfica de Jobs para determinar el número de ligantes por metal en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1), $\lambda_{\text{em}} = 439 \text{ nm}$ para el compuesto <b>5b</b> .....	134
Gráfica 43 Gráfica de Jobs para determinar el número de ligantes por metal en DMSO:H <sub>2</sub> O (V/V, 1:1), $\lambda_{\text{em}} = 440 \text{ nm}$ para el compuesto <b>5c</b> .....	135
Gráfica 44 Ajuste del método de Benesi-Hildebrand entre la sonda <b>5a</b> y Fe(III) .....	137
Gráfica 45 Ajuste del método de Benesi-Hildebrand entre la sonda <b>5b</b> y Fe(III) .....	138
Gráfica 46 Ajuste del método de Benesi-Hildebrand entre la sonda <b>5c</b> y Fe(III) .....	138
Gráfica 47 Combinación de EPR correspondientes al compuesto <b>6a</b> a temperatura ambiente, 77k y en solución .....	143
Gráfica 48 Comparación de los espectros de absorción de mezclas de <b>5a</b> -Fe(III) y el complejo <b>6a</b> aislado en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 (2.23x10 <sup>-5</sup> M).....	144
Gráfica 49 Absorción y fluorescencia normalizadas del compuesto <b>4a</b> en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1.....	145
Gráfica 50 Absorción y emisión calculadas del ligante <b>5a</b> junto con la emisión del complejo <b>6a</b> . .....	145

# ÍNDICE DE COMPUESTOS

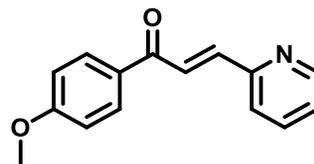
## CETONAS $\alpha,\beta$ -INSATURADAS



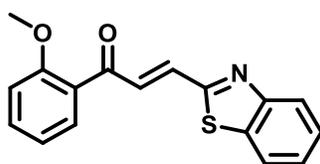
1a



1b

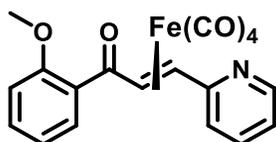


1c

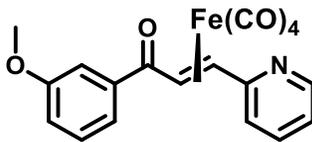


1d

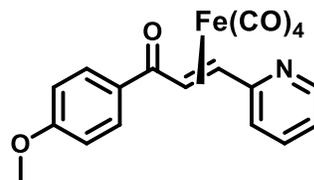
## COMPLEJOS $\eta^2$ VINILCETONAS



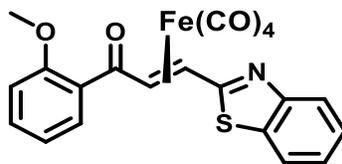
2a



2b

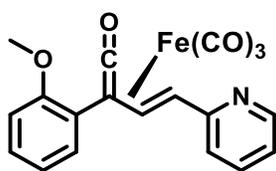


2c

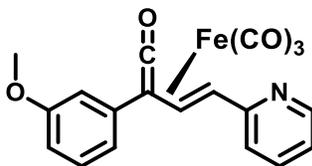


2d

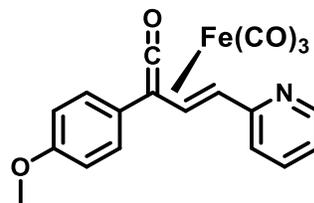
## COMPLEJOS $\eta^4$ VINILCETENAS



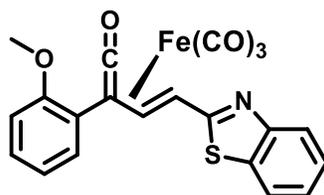
3a



3b

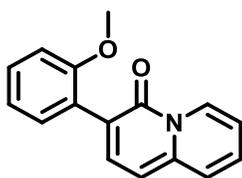


3c

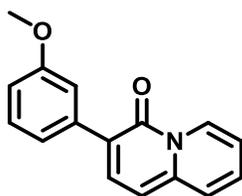


3d

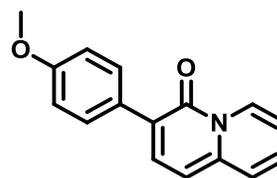
## HETEROCICLOS FUSIONADOS



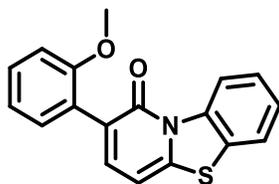
4a



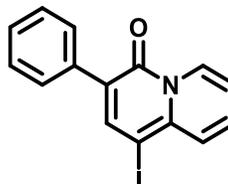
4b



4c

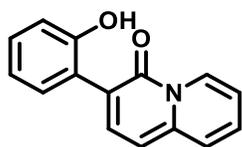


4d

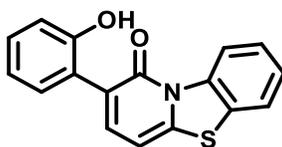


4f

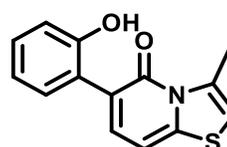
## SENSORES BASADOS EN AZA-HETEROCICLOS FUSIONADOS



5a

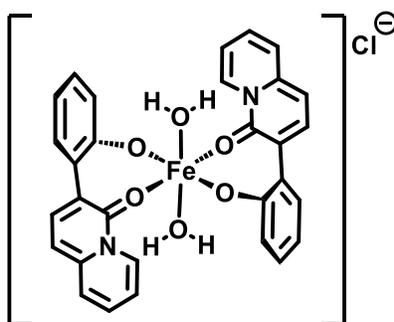


5b



5c

## COMPLEJOS



6a

## RESUMEN

Este trabajo resume los resultados obtenidos a lo largo de este proyecto de investigación doctoral y que tuvo como propósito, 1) desarrollar una metodología sintética versátil e innovadora para la obtención de heterociclos nitrogenados fusionados basada en el uso de complejos ( $\eta^4$ -vinilcetena) $\text{Fe}(\text{CO})_3$  como intermediarios clave. Estos complejos permitieron la obtención eficiente de sistemas aza-heterocíclicos del tipo 4*H*-quinolizin-4-onas, 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-onas y 5*H*-tiazolo[2,3-*a*]piridinonas mediante un proceso de aza-anillación promovido por el fragmento metálico [ $\text{Fe}(\text{CO})_3$ ]. Las propiedades luminiscentes de los heterociclos obtenidos permitieron 2) aprovechar su arquitectura molecular para incorporar fragmentos coordinantes de tipo hidroxilo que permitieron su aplicación como quimiosensores fluorescentes selectivos a iones metálicos, logrando que varias de las sondas obtenidas demostraran una alta selectividad y sensibilidad hacia Fe(III) a través de un mecanismo de apagamiento de fluorescencia, con interferencia mínima de otros iones metálicos. Para caracterizar estas propiedades, se realizaron estudios detallados de UV-Visible y fluorescencia, determinando máximos de absorción y emisión, desplazamientos de Stokes y rendimientos cuánticos.

De entre los quimiosensores obtenidos, destacan los compuestos **5a**, **5b** y **5c**, los cuales presentaron respuestas ópticas significativas frente a Fe(III) con límites de detección tan bajos como 13.15  $\mu\text{M}$  en un sistema DMSO:H<sub>2</sub>O (1:1). La estequiometría de los complejos formados y las constantes de asociación se determinaron mediante gráficas de Job y el método de Benesi-Hildebrand.

Además, se logró aislar y caracterizar completamente el complejo formado entre la sonda **5a** y Fe(III) mediante análisis elemental, espectroscopía EPR, espectrometría de masas, IR lejano, UV-Visible y fluorescencia, confirmando la formación de un complejo 1:2 metal-ligante coordinado a través de los átomos de oxígeno incluidos en el compuesto **5a**. Estudios teóricos de tipo TD-DFT, permitieron entender el mecanismo de apagamiento de la fluorescencia y a través del modelo NTOs fue posible identificar los orbitales involucrados en las transiciones electrónicas responsables de la emisión en **5a** y de su apagamiento cuando se combina con el Fe(III).

Estos resultados contribuyen al entendimiento de la relación entre la estructura química y las propiedades fluorescentes de estos sistemas heterocíclicos nitrogenados, resaltando su potencial como quimiosensores selectivos y eficientes para la detección de Fe(III). Estudios futuros podrían centrarse en la expansión de esta metodología para la síntesis de sistemas heterocíclicos más complejos y su aplicación en muestras reales y entornos biológicos.

## ABSTRACT

This work summarizes the results obtained throughout this doctoral research project, which aimed to 1) develop a versatile and innovative synthetic methodology for the synthesis of fused nitrogen heterocycles, based on the use of ( $\eta^4$ -vinylketene)Fe(CO)<sub>3</sub> complexes as key intermediates. These complexes enabled the efficient formation of aza-heterocyclic systems such as 4*H*-quinolizin-4-ones, 1*H*-benzo[4,5]thiazolo[3,2-*a*]pyridin-1-ones, and 5*H*-thiazolo[2,3-*a*]pyridinones through an aza-annulation process promoted by the [Fe(CO)<sub>3</sub>] metal fragment. The luminescent properties of the synthesized heterocycles allowed 2) the incorporation of hydroxyl-type coordinating fragments, facilitating their application as fluorescent chemosensors for metal ions. Several of the obtained probes exhibited high selectivity and sensitivity toward Fe(III) via a fluorescence quenching mechanism, with minimal interference from other metal ions. To characterize these properties, detailed UV-Visible and fluorescence studies were performed, determining absorption and emission maxima, Stokes shifts, and quantum yields.

Among the obtained chemosensors, compounds **5a**, **5b**, and **5c** exhibited significant optical responses to Fe(III), with detection limits as low as 13.15  $\mu$ M in a DMSO:H<sub>2</sub>O (1:1) system. The stoichiometry of the formed complexes and their association constants were determined using Job plots and the Benesi-Hildebrand method.

Additionally, the complex formed between probe **5a** and Fe(III) was successfully isolated and fully characterized using elemental analysis, EPR spectroscopy, mass spectrometry, far-IR, UV-Visible, and fluorescence spectroscopy, confirming the formation of a 1:2 metal-ligand complex coordinated through oxygen atoms within compound **5a**. TD-DFT theoretical studies provided insights into the fluorescence quenching mechanism, and through the NTOs model, it was possible to identify the orbitals involved in the electronic transitions responsible for the emission in **5a** and its quenching upon interaction with Fe(III).

These results contribute to a better understanding of the relationship between chemical structure and the fluorescent properties of nitrogen heterocyclic systems, highlighting their potential as selective and efficient chemosensors for Fe(III) detection. Future studies could focus on expanding this methodology to synthesize more complex heterocyclic systems and exploring their applications in real samples and biological environments.

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

<b>A</b>	Absorbancia	<b>h</b>	Constante de Plank
<b>Å</b>	Angstrom	<b>h</b>	Horas
<b>BTP</b>	1 <i>H</i> -benzo[4,5]tiazolo[3,2- <i>a</i> ]piridin-1-ona	<b>HMBC</b>	Correlación heteronuclear de enlaces múltiples
<b>c</b>	Velocidad de la luz	<b>HOMO</b>	Orbital molecular ocupado de mayor energía (Highest Occupied Molecular Orbital)
<b>c</b>	Concentración	<b>HSQC</b>	Correlación heteronuclear cuántica simple
<b>Cat</b>	Catalizador	<b>Hz</b>	Hertz
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Cloroformo deuterado	<b>Hv</b>	Luz ultravioleta
<b>CES</b>	Cruce entre sistemas	<b>IR</b>	Infrarrojo
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Cloroformo	<b>J</b>	Constante de acoplamiento
<b>CCP</b>	Cromatografía en capa fina	<b>K</b>	Kelvin (grados)
<b>CO</b>	Monóxido de carbono	<b>Ka</b>	Constante de asociación
<b>COSY</b>	Espectroscopía de correlación (Correlation Spectroscopy)	<b>L</b>	Litro
<b>d</b>	Señal doble	<b>LC</b>	Límite de cuantificación
<b>D</b>	Debye	<b>LD</b>	Límite de detección
<b>DART</b>	Análisis directo en tiempo real (Direct Analysis in Real Time)	<b>LMCT</b>	Transferencia de carga de ligante a metal (Ligand Metal Charge Transfer)
<b>DIPEA</b>	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina	<b>LUMO</b>	Orbital molecular desocupado de menor energía (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -dimetilformamida	<b>M</b>	Concentración Molar
<b>EI+</b>	Espectrometría de masas por Impacto electrónico	<b>m</b>	Señal múltiple
<b>EM</b>	Espectrometría de masas	<b><i>m/z</i></b>	Relación entre la masa de un ion y su carga
<b>EM-AR</b>	Espectrometría de masas de alta resolución	<b>MeCN</b>	Acetonitrilo
<b>EPR</b>	Resonancia paramagnética electrónica	<b>MeLi</b>	Metil litio
<b>EtOH</b>	Etanol	<b>MEM</b>	Éter metoxietoximetílico
<b>FAB+</b>	Espectrometría de masa por bombardeo de átomos (Fast atom bombardment mass spectrometry)	<b>MeOH</b>	Metanol
<b>FRET</b>	Sondas de transferencia de energía por resonancia de transferencia	<b>mg</b>	Miligramo
<b>FT-IR</b>	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier	<b>MHz</b>	Megahertz
<b>g</b>	Gramos	<b>mL</b>	Mililitro
<b>GP</b>	Grupo protector	<b>MLCT</b>	Transferencia de carga de metal a ligante
		<b>mT</b>	MiliTesla
		<b>NBS</b>	<i>N</i> -Bromosuccinimida

<b>nm</b>	Nanómetro	<b><math>\Delta\lambda</math></b>	Desplazamiento de Stokes
<b>°C</b>	Grados Celsius	<b><math>\epsilon</math></b>	Constante de absortividad molar
<b>P.f.</b>	Punto de fusión	<b><math>\eta^2</math></b>	Hapticidad 2
<b>P.M.</b>	Peso Molecular	<b><math>\eta^4</math></b>	Hapticidad 4
<b>PCT</b>	Transferencia de carga fotoinducida	<b><math>\lambda</math></b>	Longitud de onda
<b>PET</b>	Transferencia de electrones fotoinducida	<b><math>\lambda_{abs}</math></b>	Longitud de onda de absorción
<b>ppm</b>	Partes por millón	<b><math>\lambda_{em}</math></b>	Longitud de onda de emisión
<b>Py</b>	Piridina	<b><math>\lambda_{ex}</math></b>	Longitud de onda de excitación
<b>R</b>	Sustituyente	<b><math>\lambda_{max}</math></b>	Longitud de onda máxima
<b>R<sup>2</sup></b>	Constante de correlación lineal	<b><math>\nu</math></b>	Frecuencia
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono	<b><math>\Phi</math></b>	rendimiento cuántico de fluorescencia
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno	<b><math>\chi</math></b>	Fracción molar
<b>s</b>	Señal simple		
<b>t</b>	Señal triple		
<b>T</b>	Temperatura		
<b>TBDMSCI</b>	<i>tert</i> -Butildimetilclorosilano		
<b><i>t</i>-BuLi</b>	<i>tert</i> -butil-litio		
<b>Te</b>	Transferencia de electrón		
<b>TED</b>	Transferencia de electrones Dexter		
<b>THF</b>	Tetrahidrofurano		
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano		
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta-Visible		
<b>X</b>	Halógeno		
<b><math>\Delta H_{pp}</math></b>	Ancho de línea a mitad de altura (peak-to-peak linewidth)		

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La detección selectiva y sensible de iones metálicos en soluciones acuosas o disolventes orgánicos biocompatibles es de gran interés en el campo de la química analítica y la bioquímica, debido a la amplia gama de aplicaciones que tienen estos compuestos en procesos biológicos y ambientales.<sup>1</sup> En particular, el hierro(III) es un ión metálico de gran importancia en biología, ya que está involucrado en una amplia variedad de procesos bioquímicos, como la síntesis de ADN y la producción de energía en las células.<sup>2</sup> Por esta razón, la detección selectiva y sensible de este metal es de gran interés tanto para la investigación fundamental como aplicada.

Los compuestos heterocíclicos con un átomo de nitrógeno como unión de dos anillos fusionados son de gran interés debido a las propiedades biológicas y farmacéuticas de varios de sus derivados.<sup>3</sup> Específicamente, el anillo 4*H*-quinolizin-4-ona ha sido objeto de interés y desafío en el campo de la química debido a su complejidad estructural y a las dificultades asociadas con los métodos de síntesis, que a menudo implica pasos sintéticos complicados y condiciones muy reactivas, lo que ha limitado su desarrollo y aplicación en el campo.<sup>4</sup>

En el proceso de síntesis de la sonda fluorescente presentada en este trabajo, se emplea un enfoque innovador que implica el uso de cetenas estabilizadas con metales.<sup>5</sup> Las cetenas son intermediarios reactivos con una alta capacidad de reactividad debido a la presencia de un grupo carbonilo altamente polarizado. Estas cetenas estabilizadas, que contienen uno o más enlaces hápticos, permiten la obtención de un método viable para la generación de este tipo de heterobisoclos.

---

<sup>1</sup> a) Wu Q., Anslyn, E., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14682. b) Ajayaghosh, A., Carol, P., Sreejith, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14962. c) Guo, X., Qian, X., Jia L., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2272. d) Shukla, M. R., Patra, S., Verma, M. et. al. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 14700-14723. e) Al-Omran, F., Abdel-Zaher, E., El-Khair, A. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 10163-10170. f) Yi-Sheng, X., Cheng-Chu, Zeng., Zi-Guo, J., Li-Ming, H., Ru-gang, Z. *Molecules*. **2009**, *14*, 868-883. g) Good, J. A. D., Silver, J., Núñez-Otero, C., Bahnan, W., Krishnan, K. S., Salin, O., Engstrom, P., Svensson, R., Artursson, P., Gylfe, A., Bergstrom, S., Almqvist, F. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 2094-2108. h) Fujii, T.; Shindo, Y.; Hotta, K.; Citterio, D.; Nishiyama, S.; Suzuki K.; Oka, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2374.

<sup>2</sup> Sebulsky, M. M., Brian H. Shilton, B. H., Speziali, C. D., Heinrichs, D. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 49890

<sup>3</sup> a) Vaquero J. J., Alvarez-Builla, J. Heterocycles Containing a Ring-Junction Nitrogen, Modern Heterocyclic Chemistry, *Wiley-VCH*, **2011**, *4*, 1989–2070. b) Elsner, J., Boeckler, F., Davidson, K., Sugden D., Gmeiner, P. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 1949.

<sup>4</sup> Kulkarni, M.R., Gaikwad, N.D. *Tetrahedron* **2020**, *76*, 131409.

<sup>5</sup> a) Miyashita, A., Shitara, H., Nohira, H. *Organometallics*, **1985**, *4*, 1463-1434. b) Roper, M., Strutz, H., Jeim, W. *J. Organomet. Chem.* **1981**, *219*, C5-C8.

Anteriormente, en nuestro grupo de investigación se informó la obtención de moléculas que incluyen el núcleo de 4*H*-quinolizin-4-onas, teniendo como intermediarios clave complejos vinilcetena estabilizados con Fe(0), obtenidos a partir de la reacción de complejos  $[\eta^2-(1\text{-fenil-3-(2\text{-piridil})-2E\text{-propen-1-ona})]-\text{Fe}(\text{CO})_4$  con MeLi en atmósfera de CO.<sup>6</sup> Estos compuestos presentaron propiedades fluorescentes, lo que motivó el presente trabajo. A diferencia del estudio previo, en este trabajo se llevó a cabo una optimización significativa del método sintético basado en una metodología que incluye la obtención de complejos vinilcetena estabilizados con Fe(0), mejorando el rendimiento y la reproducibilidad.

Por otro lado, se amplió el estudio hacia la síntesis de nuevos sistemas heterocíclicos, incluyendo 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-onas y 5*H*-tiazolo[2,3-*a*]piridinona. Estas nuevas estructuras permitieron evaluar cómo la modificación del esqueleto base y la introducción de fragmentos coordinantes influyen en las propiedades ópticas y la capacidad de detección selectiva de cationes, particularmente Fe(III), con miras a su aplicación como sondas fluorescentes selectivas.

---

<sup>6</sup> a) A. Rosas-Sánchez, J. G. López-Cortés, A. Toscano, M. C. Ortega-Alfaro, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 578. b) Ortega-Alfaro, M. C.; Rosas-Sánchez, A.; Zarate-Picazo, B. E.; López-Cortés, J. G.; Cortés-Guzmán, F.; Toscano, R. A. *Organometallics* **2011**, *30*, 4830-4837.

## 1.1 Antecedentes

### 1.1.1 Sensores

Los sensores pueden definirse como unidades capaces de recibir y traducir información a través de muestras físicas, químicas y biológicas. Específicamente, los sensores químicos se basan en una interacción que conduce a una o varias respuestas analíticas, por lo que son sistemas capaces de detectar la presencia de una especie a nivel molecular mediante una señal que puede ser medida.<sup>7</sup>

Los primeros trabajos en el campo de los sensores químicos se remontan al siglo XIX, cuando los científicos comenzaron a experimentar con métodos para detectar y medir la presencia de sustancias químicas en soluciones. Uno de los primeros desarrollos significativos fue el uso de indicadores de pH, como el tornasol, para determinar la acidez o alcalinidad de una solución. Otros sensores más sofisticados como la cromatografía de líquidos o de gases resultaron ser muy sensibles, pero de muy alto costo, por lo que el acceso a estos métodos quedó reducido solo a grandes industrias. Esta limitación impulsó un creciente interés en desarrollar métodos con menores costos, tiempos de respuesta más rápidos y mayor accesibilidad, como los sensores fluorescentes (Figura 1).

La historia de los sensores químicos es un progreso continuo, impulsada por la necesidad de herramientas cada vez más sofisticadas para la detección y análisis de sustancias químicas en una variedad de aplicaciones, como en la detección de algunas especies tóxicas o peligrosas en los residuos, etc.

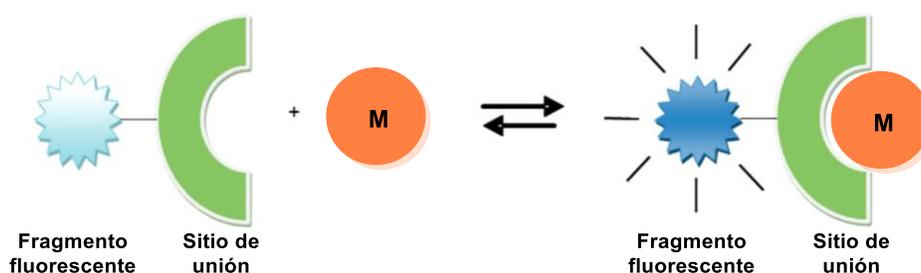


Figura 1 Modelo de acción de una sonda fluorescente.

<sup>7</sup> J. X. J. Zhang, K. Hoshino, Molecular Sensors and Nanodevices: Principles, Designs and Applications in Biomedical Engineering, Elsevier, Chapter 1, pp. 1-42, 2014.

### 1.1.2 Tipos de sensores

El proceso mediante el cual lleva a cabo al detección un sensor químico se suele dividir en tres pasos fundamentales; reconocimiento del analito, transducción de la señal y medición/análisis.<sup>8</sup>



Figura 2 Etapas básicas en el funcionamiento de un sensor químico

Las diferencias entre sensores están relacionadas con las señales que se miden y/o en cómo se traducen y analizan. Algunos de estos sensores se mencionan a continuación.

*Sensores electroquímicos:* estos responden a cambios en la corriente eléctrica y existen varias opciones dependiendo de lo que se quiera medir. Algunas de las opciones son los sensores voltamétricos, que miden la corriente entre el electrodo y el medio con potencial constante o los sensores potenciométricos, que miden los cambios de potencial entre el electrodo y una referencia.<sup>9</sup>

*Sensores termométricos:* estos sensores se basan en una superficie semiconductor, cuya conductividad depende de la temperatura (efecto termoeléctrico) y tienen una gran sensibilidad. Algunos ejemplos de este tipo de sensores son los calorimétricos o piroeléctricos.

*Sensores sensibles a la masa:* son capaces de emitir diferentes señales mediante un cambio en la corriente eléctrica en respuesta a una variación de masa. Algunos sensores de este tipo son los gravimétricos, de ondas acústicas superficiales y de onda acústica de superficie de Rayleigh.<sup>10</sup>

*Sensores magnéticos:* son dispositivos que detectan cambios en las propiedades magnéticas como resultado de una interacción con sustancias paramagnéticas. Un ejemplo de ello es la espectroscopía por EPR.

*Sensores ópticos:* La detección se basa en la interacción de la luz con la materia. La presencia de un analito provoca modificaciones en la señal óptica captada. Esta categoría se subdivide en diversos grupos, lo que permite la medición simultánea de múltiples propiedades (Figura 3).

<sup>8</sup> P. Gründler, *Chemical Sensors: An Introduction for Scientists and Engineers*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Chapter 1, pp. 1-13, **2007**.

<sup>9</sup> E. Bakker, Y. Qin, *Analytical Chem.* **2006**, *78*, 3965-3984.

<sup>10</sup> G. Gauglitz, *Anal Bioanal. Chem.* **2018**, *410*, 5-13.

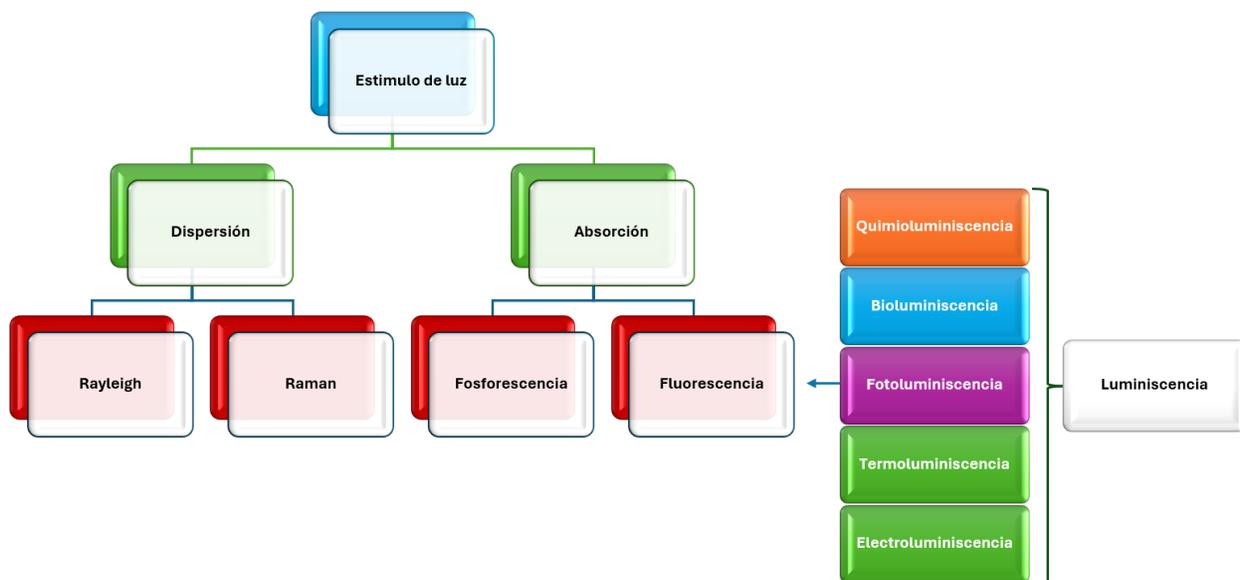


Figura 3 Algunas propiedades que se pueden medir con sensores ópticos.

### 1.1.3 Parámetros analíticos que definen a un sensor.

Aunque los sensores químicos pueden clasificarse de acuerdo con el tipo de señal que generan, independientemente del principio de funcionamiento, todos los sensores comparten características que permiten evaluar su desempeño. Estas propiedades, conocidas como parámetros analíticos, son distintivos clave que determinan la eficiencia de un sensor. A continuación, se resumen algunos de los parámetros más importantes:<sup>11</sup>

**Sensibilidad:** La sensibilidad de un sensor se refiere a su capacidad para detectar cambios en la cantidad o la concentración del analito que se está midiendo. Un sensor altamente sensible puede detectar incluso pequeñas variaciones en la cantidad del analito.

**Selectividad:** La selectividad se refiere a la capacidad del sensor para responder específicamente al analito de interés, sin verse afectado por la presencia de otros compuestos en la muestra. Un sensor altamente selectivo minimizará las interferencias de otros componentes presentes en la muestra.

<sup>11</sup> a) H. P. Looock and P. D. Wentzell, *Sens. Actuators B: Chem.*, **2012**, 173, 157-163. b) G. Gauflitz, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2018**, 410, 5-13

*Precisión:* La precisión se refiere a la reproducibilidad de las mediciones realizadas por el sensor. Un sensor preciso producirá resultados consistentes y confiables cuando se repita la medición bajo las mismas condiciones.

*Tiempo de respuesta:* El tiempo de respuesta de un sensor es el tiempo que tarda en producir una respuesta detectable después de que el analito entre en contacto con el sensor. Un tiempo de respuesta rápido es deseable en aplicaciones donde se requiere una detección rápida de cambios en la concentración del analito.

*Rango de medición:* El rango de medición de un sensor se refiere al intervalo de concentraciones del analito sobre el cual el sensor puede realizar mediciones precisas y confiables. Un sensor con un amplio rango de medición es más versátil y puede adaptarse a una variedad de aplicaciones.

*Estabilidad:* La estabilidad de un sensor se refiere a su capacidad para mantener su rendimiento a lo largo del tiempo y bajo diferentes condiciones ambientales. Un sensor estable producirá mediciones consistentes y confiables durante un período prolongado de tiempo.

#### **1.1.4 Fluorescencia.**

Como se mencionó anteriormente, las sondas químicas son herramientas fundamentales en campos científicos y médicos debido a su capacidad de proporcionar información detallada sobre la composición química y el comportamiento de sistemas biológicos, ambientales, etc. La fotoluminiscencia ha surgido como una técnica analítica clave en las últimas décadas, gracias a su alta sensibilidad, especificidad y amplia aplicabilidad. Este fenómeno abarca la emisión de luz por parte de una sustancia previamente excitada mediante radiación electromagnética, e incluye procesos como la fluorescencia y la fosforescencia.

Dentro de estas técnicas, la espectroscopia de fluorescencia ha surgido como una técnica indispensable en las últimas dos décadas. Su amplio uso se debe a la versatilidad de las aplicaciones que permite, desde el descubrimiento de fármacos y la obtención de imágenes celulares, hasta el análisis ambiental y estudios médicos.<sup>12</sup>

---

<sup>12</sup> a) D. Wu, A. C. Sedgwick, T. Gunnlaugsson, E. U. Akkaya, J. Yoon, T. D. James, *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, *46*, 7105–7123 b) L. B. Daly, A. P. de Silva, *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 4203–4211 c) J. Wu, B. Kwon, W. Liu, E. V. Anslyn, P. Wang, J. S. Kim, *Chem. Rev.*, **2015**, *11*, 7893–7943 d) L. You, D. Zha, E. V. Anslyn, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 7840–7892 e) M. H. Lee, J. S. Kim, J. L. Sessler, *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 4185–4191 f) X. Li, X. Gao, W. Shi, H. Ma, *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 590–695. g) A. W. Czarnik, *Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition*, ed. American Chemical Society, Washington, D. C., 1994.

Cuando una molécula absorbe energía en forma de luz, es promovida a un estado excitado de mayor energía. Desde este estado, la molécula puede regresar a su estado basal o de menor energía mediante varios procesos, varios de los cuales se resumen en la Figura 4. Estos procesos pueden involucrar la emisión de luz como en la fluorescencia, o la disipación de energía en forma de calor o vibraciones, como ocurre en la conversión interna o la relajación vibracional y pueden suceder si tienen lugar en una escala de tiempo comparable con el tiempo de vida útil durante el cual las moléculas permanecen en el estado excitado.

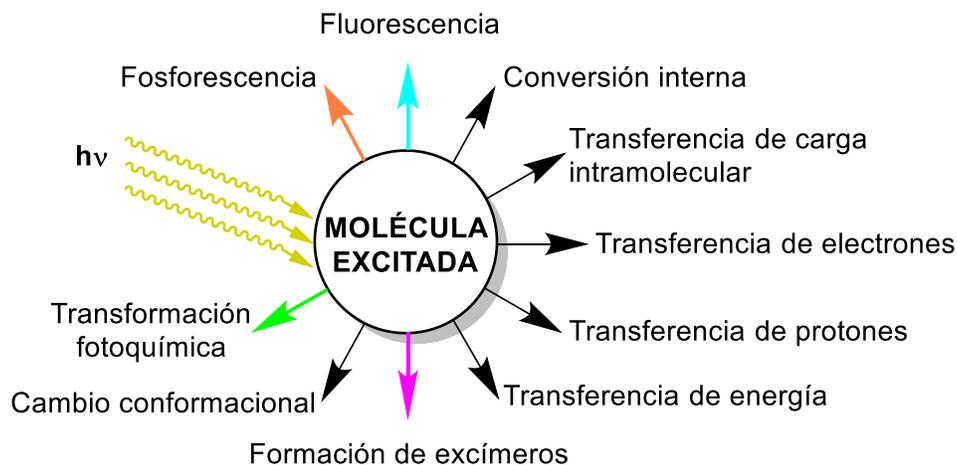


Figura 4 Posibles vías de relajación de moléculas excitadas.<sup>13</sup>

El fenómeno de fluorescencia es un tipo de luminiscencia, en el cual se emiten fotones desde el estado excitado singlete al estado electrónico basal después de absorber luz. Durante este proceso, la multiplicidad de espín del electrón en el estado excitado mantiene sus propiedades diamagnéticas en relación con el electrón en el estado fundamental. Como resultado, la existencia del estado excitado es notablemente breve, generalmente inferior a  $10^{-5}$  segundos.

La fosforescencia es otro tipo de luminiscencia que también implica la absorción y emisión de luz, pero en este caso, un electrón retorna desde el estado excitado triplete al estado fundamental. En este proceso, la multiplicidad de espín del electrón en el estado excitado triplete es paramagnética en comparación con el electrón en el estado fundamental, por lo que el retorno de los electrones al estado fundamental implica un cambio en el espín del electrón, lo que resulta en una emisión de luz prolongada que puede variar desde milisegundos hasta segundos.<sup>14</sup>

<sup>13</sup> B. Valeur, Molecular Fluorescence Principles and Applications, Wiley-VCH, 2002.

<sup>14</sup> D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, Principles of instrumental analysis. Cengage learning: 2017.

El proceso de excitación y emisión de luz puede ser explicado con el diagrama de Jablonski (Figura 5). Cuando un compuesto fluorescente absorbe luz, el electrón en el nivel de energía más alto (HOMO) pasa de un estado basal a un estado excitado con la misma multiplicidad.

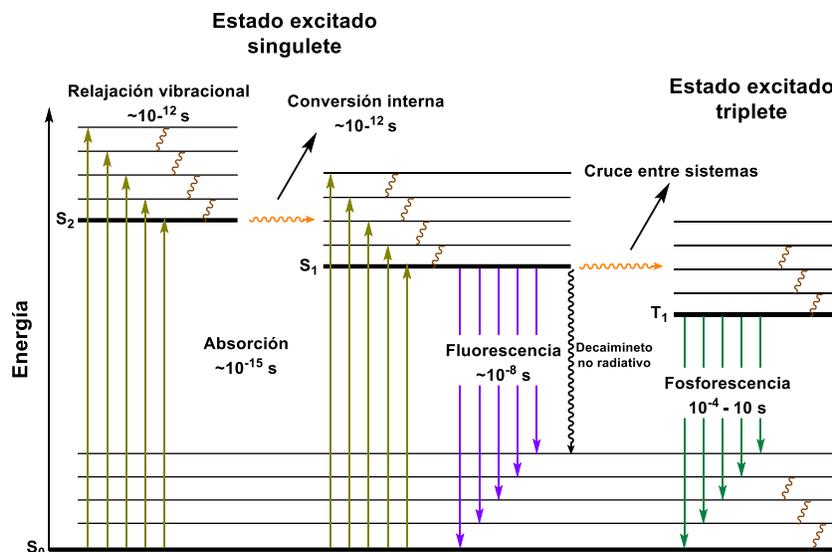


Figura 5 Diagrama de Jablonski (promoción de un electrón a un estado excitado por la absorción de luz y relajación a un estado basal por distintas vías).

### 1.1.5 Variables que afectan la fluorescencia

El fenómeno de fluorescencia es un proceso que puede parecer simple a primera vista, sin embargo, es extremadamente sensible a varios factores. Esta complejidad se debe a que la fluorescencia no es un proceso estático, pues depende de la interacción dinámica entre las moléculas fluorescentes y su entorno (Figura 6).<sup>15</sup> Además, los estados electrónicos excitados que dan lugar a la fluorescencia son altamente sensibles a cambios en la estructura molecular, debido a que los procesos de excitación y emisión implican cambios en la distribución de cargas.

La naturaleza de estos cambios significa que la fluorescencia puede variar considerablemente bajo diferentes condiciones, lo que la convierte en una herramienta poderosa para el análisis y la detección en ciencias químicas, biológicas y materiales. Sin embargo, esta misma variabilidad presenta desafíos, ya que pequeñas modificaciones en el entorno pueden alterar drásticamente la señal fluorescente, lo que requiere un control riguroso de las condiciones experimentales.

<sup>15</sup> a) Y.Y. Fu, N. S. Finney, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 29051-29061. b) K. Zhou, M. Ren, D. Baoli and L. Weiyong *New J. Chem.* **2017**, *41*, 11507-11511. c) N. Kuzkova, O. Popenko and A. Yakunov, *Int. J. Biomed. Imaging.* **2014**, 243564. d) M. Ghosh, S. Nath, A. Hajra and S. Sinha, *J. Lumin.* **2013**, *141*, 87–92.



Figura 6 Factores que pueden tener un efecto sobre la fluorescencia.

### 1.1.6 Modos de detección de fluorescencia

En el campo de la detección mediante fluorescencia, los mecanismos de encendido ("turn-on"), apagado ("turn-off") y desplazamiento de la emisión juegan un papel crucial en la identificación y cuantificación de diversas especies químicas.<sup>16</sup> Estos procesos pueden parecerse al funcionamiento de un interruptor molecular, que cambia entre dos estados (encendido y apagado), sin embargo, en el caso de los sensores fluorescentes, la diferencia en el cambio de la señal es proporcional a la concentración del analito, lo que permite una medición cuantitativa, por lo que el sensor actúa como un transductor que convierte información química en una señal óptica medible.

El mecanismo de encendido de fluorescencia ("turn-on") ocurre cuando la presencia de un analito específico induce o incrementa la emisión fluorescente de un fluoróforo. Este aumento en la señal puede ser el resultado de diversas interacciones, como la unión de un metal a una sonda fluorescente que bloquea un proceso de desactivación no radiativa o como resultado de la restricción conformacional inducida por la unión de la sonda con el analito.

El apagado de fluorescencia ("turn-off") se produce cuando la presencia del analito o una modificación en el entorno provoca una disminución o extinción de la emisión fluorescente. Este efecto puede deberse a mecanismos como el apagamiento dinámico o estático, transferencia de energía por resonancia (FRET), o la interrupción de la conjugación de un sistema  $\pi$ -conjugado en la molécula fluorescente.

<sup>16</sup> B. T. Huy, D. T. Thangadurai, M. Sharipov, N. N. Nghia, N. V. Cuong and Y. I. Lee, *Microchem. J.*, **2022**, 179, 107511. L. Trong-Nghia, L. Kuan-Yu, V. Anusha, L. Cheng-Kang, J. Jyh-Chiang and N. R. Vijayakameswara, *Mater. Adv.*, **2021**, 2, 4685–4693.

Por otro lado, el mecanismo de desplazamiento de emisión no solo cambia la intensidad de la fluorescencia, sino que también experimentan un desplazamiento en la longitud de onda de emisión cuando el fluoróforo interactúa con el analito. Este desplazamiento puede ser hacia longitudes de onda más largas (desplazamiento hacia el rojo) o más cortas (desplazamiento hacia el azul), dependiendo del tipo de interacción.

### 1.1.7 Tipos de sondas fluorescentes.

Las sondas fluorescentes son moléculas diseñadas para modificar su fluorescencia como respuesta a un estímulo, como la presencia de un analito, cambios en el ambiente químico, o interacciones biológicas. En el caso específico en el que las sondas fluorescentes son diseñadas para la detección de analitos específicos se puede tener una clasificación que depende de la interacción entre un fluoróforo y un receptor.<sup>17</sup>

#### **Sondas de Transferencia de Electrones Fotoinducida (PET)**

Las sondas PET se basan en un proceso de transferencia de electrones que ocurre después de que el fluoróforo ha sido excitado por la absorción de luz. En estas sondas, el receptor y el fluoróforo están diseñados de tal manera que, en ausencia del analito, un electrón se transfiere del receptor al fluoróforo, desactivando su fluorescencia. La presencia del analito puede inhibir esta transferencia de electrones, restaurando o aumentando la fluorescencia (Figura 7). Este tipo de sonda es muy útil para la detección de iones metálicos, aniones, o moléculas pequeñas.<sup>18</sup>

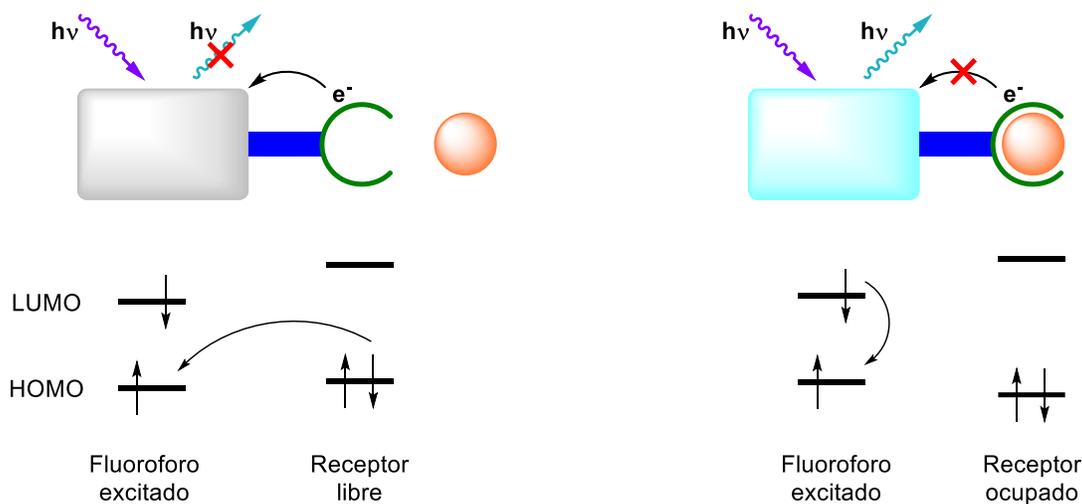


Figura 7 Ejemplo general de una sonda fluorescente de tipo PET.

<sup>17</sup> a) H. Longwei, D. Baoli, L. Yong and L. Weiyong, *Chem. Soc. Rev.*, **2016**, *45*, 6449-6461. b) S. Xiao-Ya, L. Teng, S. Jie and W. Xiao-Jing, *RSC Adv.*, **2020**, *10*, 10826-10847.

<sup>18</sup> N. A. Bumagina and E. V. Antina, *Coord. Chem. Rev.* **2024**, *505*, 215688.

### Sondas de Transferencia de Carga Fotoinducida (PCT)

En las sondas basadas en PCT, la interacción entre el fluoróforo y el receptor genera un estado excitado en el que se induce una transferencia de carga entre diferentes partes de la molécula. Este cambio en la distribución de la carga puede resultar en un cambio en la intensidad de fluorescencia o en un desplazamiento en la longitud de onda de emisión, como se ejemplifica en la Figura 8. Estas sondas son útiles para detectar cambios en la polaridad del entorno o en la interacción con moléculas específicas.<sup>19</sup>

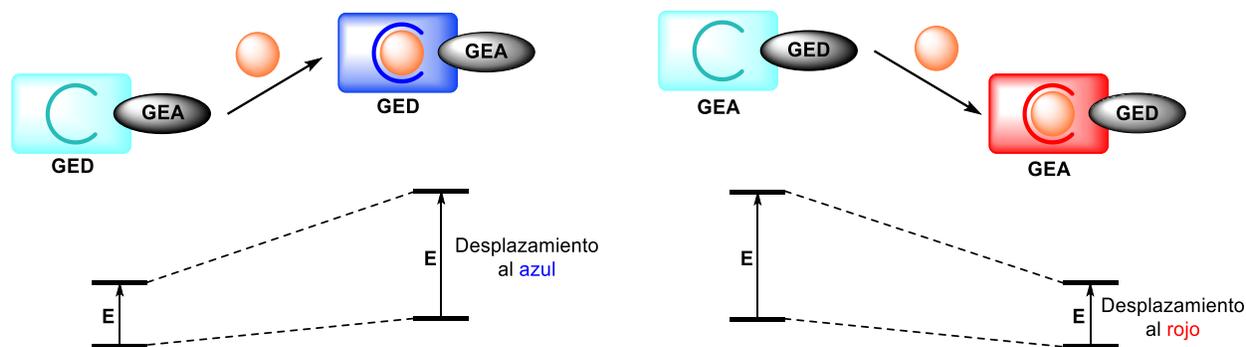


Figura 8 Ejemplo general del funcionamiento de una sonda fluorescente de tipo PCT con grupos electrodonadores (GED) y grupos electroattractores (GEA).

### Sondas de Formación de excímeros

Las sondas de formación de excímeros se basan en la formación de un dímero excitado (excímero) cuando dos moléculas de fluoróforo se acercan lo suficiente en el estado excitado (Figura 9). La emisión de fluorescencia de un excímero suele ser diferente de la del monómero, tanto en intensidad como en longitud de onda, lo que permite la detección de interacciones moleculares o cambios conformacionales que aproximan las moléculas de fluoróforo.<sup>20</sup>

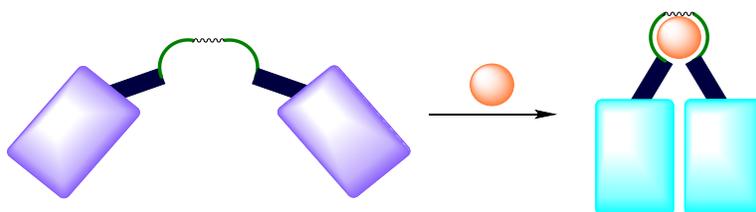


Figura 9 Representación general del funcionamiento de sondas fluorescentes por formación de excímeros.

<sup>19</sup> Y. Jiao, B. Zhu, J. Chen and X. Duan, *Theranostics*. **2015**, 5, 173-187.

<sup>20</sup> S. Muthaiah, V. Parthiban, T. Natesan, W. Shu-Pao and S. Kien-Wen. *Chemosensors*, **2023**, 11, 115.

### **Sondas de Transferencia de Energía por Resonancia de Fluorescencia (FRET).**

FRET es un mecanismo en el que la energía de excitación de un fluoróforo donante se transfiere no radiativamente a un fluoróforo aceptor cercano (Figura 10). Este proceso es altamente dependiente de la distancia entre los dos fluoróforos, generalmente en un rango de 1-10 nm. FRET es ampliamente utilizado para estudiar interacciones moleculares y conformacionales en tiempo real.<sup>21</sup>

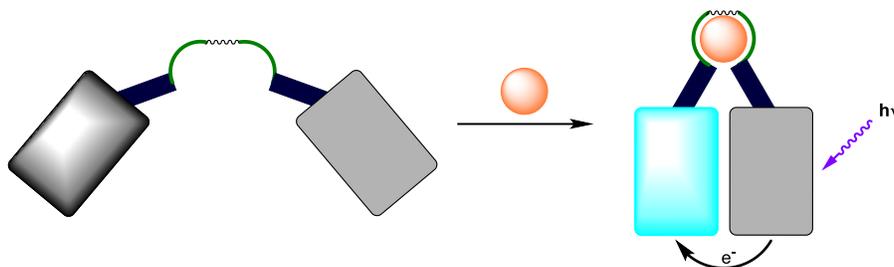


Figura 10 Ejemplo general de sondas fluorescentes con respuesta de tipo FRET.

En el presente trabajo se diseñaron, sintetizaron y estudiaron nuevas familias de quimiosensores que presentan una respuesta de tipo apagamiento al interactuar con los analitos de interés, por lo que es importante tener en cuenta cuales pueden ser los errores comunes que pueden presentar interferencia en el proceso de apagamiento de fluorescencia.

#### **1.1.8 Interferencias en el proceso de apagamiento de fluorescencia**

Como se mencionó anteriormente, la fluorescencia es una propiedad que puede verse afectada por diversos factores. Sin embargo, las interacciones específicas (interacciones entre el fluoróforo y analitos, disolventes u otras especies presentes en el medio) también pueden disminuir la fluorescencia. Al interpretar y analizar datos de apagamiento de fluorescencia, es crucial evitar errores que pueden conducir a conclusiones incorrectas. A continuación, se resumen algunos de los errores más comunes.<sup>22</sup>

*Modelo de apagamiento:* Uno de los errores más comunes es asumir que el apagamiento sigue un único modelo. En realidad, el apagamiento puede ser un proceso complejo que involucra múltiples mecanismos, como apagamiento dinámico, estático o procesos de transferencia de energía.

<sup>21</sup> L. Wu, C. Huang, B. P. Emery, A. C. Sedgwick, S. D. Bull, X. P. He, H. Tian, J. Yoon, J. L. Sessler and T. D. James, *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, 49, 5110-5139.

<sup>22</sup> T. Wenzel, *Molecular and atomic spectroscopy*, Bates College, **2025**.

*Efecto de absorción o filtro Interno:* El apagador de la fluorescencia o incluso el fluoróforo pueden absorber la luz de excitación o la emisión fluorescente, lo que resulta en una disminución aparente de la fluorescencia que no se debe al apagamiento verdadero, sino a la absorción interna.

Este error está relacionado con la concentración del fluoróforo y del apagador, por lo que es importante controlar las concentraciones y considerar la intensidad de fluorescencia para concentraciones variables del fluoróforo y apagador.

*Influencia del Medio Ambiente:* El entorno en el que se llevan a cabo las mediciones, como la polaridad del disolvente, la presencia de iones u otras moléculas puede afectar significativamente el proceso de apagamiento, por lo que es necesario realizar experimentos controlados en diferentes condiciones ambientales para evaluar cómo estas variables afectan el apagamiento. Se pueden considerar factores como el pH, la fuerza iónica, y la polaridad del medio, ya que pueden influir en la eficiencia del apagamiento.

En la Figura 11<sup>23</sup> se muestra la relación entre distintos mecanismos de apagado de fluorescencia, por ejemplo, mediante cruce entre sistemas (CES), transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), transferencia de electrones Dexter (TED, ocurre en distancias más cortas que FRET), formación de excímeros, etc en relación con la proximidad entre fluoróforo y enfriamiento, divididas como colisiones, asociación directa e indirecta y por concentración.

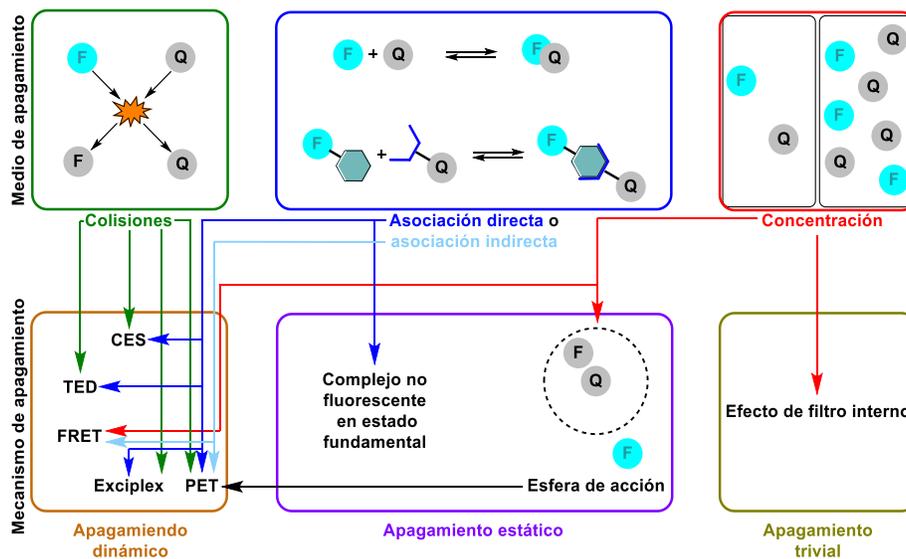


Figura 11 Diagrama de flujo entre el medio y el mecanismo de apagamiento fluorescencia, clasificando los mecanismos como enfriamiento dinámico, estático o trivial.

<sup>23</sup> W. R. Algar and M. Massey, *Spectrosc.* **2019**, *34*, 12-14.

### 1.1.9 Parámetros a considerar en el diseño de una sonda fluorescente

Una sonda fluorescente ideal debe poseer varias propiedades clave para ser efectiva en la detección y cuantificación de analitos. A continuación, se describen las principales propiedades que se consideran esenciales para una sonda fluorescente ideal:<sup>24</sup>

*Especificidad:* La sonda debe tener una alta afinidad y selectividad por el analito objetivo, minimizando la interferencia de otras especies presentes en el entorno. Este aspecto es muy importante, pues evita señales falsas y garantiza que la respuesta fluorescente esté directamente relacionada con el analito de interés.

*Sensibilidad:* La sonda debe ser capaz de detectar concentraciones muy bajas del analito con una alta relación señal/ruido. Una sonda sensible permite la detección temprana de cationes, lo cual es importante en aplicaciones biológicas y ambientales donde las concentraciones de los analitos pueden ser muy pequeñas.

*Estabilidad Química y Fotoquímica:* Es importante que la sonda permanezca estable bajo condiciones experimentales, evitando la degradación química y fotoquímica. Esto incluye la estabilidad frente a cambios de pH, temperatura y exposición prolongada a la luz, lo que garantiza la consistencia y reproducibilidad de las mediciones.

*Rendimiento cuántico de fluorescencia:* La sonda debe tener un buen rendimiento cuántico, es decir, una alta relación de fotones emitidos por fotones absorbidos. Esto maximiza la intensidad de la señal fluorescente, lo que es crucial para la detección de analitos en concentraciones bajas.

*Solubilidad y compatibilidad de los disolventes:* La sonda debe de ser soluble en disolventes relevantes dependiendo de la aplicación; por ejemplo, en medios acuosos si se pretende utilizar en estudios celulares. También se debe tener en cuenta la compatibilidad con disolventes utilizados en la preparación de muestras y en las condiciones experimentales.

*Longitud de onda de excitación:* Es recomendable que la longitud de onda de excitación se encuentre por arriba de 400 nm, pues longitudes de onda más energéticas puede promover la degradación de las sondas.

---

<sup>24</sup> M. D. Heagy, New fluorophore design. In *Chemosensors, principles, strategies and application*; John Wiley & Sons, 2011; pp 253–273.

*Longitud de onda de emisión:* Para mediciones experimentales, es mejor si la emisión está por arriba de los 450 nm. Esto debido a que los detectores suelen ser más sensibles en la región de 450-750 nm. Además, en el caso de muestras biológicas, éstas tienen menor interferencia entre 500-900 nm.

*Desplazamiento de Stokes:* Una sonda ideal debería tener un gran desplazamiento de Stokes (diferencia entre el máximo de absorción y el máximo de emisión). Este parámetro es importante porque ayuda a minimizar los procesos de reabsorción de la luz emitida y reduce la superposición entre los espectros de excitación y emisión, lo que facilita la interpretación de los datos espectroscópicos.

*Ancho de banda de los espectros de absorción y emisión:* El ancho de la banda de absorción y emisión puede influir en la resolución de los espectros obtenidos y en la posibilidad de solapamiento espectral. Un pico de absorción o emisión estrecho favorece la separación espectral.

Algunos de los parámetros descritos, como el rendimiento cuántico y el desplazamiento de Stokes, requieren de un tratamiento específico, ya que su determinación implica el uso de métodos experimentales y cálculos complementarios. Por ello, resulta importante describir su metodología.

#### **1.1.10 Rendimiento cuántico**

La obtención del rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\Phi$ ) permite identificar la eficiencia de una sonda para convertir la energía de excitación en emisión fluorescente. Este parámetro se define como la fracción de fotones absorbidos que son reemitidos como fluorescencia, como se muestra en la Ecuación (1), y está influenciado por factores como la estructura molecular, el entorno del disolvente, y las interacciones con otros compuestos presentes en la solución.

$$\Phi_f = \frac{\text{número de fotones emitidos}}{\text{número de fotones absorbidos}} \quad (1)$$

Aunque valores superiores a 0.5 son considerados ideales para fluoróforos comerciales, en el caso de sondas químicas específicas, rendimientos cuánticos cercanos a 0.1 se consideran adecuados para aplicaciones prácticas,<sup>25</sup> incluyendo bioimagen y sensores ópticos. Un ejemplo

---

<sup>25</sup> J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd Edition, Springer, 2006.

de ello son los colorantes Alexa Fluor 555 ( $\Phi_f$  de 0.10) y el Alexa Fluor 750 ( $\Phi_f$  de 0.12) ampliamente utilizado en bioimagen.<sup>26</sup>

Experimentalmente, existen varios métodos para determinar el rendimiento cuántico de fluorescencia. Algunos métodos, como los que emplean esferas integradoras, permiten hacer mediciones absolutas, pero requieren equipos especializados. Otra opción son los métodos comparativos o indirectos, que utilizan un estándar de referencia con un  $\Phi_f$  conocido.<sup>27</sup> En este trabajo se optó por el método comparativo debido a su accesibilidad experimental y reproducibilidad. Además, este método no requiere equipo especializado como los métodos absolutos, lo que lo convierte en una opción confiable y práctica para la caracterización de nuevas sondas fluorescentes.

Para calcular el rendimiento cuántico de fluorescencia ( $\Phi$ ) por el método comparativo, se debe comparar la intensidad de emisión de la muestra con la del compuesto de referencia bajo condiciones controladas. Para ello, se mide el área integrada bajo las curvas de emisión de ambos compuestos, excitados a la misma longitud de onda. Además, se consideran otros factores como la diferencia en los índices de refracción de los disolventes utilizados. La Ecuación (2) muestra la relación empleada para este cálculo.<sup>28</sup>

$$\Phi_f = \Phi_{ref} \left( \frac{m_{muestra}}{m_{ref}} \right) \left( \frac{n_{muestra}}{n_{ref}} \right)^2 \quad (2)$$

Donde:

- $\Phi_{ref}$  es el rendimiento cuántico del compuesto estándar.
- $m_{muestra}$  y  $m_{ref}$  son las pendientes de la relación entre la intensidad de fluorescencia integrada vs absorbancia de la muestra y del estándar de referencia respectivamente.
- $n_{muestra}$  y  $n_{ref}$  son los índices de refracción de los disolventes utilizados para la muestra y el estándar de referencia.

Entre los compuestos más utilizados como estándares para este tipo de mediciones se encuentran el sulfato de quinina disuelto en ácido sulfúrico al 0.1 M, con un rendimiento cuántico de 0.546, y la fluoresceína en solución de NaOH 0.1 M, con un rendimiento cuántico de 0.92.

---

<sup>26</sup> Thermo Fisher Scientific. *Fluorescence Quantum Yields and Lifetimes for Alexa Fluor Dyes*; Thermo Fisher Scientific: Website, April 25, 2025. <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/references/molecular-probes-the-handbook/tables/fluorescence-quantum-yields-and-lifetimes-for-alexa-fluor-dyes.html>.

<sup>27</sup> C. Würth, M. Grabolle, J. Pauli, M. Spieles and U. Resch-Genger, *Nat Protoc.* **2013**, 8, 1535–1550

<sup>28</sup> A. T. R. Williams, S. A. Winfield and J. N. Miller, *Analyst*, **1983**, 108, 1067-1071.

Estos fluoróforos se emplean con frecuencia debido a su alta estabilidad, buena solubilidad en medios acuosos y perfiles espectrales bien caracterizados, lo que los convierte en referencias confiables para cálculos comparativos en condiciones controladas.<sup>29</sup>

#### 1.1.11 Desplazamiento de Stokes

El desplazamiento de Stokes es un parámetro fundamental en el análisis espectroscópico de sondas fluorescentes, ya que describe la diferencia entre la longitud de onda de máxima absorción y la longitud de onda de máxima emisión de un fluoróforo. Este fenómeno se debe a los procesos de relajación molecular que ocurren entre la absorción de un fotón y la posterior emisión de fluorescencia, reflejando cambios en la estructura electrónica y el entorno del fluoróforo.

En este trabajo, los desplazamientos de Stokes fueron evaluados con el objetivo de analizar la separación espectral entre los procesos de absorción y emisión, ya que un desplazamiento de Stokes amplio minimiza la superposición entre los espectros de excitación y emisión, lo que mejora la sensibilidad de detección y reduce interferencias ópticas en aplicaciones analíticas.

El valor del desplazamiento de Stokes se calcula con la siguiente relación:

$$\Delta\lambda = \lambda_{emisión} + \lambda_{absorción}$$

#### 1.1.12 Importancia de identificación de cationes

La identificación y cuantificación de cationes en diferentes sistemas es de gran importancia debido a su papel en diversos procesos biológicos, ambientales e industriales. Los cationes, como los iones metálicos, son esenciales en muchas funciones biológicas, pero su exceso o deficiencia puede llevar a trastornos graves, tales como la anemia, derivada de la deficiencia de Fe(II).

En el medio ambiente, la presencia de ciertos cationes puede ser indicativa de contaminación o de cambios en la calidad del agua y el suelo. Además, en la industria, el control preciso de cationes es vital para procesos como la fabricación de productos químicos, la purificación de agua y la producción de alimentos.

En el caso particular de los sistemas biológicos, cationes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  entre otros, desempeñan roles esenciales en la señalización celular, la contracción muscular, la actividad enzimática, la regulación del equilibrio osmótico, entre otros procesos.<sup>30</sup>

---

<sup>29</sup> A. M. Brouwer, *Pure Appl. Chem.*, **2011**, 83, 2213-2228.

<sup>30</sup> M. de la Guardia and S. Garrigues, *Handbook of mineral elements in food*, Wiley-Blackwell, **2015**.

De entre estos elementos, el Fe(III) es un catión metálico de gran importancia a nivel biológico, pues está involucrado en una amplia variedad de procesos bioquímicos.<sup>31</sup> Algunos ejemplos de ello son su participación indirecta en el transporte de oxígeno, ya que forma parte de la ferritina y la hemosiderina, proteínas encargadas del almacenamiento seguro de hierro en las células. Aunque la hemoglobina contiene Fe(II), este se oxida a Fe(III) para almacenarse en estos complejos y evitar toxicidad.<sup>32</sup> También es un cofactor esencial para las enzimas hidroxilasas, como la tirosina hidroxilasa y la triptófano hidroxilasa, que son cruciales en la síntesis de neurotransmisores como la dopamina, norepinefrina y serotonina.<sup>33</sup>

Un ejemplo más es su importancia en la síntesis de ADN, donde el Fe(III) actúa como cofactor en la ribonucleótido reductasa, una enzima clave para la síntesis de desoxirribonucleótidos, los bloques de construcción del ADN. La deficiencia de hierro puede comprometer la replicación y reparación del ADN, afectando la proliferación celular.<sup>34</sup> Por esta razón, la detección selectiva de este metal es de particular interés en la investigación aplicada.

### 1.1.13 Apagamiento de la fluorescencia mediante cationes metálicos

El apagamiento de la fluorescencia mediante iones metálicos se ha convertido en una herramienta versátil para muchas aplicaciones científicas. En biología, se utilizan para estudiar la interacción entre metales y biomoléculas, como proteínas y ácidos nucleicos.<sup>35</sup> En ciencias ambientales, permite la detección y monitoreo de metales pesados en aguas y suelos, proporcionando información clave para la evaluación de la contaminación y la salud ambiental.<sup>36</sup>

Los iones de metales como el Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, etc, tienen una alta afinidad por los electrones y pueden interactuar con fluoróforos de manera que disminuyen o eliminan su emisión fluorescente. Este proceso no solo afecta la intensidad de la fluorescencia, sino que también puede proporcionar información valiosa sobre la naturaleza de las interacciones entre los metales

---

<sup>31</sup> a) J. Gérard, *Bioorganometallics*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**. b) X. B. Zhang, G. Cheng, W.J. Zhang, G. L. Shen, R.Q. Yu, *Talanta*, **2007**, *71*, 171-177. c) J. J. R. Frausto da Silva and R. J. P. Williams, *The biological chemistry of the elements*. Oxford University Press, **2001**. d) P. Li, M. Zhang, X. Sun, S. Guan, G. Zhang, M. Baumgarten and K. Müllen. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *85*, 785-791. e) J. Boccio, J. Salgueiro, A. Lysionek, M. Zubilaga, C. Goldman and R. Weill, *ALAN*, **2003**, *53*, 119-132.

<sup>32</sup> P. Arosio, L. Elia and M. Poli, *IUBMB Life*. **2017**, *69*, 414-422

<sup>33</sup> C. Berthou, J. P. Iliou and D. Barba, *eJHaem*. **2022**, *3*, 263-275.

<sup>34</sup> S. Puig, L. Ramos-Alonso, A. M. Romero, M. T. Martínez-Pastor, *Metallomics*, **2017**, *9*, 1483-1500.

<sup>35</sup> a) M. Wang, M. Tsukamoto, V. G. Sergeyev and A. Zinchenko, *Biosensors*, **2021**, *11*, 333. b) I. J. Kim, Y. Xu and K. H. Nam, *Molecules* **2022**, *27*, 2922.

<sup>36</sup> a) N. D. Acha, C. Elosúa, J. M. Corres and F. J. Arregui, *Sensors*, **2019**, *19*, 599 b) L. Burratti, E. Ciotta, F. D. Matteis and P. Proposito, *Nanomaterials*, **2021**, *11*, 276.

y las moléculas fluorescentes. Algunos de los mecanismos fundamentales por los cuales los iones de metales de transición inducen la extinción de fluorescencia se muestran en la Figura 12.<sup>37</sup>

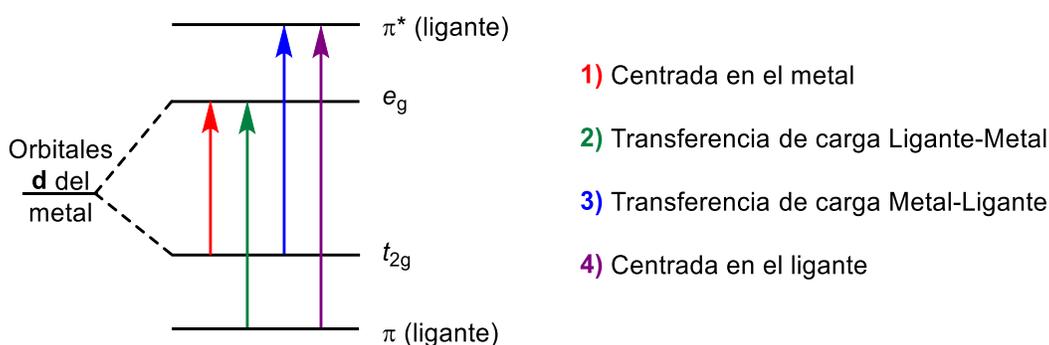


Figura 12 Diagrama de transiciones simplificado para un complejo con un metal d6 con coordinación octaédrica y un ligante de campo alto.

Cuando se tienen sondas fluorescentes (ligantes) formadas por compuestos orgánicos  $\pi$ -conjugados, la fluorescencia resulta de una transición  $\pi^*$ - $\pi$  centrada en el ligante. Por otro lado, cuando se forma un complejo Metal-Ligante, hay varias transiciones electrónicas posibles.<sup>38</sup> Estas pueden ser por una transición d-d de un orbital ocupado a un orbital desocupado, centrada en el metal, o por transiciones metal-ligante, involucrando un electrón excitado del ligante al metal, llamado transferencia de carga de ligante a metal (LMCT por sus siglas en inglés), o del metal al ligante (MLCT por sus siglas en inglés).

En el primer caso de estudio, un electrón se transfiere desde un orbital d ocupado del metal (**M**) al orbital  $\pi$  medio lleno del fluoróforo excitado **F\***, formando un radical anión **F<sup>-•</sup>** en el fluoróforo y un **M<sup>+</sup>** en el metal (Figura 13).<sup>39</sup>

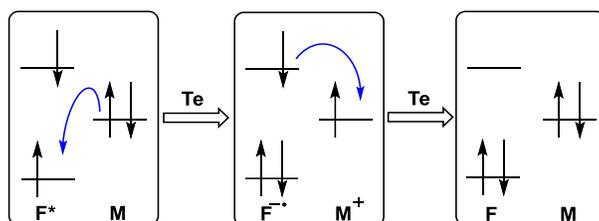


Figura 13 Apagamiento de la fluorescencia mediante un proceso de transferencia de electrones de M a F\*. El metal debe de ser fácilmente oxidable.

<sup>37</sup> Z. Aydin, Developing sensors for the bioimaging of chelatable iron (III) ions, Thesis for the degree of Doctor of Philosophy, University of Massachusetts Amherst, **2015**.

<sup>38</sup> N. A. Smith and P. J. Sadler, *Phil. Trans. R. Soc. A*, **2013**, 371, 20120519

<sup>39</sup> J. P. Sauvage, *Transition metals in supramolecular chemistry*; John Wiley & Sons, **1999**.

Posteriormente, se da una transferencia de electrón (Te) desde el nivel  $\pi^*$  del fluoróforo  $F^*$  al orbital medio lleno del metal  $M^+$ , regenerando las especies a su estado basal. De este modo, la energía absorbida por el fluoróforo ya no se libera de forma radiativa.

Otro posible mecanismo de extinción de la fluorescencia consiste en la transferencia de un electrón desde el nivel  $\pi^*$  del fluoróforo excitado  $F^*$  a un metal  $M$  con un orbital vacío con la energía adecuada, obteniéndose el catión  $F^+$  y el anión  $M^-$ . Posteriormente, un electrón del metal  $M^-$  se transfiere al nivel semiocupado  $\pi$  del fluoróforo  $F^+$ , regenerando las especies a su estado basal por otra vía no radiativa (Figura 14).<sup>23</sup>

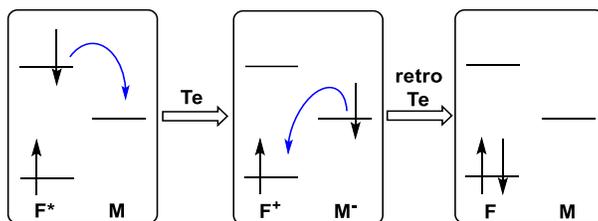


Figura 14 Apagamiento de la fluorescencia mediante un proceso de transferencia de electrones de  $F^*$  a  $M$ .

Un proceso adicional capaz de apagar la fluorescencia es mediante la transferencia de energía (TE). Este proceso puede ocurrir en cationes con configuración electrónica d1-d9 con niveles de energía vacíos o medio llenos y que se encuentran entre los niveles de energía  $\pi$  y  $\pi^*$  del fluoróforo. Este proceso ocurre mediante un intercambio simultáneo de dos electrones, uno del orbital  $\pi^*$  del fluoróforo al nivel vacío del metal y otro del nivel lleno del metal a  $\pi$  del fluoróforo. Este proceso apaga la fluorescencia transfiriendo el estado excitado al metal  $M^*$ . Los estados excitados centrados en metales (d-d) suelen dar lugar a una desintegración no radiativa (Figura 15).

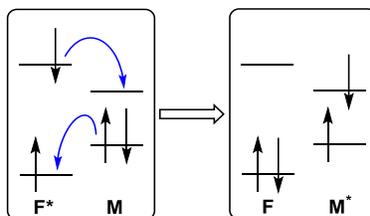


Figura 15 Apagamiento de la fluorescencia mediante un proceso de transferencia de energía (TE).

La exploración de los diferentes tipos de sondas, así como del proceso de apagamiento de fluorescencia, ha proporcionado un marco teórico adecuado para sentar las bases teóricas para el diseño racional de nuevas sondas con alta selectividad y sensibilidad.

### 1.1.14 4*H*-quinolizin-4-onas

Dentro del diseño de sondas fluorescentes, la elección adecuada de los fragmentos estructurales es indispensable para determinar tanto las propiedades ópticas como la selectividad hacia el analito objetivo.<sup>40</sup> En este contexto, la 4*H*-quinolizin-4-ona es un compuesto heterocíclico que posee una estructura  $\pi$ -conjugada que favorece la emisión de fluorescencia, además de ofrecer sitios reactivos que permiten la incorporación de diversos grupos funcionales, que lo hace apto como estructura base para el diseño de sondas fluorescentes con afinidad específica hacia cationes metálicos. Este anillo contiene un átomo de nitrógeno en una de las uniones de los dos anillos que lo componen, el cual le da la característica de ser capaz de acceder a un híbrido de resonancia zwitteriónico que presenta aromaticidad, como se muestra en la Figura 16.

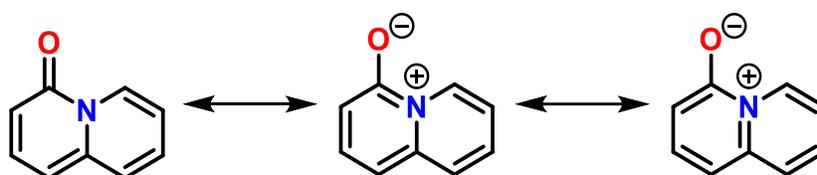


Figura 16 Estructura resonante de la 4*H*-quinolizin-4-ona.

Este tipo de compuestos tiene particular interés como sondas fluorescentes. En la Figura 17 se muestran ejemplos de compuestos que incorporan el fragmento 4*H*-quinolizin-4-ona optimizados para la detección de  $Mg^{2+}$  usando como grupos coordinantes el oxígeno del heterobicyclo y un fragmento  $\beta$ -carbonílico, unidos también a un xanteno. Este diseño molecular resultó en una intensa respuesta fluorescente de tipo apagado, debido a la modificación del orbital HOMO del fluoróforo inducida por los grupos coordinantes unidos al magnesio.<sup>41</sup>

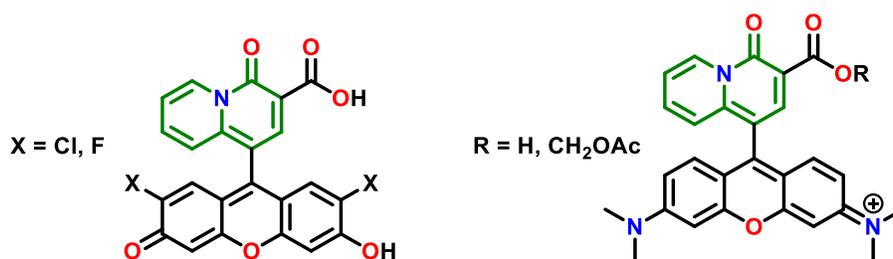


Figura 17 Sondas fluorescentes que incorporan 4*H*-quinolizin-4-onas en su estructura.

<sup>40</sup> J. V. Jun, D. M. Chenoweth and E. J. Petersson, *Org Biomol Chem.*, **2020**, *18*, 5747-5763. C. A. Briones-Vázquez and A. Álvarez-Hernández, *Pub. Sem. Páidi.* **2021**, *17*, 9-16.

<sup>41</sup> a) H. Komatsu, N. Iwasawa, D. Citterio, Y. Suzuki, T. Kubota, K. Tokuno, Y. Kitamura, K. Oka and K. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16353-16360. b) Y. Shindo, T. Fujii, H. Komatsu, D. Citterio, K. Hotta, K. Suzuki and K. Oka, *PLoS One*, **2011**, *6*, e23684.

Por otro lado, la 4*H*-quinolizina-4-ona posee propiedades únicas y una amplia gama de aplicaciones en química medicinal, existiendo varios ejemplos donde este heterociclo se encuentra incorporado en compuestos anticancerígenos, antibacterianos, antimicrobianos, para el tratamiento de la atrofia muscular espinal, la diabetes tipo 2 o la enfermedad de Alzheimer. Algunos ejemplos representativos se muestran en la Figura 18.<sup>42</sup>

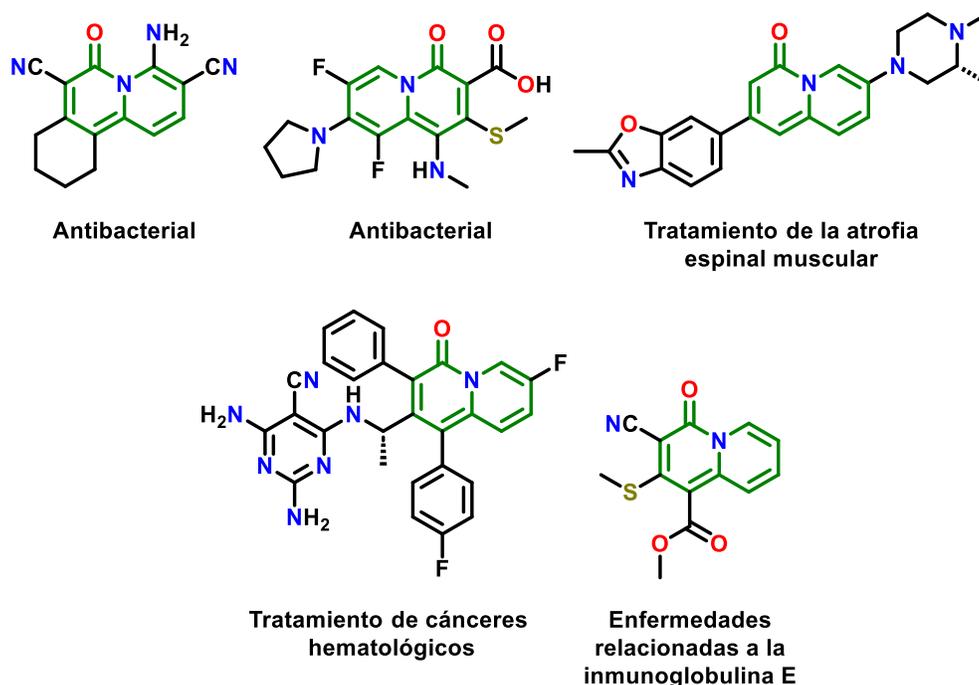


Figura 18 Compuestos con actividad biológica que incluyen 4*H*-quinolizina-4-onas en su estructura.

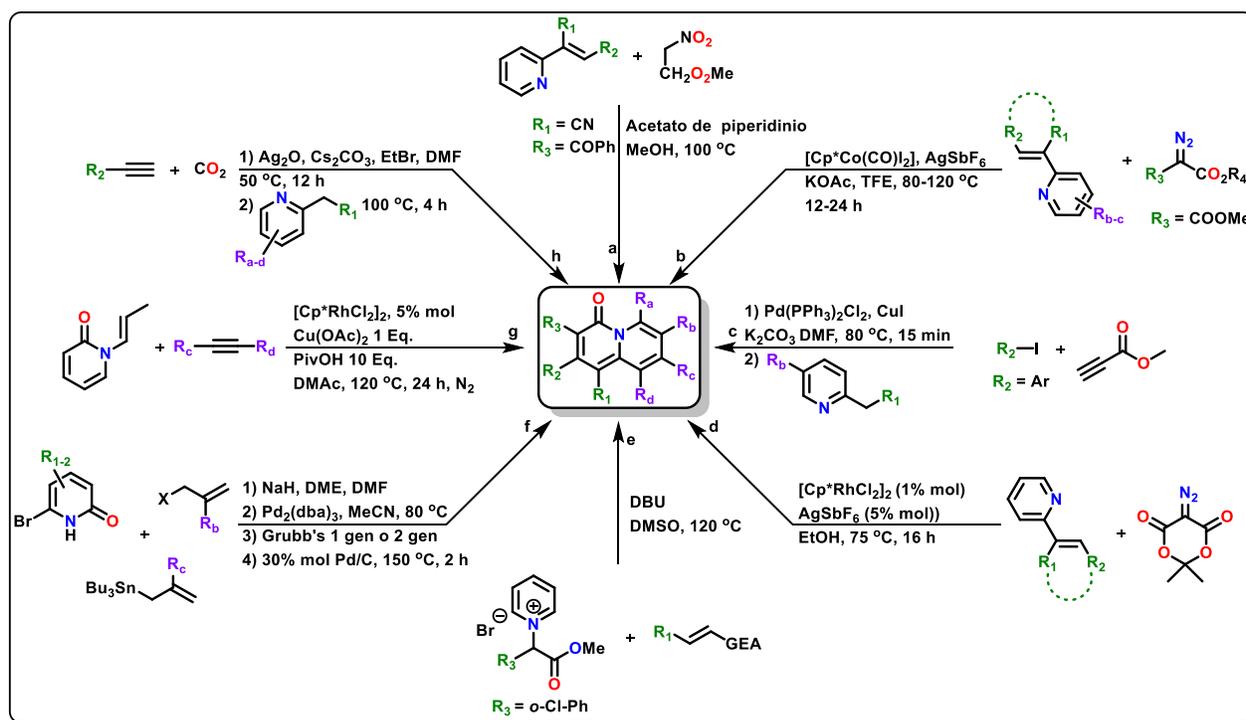
### **Obtención de 4*H*-quinolizina-4-onas.**

El desarrollo de nuevos métodos sintéticos para los compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno en cabeza de puente es muy importante en el área de investigación relacionada con nuevos medicamentos, descubrimiento de fármacos, productos químicos finos e ingredientes farmacéuticos activos. Pese a que el fragmento 4*H*-quinolizina-4-ona es un heterociclo que se encuentran como estructura central de varias moléculas con actividad biológica, los métodos

<sup>42</sup> (a) M. R. Shukla, S. Patra, M. Verma, et. al. *J. Med. Chem.* **2020**, 63, 14700-14723. (b) Q. Li, D.T.W. Chu, A. Claiborne, C.S. Cooper, et. al. *J. Med. Chem.* **1996**, 39 3070. (c) Y.S. Xu, C.C. Zeng, Z.G. Jiao, L.M. Hu, R.G. Zhong, *Molecules*, **2009**, 14, 868. (d) P.A. Otten, R.E. London, L.A. Levy, *Bioconjugate Chem.*, **2001**, 12, 203. (e) H. Komatsu, N. Iwasawa, D. Citterio, Y. Suzuki, T. Kubota, K. Tokuno, Y. Kitamura, Oka K.; Suzuki, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 16353. (f) T. Fujii, Y. Shindo, K. Hotta, D. Citterio, S. Nishiyama, Suzuki K.; Oka, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 2374. (g) S.D. Kuduk, R.K. Chang, Di Marco, C N, W.J. Ray, L. Ma, M. Wittmann, M.A. Seager, K.A. Koeplinger, C.D. Thompson, G.D. Hartman, M.T. Bilodeau, *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, 1, 263.

disponibles para su obtención son limitados y poco versátiles, lo que ha restringido su exploración y uso en investigaciones más amplias.

En el Esquema 1 se resumen algunos de los métodos sintéticos desarrollados hasta la fecha para la obtención de derivados de 4*H*-quinolizina-4-onas. Aunque estos métodos permiten la funcionalización en diversas posiciones de este fragmento, la mayoría de ellos presentan una tendencia hacia el uso de catalizadores con ligantes muy específicos y metales costosos, como el Pd o el Rh. Además, muchas de las materias primas utilizadas en estas síntesis son difíciles de preparar, lo que limita aún más la accesibilidad y aplicabilidad de estos métodos.<sup>43</sup> Esta combinación de factores ha restringido el desarrollo de métodos generalizados y económicos para la síntesis de derivados de 4*H*-quinolizina-4-ona, aumentando la necesidad de nuevas estrategias sintéticas que puedan superar estas limitaciones.



Esquema 1 Resumen de métodos sintéticos para la obtención de derivados de 4*H*-quinolizina-4-onas.

<sup>43</sup> a) S. Lee, W. Kim and I. Kim, *ACS Omega*, **2024**, 9, 38126–38141. b) D. Zhao, J. H. Kim, L. Stegemann, C. A. Strassert and F. Glorius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 1-5. c) Z. Chen, T. Liu, X. Ma, P. Liang, L. Long and M. Ye, *Synlett.*, **2019**, 30, 863-867. d) Y. Baek, Y. Gob-Kim and P. Ho-Lee, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2021**, 42, 495–498. e) D. Qiu and Y. Su, *Org. Chem. Front.*, **2024**, 11, 2319–2325. f) T. A. Alanine, W. R. J. D. Galloway, T. M. McGuire and D. R. Spring, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 5767-5776. g) J. Li, Y. Yang, Z. Wang, B. Feng and J. You, *Org. Lett.* **2017**, 19, 3083-3086. h) Dong, C. C., Xiang, J. F., Xu, L.J., Gong, H.Y. *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 9561-9567.

### 1.1.15 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona.

El 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona es un heterociclo fusionado que combina las propiedades estructurales y electrónicas de los anillos de benceno, tiazol, y piridinona. En la Figura 19 se muestra esta estructura, la cual, al igual que la de la 4*H*-quinolizina-4-ona, cuenta con un átomo de nitrógeno compartido al lado de un carbonilo, por lo que es capaz de acceder a un híbrido de resonancia zwitteriónico que presenta aromaticidad.

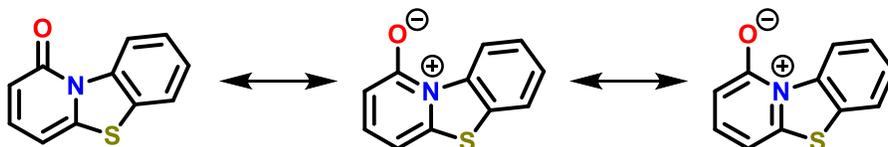


Figura 19 Estructura resonante de la 4*H*-quinolizina-4-ona.

El fragmento 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona (a partir de ahora abreviado como BTP) es un heterociclo interesante en la química de materiales, especialmente por sus propiedades optoelectrónicas, como su elevada eficiencia de fluorescencia o su capacidad para participar en procesos de transferencia electrónica. Su estructura conjugada y la presencia de átomos de nitrógeno y azufre en el anillo contribuyen a su capacidad para absorber y emitir luz, lo que lo convierte en un candidato ideal para aplicaciones en dispositivos emisores de luz, en sensores fluorescentes, y otros materiales. La Figura 20 muestra esta relación entre estructura y actividad optoelectrónica.<sup>44</sup> Además, la posibilidad de modificar su estructura mediante la introducción de diferentes sustituyentes permite ajustar sus propiedades ópticas, haciendo de este heterociclo una andamio versátil para el desarrollo de nuevas tecnologías en optoelectrónica.

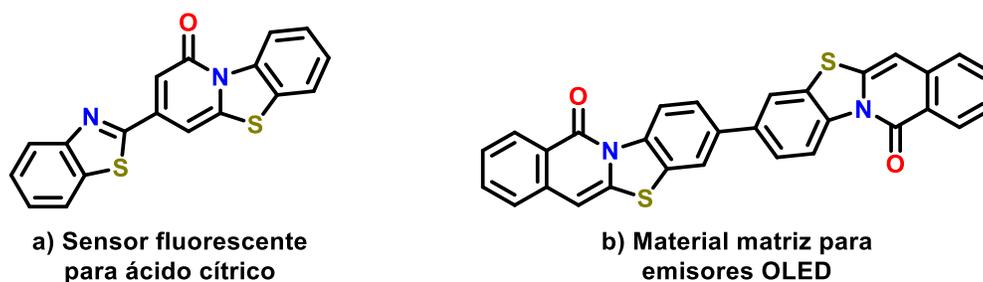


Figura 20 Ejemplos de compuestos reportados en la literatura que incorporan en su estructura un centro de BTP.

<sup>44</sup> a) M. Hori, T. Kometani, H. Ueno and H. Morimoto, *Biochem. Med.* **1974**, *11*, 49-59. b) P. A. Hossain and E. Christian. Compounds for use in organic electroluminescent devices as matrix, electron transport or hole transport materials to improve device properties. US2023-18039988.

Además de sus aplicaciones en el área de materiales, el BTP ha sido incorporado en una variedad de compuestos que exhiben actividad biológica, incluyendo propiedades antimicrobianas, anticancerígenas y antivirales (Figura 21).<sup>45</sup> Su estructura permite una interacción específica con enzimas y receptores biológicos, lo que ha facilitado el desarrollo de nuevas moléculas con potencial terapéutico.

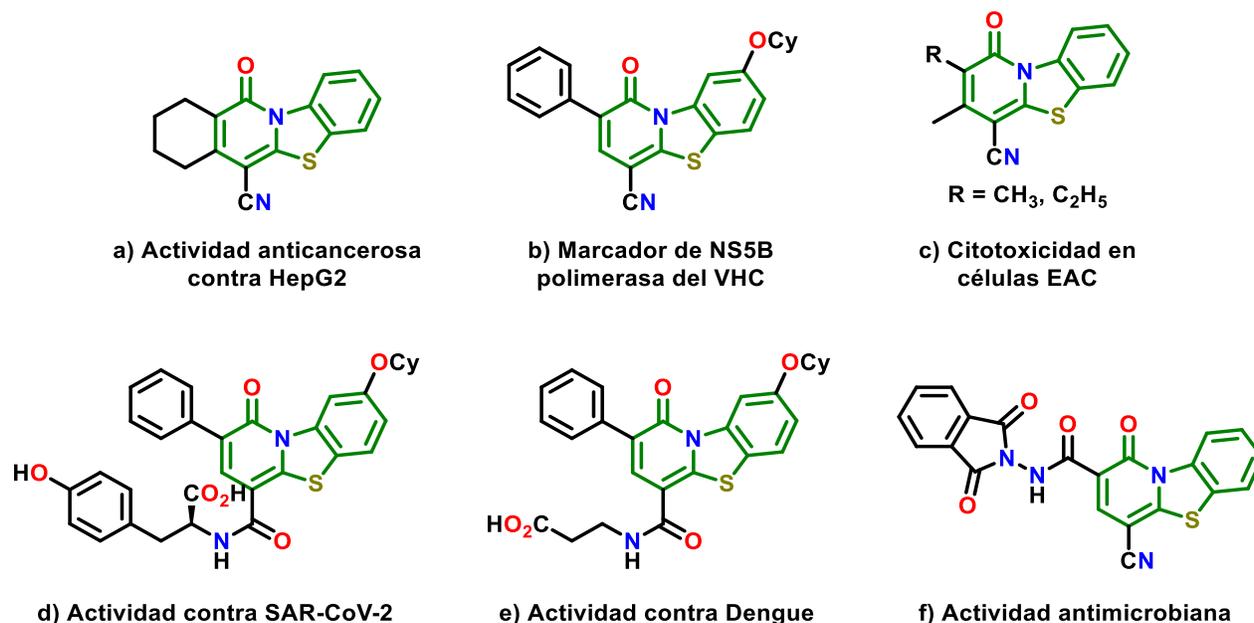


Figura 21 Compuestos con actividad biológica que incluyen BTP en su estructura.

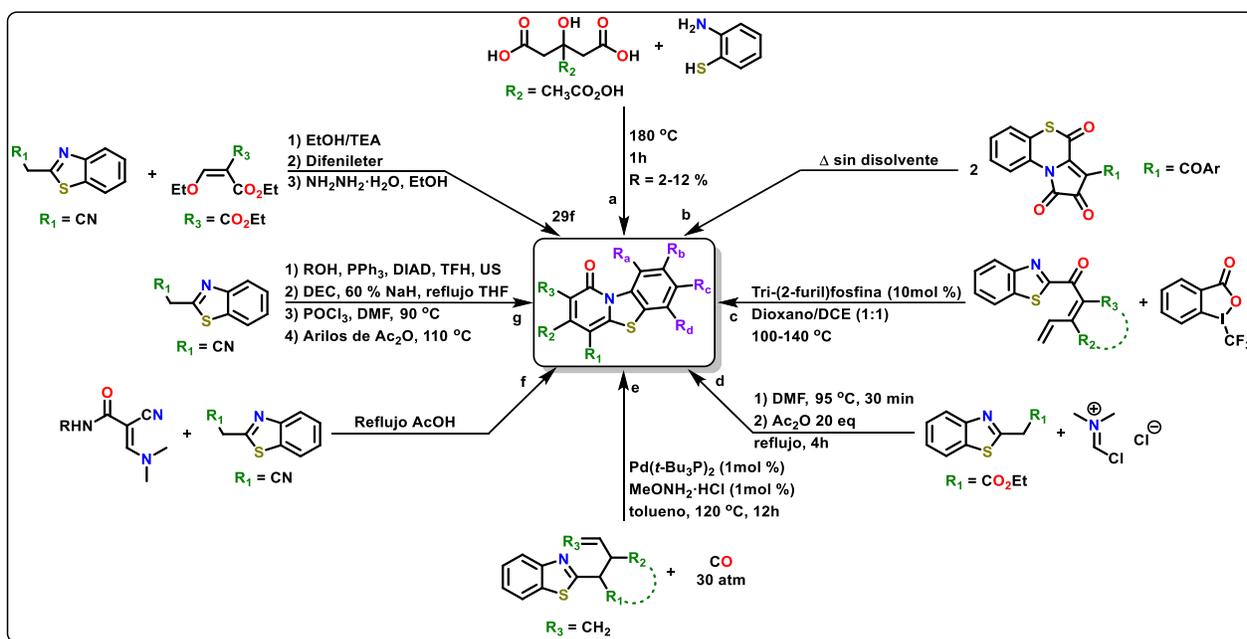
### Obtención de 1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona.

La síntesis de derivados de BTP ha sido abordada mediante varios enfoques en la literatura. Sin embargo, estos presentan varios desafíos, ya que implican la formación de tres anillos fusionados. No obstante, la utilidad de este tipo de compuestos ha llevado al desarrollo de diversas estrategias para obtener la estructura con funcionalización en diversas posiciones del heterociclo.

<sup>45</sup> a) A. M. Youssef, A. Malki, M. H. Badr, R. Y. Elbayaa and A. S. Sultan, *Med. Chem.*, **2012**, *8*, 151-162. b) G. Manfroni, F. Meschini, M. L. Barreca, P. Leyssen, A. Samuele, N. Iraci, S. Sabatini, S. Massari, G. Maga, J. Neyts, V. Cecchetti, *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, *20*, 866-876. c) A. M. Youssef, E. Noaman, *Arzneim.-Forsch*, **2007**, *57*, 547-553. d) M. Dejmeck, E. Konkol'ová, L. Eyer, P. Straková, P. Svoboda, M. Šála, K. Krejcová, D. Ružek, E. Boura and R. Nencka, *Viruses*, **2021**, *13*, 1585. e) R. Cannalire, K. W. K. Chan, M. S. Burali, C. P. Gwee, S. Wang, A. Astolfi, S. Massari, S. Sabatini, O. Tabarrini, E. Mastrangelo, M. L. Barreca, V. Cecchetti, S. G. Vasudevan and G. Manfroni, *ACS Med. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 773-782 f) A. A. Fadda, N. N. Soliman and N. M. Bayoumy, *J. Heterocyclic Chem.*, **2019**, *56*, 2369-2378.

Al analizar algunos de los métodos sintéticos más recientes reportados en la literatura, se observa que la mayoría de ellos parten de precursores complejos, que en la mayoría de los casos implican varios pasos adicionales de síntesis y/o materias primas muy costosas. Además, muchos de estos métodos se basan en ciclaciones, donde los precursores ya contienen el heterociclo benzotiazol en su estructura. Por esta razón, en este trabajo se consideró que partir de precursores que incluyeran el benzotiazol era una estrategia adecuada para la formación de los compuestos propuestos.

En el Esquema 2, se describen los principales métodos de síntesis reportados hasta el día de hoy en la literatura.<sup>46</sup>



Esquema 2 Resumen de métodos sintéticos para la obtención de derivados de 1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona.

<sup>46</sup> a) W. Kasprzyk, S. Bednarz, P. Żmudzki, M. Galica, D. Bogdał *RSC Adv.*, **2015**, 5, 34795–34799. b) E. A. Lystsova, A. S. Novikov, M. V. Dmitriev, A. N. Maslivets and E. E. Khramtsova, *Molecules* **2023**, 28, 5495. c) Y. Zhang, D. R. Han, D. Ye, H. Lu and H. Wei, *Chin. Chem. Lett.* **2024**, 35, 108529. d) T. Felicetti, M. S. Burali, C. P. Gwee, K. W. K. Chan, S. Alfonso, S. Massari, S. Sabatini, O. Tabarrini, M. L. Barreca, V. Cecchetti, S. G. Vasudevan and G. Manfroni, *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, 210, 112992. e) X. Zhou, A. Chen, W. Du, Y. Wang, Y. Peng and H. Huang, *Org. Lett.* **2019**, 21, 9114–9118 f) K. S. Mohamed and E. H. El-Sayed, *Heterocycles*, **2019**, 98, 1089-1103. g) R. Cannalire, D. Tarantino, G. Piorkowski, T. Carletti, S. Massari, T. Felicetti, M. L. Barreca, S. Sabatini, O. Tabarrini, A. Marcello, M. Milani, V. Cecchetti, E. Mastrangelo, G. Manfroni and G. Querat, *Antiviral Res.* **2019**, 167, 6-12.

### 1.1.16 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona

La 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona es un heterociclo fusionado que contiene un anillo de tiazol fusionado con un anillo de 2-piridonio (Figura 22), lo que le confiere características electrónicas únicas que pueden interactuar con sistemas biológicos de manera específica.

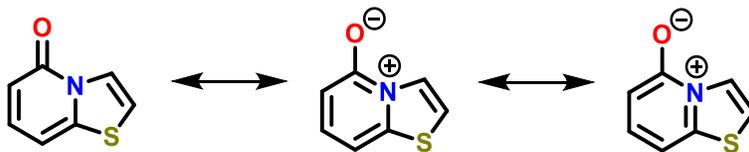


Figura 22 Estructura resonante de la 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona.

El anillo de 2-piridona fusionado con un anillo de tiazol es un andamio peptidomimético,<sup>47</sup> por lo que sus derivados exhiben un amplio espectro de actividades biológicas. Su capacidad para interactuar con biomoléculas, como enzimas y receptores, lo convierte en un candidato atractivo para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos, como antivirales y antimicrobianos.<sup>48</sup> Esta interacción puede ser modulada por la funcionalización del esqueleto heterocíclico, lo que abre la posibilidad de diseñar derivados con propiedades específicas para aplicaciones farmacológicas (Figura 23). Además, la flexibilidad de esta estructura permite explorar diferentes modificaciones químicas que podrían optimizar su desempeño en diversas áreas, que lo hace relevante no solo en el campo terapéutico, sino también en otras áreas, donde se buscan nuevas soluciones basadas en compuestos heterocíclicos. En la Figura 23 se muestran algunos ejemplos.

<sup>47</sup> S. Sarkar, P. Singh, S. Edin, O. F. Wendt and F. Almqvist, *J. Org. Chem.* **2024**, *89*, 731–739.

<sup>48</sup> a) J. G. Samuel, B. Malgija, C. Ebenezer and R. V. Solomon, *Struct. Chem.* **2023**, *34*, 1289-1308 b) T. M. Nye, H. Tukenmez, P. Singh, A. L. Flores-Mireles, C. L. P. Obernuefemann, J. S. Pinkner, S. Sarkar, M. Bonde, A. E. G. Lindgren, K. W. Dodson, J. Johansson, F. Almqvist, M. G. Caparon and S. J. Hultgren. *Microbiol.* **2022**, *119*, e2210912119. c) Z. Zuwen, T. Rui, X. Hua, L. Qihong, Z. Huajie, L. Bin, Z. Weipeng, L. Zhifu, L. Yanxin, L. Shu, Z. Xingdong and W. Weibo, Compounds as protein kinase inhibitors, **2021**, WO 2021/233227 A1. d) C. Nuñez-Otero, W. Bahnan, K. Vielfort, J. Silver, P. Singh, H. Elbir, F. Almqvist, S. Bergstrom and A. Gylfe, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2021**, *65*, e01826-20. e) S. Hultgren, J. S. Pinker, M. G. Caparon, A. L. F. Mireles, F. Almqvist, P. Singh, A. Lindgren, A. J. L. Lynch, **2018**, WO 2018/229141 A1.

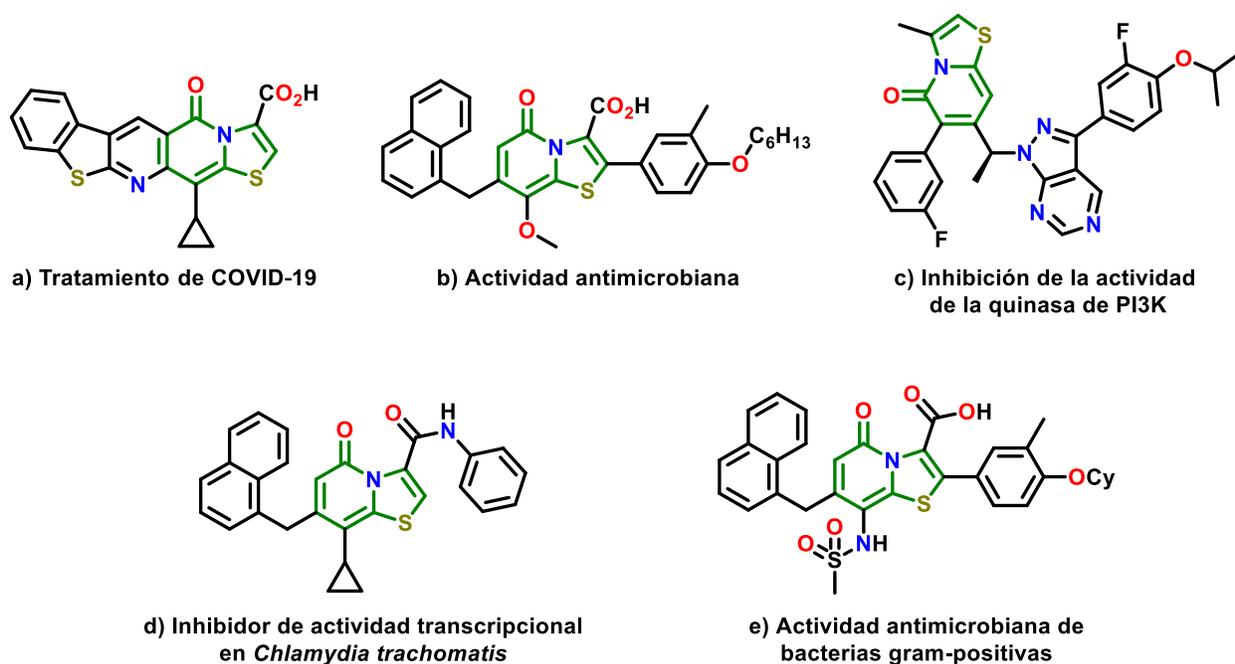
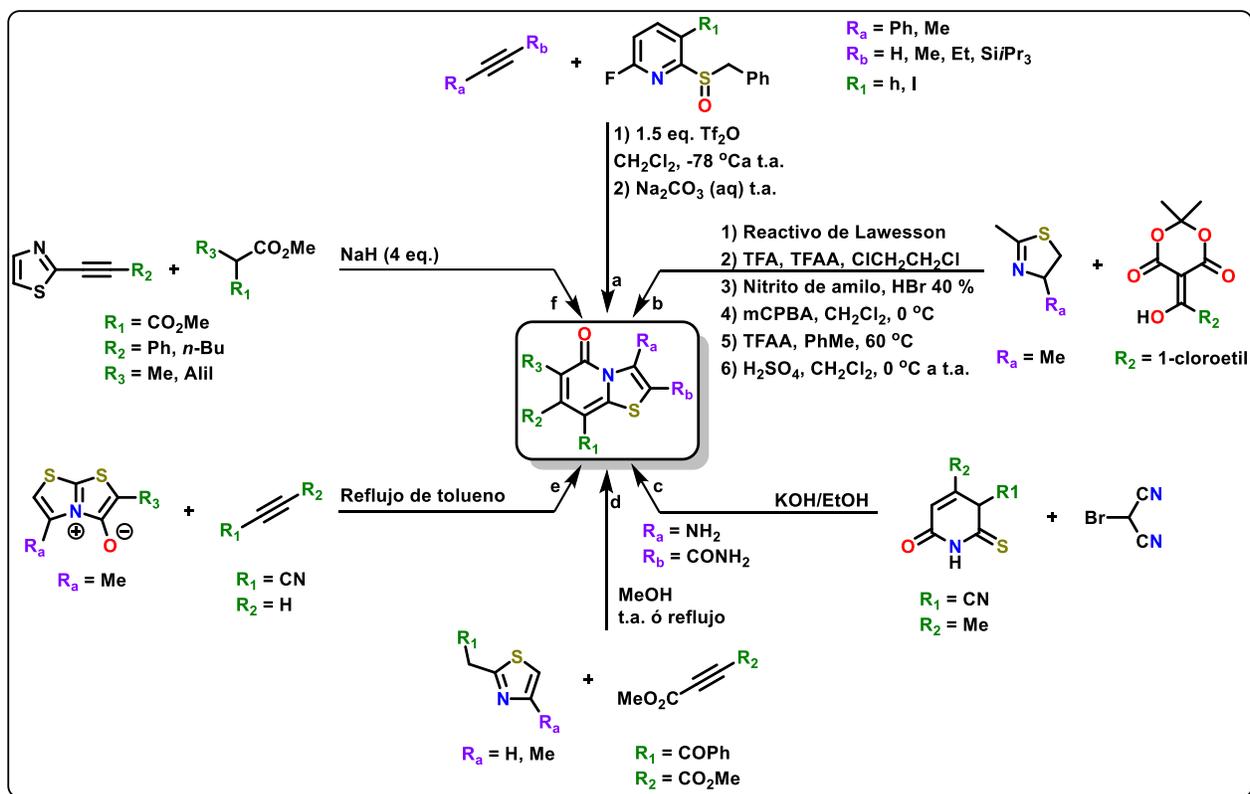


Figura 23 Compuestos con actividad biológica que incluyen 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona en su estructura.

#### 1.1.16.1 Obtención de 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona.

La introducción de sustituyentes en el anillo 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona, permite ajustar las propiedades electrónicas y fisicoquímicas del compuesto, lo que puede influir en su biodisponibilidad y selectividad hacia blancos biológicos o en sus propiedades ópticas. Sin embargo, a pesar de los usos que pueden tener compuestos con este heterociclo en su estructura, la exploración de sus aplicaciones ha sido limitada debido a las dificultades en su síntesis. El Esquema 3 resume la mayoría de los métodos reportados en la literatura para la síntesis de derivados de 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona, los cuales utilizan reactivos como el ácido de Meldrum o varios tipos de alquinos sustituidos. Estos métodos permiten la sustitución en diferentes posiciones del heterociclo final; sin embargo, muchos de los precursores utilizados son costosos o requieren preparación previa, lo que resalta la necesidad de desarrollar enfoques más generales y basados en materias primas accesibles.



Esquema 3 Resumen de métodos sintéticos para la obtención de derivados de 5H-tiazolo[2,3-a]piridinona.<sup>49</sup>

### 1.1.17 Cetenas

Luego de la revisión de algunos de los métodos de síntesis de los compuestos anteriores, resulta evidente que las cetenas son una opción interesante para superar varias de las limitaciones de los enfoques actuales. Este tipo de intermediarios, al ser compuestos altamente reactivos, ofrecen una vía alterna para la síntesis de compuestos heterocíclicos complejos. A continuación, se explorarán las propiedades e importancia de las cetenas como precursores sintéticos en la obtención de diversos heterociclos fusionados.

<sup>49</sup> a) J. Huang, G. Hu, S. An, D. Chen, M. Li and P. Li, *J. Org. Chem.*, **2019**, *84*, 9758–9769. b) M. W. D. Perry, K. Bjorhall, B. Bonn, J. Carlsson, Y. Chen, A. Eriksson, L. Fredlund, H. Hao, N. S. Holden, K. Karabelas, H. Lindmark, F. Liu, N. Pemberton, J. Petersen, S. Rodrigo-Blomqvist, R. W. Smith, T. Svensson, I. Terstiege, C. Tyrchan, W. Yang, S. Zhao and L. Oster. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 5057–5071. c) R. A. M. Faty and A. M. S. Youssef. *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 1577–1584. d) H. I. De Silva, W. P. Henry, C. U. Pittman, *Synthesis*, **2012**, *44*, 3337–3352. e) K. T. Potts and S. Kanemasa, *J. Org. Chem.*, **1979**, *44*, 3808–3811. f) I. Hachiyam M. Atarashi and M. Shimizu, *Heterocycles*, **2006**, *67*, 523–528.

Las cetenas son intermediarios reactivos muy versátiles, con propiedades útiles que abarcan desde la química sintética hasta la química teórica.<sup>50</sup> Algunas de sus aplicaciones más destacadas incluyen adiciones estereoselectivas a cetenas, aplicaciones en química de polímeros, la interacción entre cetenas y carbenos, la fotogénesis de cetenas, y la preparación de bis- $\beta$ -lactamas.<sup>51</sup>

Estructuralmente, las cetenas son un tipo de cumuleno con un patrón de unión distintivo consistente en un átomo central de carbono con hibridación sp unido mediante dobles enlaces a otros dos átomos, uno de oxígeno y otro de carbono, con la fórmula general  $RR'C=C=O$ , donde R y R' representan grupos alquilo, arilo o hidrógeno (Figura 24).

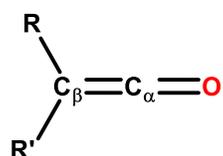


Figura 24 Estructura general de las cetenas.

### 1.1.18 Estructura y propiedades químicas

Las cetenas son compuestos con muy alta reactividad, por lo que usualmente no se pueden aislar y tienden a reaccionar entre si mediante procesos de dimerización. Para entender esta reactividad, se puede usar como modelo fundamental la etenona ( $CH_2=C=O$ ). Para esta cetena, el orbital molecular ocupado más alto (HOMO) se encuentra perpendicular al plano, mientras que el orbital molecular desocupado más bajo (LUMO) se encuentra en el plano de la cetena (Figura 25a). Esto muestra que la cetena tiene carga negativa en el oxígeno y el carbono  $\beta$ , mientras que hay una carga positiva en el carbono  $\alpha$ . Esta distribución de carga también se puede observar mediante los distintos equilibrios resonantes de la cetena, como se muestra en la Figura 25b. Como consecuencia, se espera que los electrófilos ataquen de forma perpendicular al plano de la cetena en el carbono  $\beta$  y el oxígeno, mientras que los nucleófilos atacan en el plano de la cetena en el carbono  $\alpha$ .<sup>52</sup>

<sup>50</sup> c) T. Machiguchi, T. Hasegawa, A. Ishiwata, S. Terashima, S. Yamabe and T. Minato, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4771–4786. b) N. D. Staudaher, A. M. Arif and J. Louie, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 14083–14091. c) P. W. Antoni, J. Reitz, and M. M. Hansmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 12878–12885. Y. Shang, P. Gao, F. Jiao, Y. Chen, Y. Ding, G. Hou, X. Pan and X. Bao. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 18251–18258.

<sup>51</sup> A. D. Allen and T. T. Tidwell, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 1081–1096

<sup>52</sup> a) A. P. Scott and L. Radom, *Int. J. Mass. Spectrom. Ion Proc.* **1997**, *160*, 73–81. b) M. T. Nguyen and H. M. T. Nguyen, *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *300*, 346–350.

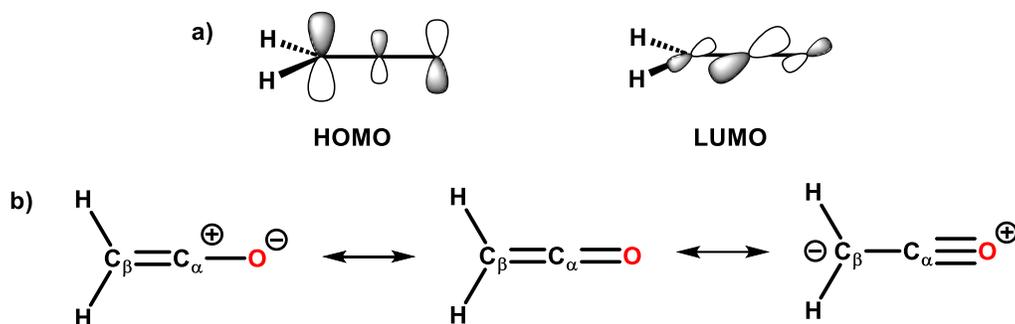


Figura 25 a) Orbitales moleculares HOMO y LUMO y b) estructuras resonantes de la etenona.

### Síntesis y Reactividad

Las cetenas son intermediarios extremadamente reactivos y por lo general se generan *in situ* debido a su corto tiempo de vida y su tendencia a dimerizarse. Sin embargo, su reactividad particular ha permitido el desarrollo de reacciones sintéticas útiles, como la síntesis de Staudinger, la cual es llevada a cabo mediante la cicloadición 2+2 entre una cetena y una imina.<sup>53</sup>

Por otro lado, debido a las propiedades particulares de reactividad de cetenas, es posible llevar a cabo reacciones con nucleófilos sobre el carbono  $\alpha$  y con electrófilos sobre el carbono  $\beta$ . En la literatura hay ejemplos de ello, con los que se pueden obtener polímeros mediante la reacción entre una cetena y bencilmercaptano o amidas, por reacción entre una cetena y fenilmetilamina.<sup>54</sup>

Existen varios enfoques para la obtención de cetenas, siendo los métodos más comunes aquellos que involucran la descomposición térmica o fotolítica de compuestos precursores como carbenos o dímeros de cetena<sup>55a,c</sup> o la eliminación de HCl a partir de un cloruro de acilo.<sup>50d</sup>

<sup>53</sup> a) H. Staudinger and H. W. Klever, *Chem. Ber.* **1906**, 39, 968. b) H. Staudinger, *Chem. Ber.* **1907**, 40, 115.

<sup>54</sup> a) B. Li, Y. Wang, D. M. Du and J. Xu *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 990-997. b) C. M. Rasik and M. K. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 1673-1676. c) Y. Xiang, S. Mitchell, A. L. Rheingold, D. S. Lambrecht and E. Pentzer, *Macromolecules*, **2019**, 52, 6126-6134. d) K. R. Munger, K. M. Anreise, R. P. Jensen, D. H. Peyton and R. M. Strongin, *JACS Au* **2024**, 4, 2403-2410. e) X. Xu, K. Wang and S. G. Nelson, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 11690-11691. f) M. Wang, L. Shi, Y. Li, Q. Liu and L. Pan, *J. Org. Chem.* **2019**, 84, 9603-9610.

<sup>55</sup> a) E. Wedekind, *Chem. Ber.* **1901**, 34, 2070. 33, b) F. Leóst, B. Chantegrel and S. Deshayes, *Tetrahedron* **1998**, 54, 6457, c) H. Zang and D. C. Neckers, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 2103-2106, d) C.M. Rasik and M. K. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 1673-1676. e) Z. Zhang, Y. Liu, L. Ling, Y. Li, Y. Dong, M. Gong, X. Zhao, Y. Zhang and J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 4330-4341. f) R. Shelkov, M. Nahmany and A. Melman, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 8975-8982. g) K. R. Munger, R. P. Jensen and R. M. Strongin, *Chem. Res. Toxicol.* **2022**, 35, 1202-1205. h) D. Yamane, H. Tanaka, A. Hirata, Y. Tamura, D. Takahashi, Y. Takahashi, T. Nagamitsu and M. Ohtawa, *Org. Lett.* **2021**, 23, 2831-2835.

Otra vía para la generación de cetenas es mediante la descomposición térmica de diazocetonas.<sup>50e</sup> En este proceso, las cetenas se forman a través de una reacción de expulsión de nitrógeno a partir de un diazocompuesto, en condiciones térmicas o fotolíticas.

En métodos más recientes, se pueden obtener cetenas mediante el proceso de vaporización del acetato de  $\Delta^8$ -THC (variante del tetrahidrocannabinol que cambia de posición un doble enlace),<sup>50g</sup> o mediante procesos secuenciales de desprotonación / boración / oxidación de alquinos.<sup>50h</sup>

### **Estabilización de cetenas**

El desarrollo de métodos para la estabilización de cetenas abarca varios enfoques, que incluyen la incorporación de grupos protectores voluminosos, el diseño de condiciones de reacción más controladas, o la utilización de complejos metálicos que ayuden a moderar su reactividad. Estos avances en la estabilización de cetenas no solo han permitido su estudio más detallado, sino que también han ampliado su rango de aplicaciones en diversos campos, incluyendo la síntesis de productos farmacéuticos, materiales avanzados, y polímeros especializados. A continuación, se resumen varios de estos métodos de estabilización.

Los sustituyentes unidos directamente a las cetenas, tienen un efecto directo sobre la estabilidad de estos compuestos, viéndose estabilizados por sustituyentes electropositivos, que son capaces de donar densidad electrónica desde el enlace R-C<sub>β</sub> al C<sub>α</sub>, deficiente en densidad electrónica, mientras que grupos electronegativos desestabilizan el intermediario.<sup>56</sup> Por otro lado, los átomos como el O, N y los halógenos tienen pares de electrones que pueden tener una interacción repulsiva con el carbono C<sub>β</sub> de la cetena, el cual tiene alta densidad electrónica.

Un caso particular de estabilizadores de cetenas son los alquenos (vinilcetenas), los cuales pueden estabilizar mediante conjugación del fragmento C<sub>β</sub> = C<sub>α</sub> de la cetena con el enlace C=C del alqueno (o alquenos).<sup>57</sup>

#### **1.1.19 Vinilcetenas**

Las vinilcetenas son una clase particular de cetenas que contienen un grupo vinilo (CH<sub>2</sub>=CH-) unido al grupo carbonilo de la cetena. Esta molécula puede tener una deslocalización electrónica generando un equilibrio resonante como el mostrado en la Figura 26, el cual es sustentado por el valor del momento dipolar de la molécula (0.97 D).<sup>58</sup>

---

<sup>56</sup> R. J. Boyd and S. L. Boyd, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1652–1655.

<sup>57</sup> H. M. Badawi, W. Forner and A. Al-Saadi, *J. Mol. Struct.* **2001**, *535*, 183-197.

<sup>58</sup> R. D. Brown, P. D. Godfrey and M. Woodruff, *Aust. J. Chem.*, **1979**, *32*, 2103-2109.

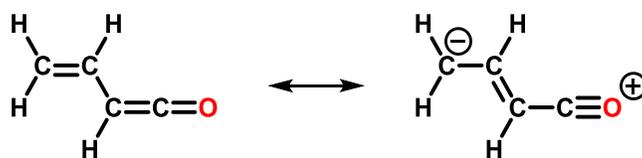
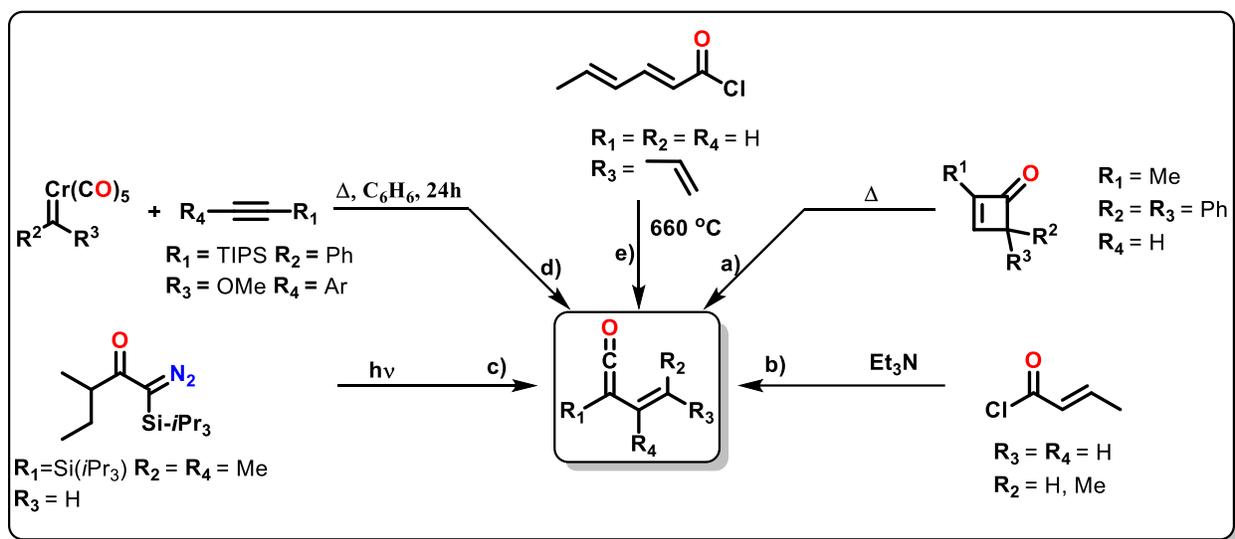


Figura 26 Deslocalización electrónica de una vinilcetená.

Las vinilcetenas juegan un papel crucial como intermedios reactivos en diversas reacciones orgánicas, incluidas la cicloadición y la formación de enlaces carbono-carbono, lo que las convierte en un recurso valioso en la síntesis de compuestos heterocíclicos y otros productos orgánicos complejos.

Los métodos para la obtención de vinilcetenas parten de precursores como cloruros de acilo o carbenos. El Esquema 4 muestra un resumen de algunos métodos para la obtención de vinilcetenas.<sup>59</sup>



Esquema 4 Métodos de síntesis de vinilcetenas.

### 1.1.20 Complejos de vinilcetenas

Los complejos de vinilcetenas con metales ofrecen una vía efectiva para estabilizar estos intermedios altamente reactivos, permitiendo así su manipulación controlada y ampliando sus

<sup>59</sup> a) M. T. Nguyen, T. K. Ha and R. A. M. O'ferrall, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3251-3256. b) Jackson, D. A., Rey, M., Dreiding, A. S. *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 2330-2341. c) J. L. Loebach, D. M. Bennett and R. L. Danheiser, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8380-8389. d) Z. Li, W. H. Moser, W. Zhang, C. Hua and L. Sun, *J. Organomet. Chem.* **2008**, *693*, 361-367. e) E. V. Dehmlow and M. Slopianka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 170.

aplicaciones en síntesis química. La coordinación de una vinilcetena a un centro metálico puede disminuir su reactividad, al estabilizar el carbono electrofílico del grupo carbonilo y el sistema vinílico a través de interacciones electrónicas con el metal. Este fenómeno no solo protege la vinilcetena de su tendencia a reaccionar de manera no selectiva, sino que también puede ayudar en ciertas reacciones químicas, ya que el metal puede actuar como catalizador en reacciones posteriores.

Como se muestra en la Figura 27, los complejos de vinilcetena tienen tres representaciones principales (**1**, **2** y **3**), en el que el metal se une de diversas formas a los cuatro átomos de carbono de la vinilcetena. La representación **1** y **3** son las más comunes cuando se consideran reacciones posteriores. Por otro lado, la representación **2** es la más explícita, pues es útil para considerar el movimiento de electrones alrededor del sistema. La representación **4** surge de la base de estudios cristalográficos, que muestran similitud en las longitudes de enlace. Además, ciertas reacciones resultan en la inserción sobre el enlace metal-acilo, por lo que esta representación resulta útil para explicar esa reactividad.

Finalmente, la representación **5** se suele utilizar para demostrar que la descoordinación del carbono  $C_\beta$  es un proceso viable, sugerido como el primer paso del mecanismo de varias reacciones de complejos de vinilcetena.<sup>60</sup>

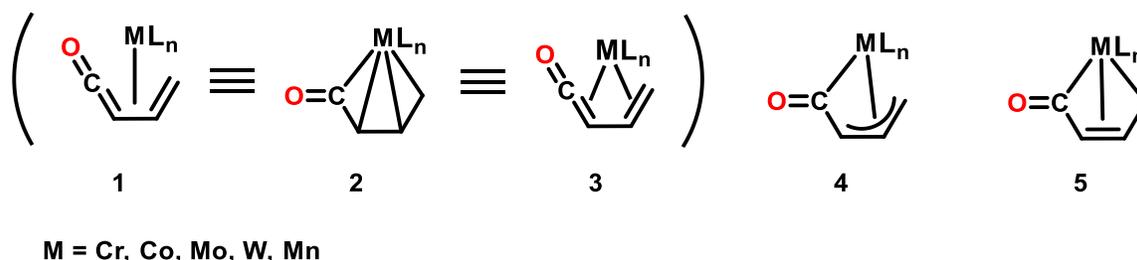


Figura 27 Representaciones principales de los complejos  $\eta^4$  vinilcetena.

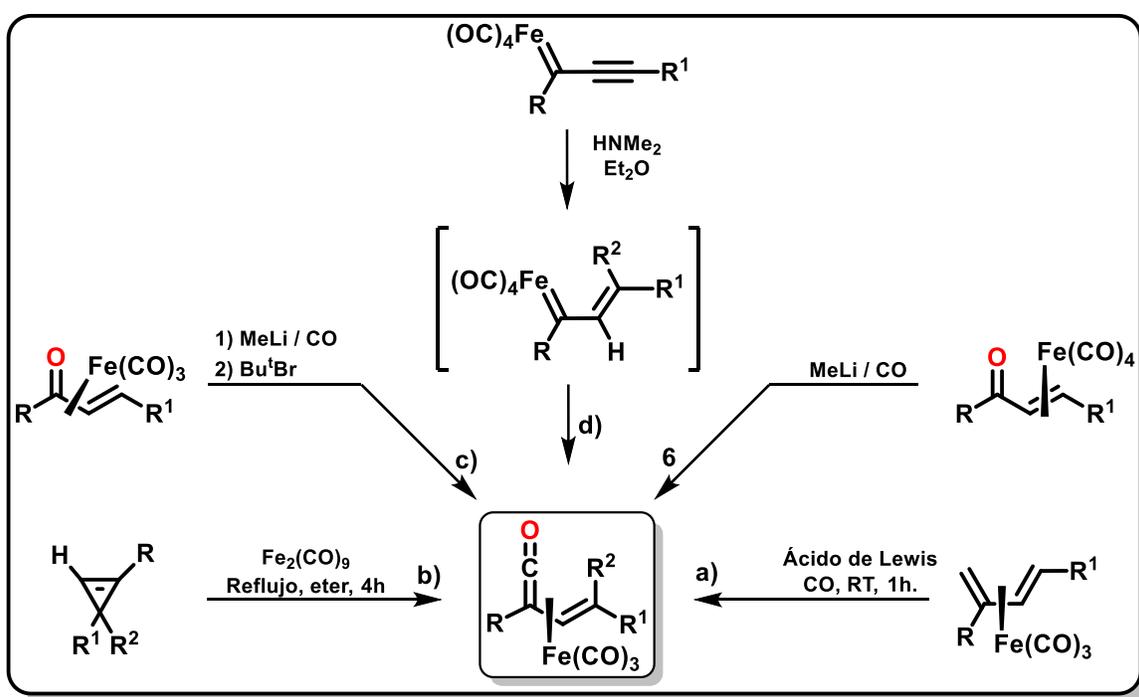
En la literatura también se encuentran excepciones a los modos de coordinación mostrados en la figura anterior; sin embargo, en este trabajo solo se considerarán aquellos complejos que se ajustan a las representaciones mencionadas anteriormente, ya que coinciden mejor con los resultados obtenidos.

<sup>60</sup> S. E. Gibson, Transition Metal Complexes of Vinylketenes. In *Advances in organometallic chemistry*, vol. 44, 1<sup>st</sup> Edition, 2015, pp 276-277

### 1.1.21 Vinilcetenas estabilizadas con hierro

Las vinilcetenas estabilizadas con hierro han sido estudiadas debido a su versatilidad como intermediarios sintéticos en la formación de sistemas heterocíclicos y policíclicos, así como por su capacidad para facilitar la activación y funcionalización de enlaces múltiples.

Generalmente, las vinilcetenas estabilizadas con hierro se obtienen a partir de la reacción de cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas con reactivos organometálicos y una fuente de Fe(0). Esta interacción genera un sistema donde el hierro actúa como estabilizante, favoreciendo una distribución electrónica que permite una reactividad controlada y regioselectiva. Este proceso se ilustra en el Esquema 5.



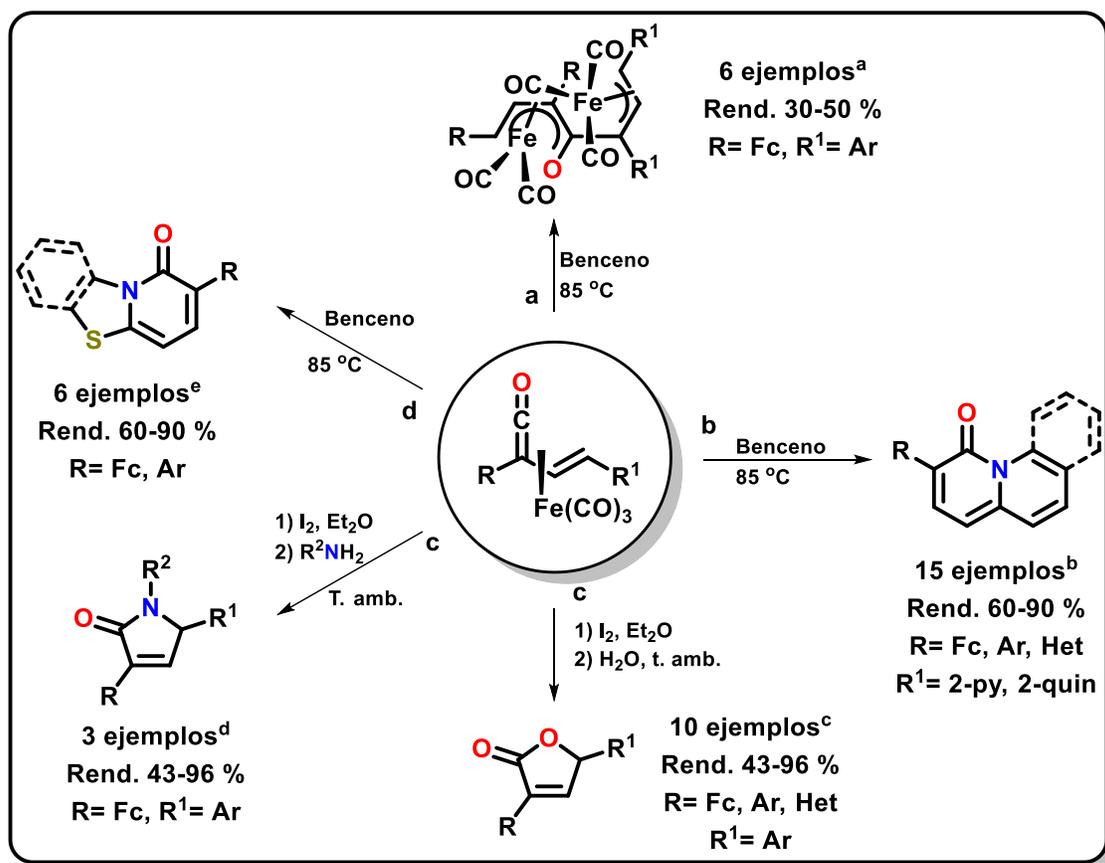
Esquema 5 Métodos reportados para la obtención de complejos  $\eta^4$ -vinilcetenas estabilizadas con hierro (0).<sup>6,61</sup>

Entre las aplicaciones más importantes de las vinilcetenas estabilizadas por hierro(0) se encuentra su uso en la formación de heterociclos nitrogenados y oxigenados, donde las propiedades electrónicas del complejo metálico facilitan ciclaciones intramoleculares de alta

<sup>61</sup> a) T. Okauchi, N. Sata, A. Urakawa and M. Kitamura, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 8454–8456. b) P. Binger, B. Cetinkaya and C. Krüger, *J. Organomet. Chem.*, **1978**, 159, 63–72. c) S. E. Gibson and M. A. Peplow, in *Advances in Organometallic Chemistry*, ed. W. Robert and F. H. Anthony, Academic Press, **1999**, vol. 44, pp. 275–355. d) J. Park and J. Kim, *Organometallics*, **1995**, 14, 4431–4434.

selectividad. Asimismo, estas especies han sido empleadas como plataformas para la construcción de sistemas policíclicos con potencial actividad fluorescente, lo que las convierte en herramientas valiosas en el diseño de sensores ópticos.

El Esquema 6 muestra algunas de las principales aplicaciones reportadas por nuestro grupo de investigación, incluyendo procesos de ciclación controlada y la formación de estructuras complejas que han sido utilizadas en el desarrollo de nuevos materiales y compuestos bioactivos.<sup>6,62</sup>



Esquema 6 Aplicaciones sintéticas de vinilcetenas estabilizadas con hierro reportadas por nuestro grupo de investigación.

<sup>62</sup> a) D. A. Resendiz-Lara, A. Rosas-Sánchez, D. Hashizume, J. E. Barquera-Lozada, R. A. Toscano, J. G. López-Cortés and M. C. Ortega Alfaro, *Dalton Trans.*, **2023**, 52, 2722, b) Ref. 6 c) V. González-López, D. A. Resendiz-Lara, A. Rosas-Sánchez, L. G. Ledesma-Olvera, J.C. Darán, J. E. Barquera-Lozada, J. G. López-Cortés and M. C. Ortega-Alfaro, *Dalton Trans.*, **2022**, 51, 6868-6875.

## 1.2 Planteamiento del problema

La síntesis de nuevos sistemas heterocíclicos fusionados representa un área de creciente interés debido a su amplio potencial en campos como la química de materiales y la biomedicina. En particular, aquellos compuestos que integran átomos de nitrógeno en cabeza de puente han demostrado ser andamios versátiles para el diseño de moléculas funcionales con propiedades ópticas relevantes. Sin embargo, las metodologías actuales para la obtención de estos sistemas presentan limitaciones importantes en cuanto a eficiencia, selectividad estructural y acceso a estructuras novedosas.

En este contexto, las cetenas se perfilan como intermediarios de gran interés que podrían superar varias de estas limitaciones. Su uso permitiría acceder de forma eficiente a estructuras complejas como las *4H*-quinolizin-4-onas, las *1H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-onas y las *5H*-tiazolo[2,3-*a*]piridinonas. Sin embargo, el uso de cetenas en la síntesis de heterociclos funcionalizados apenas ha sido explorada.

Por otro lado, el diseño de sondas fluorescentes que puedan detectar de manera precisa y eficaz ciertos cationes metálicos continúa siendo un desafío importante en diversas áreas científicas como la medicina o la química ambiental. Entre ellos, el Fe(III) tiene especial relevancia debido a su participación en procesos biológicos esenciales, así como por los efectos negativos que pueden derivarse tanto de su deficiencia como de su acumulación. En este sentido, la exploración de rutas sintéticas más eficientes, como aquellas que involucran cetenas, junto con un diseño molecular orientado a modular las propiedades ópticas de los compuestos, abre nuevas posibilidades para el desarrollo de sondas fluorescentes con alta especificidad hacia este metal.

### 1.3 Hipótesis

Si el alcance sintético de la metodología previamente descrita en nuestro grupo de investigación permite la obtención de nuevos heterociclos fusionados, como *4H*-quinolizin-4-onas, *1H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-onas y *5H*-tiazolo[2,3-*a*]piridinonas, que incluyan un átomo de nitrógeno en cabeza de puente, entonces será posible evaluar si estas estructuras presentan propiedades fluorescentes favorables, como buenos rendimientos cuánticos o desplazamientos de Stokes amplios. Estas características son importantes para su potencial aplicación como sondas fluorescentes, por lo que se estudiará el impacto de la arquitectura estructural en el comportamiento óptico de los compuestos sintetizados.

Además, mediante la introducción de grupos funcionales como metoxilos o alcoholes en el andamio principal, se espera mejorar la afinidad de las moléculas por cationes metálicos, como el Fe(III), mediante la integración de más de un sitio de coordinación. Estas modificaciones podrían favorecer interacciones específicas con el metal, aumentando así la sensibilidad y selectividad de las moléculas como sondas fluorescentes en medios biológicos o ambientales.

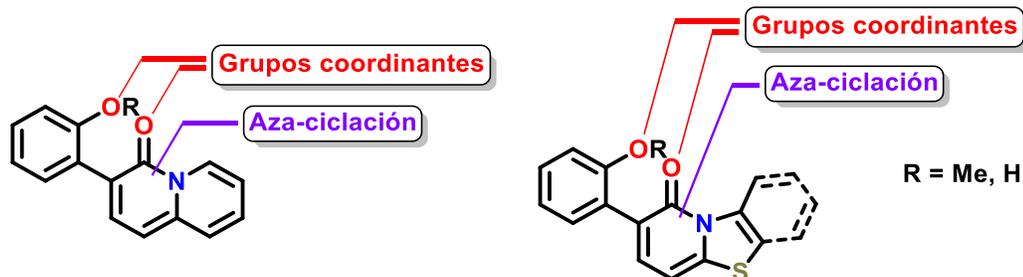
## 1.4 Objetivos

### 1.4.1 General

Diseñar, sintetizar y evaluar una familia de heterociclos que incorporen en su estructura un átomo de nitrógeno en cabeza de puente como potenciales sondas fluorescentes para la determinación de hierro(III).

### 1.4.2 Particulares

1. Extender el estudio de la reactividad de complejos  $(\eta^4\text{-vinilcetena})\text{Fe}(\text{CO})_3$  incorporando diversos aza-heterociclos para la obtención de compuestos bicíclicos con átomos de nitrógeno en cabeza de puente.
2. Funcionalizar las 4*H*-quinolizin-4-onas con grupos coordinantes O,O con el objetivo de obtener ligandos quelantes con potenciales propiedades fluorescentes que permitirían desarrollar sus aplicaciones como sensores selectivos para la detección de metales.



Esquema 7 Estructura general de las sondas fluorescentes propuestas.

3. Realizar el estudio solvatocrómico de UV-visible y fluorescencia de los compuestos sintetizados, para observar el efecto de la polaridad y viscosidad en sus propiedades ópticas.
4. Realizar estudios de reconocimiento molecular de los compuestos fluorescentes utilizando técnicas espectroscópicas, evaluando su interacción con distintos metales para determinar su selectividad y sensibilidad.

## CAPÍTULO 2. DISEÑO Y SÍNTESIS DE LAS SONDAS FLUORESCENTES BASADAS EN 4H-QUINOLIZIN-4-ONAS

El diseño de sensores fluorescentes dirigidos a la detección de cationes metálicos implica considerar diversos elementos estructurales y electrónicos. Entre ellos, la elección del fluoróforo es fundamental, ya que sus propiedades de absorción y emisión, la longitud de onda y el rendimiento cuántico, pueden modificarse debido a los grupos funcionales presentes o por la rigidez estructural del sistema. Sin embargo, para que el sistema funcione de manera adecuada, no basta con que el sensor sea intrínsecamente fluorescente; también debe exhibir una interacción específica y eficiente con el ion de interés. Esta capacidad de reconocimiento depende de la geometría del sensor, así como de la disposición y naturaleza de los grupos funcionales encargados de la coordinación, factores que en conjunto determinan la intensidad y selectividad de la señal óptica.<sup>63</sup>

### 2.1 Base estructural para el diseño de las sondas

En este trabajo, se seleccionó un anillo de 4H-quinolizín-4-ona (Figura 28) como base estructural, principalmente debido su capacidad de absorber luz en la región UV-Vis y sus propiedades fluorescentes.<sup>4,37d</sup>

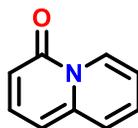


Figura 28 Estructura base propuesta

Este heterociclo presenta además una gran rigidez estructural, pues la presencia de dos anillos fusionados conjugados favorece una menor movilidad conformacional. Esta rigidez limita la cantidad de estados vibracionales que podrían conducir al ensanchamiento de las líneas de absorción y emisión, y disminuye la desactivación interna del estado excitado.<sup>15a</sup>

Además de sus características ópticas, este andamio también cuenta con un centro de coordinación natural, pues el grupo carbonilo en posición 4 actúa como un sitio de coordinación, capaz de interactuar con iones metálicos como donador de electrones.

<sup>63</sup> a) H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke and Y. Urano, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2620–2640. b) P. R. Dongare and A. H. Gore, *ChemistrySelect*, **2021**, *6*, 5657 – 5669. c) S. Park, N. Kwon, J. H. Lee, J. Yoon and I. Shin, *Chem. Soc. Rev.*, **2020**, *49*, 143-179.

A partir del andamio de 4*H*-quinolizin-4-ona, se propuso la incorporación de un anillo fenilo unido en posición 3 de este anillo. Esta incorporación es relevante debido a que, en trabajos anteriores en nuestro grupo de investigación, se demostró que la funcionalización con un anillo aromático en esa posición se incrementa el rendimiento cuántico de fluorescencia (Figura 29).<sup>64</sup>

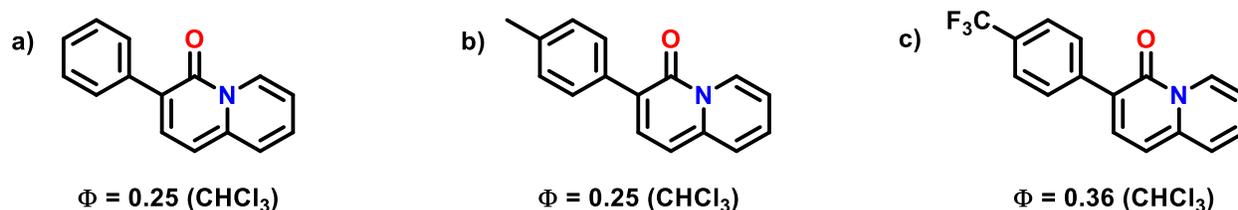


Figura 29 Estructura de algunos compuestos reportados previamente por nuestro grupo de investigación.

## 2.2 Incorporación de los sitios de coordinación

La selectividad de una sonda depende en gran medida de la geometría y la disposición de sus sitios de coordinación.<sup>65</sup> En este contexto, los sistemas bidentados juegan un papel crucial, ya que permiten una interacción más fuerte y específica con el ion objetivo. Además, la disposición de dos sitios coordinantes dentro de la misma estructura garantiza una mayor afinidad hacia ciertos metales, mejorando la selectividad y la eficiencia del proceso de reconocimiento.

En este trabajo se propusieron tres posibles estructuras de sondas fluorescentes, cada una con dos sitios de coordinación que se encontrarían unidos directamente sobre la 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona (Figura 29a). Para todas las propuestas, el sitio de coordinación primario es el oxígeno del carbonilo ubicado en el centro de la 4*H*-quinolizin-4-ona, cuya capacidad de coordinación puede verse incrementada debido al equilibrio resonante presente en el anillo (Figura 16). Para el segundo grupo coordinante, responsable de la selectividad, se sugirieron tres posiciones diferentes.

En la primer propuesta, se planteó la incorporación del fragmento coordinante en la posición 6 del anillo de 4*H*-quinolizin-4-ona. La segunda propuesta consistió en sustituir el anillo de fenilo en la posición 3 por un anillo de 2-piridina. Finalmente, la tercer propuesta consistió en la funcionalización de la posición 2 del anillo de fenilo unido a la 4*H*-quinolizin-4-ona, como se muestra en la Figura 30.

<sup>64</sup> Rosas-Sánchez, A. *[Fe(CO)<sub>3</sub>]-Vinilcetenas como bloque constructor en la síntesis de heterociclos*. Tesis de Doctorado, UNAM, **2015**.

<sup>65</sup> B. Valeur, I. Leray, *Coord. Chem. Rev.*, **2000**, 205, 3-40.

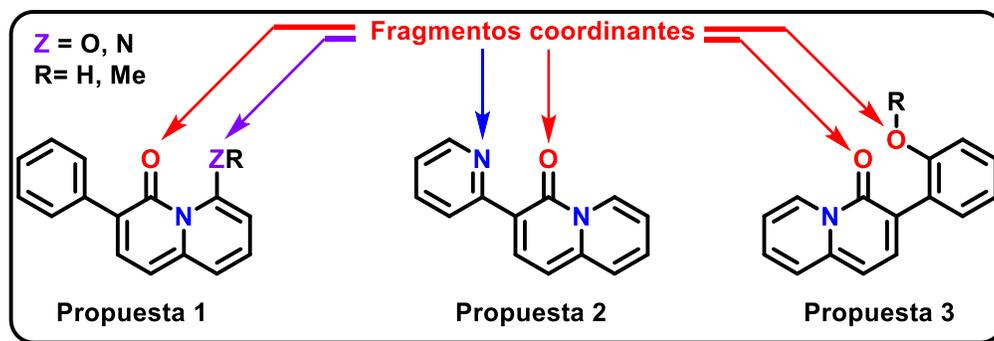


Figura 30 Estructuras propuestas para las sondas fluorescentes.

La elección de las posiciones para incorporar el segundo sitio de coordinación se basó en la necesidad de lograr una proximidad espacial adecuada entre ambos grupos coordinantes, de modo que se facilitara la formación de ciclos de seis o siete miembros tras la interacción con un ion metálico, considerados óptimos en química de coordinación por su equilibrio entre estabilidad y flexibilidad.<sup>66</sup>

Además, ubicar los grupos coordinantes en estas posiciones permitió mantener la molécula relativamente compacta, evitando estructuras demasiado grandes o complejas que podrían afectar tanto la eficiencia de fluorescencia como su posible aplicación en sistemas biológicos.<sup>67</sup>

Estos criterios de diseño buscaron equilibrar la simplicidad sintética, la organización espacial favorable de los fragmentos coordinantes y la preservación de las propiedades fotofísicas deseables para el desempeño de las sondas fluorescentes.

Durante el desarrollo de este proyecto, se intentaron sintetizar las tres estructuras arriba mostradas, sin embargo, solo se logró obtener el producto final de la propuesta **3**, siendo esa la estructura general de las sondas fluorescentes presentadas en este trabajo. No obstante, los resultados obtenidos en las propuestas **1** y **2** resultaron valiosos, ya que se obtuvieron compuestos inesperados e interesantes desde el punto de vista sintético, los cuales podrían abrir nuevas áreas de investigación más allá del alcance de este proyecto. A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el proceso de síntesis de las 3 propuestas sugeridas.

<sup>66</sup> a) R. D. Hancock and A. E. Martell, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1875-1914. b) R. D. Hancock, *J. Chem. Educ.* **1992**, *69*, 615-621. c) Y. N. Kukushkin, N. P. Kiseleva, E. Zangrando and V. Y. Kukushkin, *Inorganica Chim. Acta.* **1999**, *285*, 203-207.

<sup>67</sup> A. Ghosh and A. Adhikary, *Coord. Chem. Rev.* **2025**, *536*, 216654.

## 2.3 Propuesta 1. Funcionalización sobre la posición 6 del anillo de 4*H*-quinolizin-4-ona

La primer propuesta de sonda fluorescente consistió en la incorporación de un segundo fragmento coordinante en la posición 6 del andamio de 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona (Figura 31). Con esto en mente, se plantearon varias estrategias sintéticas orientadas a activar la posición 6 del heterobiciclo para facilitar la funcionalización deseada.

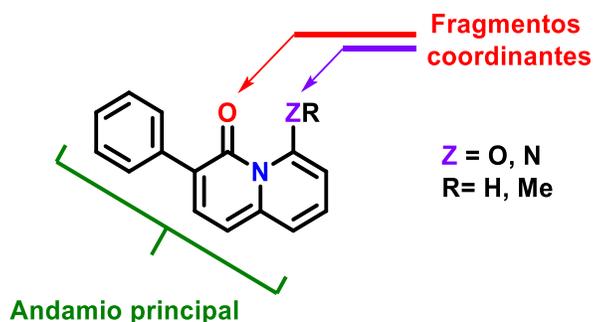
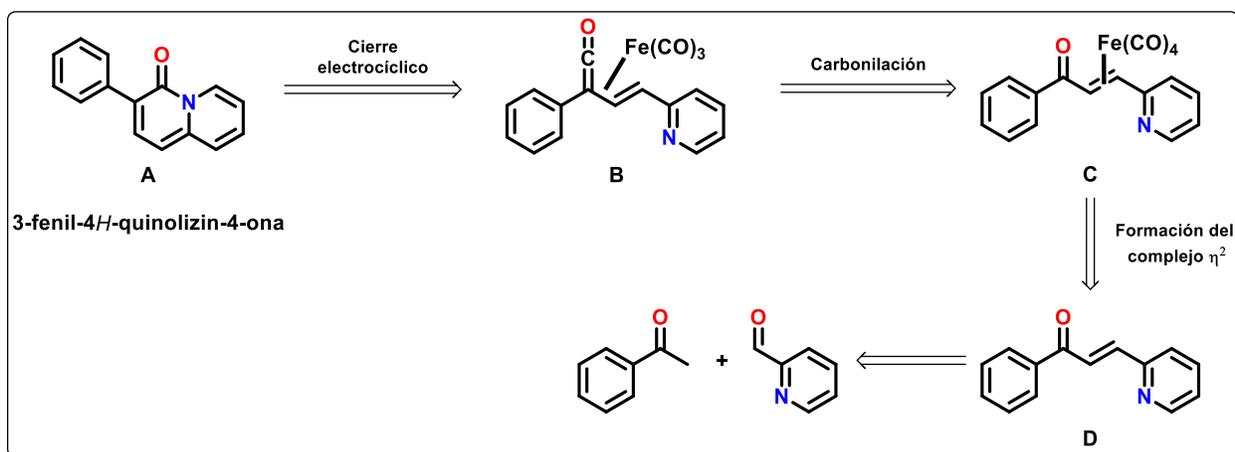


Figura 31 Propuesta inicial de la estructura de la sonda fluorescente.

### 2.3.1 Análisis retrosintético

Para comenzar con la funcionalización del andamio principal, se decidió llevar a cabo la síntesis de la 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona. El procedimiento original para la obtención de este heterobiciclo fue optimizado con el objetivo de establecer condiciones de reacción que pudieran aplicarse también a la síntesis de los compuestos análogos descritos en este trabajo. Con esto en mente, se planteó el análisis retrosintético mostrado en el Esquema 8, establecido a partir en la ruta previamente reportada.<sup>6</sup>

Se propuso comenzar por la síntesis de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada **D**, partiendo de acetofenona y 2-piridincarboxaldehído, mediante una reacción de condensación aldólica. Posteriormente, se propone obtener el complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  **C**, mediante la reacción de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada previamente obtenida con una fuente de hierro(0). Como siguiente paso, se puede llevar a cabo una reacción de carbonilación, mediante un primer paso de litiación seguido por un intercambio de atmósfera a CO, la cual conducirá a la formación del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **B**. Finalmente, el compuesto **A** (3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona) puede ser obtenido mediante condiciones de cierre electrocíclico térmico.<sup>59</sup>



Esquema 8 Análisis retrosintético general para la obtención del andamio principal 3-fenil-4H-quinolizin-4-ona.

Una vez se obtuvo un plan de trabajo, se comenzó con la síntesis de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada, mediante una reacción de condensación aldólica entre 2'-metoxiacetofenona y 2-piridincarboxaldehído, obteniéndose los resultados mostrados en la **Tabla 1**.

**Tabla 1** Variación de condiciones para la condensación aldólica (se muestran resultados más significativos).

Ensayo	Eq. Acetofenona	Eq. de 2-piridin-carboxaldehído	Base	Eq. base	Tiempo (h)	R (%)
1	1	1.1	NaOH	3	18	-
2	1	1.1	LiOH·H <sub>2</sub> O	0.1	4	78
3	1	1.1	LiOH·H <sub>2</sub> O	0.1	5	85
4	1	1.1	LiOH·H <sub>2</sub> O	0.1	6	92
5 <sup>a</sup>	1	1.1	LiOH·H <sub>2</sub> O	0.1	4	92

a) Este ensayo corresponde a las condiciones experimentales y al rendimiento reportados en un trabajo previo.<sup>64</sup>

De los datos obtenidos, se observó que las mejores condiciones para llevar a cabo las condensaciones aldólicas son usando como base 10% mol de LiOH·H<sub>2</sub>O en 6 horas de reacción. El rendimiento se comparó con el reportado previamente, obteniéndose un resultado similar, aunque en un tiempo de reacción mayor. Una posible explicación a esto fue la solubilidad de la base, la cual en los primeros experimentos no se logró solubilizar completamente, haciendo que la base disponible en la reacción fuera menor a la adicionada.

Esto se trató de solucionar asegurándose de que el LiOH·H<sub>2</sub>O estuviera disuelto en la solución de la reacción. Para ello, se disolvió la base en la cantidad adecuada de etanol, dejándola en agitación durante 30 minutos antes de añadir el resto de los reactivos al matraz de reacción. Sin embargo, es probable que la base no estuviera bien disuelta aún después del tiempo de agitación, aumentando el tiempo de reacción necesario. El producto fue caracterizado por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IR, coincidiendo con lo reportado previamente.

El siguiente paso consistió en la síntesis para la formación del complejo η<sup>2</sup>-vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>], haciendo reaccionar la cetona α,β-insaturada previamente obtenida con una fuente adecuada de hierro(0). En este caso se usó Fe<sub>2</sub>(CO)<sub>9</sub>, pues es mucho menos tóxico y más fácil de manejar que otras fuentes de hierro(0) como el Fe(CO)<sub>5</sub>. La síntesis de este compuesto se describe en la sección de resumen espectroscópico.

Una vez obtenida la fuente de hierro(0), se procedió a llevar a cabo la reacción de complejación, obteniéndose los resultados mostrados en la **Tabla 2**.

**Tabla 2** Resultados de optimización para la formación del complejo η<sup>2</sup>-vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>]. (se muestran los resultados más significativos)

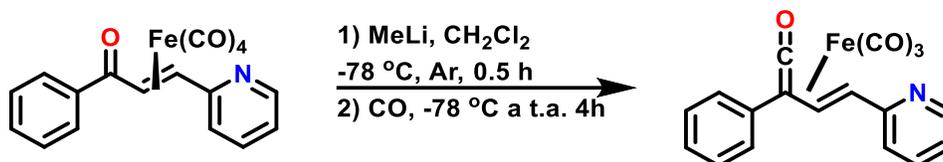
The reaction scheme shows the complexation of an α,β-unsaturated ketone (with a phenyl group and a pyridine ring) with 1.5 equivalents of Fe<sub>2</sub>(CO)<sub>9</sub> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> to form the η<sup>2</sup>-vinyl ketone iron complex [Fe(CO)<sub>4</sub>].

Ensayo	Eq. de cetona α,β-insaturada	Eq. de Fe <sub>2</sub> (CO) <sub>9</sub>	Tiempo (h)	R (%)
1	1	1.5	4	92
2	1	1.5	5	89
3	1	1.5	6	80
4 <sup>a</sup>	1	1.5	4	79

a) Este ensayo corresponde a las condiciones experimentales y al rendimiento reportados en un trabajo previo.<sup>64</sup>

Esta reacción se llevó a cabo en condiciones de atmósfera inerte, obteniéndose como tiempo óptimo 4 horas. Para esta reacción no fue necesario modificar las condiciones de reacción previamente reportadas, pues se obtuvieron buenos rendimientos en las mismas condiciones. La reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina, hasta la desaparición total de la cetona α,β-insaturada. El compuesto se logró obtener en mejores rendimientos que el reportado previamente. Este fue caracterizado por RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e IR.

La siguiente reacción llevada a cabo fue la formación del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ . Este compuesto se obtuvo al hacer reaccionar el complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  con MeLi a  $-78^\circ\text{C}$  en condiciones anhidras, seguido de un posterior cambio de atmósfera a CO, como se resume en el Esquema 9. La reacción fue completa, por lo que no fue necesario purificar el compuesto por cromatografía en columna, llevando a cabo solo un proceso de filtración con celita y sulfato de sodio anhidro y removiendo el disolvente por destilación a presión reducida.



Esquema 9 Reacción de formación del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$

Esta reacción se repitió varias veces sin modificar las condiciones de reacción, obteniendo un rendimiento promedio del 85 % comparable con el reportado previamente (82 %).

Finalmente, se llevó a cabo la reacción de anillación, para la cual se colocó el complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  previamente obtenido en condiciones de reflujo de benceno, variando el tiempo de reacción. Los resultados se muestran en la **Tabla 3**.

**Tabla 3** Resultados de optimización para la formación del compuesto 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona. (se muestran los resultados más significativos).

Ensayo	mmol de complejo $\eta^4$ -vinilcetena $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$	mL de benceno	Tiempo (h)	R (%)
1	1.1	30	4	22
2	1.1	30	5	47
3	1.1	60	5	52
4 <sup>a</sup>	0.5	30	5	77

a) Este ensayo corresponde a las condiciones experimentales y al rendimiento reportados en un trabajo previo.<sup>64</sup>

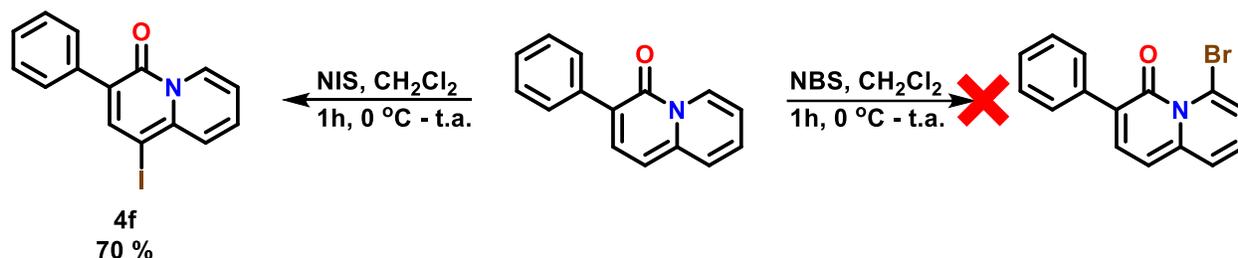
A pesar de las distintas modificaciones realizadas para llevar a cabo esta reacción, no fue posible obtener el producto esperado en un rendimiento mayor al 52 %, siendo las modificaciones más

importantes el aumento del volumen de benceno y el aumento del tiempo de reacción. Por otro lado, la reacción no puede quedarse más allá de 5 horas bajo calentamiento, pues el principal subproducto de reacción es un complejo de tipo ( $\mu^2, \eta^3$ -alil- $\eta^5$ -oxapentadienil)pentacarbonilo de dihierro, el cual aumenta en proporción con el tiempo, descomponiendo el producto esperado.<sup>62a</sup>

De esta manera, se concluyó la optimización del procedimiento sintético para la obtención del andamio principal, la 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona, bajo las condiciones anteriormente mostradas. A partir de este punto, los esfuerzos experimentales se enfocaron en la funcionalización de este andamio en la posición 6 del heterociclo.

### 2.3.2 Halogenación

Una vez obtenido el compuesto 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona, se intentó llevar a cabo la funcionalización sobre la posición 6 del heterociclo mediante reacción de halogenación, que permitiría posteriores funcionalizaciones sobre esta posición. Para esto, se propuso llevó a cabo la reacción de halogenación con NIS disuelto en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a 0 °C (Esquema 10), debido a la eficiencia de estas condiciones para lograr bromaciones selectivas en sistemas aromáticos activados, minimizando reacciones secundarias y favoreciendo la obtención del producto monohalogenado.



Esquema 10 Reacción de bromación: Producto esperado vs. producto obtenido.

Luego de terminar la reacción, el compuesto obtenido fue aislado y caracterizado mediante RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e IR. Sin embargo, los resultados obtenidos mostraron que el producto obtenido fue la halogenación sobre la posición 1 (compuesto **4f**) del heterociclo. Esto se puede confirmar de forma clara al analizar el espectro de RMM de  $^1\text{H}$ , en el que se observa la desaparición de la señal correspondiente al protón en posición 1 del heterociclo, que antes aparecía en 6.75 ppm. Además, no desaparece la señal correspondiente al protón en la posición 6 del heterociclo, aproximadamente en 9.3 ppm.

Estos resultados llevaron al descartar esta metodología, pues la posición activada para las reacciones de halogenación es la posición 1 del anillo.

El compuesto obtenido, si bien no fue el esperado, logró incorporar un átomo de bromo en la estructura de 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona con buenos rendimientos y en condiciones suaves, lo que abre la posibilidad de llevar a cabo funcionalizaciones posteriores sobre ese compuesto, como reacciones de acoplamiento C-C catalizadas por Pd.

### 2.3.3 Litiación

El siguiente intento de funcionalización de la posición 6 del heterociclo se llevó a cabo mediante una reacción de litiación. Esta estrategia se propuso debido a que, en el espectro de RMN de <sup>1</sup>H del compuesto 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona, se observa que el hidrógeno de la posición 6 está muy desplazado hacia campo bajo (9.26 ppm), es decir, que puede ser un hidrógeno lábil, por lo que una reacción de litiación tendría preferencia sobre esta posición. Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 4**.

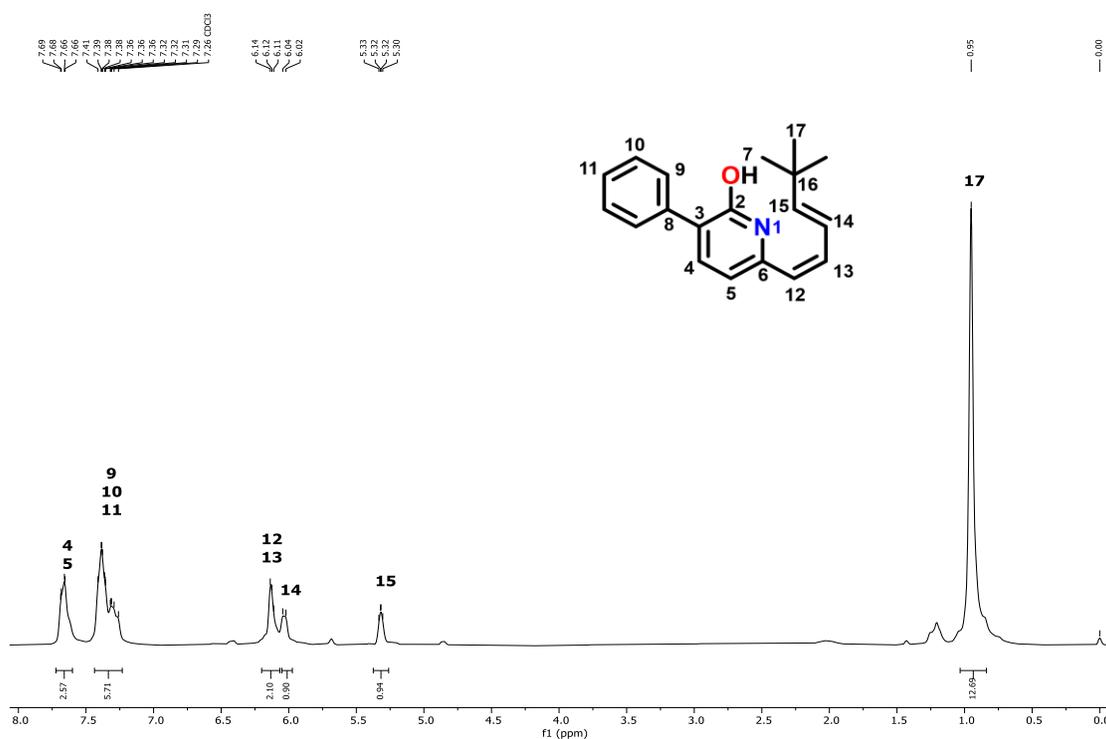
**Tabla 4** Variaciones de la reacción de litiación de la 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona.

Ensayo	Eq. de 3-fenil-4 <i>H</i> -quinolizin-4-ona	Eq. CH <sub>3</sub> I	Eq. <i>t</i> -BuLi	T (°C)	t (min)	% de producto recuperado
1	1	3	1.2	-40	30	42
2	1	3	1.2	0	60	45
3	1	5	1.2	-78	15	40

Como se puede observar, aunque se llevaron a cabo variaciones sobre las condiciones de reacción de litiación, enfocadas principalmente en el control de tiempo y temperatura para disminuir la reactividad de *t*-BuLi, tampoco fue posible lograr la funcionalización deseada. En su lugar, el fragmento *terc*-butilo proveniente del *t*-BuLi fue el que llevó a cabo una reacción de adición sobre la posición 6 del anillo, abriendo el heterociclo y obteniéndose el producto mostrado en la **Tabla 4**.

La estructura del compuesto fue determinada por el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del producto recuperado después de las reacciones. En éste, se observa la aparición de las señales correspondientes a los dobles enlaces provenientes de la apertura de uno de los anillos que conformaban la 4*H*-quinolizini-4-ona. El primer sistema AB, correspondiente a los protones 12 y 13 se encuentra en 6.12 ppm, mientras que el segundo sistema AB correspondiente a los protones 14 y 15 se encuentra en 6.03 ppm y 5.32 ppm respectivamente. Además, en 0.95 ppm se observa una señal correspondiente a los 9 protones del *tert*-butilo incorporado a la estructura.

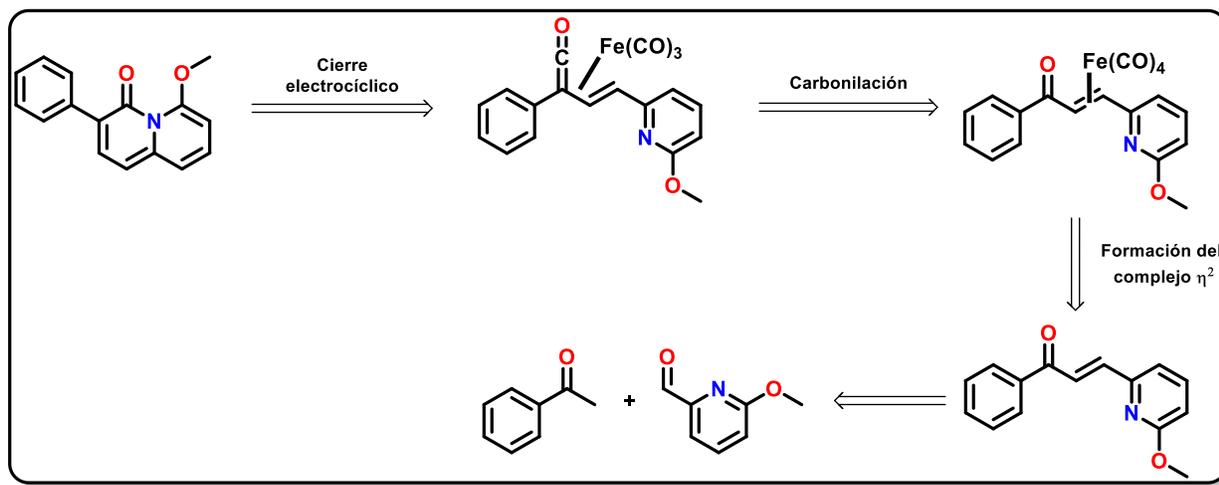
El producto obtenido en esta reacción, una piridina sustituida en la posición 2 con un fragmento 1,3-dieno, posee una estructura interesante desde el punto de vista sintético. Los compuestos que contienen fragmentos de piridina y sistemas dieno conjugados, son interesantes en diversas áreas de la química debido a su potencial reactividad. Por ejemplo, el sistema dieno puede actuar como un precursor en reacciones de cicloadición tipo Diels-Alder, permitiendo la construcción de otros sistemas policíclicos. Estas reacciones son especialmente útiles en la síntesis de productos naturales y moléculas bioactivas.



Espectro 1 RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto obtenido después de la reacción de litación.

### 2.3.4 Funcionalización previa

Debido a que los métodos de funcionalización sobre el esqueleto de la 3-fenil-4*H*-quinolizin-4-ona no tuvieron éxito, se decidió cambiar de enfoque. En esta nueva estrategia, el segundo fragmento coordinante se incorporó desde la materia prima, utilizando como punto de partida el 6-metoxi-2-piridincarboxaldeído, como se muestra en el Esquema 11.



Esquema 11 Análisis retrosintético para la incorporación del segundo fragmento coordinante partiendo de las materias primas .

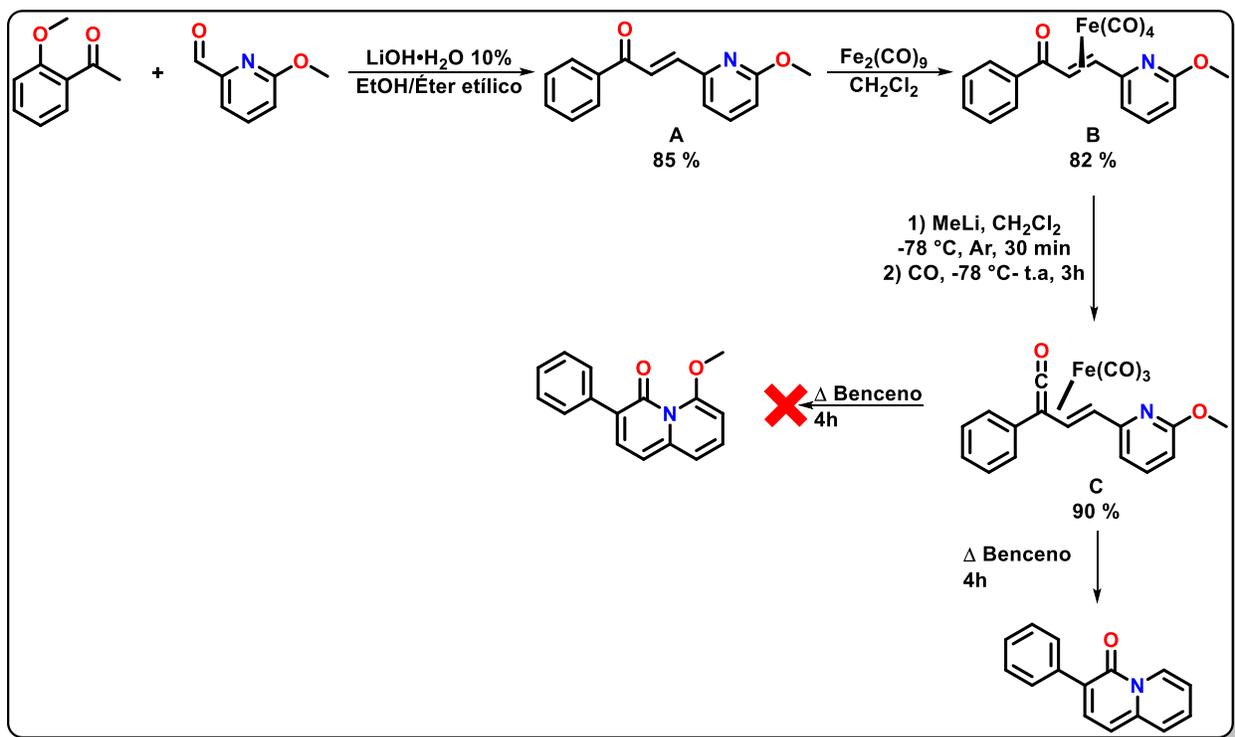
Una vez establecida la propuesta retrosintética, se inició el proceso de síntesis con la obtención de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada (*E*)-3-(6-metoxipiridinil)-1-fenilprop-2-en-1-ona, empleando las condiciones previamente optimizadas como se muestra en el Esquema 12-A.

El rendimiento máximo para la obtención de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada fue del 85 %. Se tuvo la precaución de no escalar la reacción más allá de 2.5 mmol de acetofenona y 2.75 mmol de aldeído, pues el rendimiento se abate considerablemente, probablemente debido a una reacción secundaria de adición tipo Michael sobre la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada previamente formada.

La siguiente reacción consistió en la obtención del complejo de Fe  $\eta^2$ -vinilcetona, la cual se llevó a cabo siguiendo las condiciones de estandarización obtenidas previamente como se muestra en el Esquema 12-B.

Posteriormente, se realizó la reacción de formación del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>3</sub>], la cual se llevó a cabo también en las condiciones previamente reportadas, de acuerdo con el Esquema 12-C.

El paso final de reacción fue la anillación electrocíclica en condiciones térmicas siguiendo también las condiciones de estandarización. Esta reacción, sin embargo, no dio como resultado el producto esperado, obteniéndose el producto de anillación con la pérdida del grupo metoxilo, como se muestra en el Esquema 12.

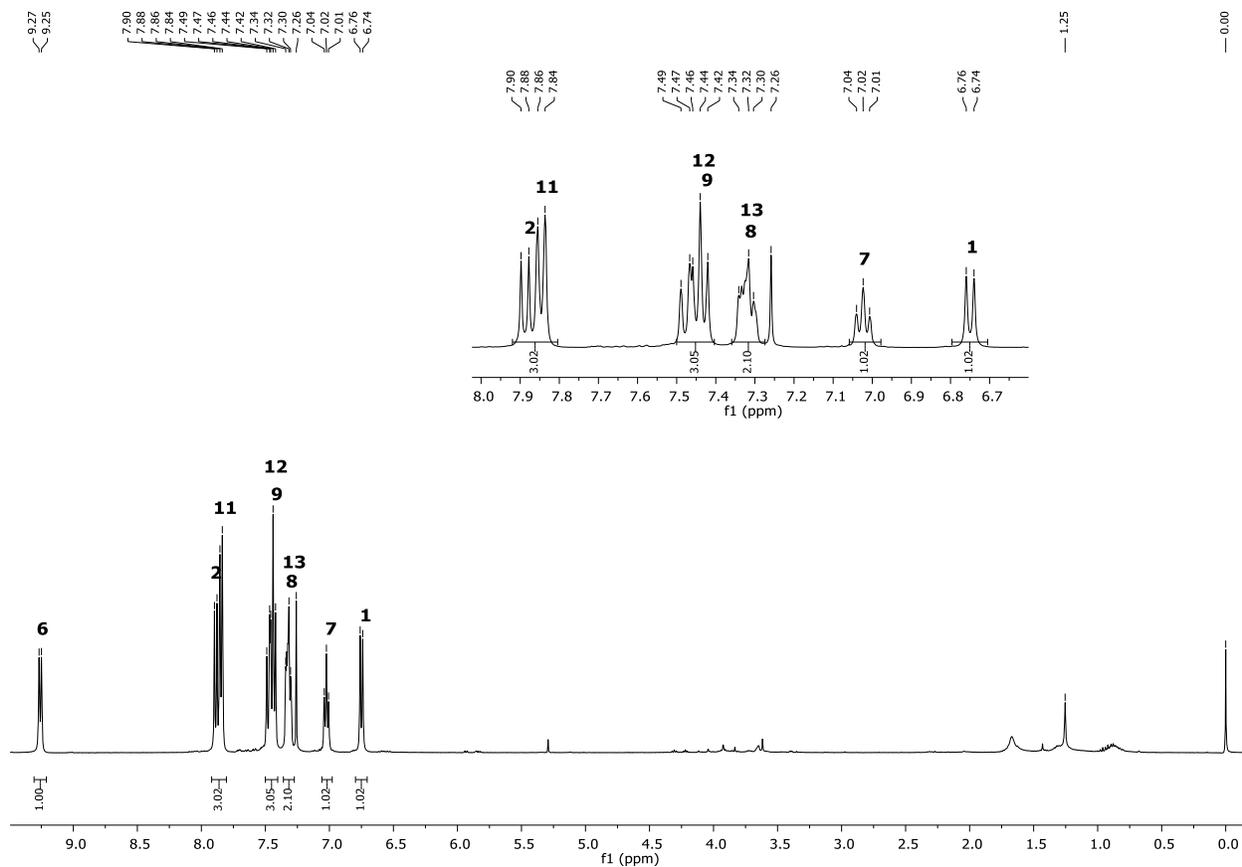


Esquema 12 Resumen del proceso de síntesis y rendimientos para la obtención de la propuesta 2 mediante una funcionalización previa.

La estructura del compuesto obtenido se confirmó mediante RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Una de las señales que verificaron la obtención de este compuesto aparece en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , donde se observa la señal correspondiente al protón en la posición 6 del heterobiciclo (Espectro 2). Además, todas las señales coinciden con la del espectro del anillo de 3-fenil-4H-quinolizina-4-ona sin sustituyentes, lo que confirma la estructura del producto obtenido. Un resultado similar había sido obtenido previamente al utilizar como sustrato de partida 6-bromo-2-piridincarboxaldeído,<sup>59</sup> sin embargo, se tenía la teoría de que el hierro no sería capaz de eliminar el fragmento metoxilo.

Esta reacción resulta interesante desde el punto de vista sintético, ya que el  $\text{Fe}(0)$  demostró ser capaz de promover la eliminación del grupo metoxilo sin el uso de un reductor externo como hidrógeno.

Una reacción similar ya había sido explorada antes, pero usando en su lugar Ni(0).<sup>68</sup> Este resultado abre la posibilidad de explorar las condiciones de reacción adecuadas para llevar a cabo una eliminación reductora de éteres aromáticos haciendo uso de Fe(0).



Espectro 2 RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del producto de anillación electrocíclica.

## 2.4 Propuesta 2. Cambio del grupo fenilo por 2-piridilo en el andamio principal

Después de varios intentos para lograr la funcionalización en la posición 6 del fragmento de 4*H*-quinolizin-4-ona, se decidió abordar un enfoque diferente, cambiando de posición el fragmento coordinante. Esto con el objetivo de tener una estructura sintéticamente viable. La estructura propuesta se muestra en la Figura 32.

<sup>68</sup> M. Tobisu, T. Morioka, A. Ohtsuki and N. Chatani. *Chem. Sci.*, **2015**, 6, 3410-3414.

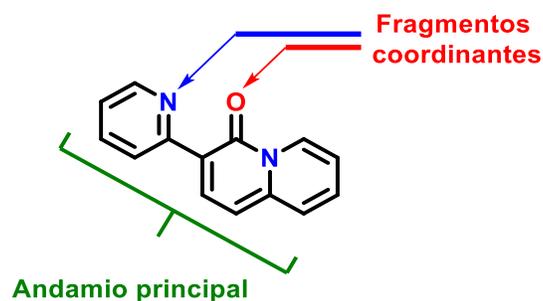


Figura 32 Segunda propuesta estructural de sonda fluorescente.

Para la obtención de este compuesto, se siguió la misma ruta sintética obtenida en la estandarización de las condiciones, pero en este caso, partiendo de las materias primas 2-acetilpiridina y 2-piridincarboxaldehído. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 5**.

**Tabla 5** Variación de condiciones para la condensación aldólica.

Ensayo	Eq. Base	Eq. 2-piridin-carboxaldehído	Eq. 2-acetilpiridina	Disolvente	T (°C)	t (h)	R (%)
1	0.1 (LiOH)	1.1	1	Éter-etanol 9:1	t.a.	4	22
2 <sup>69</sup>	3 (NaOH)	1.1	1	Agua-etanol 1:1	10	2	-
4	0.25 (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	1	1.1	Agua	t.a.	2	51
5	0.25 (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	1	1.1	Agua	t.a.	4	60

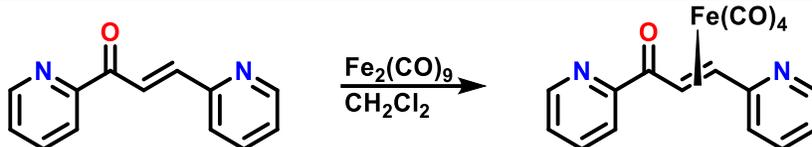
Como se observa en los datos de la tabla anterior, al aplicar las condiciones de estandarización establecidas previamente en este trabajo, el rendimiento de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada fue muy bajo. Por ello, se decidió explorar otras metodologías reportadas en la literatura. Finalmente, se logró obtener el compuesto con un rendimiento máximo del 60 %. La caracterización del compuesto se realizó mediante RMN e IR, coincidiendo con los datos reportados en la literatura.<sup>70</sup>

Posteriormente, se llevó a cabo la síntesis del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>]. Los resultados obtenidos se resumen en la **Tabla 6**.

<sup>69</sup> a) R. Hicks, B. Koivisto and M. Lemaire, *Org. Lett.* **2004**, 6, 1887-1890 b) P. Zhao, W. Jing, L. Jing, F. Jian and Y. Li, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2013**, 34, 3743-3748.

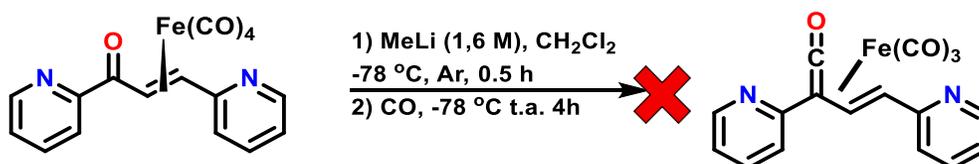
<sup>70</sup> Z. Zhang, Y. W. Dong and W. Wang, *Chem. Lett.*, **2003**, 32, 966-967.

**Tabla 6** Variación de condiciones para la formación del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  (se muestran los resultados más significativos).

Ensayo				R (%)
	Eq. de cetona $\alpha,\beta$ -insaturada	Eq. de $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$	Eq. de $(\text{CH}_3)_3\text{NO}$	
1	1	1.5	-	-
2 <sup>71</sup>	1	4	2	20
3	1	4	4	69

Las condiciones de reacción para la formación de este complejo también fueron diferentes en comparación a las condiciones de optimización. En este caso, la reacción procedió hasta que se usó como aditivo *N*-óxido de trimetilamina. Además, el proceso de purificación del complejo fue bastante complicado, debido a la rápida descomposición del complejo en solución.

El paso siguiente fue la formación del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ , el cual también se llevó a cabo en las condiciones reportadas previamente. Sin embargo, como se muestra en el Esquema 13, la reacción no procedió.



Esquema 13 Condiciones de reacción para la síntesis del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ .

En esta reacción, no fue posible obtener el complejo esperado, a pesar de las diversas modificaciones realizadas en las condiciones de reacción. Una posible explicación es el efecto coordinante del nitrógeno en la piridina (proveniente de la 2-acetilpiridina) y del oxígeno del carbonilo. Es probable que el hierro, que actúa como estabilizante de la vinilcetona, sea envenenado por estos fragmentos coordinantes, lo que impide que la reacción proceda. Además, también podría explicar la baja estabilidad del complejo  $\eta^2$ . Debido a estos resultados, se decidió no continuar con esta propuesta de sonda fluorescente, ya que el método sintético planteado no resultó compatible con la modificación propuesta.

<sup>71</sup> M. Lozano-Gonzalez, Nuevos complejos de hierro a partir de sistemas carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados policonjugados. *Tesis de Maestría*. UNAM. 2012.

## 2.5 Propuesta 3. Funcionalización sobre la posición 2 del anillo de fenilo

La siguiente estrategia para funcionalizar la estructura del esqueleto de la sonda fluorescente consistió en la incorporación de un grupo coordinante en la posición 2 del anillo fenilo, como se muestra en la Figura 33.

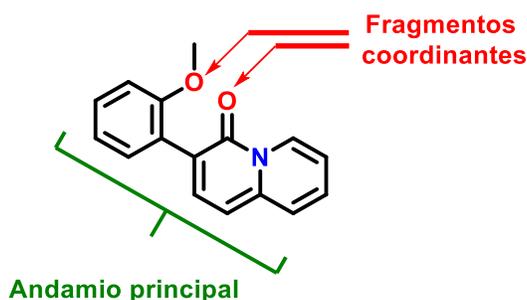
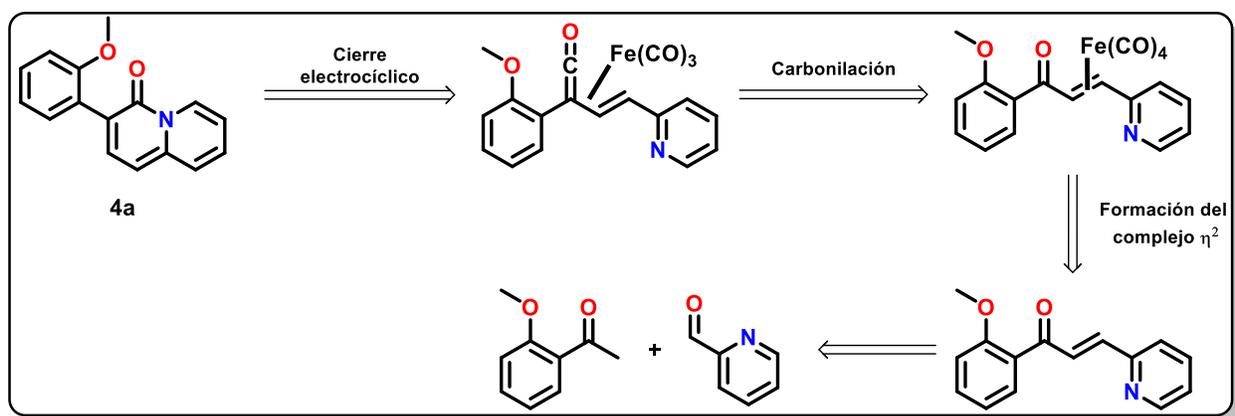


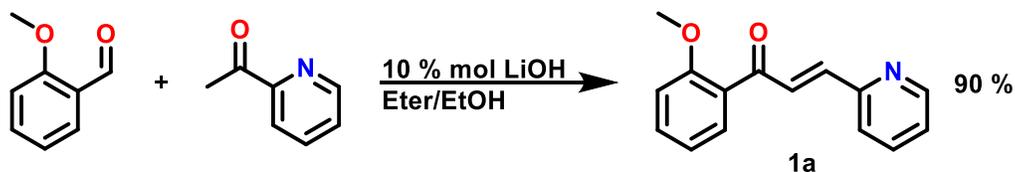
Figura 33 Tercera propuesta estructural de sonda fluorescente.

Para intentar obtener este compuesto, se propuso el siguiente análisis retrosintético. Al igual que en los casos anteriores, se planteó obtener el producto final a partir de un complejo  $\eta^4$ -vinilcetona- $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ , el cual podría sintetizarse a partir de un complejo  $\eta^2$ -vinilcetona- $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ , como se muestra en el Esquema 14.



Esquema 14 Análisis retrosintético general para la obtención del compuesto 4a.

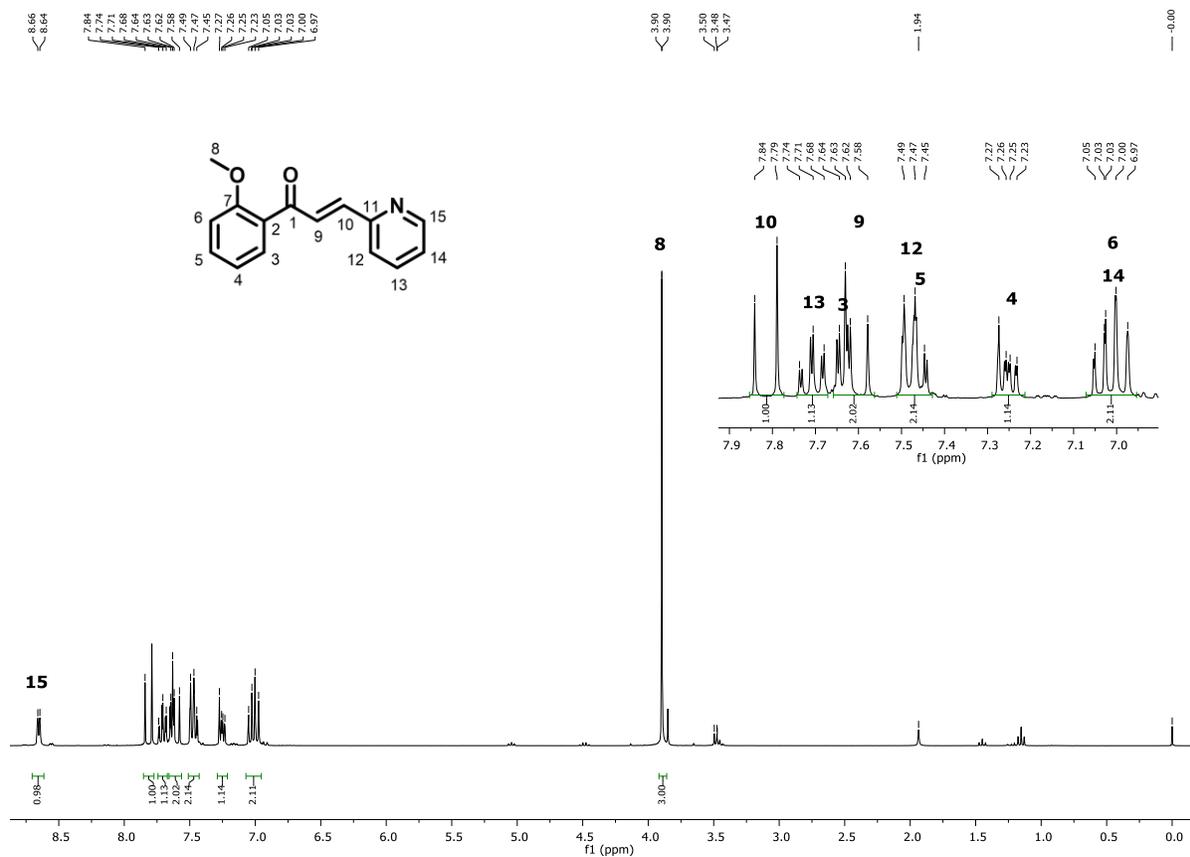
El proceso de síntesis se inició mediante una reacción de condensación aldólica. En este caso, se emplearon 2-piridincarboxaldehído y 2'-metoxiacetofenona, seleccionándose esta última debido a que ya incorpora el fragmento coordinante requerido. La reacción resumida se presenta en el Esquema 15, para la cual se obtuvo un rendimiento máximo del 90%.



Esquema 15 Reacción de condensación aldólica para la formación del compuesto **1a**.

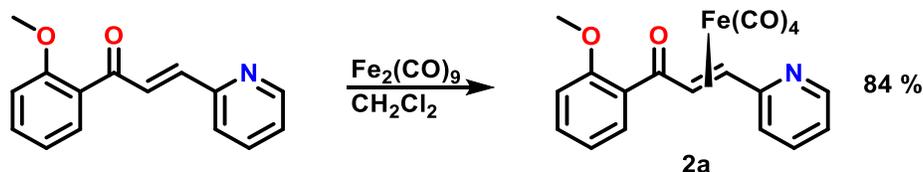
El compuesto obtenido se caracterizó por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM. Los datos completos obtenidos se encuentran en la sección de *Resúmenes espectroscópicos*.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada (Espectro 3) se pueden identificar señales características del compuesto, como una señal doble observada en 8.65 ppm correspondiente al protón en posición 15 desplazado por efecto de la piridina. También se observan las señales correspondientes al sistema AB del doble enlace, en 7.82 (H10) y 7.60 (H9) ppm, con una  $J = 15$  Hz. Finalmente, se observa una señal simple en 3.90 ppm que integra para 3 protones, correspondiente a los hidrógenos en posición 8 del grupo metilo.



Espectro 3 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto **1a**.

La siguiente reacción, correspondiente a la formación del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ , también se realizó en las condiciones estandarizadas (Espectro 24), obteniendo un rendimiento máximo del 84 %.



Esquema 16 Reacción de formación de complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  **2a**.

El compuesto obtenido también fue caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM.

En este punto, es importante mencionar el efecto que tiene la interacción entre el metal y el doble enlace en los espectros de RMN. Un modelo que sirve para esto es el de Chatt-Dewar-Duncanson, el cual explica la naturaleza de la interacción metal-ligante a través de la donación de electrones del ligante al metal y la retrodonación de electrones del metal al ligante.

En el caso de los alquenos, los electrones del orbital  $\pi$  pueden ser donados hacia un orbital vacío del metal, generalmente de carácter d. Este paso es conocido como la *donación  $\sigma$* , en la que los electrones del alqueno fluyen hacia el metal, formando un enlace entre el metal y el alqueno. En respuesta a esta donación, el metal de transición, si tiene electrones disponibles en sus orbitales d, puede devolver parte de estos electrones hacia los orbitales de antienlace  $\pi^*$  del alqueno, en un proceso conocido como *retrodonación  $\pi$*  (Figura 34). Ambos efectos reducen el orden de enlace del alqueno, lo que lleva a un alargamiento del enlace  $\text{C}=\text{C}$ .<sup>72</sup>

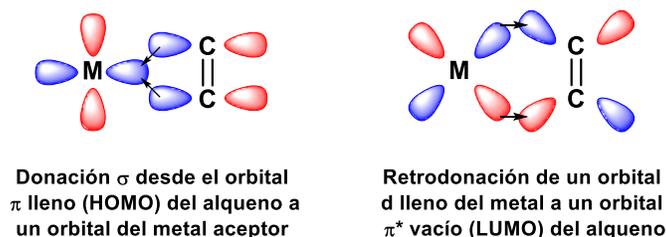
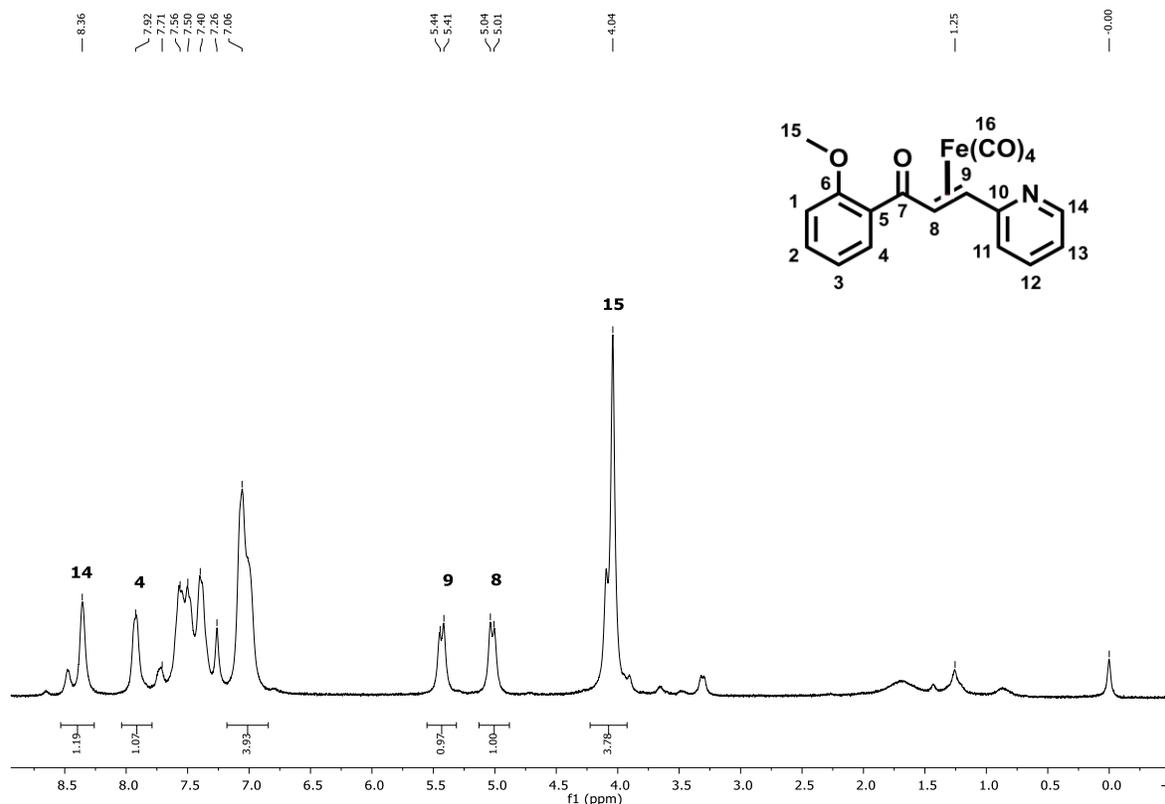


Figura 34 Modelo de Dewar-Chatt-Duncanson para Metal-Alquenos.

El Espectro 4 muestra la RMN  $^1\text{H}$  para el compuesto **2a**, en el cual se observan las señales correspondientes al doble enlace que se encuentran ahora desplazadas a campo alto, apareciendo a 5.43 ppm (H8) y 5.03 ppm (H9).

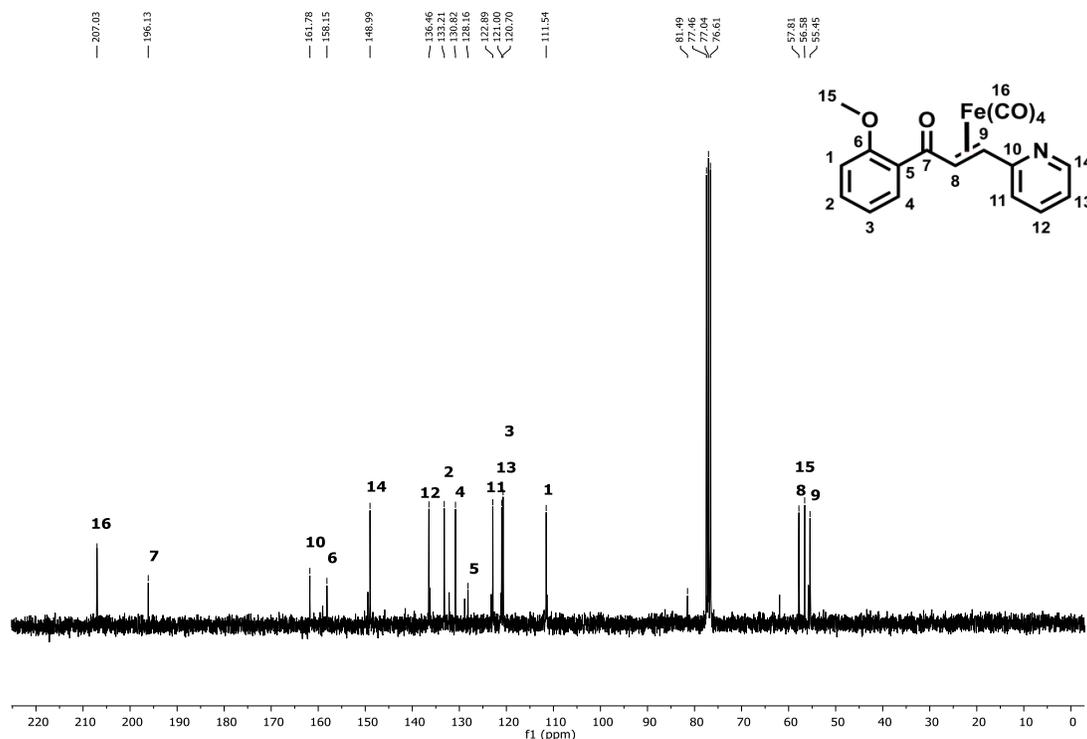
<sup>72</sup> J. Chatt and L. A. Duncanson, *J. Chem. Soc.* **1953**, 2939-2947.

Este corrimiento, como se mencionó anteriormente, es consecuencia de la coordinación con el Fe(0), ya que los electrones  $\pi$  del doble enlace ahora se encuentran compartidos con el metal. Cabe señalar que la resolución del espectro es baja debido al hierro paramagnético que se empieza a descoordinar en solución, lo que también ensancha las señales.



Espectro 4 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  **2a**.

Por otro lado, el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 5) muestra una señal en 207 ppm, correspondiente a los carbonilos metálicos, mientras que el carbonilo de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada se encuentra en 196.1 ppm. Otras señales destacadas son las correspondientes a los carbonos del doble enlace C8 y C9, los cuales también se desplazan a campo alto por efecto de la coordinación al metal, apareciendo en 57.8 y 55.4 ppm respectivamente.



Espectro 5 RMN de <sup>13</sup>C (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>] **2a**.

La espectroscopia infrarroja es especialmente útil para la caracterización de complejos de tipo M(CO)<sub>n</sub>, debido a que las absorciones que surgen de los modos de estiramiento de enlaces C–O (CO) son fuertes y se observan fácilmente en un espectro IR. La banda correspondiente al CO aparece en 2143 cm<sup>-1</sup>, mientras que los carbonilos metálicos suelen aparecer alrededor los 2000 cm<sup>-1</sup>. Esto se debe a que los estiramientos C–O en los complejos de carbonilos de metales se ven influenciados por la retrodonación  $\pi$  desde el metal al orbital de antienlace del CO, lo que reduce la frecuencia del estiramiento del CO (baja el número de onda) cuanto mayor es la retrodonación (Figura 35).<sup>73</sup>

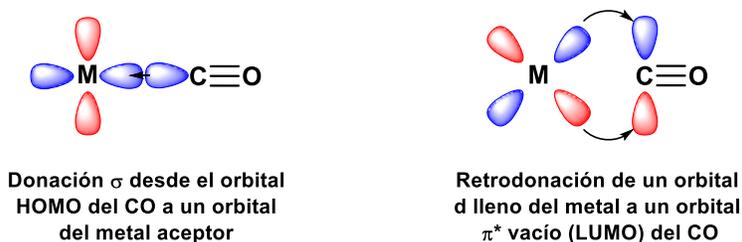


Figura 35 Interacción de orbitales en complejos M-CO.

<sup>73</sup> C. E. Housecroft and A. G. Sharpe, *Inorganic Chemistry*, 3rd ed., Pearson Education Limited, 2008.

Por otro lado, el número de bandas también da información respecto a la geometría del complejo. Para el caso del  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  el cual posee 5 carbonilos, cada uno de ellos presenta un estiramiento característico. Sin embargo, debido a la simetría  $D_{3h}$  del complejo, el número de bandas observadas se reduce a dos (alrededor de 2022 y 2000  $\text{cm}^{-1}$ ) debido a que algunas vibraciones son degeneradas (comparten la misma frecuencia).<sup>74</sup>

Cuando se sustituye un ligante por otro (4 carbonilos y un ligante), la simetría cambia, lo que afecta el número de bandas observadas en el IR. En el caso de complejos con cuatro carbonilos y un ligante adicional, puede haber dos posibles arreglos espaciales. En ambos casos, la simetría del complejo disminuye, y el número de vibraciones observadas en el IR aumenta debido a la pérdida de degeneración en los modos vibracionales.

Cuando el ligante se encuentra en una posición axial, el complejo adquiere una simetría  $C_{3v}$  con tres modos vibracionales activos en IR, mientras que cuando el ligante se encuentra en posición ecuatorial, el complejo adquiere una simetría  $C_{2v}$  (Figura 36).<sup>75</sup>

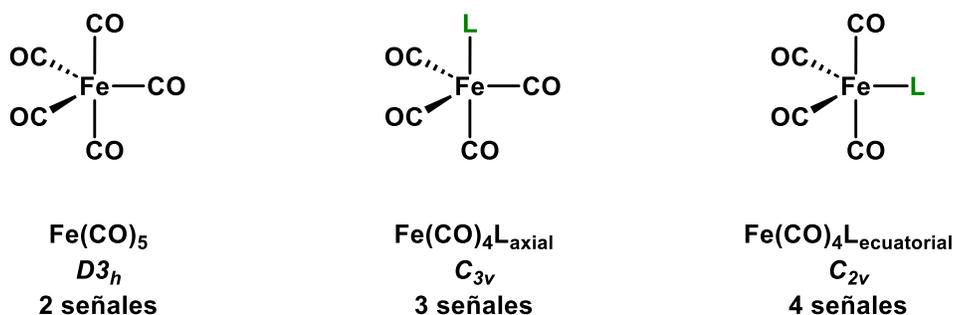
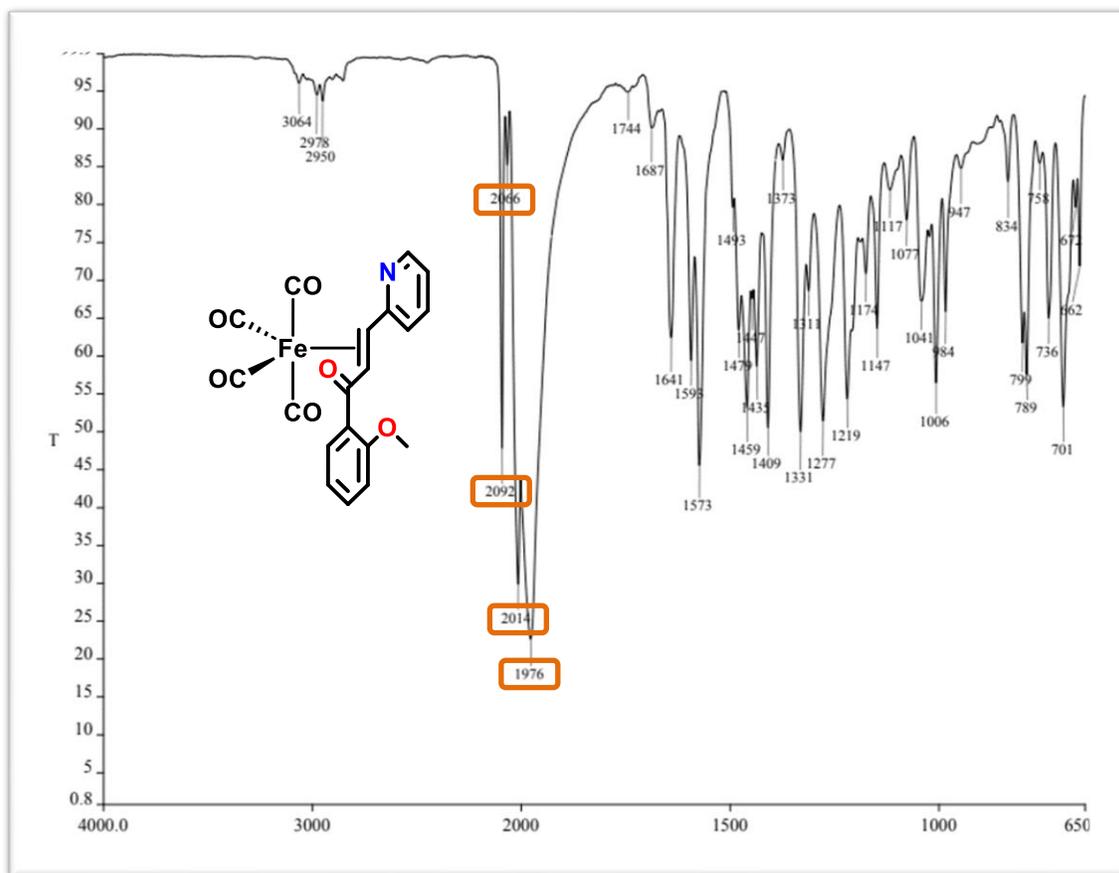


Figura 36 Geometrías posibles de complejos  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  y  $\text{Fe}(\text{CO})_4\text{L}$ .

Al analizar con detenimiento la estructura del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ , se observa que el ligante cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada es muy voluminoso, por lo que es probable que el ligante se acomode en el sitio con menor impedimento estérico, siendo esta la posición ecuatorial. En el caso del espectro de IR correspondiente al complejo **2a** (Espectro 6), se observan 4 bandas de carbonilos metálicos en 2092, 2066, 2014 y 1976  $\text{cm}^{-1}$ , lo que es consistente para un complejo de tipo  $\text{Fe}(\text{CO})_4\text{L}_{\text{ecuatorial}}$ .

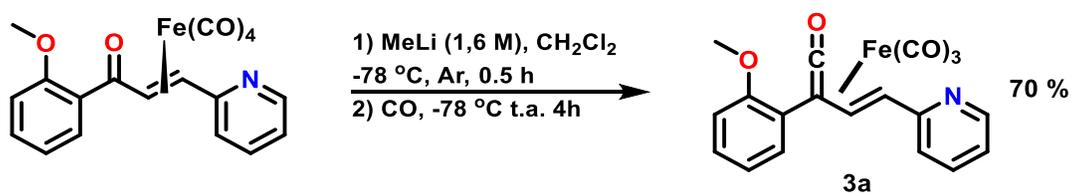
<sup>74</sup> a) M. Haas, *CHEM 431: Inorganic Chemistry*, LibreTexts. Saint Mary's College Notre Dame, IN. April 26, 2025 b) P. Portius, M. Buhl, M. W. George, F. W. Grevels and J. J. Turner, *Organometallics*, **2019**, *38*, 4288–4297.

<sup>75</sup> J. E. Huheey, E. A. Keiter and R. L. Keiter, *Química Inorgánica, Principios de estructura y reactividad*. 4ª ed. Oxford University Press, México, 1997, 671-675.



Espectro 6 IR-ATR del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  **2a**.

Una vez obtenido el complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ , se siguió con la síntesis del compuesto  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ , siguiendo las condiciones reportadas previamente, como se muestra en el Esquema 17.

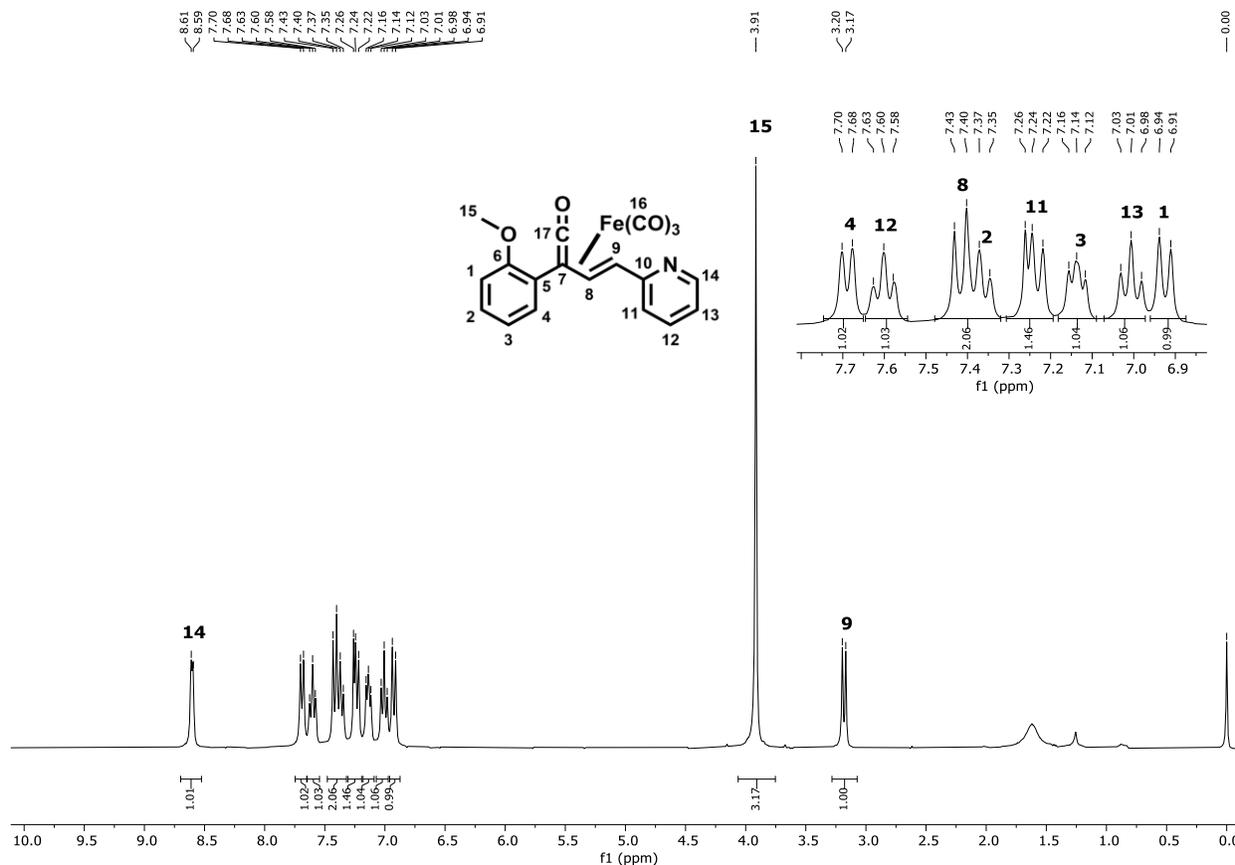


Esquema 17 Reacción de formación del complejo

En este caso, el rendimiento del complejo  $\eta^4$  no superó el 70 %. Esto se debió a que el producto fue purificado por cromatografía en columna para mejorar el rendimiento de la reacción posterior, y el complejo no es muy estable en las condiciones de purificación. No obstante, se encontró que con un sistema de disolventes hexano:diclorometano se puede purificar el compuesto con una gran separación de otros compuestos, como del complejo  $\eta^2$  que no reacción o la misma cetona

$\alpha,\beta$ -insaturada descoordinada del Fe(0). Esto facilitó aumentar la velocidad de purificación evitando una mayor degradación del compuesto **3a**. El producto obtenido se aisló como un sólido amarillo y fue caracterizó por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM.

El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 7) muestra varias señales características, como la correspondiente al protón H14 desplazado por efecto del nitrógeno de la piridina a 8.60 ppm y la señal de los protones del metilo H15 en 3.91 ppm.



Espectro 7 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3a**.

Por otro lado, los protones del doble enlace se ven afectados por la coordinación con el hierro y la resonancia con la cetena, lo que provoca un desplazamiento a 7.42 ppm (H8) y 3.18 ppm (H9). La gran diferencia en el desplazamiento entre las señales H8 y H9 puede explicarse a través de las representaciones estructurales del complejo formado que se muestran en la Figura 37.

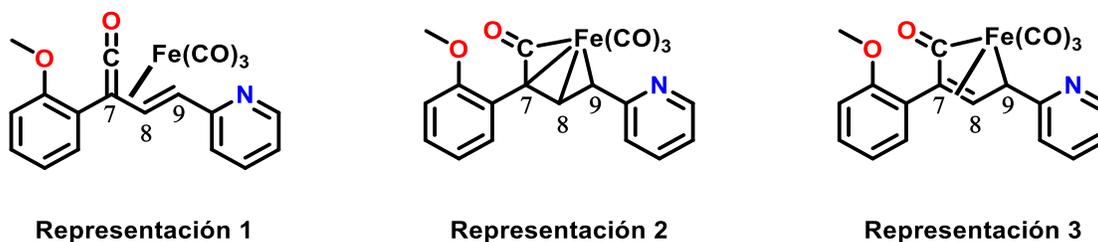
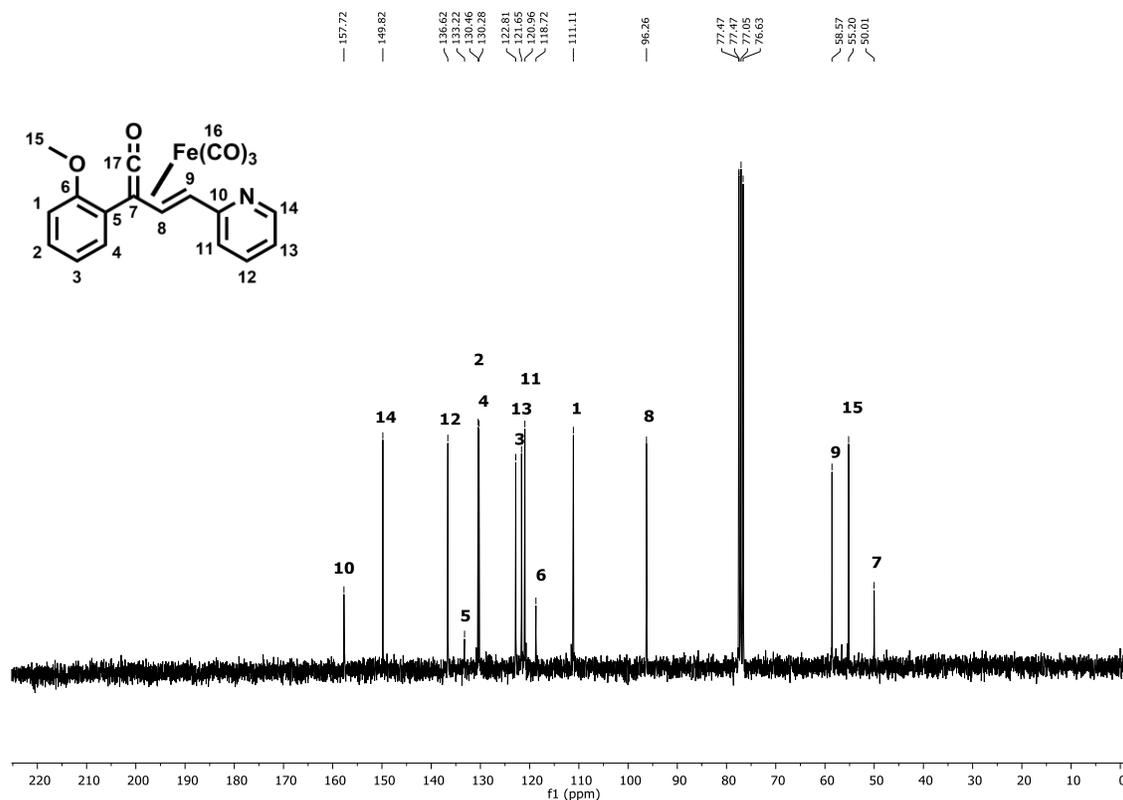


Figura 37 Estructuras resonantes del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3a**.

En éstas se observa que, en el caso del H8, éste mantiene una hibridación  $sp^2$  en todas las representaciones, mientras que en la representación 3, el protón H9 puede encontrarse como un enlace sencillo con hibridación  $sp^3$ , lo que explica su desplazamiento a campo alto.

Un efecto similar al observado en el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se manifiesta en el espectro de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 8), donde las señales de los carbonos C8 y C9 también aparecen desplazadas a campo alto, con valores de 96.3 ppm y 58.6 ppm, respectivamente.



Espectro 8 RMN de  $^{13}\text{C}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3a**.

El complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3a** tiene una estructura tipo  $\text{Fe}(\text{CO})_3\text{L}_2$ . Para este tipo de complejos, existen dos posibles arreglos espaciales. El primero caso, donde los ligantes L se encuentran en posiciones axiales, el complejo adopta una simetría  $D_{3h}$ , en el que los tres

carbonilos en posiciones ecuatoriales presentan solo una señal activa en IR. En el segundo caso, los ligantes L pueden acomodarse de forma axial y ecuatorial, adquiriendo una simetría  $C_s$  y mostrando tres señales activas en IR (Figura 38).<sup>76</sup>

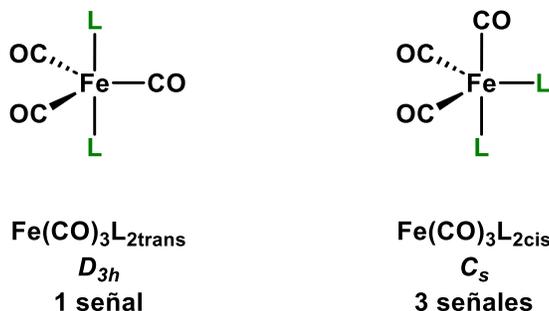


Figura 38 Geometrías posibles para el complejo  $Fe(CO)_3L_2$ .

En el caso del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[Fe(CO)_3]$  **3a**, el ligante vinilcetena es muy voluminoso y los dos sitios de unión al metal se encuentran contiguos en una disposición de dieno. Esto imposibilita la formación de un complejo con estructura de tipo  $Fe(CO)_4L_{2trans}$ , por lo que lo más probable es que se tenga un complejo con estructura de tipo  $Fe(CO)_4L_{2cis}$ , con los ligantes en posiciones axial y ecuatorial, como se propone en la Figura 39.

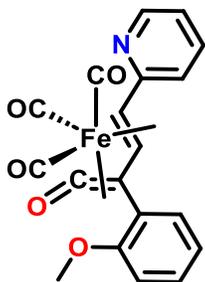
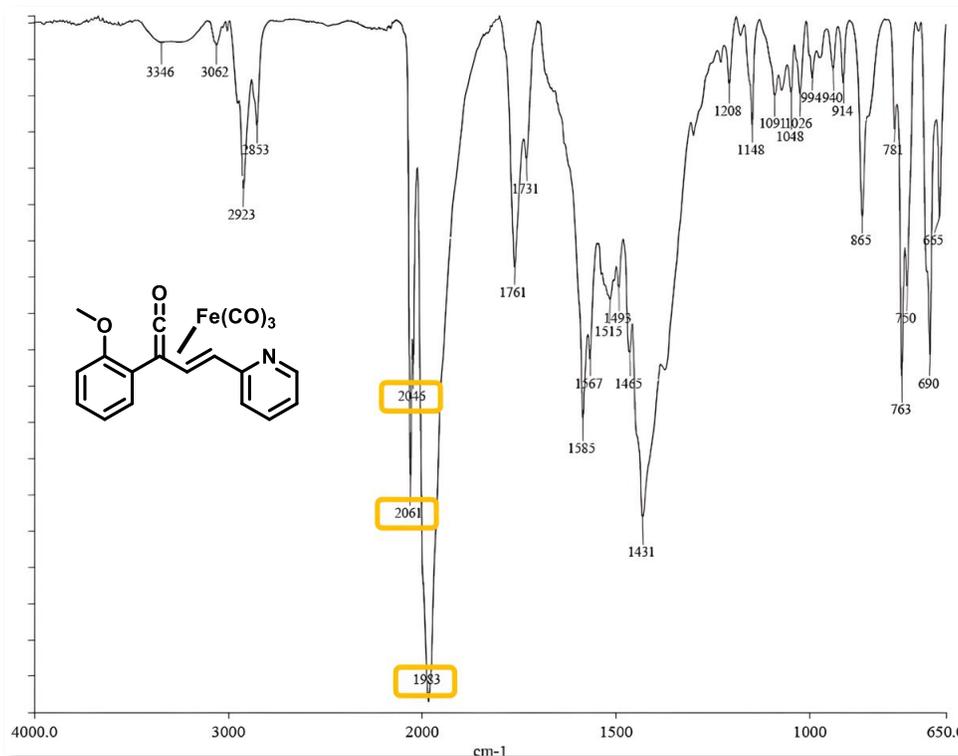


Figura 39 Geometría más probable del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[Fe(CO)_3]$ .

El espectro de IR del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[Fe(CO)_3]$  **3a** (Espectro 9) confirma la geometría esperada para este compuesto, al observarse tres señales de carbonilos metálicos en 2061, 2045 y 1953  $cm^{-1}$ . Además, es posible observar una señal correspondiente al estiramiento del enlace  $C=O$  de la cetena en 1761  $cm^{-1}$ .

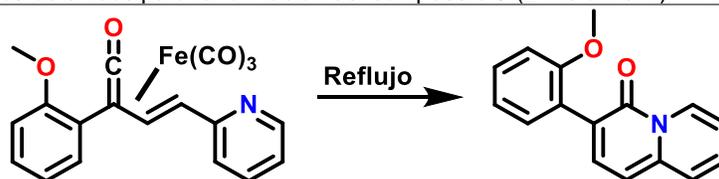
<sup>76</sup> C. Elschenbroich, *Organometallics*, 3<sup>rd</sup> ed. Willey-VCH, 2006, pp. 372.



Espectro 9 IR-ATR del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3a**.

El paso final para obtener el compuesto propuesto consistió en una ciclación promovida por temperatura. En un comienzo, la reacción se llevó a cabo en las condiciones previamente optimizadas, sin embargo, como se muestra en la **Tabla 7**, no se pudieron alcanzar rendimientos muy buenos con estas condiciones.

**Tabla 7** Resultados obtenidos para la formación del compuesto 3-(2-metoxifenil)-4*H*-quinolizin-4-ona **4a**.

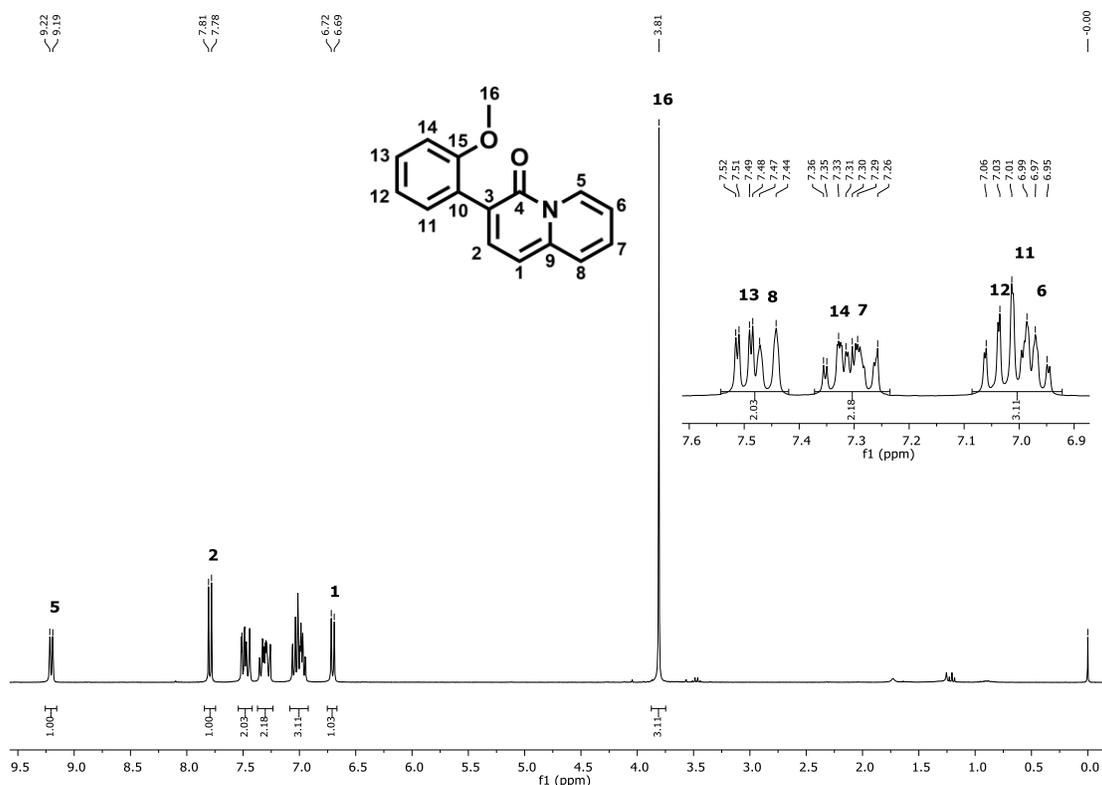


Ensayo	mmol de complejo $\eta^4$ -vinilcetena	Disolvente	mL	Tiempo (h)	R (%)
1	1	Benceno	40	4	25
2	1	Benceno	60	4	46
3	1	Benceno	60	6	14
4	1	Tolueno	40	4	56
5	1	<b>Tolueno</b>	<b>40</b>	<b>1</b>	<b>78</b>

Al monitorear la reacción por cromatografía en capa fina, se observó que, al aumentar el tiempo de reacción, comenzaba a formarse un complejo de tipo  $(\mu^2, \eta^3$ -alil- $\eta^5$ -oxapentadienil)pentacarbonilo de dihierro entre otros subproductos.<sup>62a</sup>

Teniendo en cuenta lo anterior, se propuso cambiar el disolvente por uno con características químicas similares, pero con un punto de ebullición más alto. En este sentido, se seleccionó el tolueno, cuya polaridad y constante dieléctrica son comparables a las del benceno. Esta modificación permitió incrementar la temperatura de reflujo, lo que redujo los tiempos de reacción y evitó en gran medida la descomposición del producto de anillación, así como la formación de subproductos no deseados.

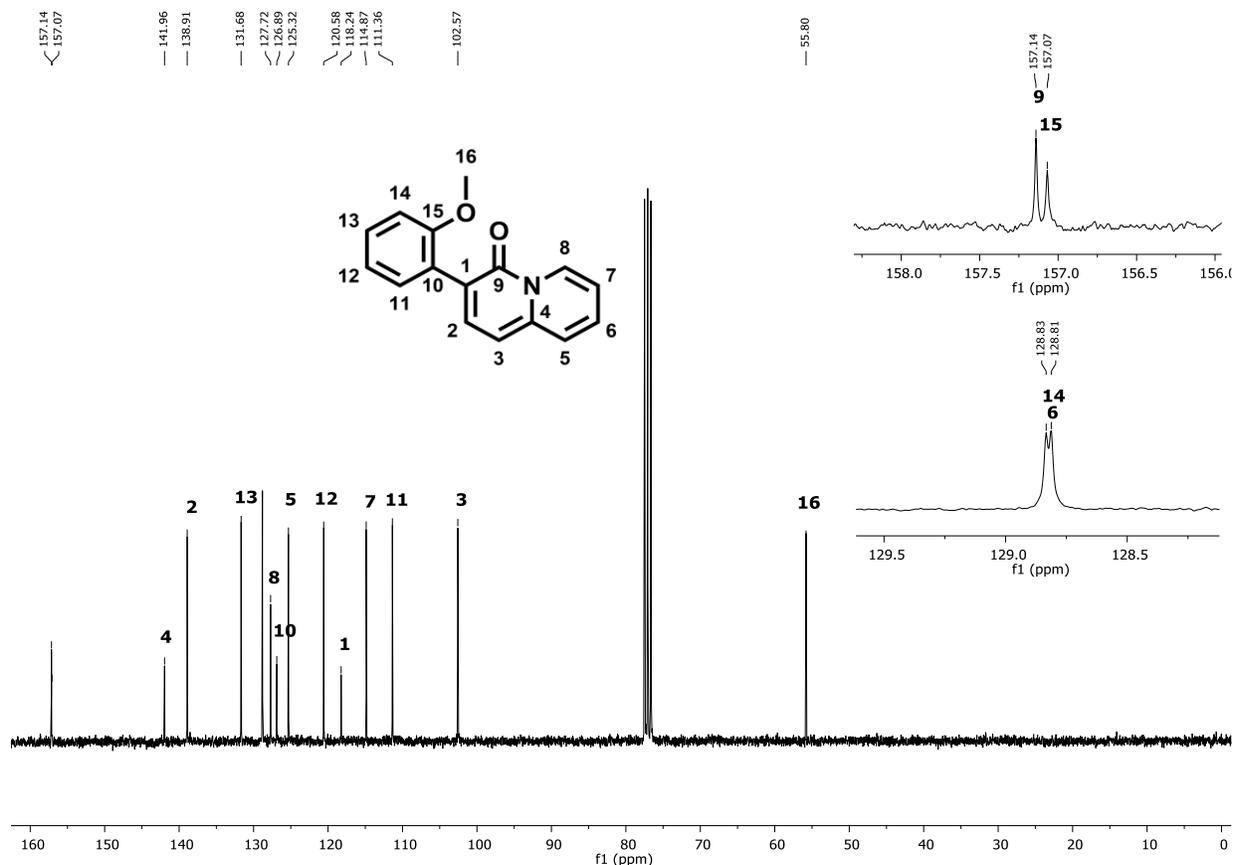
El producto obtenido fue caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 10) se observa una señal en 9.21 ppm, correspondiente al protón H5, que aparece muy desplazada debido al efecto del nitrógeno en cabeza de puente. Este desplazamiento se debe a la estructura resonante de la 4*H*-quinolizina-4-ona, en donde el nitrógeno puede donar su par de electrones al carbono del carbonilo, quedando como una sal de amonio, mientras que el oxígeno del carbonilo se queda con el par de electrones.



Espectro 10 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto 3-(2-metoxifenil)-4*H*-quinolizina-4-ona **4a**.

También se observa que el resto de las señales se encuentran en zona de aromáticos, coincidiendo el número de señales e integración con la estructura de la molécula esperada.

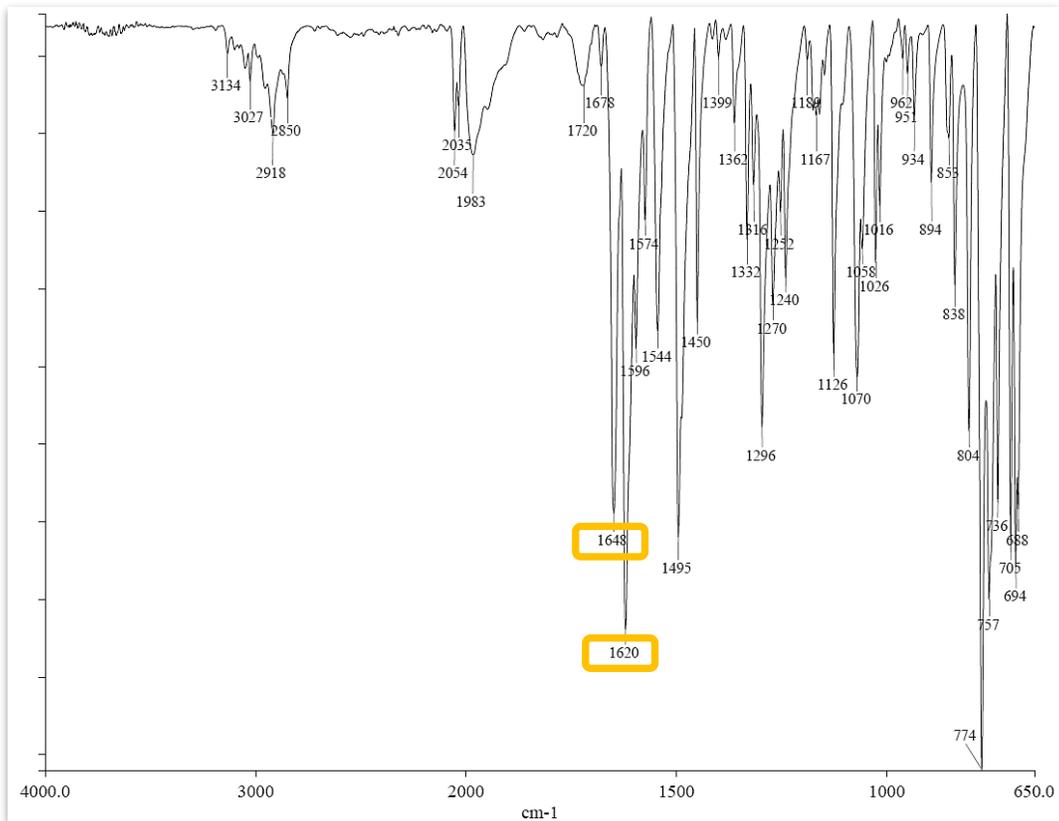
Por su parte, en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 11) muestra las señales esperadas para el compuesto obtenido, siendo algunas de las más destacadas las correspondientes al C9 del carbonilo y la C15 del carbono del anillo aromático unido al grupo metoxilo.



Espectro 11 RMN de  $^{13}\text{C}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto 3-(2-metoxifenil)-4H-quinolizin-4-ona **4a**.

Por otro lado, el espectro de IR del compuesto **4a** (Espectro 12) muestra la banda correspondiente al carbonilo en  $1648\text{ cm}^{-1}$ , y las bandas típicas del estiramiento C-H en  $1620\text{ cm}^{-1}$ .

Finalmente, se observó que el compuesto **4a** presentaba el fenómeno de fluorescencia (Figura 40), siendo esta la primera sonda sintetizada en este trabajo que validó tanto el método sintético para la obtención de una sonda bidentada haciendo uso de un complejo  $\eta^4$ -vinilcetena estabilizada con Fe(0), así como la hipótesis de que los compuestos de este tipo exhibirían propiedades fluorescentes.



Espectro 12 IR-ATR del compuesto 3-(2-metoxifenil)-4*H*-quinolizin-4-ona **4a**.

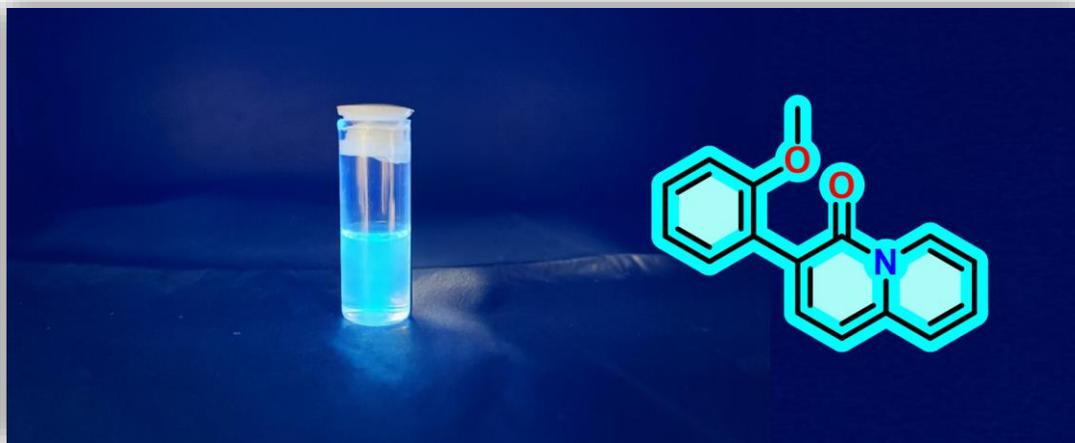


Figura 40 Estructura de la primera sonda fluorescente 3-(2-metoxifenil)-4*H*-quinolizin-4-ona **4a** disuelta en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  observado bajo la lampara de UV-Visible a 364 nm.

## CAPÍTULO 3. MODIFICACIÓN ESTRUCTURAL Y CAMBIO DE POSICIÓN DE GRUPOS COORDINANTES

### 3.1 Ajuste estructural para mejorar la capacidad de coordinación

Las modificaciones estructurales son de suma importancia para mejorar o cambiar las propiedades de las moléculas a aplicaciones específicas. En este caso, la estructura final sintetizada en el capítulo anterior contiene dos grupos coordinantes: el oxígeno del carbonilo en la posición 4 de la 4*H*-quinolizin-4-ona y el oxígeno de un grupo metoxilo en la posición 2 del anillo de fenilo unido al heterobiciclo anterior. Pese a que este diseño es adecuado para explorar la unión a metales, hay una limitación en cuanto a la eficacia coordinante del grupo metoxilo.

En la literatura está reportado que el oxígeno del grupo metoxilo tiene poca densidad electrónica sobre el átomo de oxígeno, por lo que las constantes de unión con metales como Fe o Ni suelen ser bajas. Por otro lado, el oxígeno de los alcoholes suelen ser mejores candidatos en su uso para ligantes coordinantes debido a su mayor capacidad de donar electrones y formar enlaces más estables con metales.<sup>77</sup>

Por esta razón, y con el objetivo de aumentar la diversidad de los sensores, se planteó una modificación estructural nueva, la cual consistió en sustituir el grupo metoxilo por un grupo hidroxilo, con el fin de mejorar la capacidad coordinante del compuesto (Figura 41). Esta decisión presentó nuevos desafíos sintéticos, ya que fue necesario ajustar las condiciones de reacción y diseñar nuevas estrategias para la síntesis de la nueva sonda.

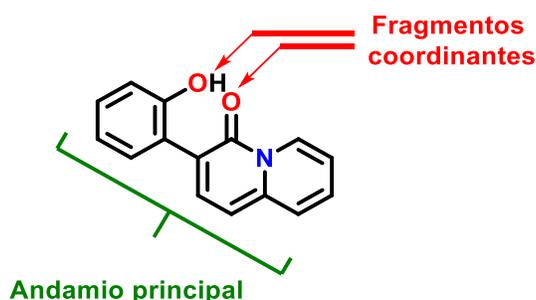
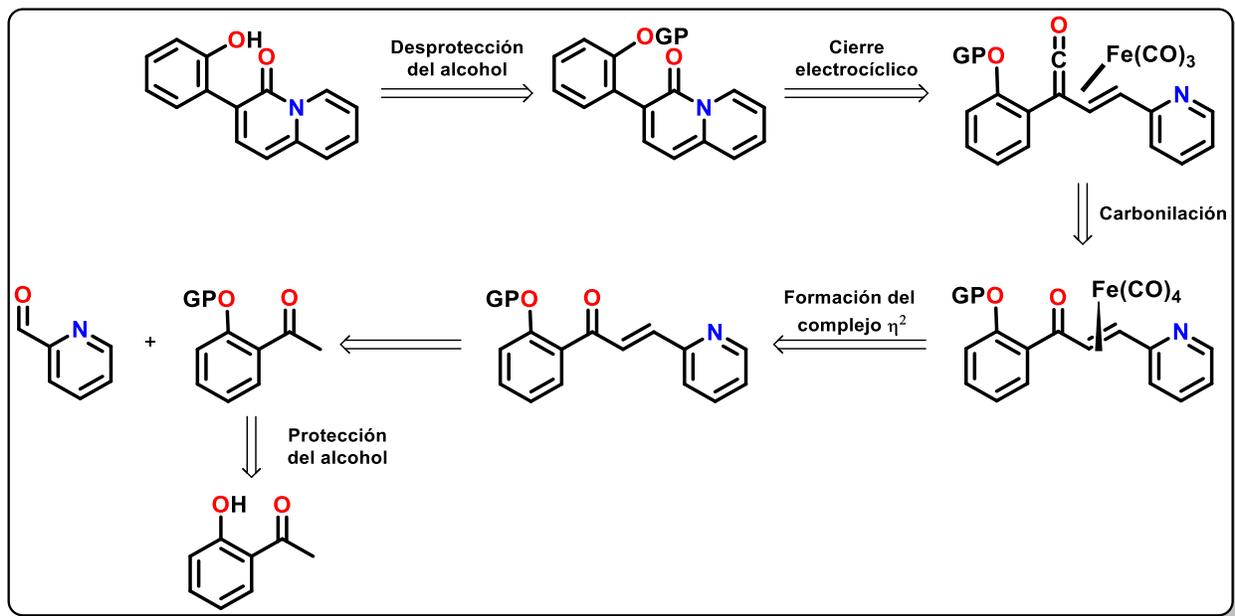


Figura 41 Estructura propuesta de sonda fluorescente 5a.

<sup>77</sup> N. N. Greenwood and A. Earnshaw, Chemistry of the Elements. 2nd ed. Butterworth-Heinmann, UK 1997.

### 3.1.1 Análisis retrosintético.

Como primer paso para llevar a cabo la síntesis de la nueva sonda fluorescente, se realizó el análisis retrosintético mostrado en el Esquema 18, basado en una estrategia que involucrara el uso de un complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  como intermediario reactivo.



Esquema 18 Análisis retrosintético propuesto para la obtención del compuesto 3-(2-metoxifenil)-4H-quinolizin-4-ona.

Para obtener la molécula final, se planteó que el grupo hidroxilo debía ser protegido a lo largo de las etapas de reacción, ya que éste podía interferir con las condiciones de reacción necesarias para llevar a cabo la reacción de formación del complejo  $\eta^4$  o para la formación de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada. Por ello, el paso final de la reacción debía ser la desprotección del grupo hidroxilo. El resto del proceso de síntesis se propuso que fuera similar al planteado al inicio de este proyecto, involucrando un proceso de cierre electrocíclico a partir de un complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ , la formación de un complejo  $\eta^2$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  como precursor del complejo  $\eta^4$  y la síntesis de una cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada adecuada.

Una vez definido el plan sintético, se inició la experimentación con las pruebas de optimización para las condiciones de protección del grupo hidroxilo. Para ello, se comenzó con la protección de la 2'-hidroxiacetofenona, utilizando distintos grupos protectores (a partir de ahora abreviados como GP).

**Tabla 8** Variación de condiciones para la reacción de protección de la 2'-hidroxiacetofenona.

Ensayo	2-Hidroxi-acetofenona mmol	GP	mmol de GP	Base	mmol base	Disolvente	mL	Tiempo de reacción (h)	R (%)
<b>1</b> <sup>78</sup>	2.5	TBDMS Cl	3	Imidazol	3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	10	6	-
<b>2</b>	2.5	TBDMS Cl	3	Imidazol	3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	10	24	-
<b>3</b> <sup>79</sup>	2.5	TBDMS Cl	3	Imidazol	3	DMF	10	6	-
<b>4</b> <sup>80</sup>	2.5	TBDMS Cl	3	DIPEA	3	DMF	10	18	-
<b>5</b>	4.4	MEM	8.78	NaH	4.4	THF	10	6	-

Como se observa en los datos de la **Tabla 8**, a pesar de las múltiples variaciones al método de protección del fenol, éstas no dieron resultados favorables.

Una posible explicación a esto viene dada por la cercanía del grupo carbonilo en posición *orto*. Este puede favorecer la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares, lo que disminuye el carácter nucleofílico del oxígeno del fenol. Además, el anillo aromático puede estabilizar parcialmente la carga negativa del oxígeno (luego de la desprotonación del fenol), disminuyendo aún más su carácter nucleofílico.

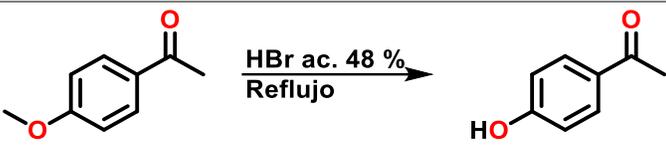
### 3.1.2 Obtención del compuesto 5a a partir de 4a.

Una segunda estrategia propuesta para la obtención del compuesto **5a** fue a partir de la desmetilación del compuesto **4a**. En la literatura existen pocos métodos reportados para la conversión de grupos metoxilo en hidroxilo (unidos a anillos aromáticos), y estos requieren condiciones de reacción relativamente drásticas que probablemente afectaría la estabilidad tanto del precursor como del producto final. Por esta razón, se realizó una prueba para determinar si la reacción era viable y posteriormente se llevó a cabo una pequeña estandarización de condiciones utilizando una reacción modelo.

<sup>78</sup> K. Fujise, D. Pinkaew, B. Blagg, M. Serwetnyk, C. M. Brackett, A. Zuo and H. Halim, *Small molecular weight inhibitors of fortilin*. **2024**, WO 2024/059471 A2.

<sup>79</sup> T. Murata, S. Sakakibara, T. Yoshino, Y. Ikegami, T. Masuda, M. Shimada, T. Shintani, M. Shimazaki, T. B. Lowinger, K. B. Ziegelbauer, K. Fuchikami, M. Umeda, H. Komura and N. Yoshida, 4-Aryl pyridine derivatives, **2002**, WO 02/44153 A1.

<sup>80</sup> A. K. Shaikh and G. Varvounis, *Org. Lett.* **2014**, 16, 1478–1481.

**Tabla 9** Variaciones de las condiciones de reacción de desmetilación en la reacción modelo.


Ensayo	mmol de 4'-metoxiacetofenona	mL HBr ac. al 48%	Tiempo de reflujo (h)	R (%)
1	1	15	4	60
2	1	15	5	74
3	1	15	6	85

Al analizar los rendimientos obtenidos en la **Tabla 9**, se concluyó que la desmetilación con HBr era factible, obteniéndose las mejores condiciones de reacción con un tiempo de reflujo de 6 horas en la reacción modelo. Con base en estos resultados, se procedió a aplicar las condiciones optimizadas para la obtención del compuesto **5a**, como se muestra en la **Tabla 10**.

**Tabla 10** Variaciones de la reacción de desmetilación para la síntesis de **5a**.


Ensayo	mmol de 4a	mL HBr ac. al 48%	H <sub>2</sub> O	Tiempo de reflujo (h)	R (%)
1	0.2	5 mL	5 mL	14	6
2	0.2	10 mL	-	6	10
3	0.2	5 mL	-	4	12
4	0.2	5 mL	-	6	30
5	0.2	5 mL	-	8	81

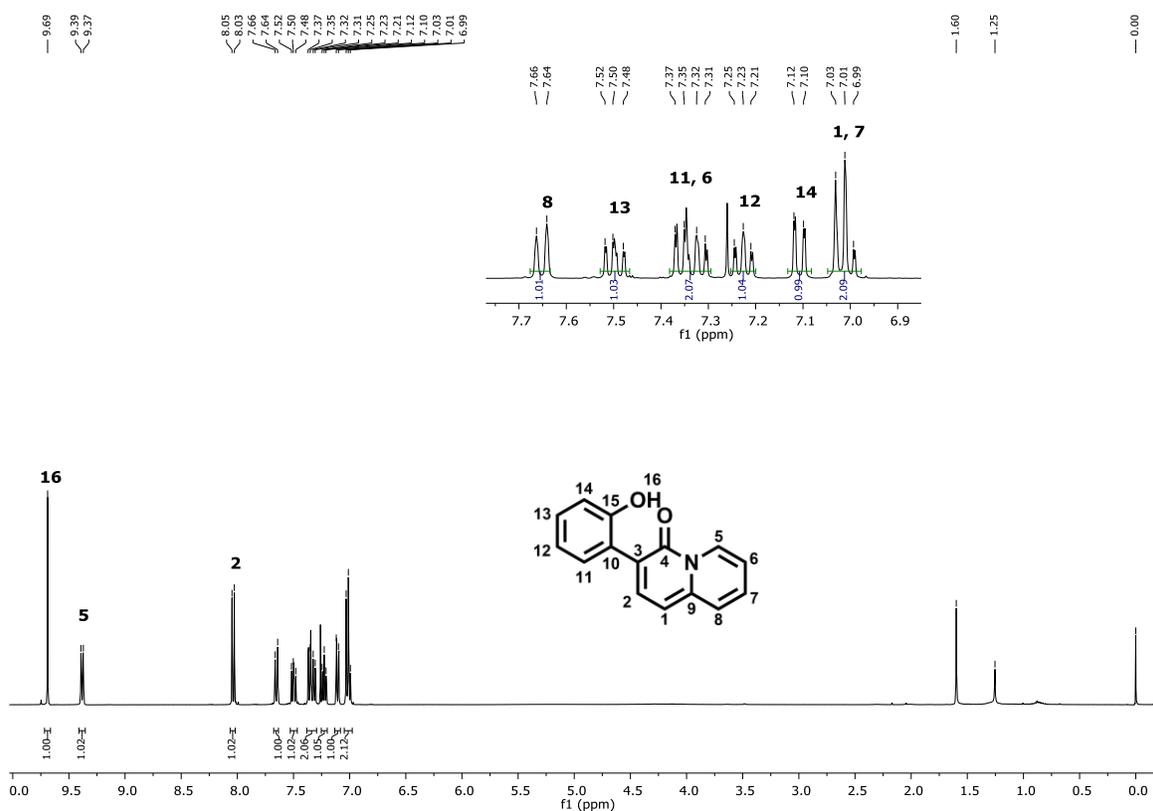
Las condiciones de reacción para llevar a cabo la desmetilación incluyeron reflujo en HBr, lo que resultó ser demasiado agresivo para el compuesto **4a**. Por esta razón, inicialmente se intentó realizar la reacción con HBr diluido, prolongando el tiempo de reacción; sin embargo, los rendimientos fueron bajos. Posteriormente, se probó con un mayor volumen de HBr y un tiempo de reacción reducido, pero el rendimiento no mejoró. Finalmente, se decidió reducir el volumen de HBr y variar el tiempo de reacción, logrando el mejor rendimiento con 8 horas de reflujo.

Cabe destacar que gran parte de la mejora en el rendimiento se debió al tratamiento posterior al finalizar la reacción, en el que fue necesario neutralizar el ácido hasta pH 7, filtrar el sólido formado y purificarlo mediante placa preparativa con un sistema de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Hexano:Acetato de etilo.

Se obtuvo un sólido verde claro con emisión fluorescente en estado sólido y en disolución. Este fue caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IR y EM.

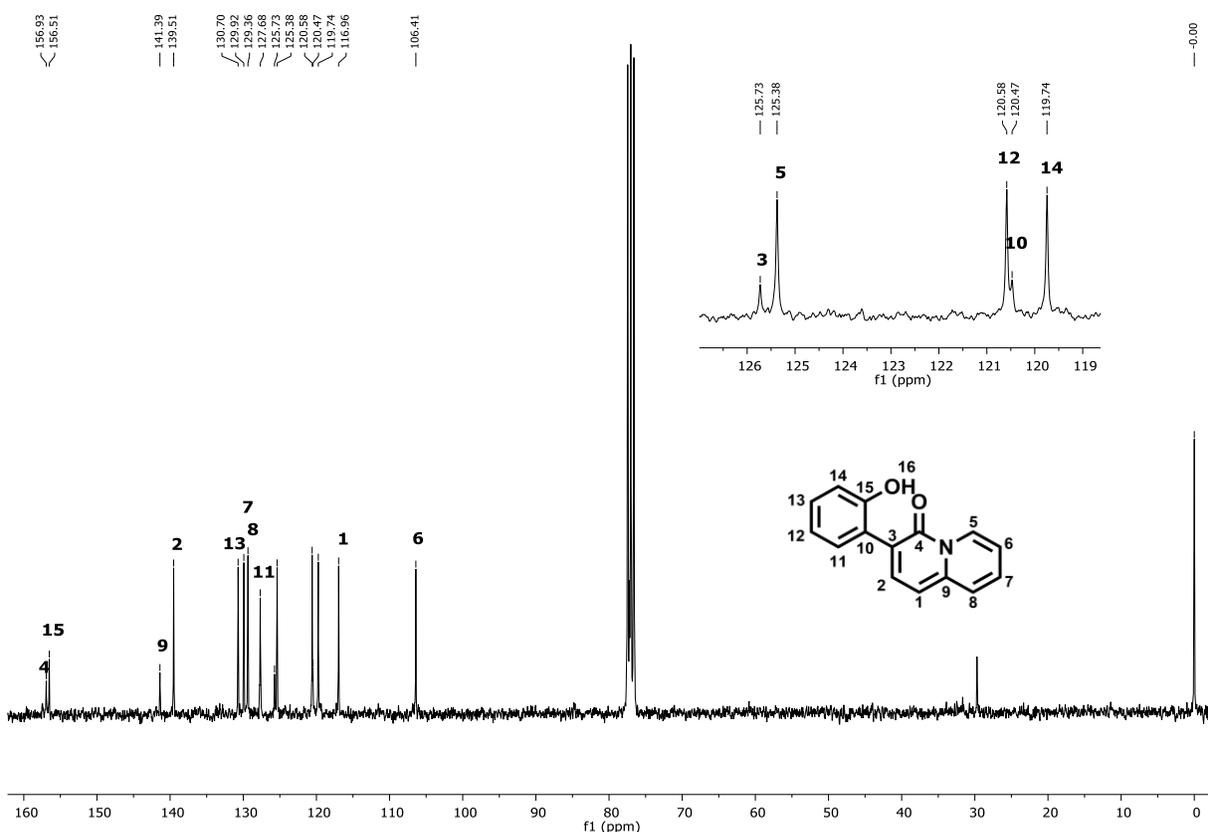
En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Espectro 13), se observan las señales correspondientes al compuesto **5a**, destacando una señal desplazada a 9.69 ppm correspondiente al protón H16 del grupo hidroxilo. Este desplazamiento, y el hecho de que la señal del protón H16 sea muy definida, indican que se está formando un puente de hidrógeno con el oxígeno del carbonilo.

Otras señales claras, son la correspondiente al hidrógeno H5 sobre el anillo de piridina, observada en 9.38 ppm y las señales dobles de los hidrógenos de la piridona H1 y H2, en 8.04 ppm y 7.02 ppm respectivamente.



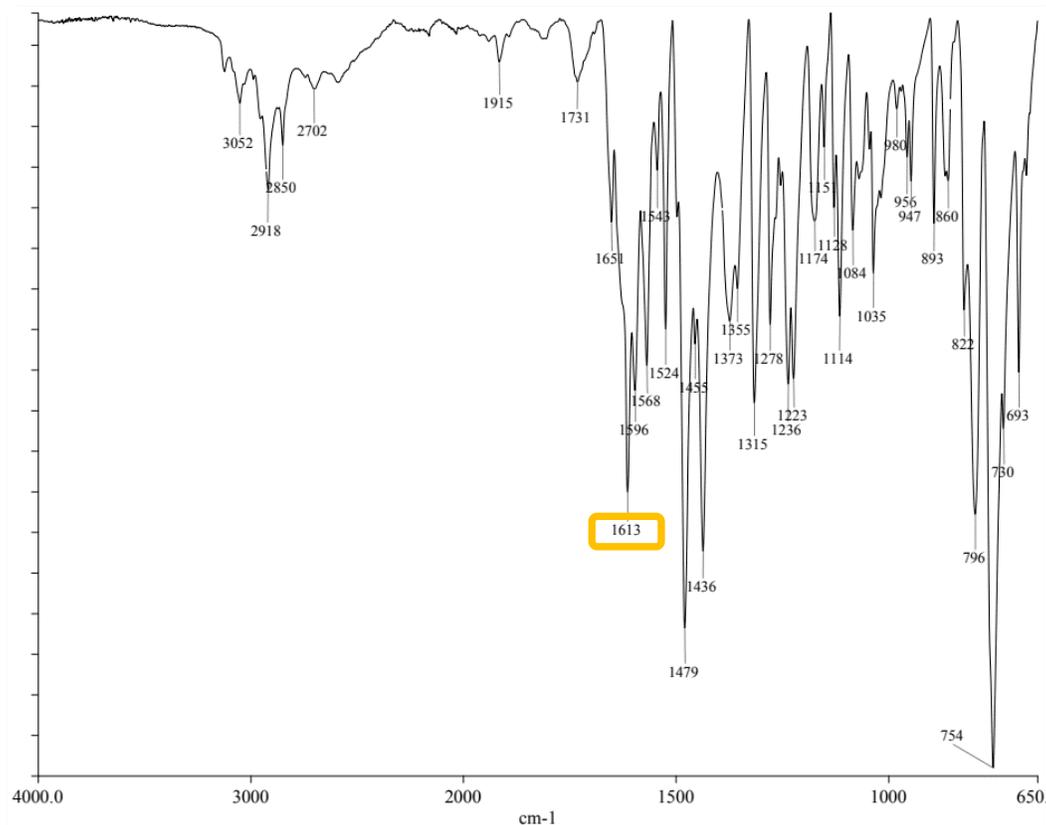
Espectro 13 RMN de <sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 3-(2-hidroxifenil)-4H-quinolizin-4-ona **5a**.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 14), se observan nuevamente las señales desplazadas correspondientes a los carbonos del grupo carbonilo y al carbono aromático unido a un grupo hidroxilo, en 156.9 ppm y 156.5 ppm, respectivamente. Además, se aprecia la desaparición de la señal correspondiente al metilo del grupo metoxilo del compuesto **4a**, que aparecía en 55.8 ppm.



Espectro 14 RMN de  $^{13}\text{C}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto 3-(2-hidroxifenil)-4*H*-quinolizin-4-ona **5a**.

Finalmente, el análisis del espectro infrarrojo reveló una banda característica del estiramiento del grupo  $\text{C}=\text{O}$  en  $1613\text{ cm}^{-1}$ , mientras que no se detectó la banda típica de los alcoholes fenólicos, que generalmente aparece en la región de  $3500$  a  $3200\text{ cm}^{-1}$  como una señal ancha e intensa. Esta ausencia puede atribuirse a la formación de un enlace de hidrógeno intramolecular que involucra al hidrógeno del grupo hidroxilo.



Espectro 15 IR-ATR del compuesto 3-(2-hidroxifenil)-4*H*-quinolizin-4-ona **5a**.

### 3.2 Cambio de posición del grupo coordinante en la 4*H*-quinolizin-4-ona

En esta sección, se abordará el estudio sintético del cambio de posición del segundo fragmento coordinante (grupo metoxilo) con el propósito de evaluar cómo esta modificación afecta las propiedades ópticas del compuesto. Al mover este fragmento a una nueva posición dentro de la estructura, la molécula pierde la capacidad de funcionar como ligante selectivo, ya que se altera la disposición espacial necesaria para la formación de un ligante quelante (Figura 42).

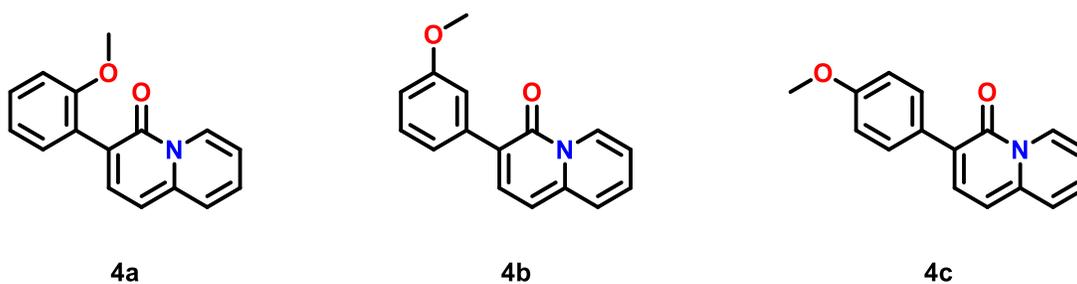


Figura 42 Propuestas de cambio de posición del grupo metoxilo.

Sin embargo, el interés en este cambio radica en observar las variaciones en las propiedades ópticas, independientemente de su función como ligante. Este experimento es clave para entender cómo la arquitectura molecular influye en la respuesta fluorescente, lo que podría proporcionar información valiosa para futuros diseños de sondas fluorescentes, optimizando la disposición de los grupos funcionales en el esqueleto molecular.

Se propusieron 2 estructuras que pudieran ser comparables con el compuesto **4a** previamente sintetizado. A continuación, se muestran las reacciones llevadas a cabo, así como la comparación en rendimientos obtenidos para los tres compuestos (**Tabla 11**). Las condiciones de reacción fueron las mismas a las obtenidas en la sección de optimización.

Como primer paso, se llevó a cabo la síntesis de las cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 11**.

**Tabla 11** Rendimientos de reacción para las tres cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas.

Compuesto	Tipo de acetofenona	Eq. acetofenona	Eq. de 2-piridincarboxaldehido	R (%)
<b>1a<sup>a</sup></b>	2'-Metoxiacetofenona	1	1.1	90
<b>1b</b>	3'-Metoxiacetofenona	1	1.1	75
<b>1c</b>	4'-Metoxiacetofenona	1	1.1	63
<b>1c<sup>b</sup></b>	4'-Metoxiacetofenona	1	1.1	82

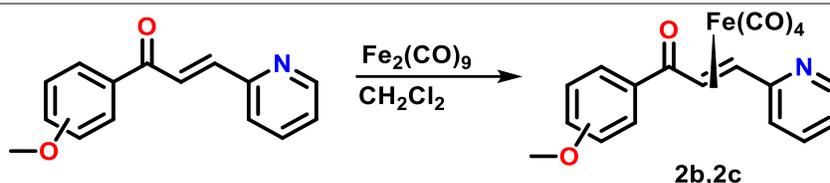
a) El rendimiento de esta reacción ya había sido reportado en el capítulo anterior; sin embargo, se incluye nuevamente en esta tabla para facilitar la comparación entre los diferentes rendimientos obtenidos.

b) Este ensayo corresponde a las condiciones experimentales y al rendimiento reportados en un trabajo previo.<sup>64</sup>

Todos los compuestos fueron caracterizados por RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IR y EM.

Las reacciones posteriores consistieron en la formación de los complejos  $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>]. Estas se llevaron a cabo siguiendo las condiciones de optimización obtenidas previamente en este trabajo, obteniéndose los resultados mostrados en la **Tabla 12**.

**Tabla 12** Rendimientos de reacción para los complejos  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$ .



Compuesto	Posición del grupo metoxilo en el anillo fenilo	Eq. Cetona $\alpha,\beta$ -insaturada	Eq. $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$	R (%)
<b>2a<sup>a</sup></b>	2'	1	1.5	84
<b>2b</b>	3'	1	1.5	64
<b>2c</b>	4'	1	1.5	66
<b>2c<sup>b</sup></b>	4'	1	1.5	85

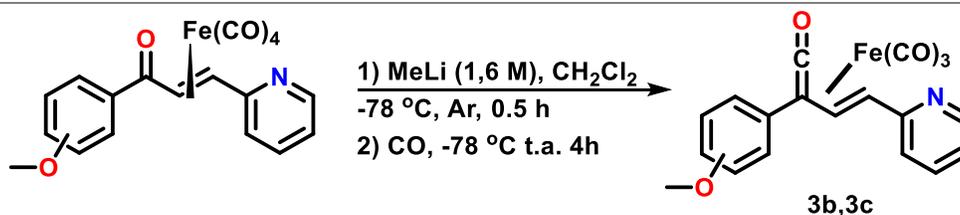
a) El rendimiento de esta reacción ya había sido reportado en el capítulo anterior; sin embargo, se incluye nuevamente en esta tabla para facilitar la comparación entre los diferentes rendimientos obtenidos.

b) Este ensayo corresponde a las condiciones experimentales y al rendimiento reportados en un trabajo previo.<sup>64</sup>

Los complejos obtenidos fueron caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM. Los datos se muestran en la sección de resúmenes espectroscópicos para los compuestos **2b** y **2c**.

Una vez obtenidos y aislados los complejos  $\eta^2$ , se llevó a cabo la síntesis de los complejos  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  siguiendo el método previamente reportado. Los resultados se resumen en la **Tabla 13**.

**Tabla 13** Rendimientos de reacción para los complejos  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ .



Compuesto	Posición del grupo metoxilo en el grupo fenilo	Eq. $\eta^2$ -vinilcetona	Eq. MeLi	R (%)
<b>3a<sup>a</sup></b>	2'	1	1.2	70
<b>3b</b>	3'	1	1.2	100
<b>3c</b>	4'	1	1.2	84
<b>3c<sup>b</sup></b>	4'	1	1.2	80

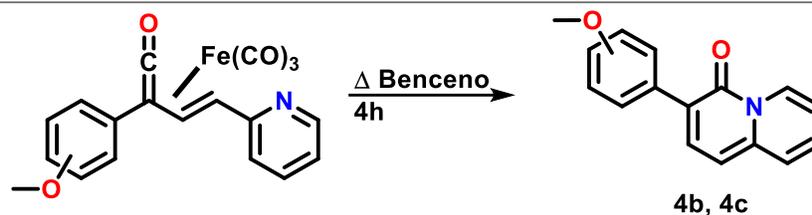
a) El rendimiento de esta reacción ya había sido reportado en el capítulo anterior; sin embargo, se incluye nuevamente en esta tabla para facilitar la comparación entre los diferentes rendimientos obtenidos.

b) Este ensayo corresponde a las condiciones experimentales y al rendimiento reportados en un trabajo previo.<sup>64</sup>

A pesar de haberse logrado aislar todos los compuestos, el complejo **3b** no pudo ser caracterizado debido a su baja estabilidad en solución. Sin embargo, en cromatografía en capa fina no se observan impurezas, por lo que después de ser aislado, se usó directamente en la siguiente reacción.

Finalmente, se llevaron a cabo las reacciones de ciclación promovidas por temperatura. Las condiciones usadas fueron las obtenidas en las condiciones de estandarización, obteniéndose los resultados mostrados en la **Tabla 14**.

**Tabla 14** Rendimientos de reacción para la reacción de anillación de los compuestos **4a**, **4b** y **4c**.



Compuesto	Posición del grupo metoxilo en la $\eta^4$ -vinilcetena	$\eta^4$ -vinilcetena (g)	Rendimiento (%)
<b>4a<sup>a</sup></b>	2'	0.803	54
<b>4b</b>	3'	0.503	61
<b>4c</b>	4'	0.408	53
<b>4c<sup>b</sup></b>	4'	0.126	81

a) El rendimiento de esta reacción ya había sido reportado en el capítulo anterior; sin embargo, se incluye nuevamente en esta tabla para facilitar la comparación entre los diferentes rendimientos obtenidos.

b) Este ensayo corresponde a las condiciones experimentales y al rendimiento reportados en un trabajo previo.<sup>64</sup>

Todos los compuestos anillados se obtuvieron como sólidos verde claro, presentando fluorescencia en solución.

El estudio sintético anterior permitió lograr con éxito el cambio de posición del segundo fragmento coordinante (grupo metoxilo) en la 4H-quinolizin-4-ona, logrando la obtención de los productos deseados mediante una secuencia de reacciones reproducible y con buenos rendimientos.

## CAPÍTULO 4. SÍNTESIS DE SONDAS FLUORESCENTES BASADAS EN 4H-BENZOTIAZOLOPIRIDIN-4-ONAS.

En este capítulo se abordarán los resultados obtenidos en la síntesis de nuevos compuestos heterocíclicos que tienen como base un esqueleto de 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona. La estrategia sintética utilizada tuvo como propósito demostrar que los complejos  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ , empleados como intermediarios reactivos en las reacciones anteriores, son generales y versátiles, capaces de generar una amplia variedad de heterociclos complejos.

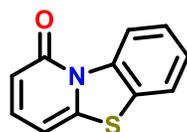


Figura 43 Estructura de la 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona (BTP).

Por otro lado, se eligió un andamio de 1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona debido a sus características estructurales, que lo convierten en un buen candidato para exhibir propiedades fluorescentes (Figura 43). Este heterociclo, al poseer tres anillos fusionados, presenta un sistema conjugado más extenso y una mayor rigidez estructural, lo que favorece una emisión más eficiente al reducir la probabilidad de procesos de desactivación no radiativa. Estas propiedades lo convierten en un andamio prometedor para mejorar la respuesta óptica de las sondas propuestas. Aunque los resultados de los estudios de fluorescencia de los compuestos obtenidos se detallarán en capítulos posteriores, en éste se abordarán los retos sintéticos superados para alcanzar las moléculas objetivo.

### 4.1 Obtención de la 2-(2-metoxifenil)-1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona.

Partiendo de los resultados obtenidos en el capítulo anterior de este trabajo, se diseñó una sonda cuyos fragmentos coordinantes estuvieran en posiciones similares a las del compuesto **4a**, por lo que el segundo fragmento coordinante debía de estar en la posición 2 del anillo de fenilo unido a la 4*H*-benzotiazolopiridin-4-ona (Figura 44).

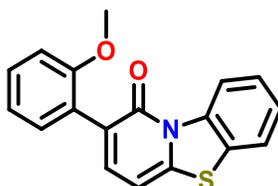


Figura 44 Estructura propuesta de la sonda fluorescente **4d**.

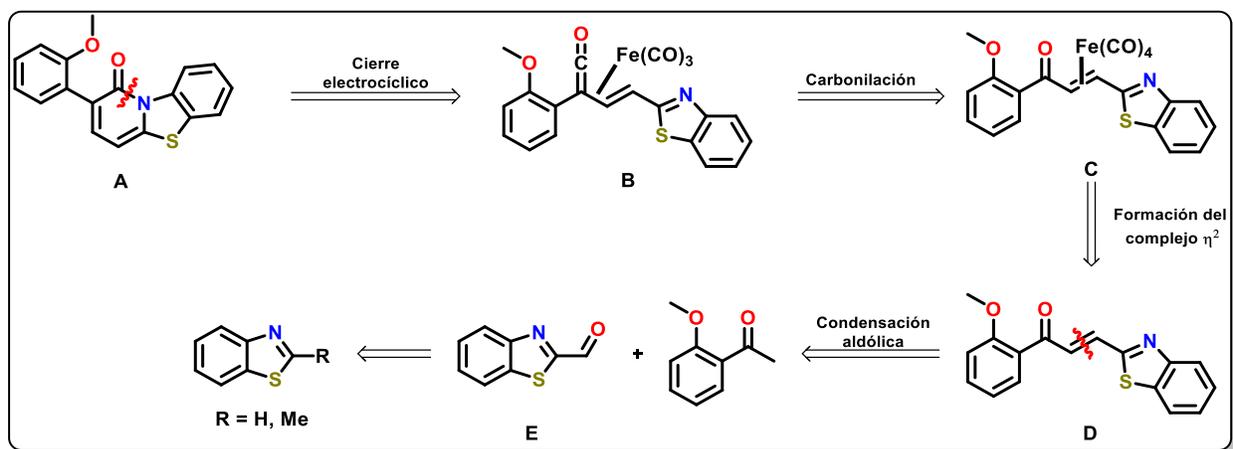
#### 4.1.1 Análisis retrosintético.

El diseño de la ruta sintética para la obtención del compuesto **4d** partió de un análisis retrosintético similar al propuesto para el fragmento 4*H*-quinolizina-4-ona.

Para obtener el heterociclo final **A**, se puede hacer uso de una reacción de anillación intramolecular si se parte del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **B**.

Éste a su vez puede sintetizarse a partir del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  **C** mediante un protocolo de litiación-carbonilación. El complejo **C** se puede preparar mediante una reacción de coordinación de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada **D** con  $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$ .

El compuesto **D** puede obtenerse a partir de la 2'-metoxiacetofenona y del benzotiazol-2-carboxaldehído **E** (Esquema 19). Este último, aunque está disponible comercialmente, tiene precio muy elevado y se requieren cantidades importantes. Esto llevó a la exploración de métodos sintéticos para la obtención del compuesto **E** a partir de materias primas más accesibles.



Esquema 19 Análisis retrosintético para la obtención del compuesto 2-(2-metoxifenil)-1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona **4d**.

Con la propuesta retrosintética hecha, se procedió con la parte experimental, utilizando las condiciones estandarizadas previamente al inicio de este trabajo.

#### 4.1.2 Síntesis del benzotiazol-2-carboxaldehído.

El proceso de síntesis comenzó con la obtención del benzotiazol-2-carboxaldehído siguiendo un protocolo de litiación-carbonilación como se muestra en la **Tabla 15**.<sup>81</sup> El rendimiento obtenido no fue mayor al 45%, principalmente debido a la baja estabilidad del benzotiazol-2-carboxaldehído

<sup>81</sup> O. A. Ruiz-Ramos, *Síntesis y estudio espectrofotométrico de colorantes push-pull basados en benzotiazol*. Tesis de Licenciatura. UNAM. 2021.

que da lugar a la formación de varios subproductos. En un trabajo reciente, se pudo identificar que el subproducto mayoritario de esta reacción es el *tris*-benzotiazolmetano.<sup>82</sup>

**Tabla 15** Variación de condiciones para la reacción de formilación del benzotiazol por litiación.

Ensayo	mmol de Benzotiazol	mmol de <i>n</i> -BuLi	mmol de DMF	mL de THF	Condiciones de reacción	R (%)
1	9.2	11	27.5	8	-78 °C 30 h -78 a 0 °C	16
2	9.2	11	27.5	8	-78 °C 1 h -78 a 0 °C	32
3	9.2	11	27.5	15	-78 °C 1 h -78 a 0 °C	45

Este bajo rendimiento llevó a la búsqueda de un nuevo método de síntesis para la obtención del aldehído, eligiendo un proceso oxidativo.<sup>83</sup> Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 16**.

**Tabla 16** Variación de condiciones para la obtención del aldehído del benzotiazol por oxidación con SeO<sub>2</sub>.

Ensayo	mmol de 2-metilbenzotiazol	Eq. SeO <sub>2</sub>	mL de disolvente (dioxano:H <sub>2</sub> O 9:1)	Tiempo de reacción (h)	R (%)
1	20	1.8	100	12	43
2	40	1.8	100	12	37
3	20	1.8	50	12	52
4	<b>15.2</b>	<b>2</b>	<b>50</b>	<b>14</b>	<b>70</b>

El método anterior fue mucho más eficiente, no solo por los rendimientos obtenidos, sino también por la facilidad de la purificación del producto final, pues, se forman menos subproductos y es posible obtener el compuesto por recristalización. El benzotiazol-2-carboxaldehído fue caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, coincidiendo con lo reportado en la literatura.<sup>84</sup>

<sup>82</sup> F. Arroyo-Gutiérrez, Síntesis de piridobenzotiazolonas a través del uso de complejos de hierro (0) como intermediarios clave, Tesis de Licenciatura. UNAM, **2023**.

<sup>83</sup> D. Singh, J. A. Tali, G. Kumar and R. Shankar, *New J. Chem.*, **2021**, *45*, 20551–20555.

<sup>84</sup> X. Chen, T. Leng, C. Wang, Y. Shen and W. Zhu, *Dyes Pigm.*, **2017**, *141*, 299-305.

Una vez obtenido el aldehído correspondiente, se llevó a cabo la reacción de condensación aldólica entre éste y 2'-metoxiacetofenona como se muestra en la **Tabla 17**. Aunque en un comienzo se intentó llevar a cabo la reacción en las condiciones de optimización previamente reportadas, usando como base LiOH, se tuvieron que explorar otros métodos para llevar a cabo la condensación aldólica.

**Tabla 17** Variación de las condiciones de reacción para la condensación aldólica (se muestran los resultados más significativos).

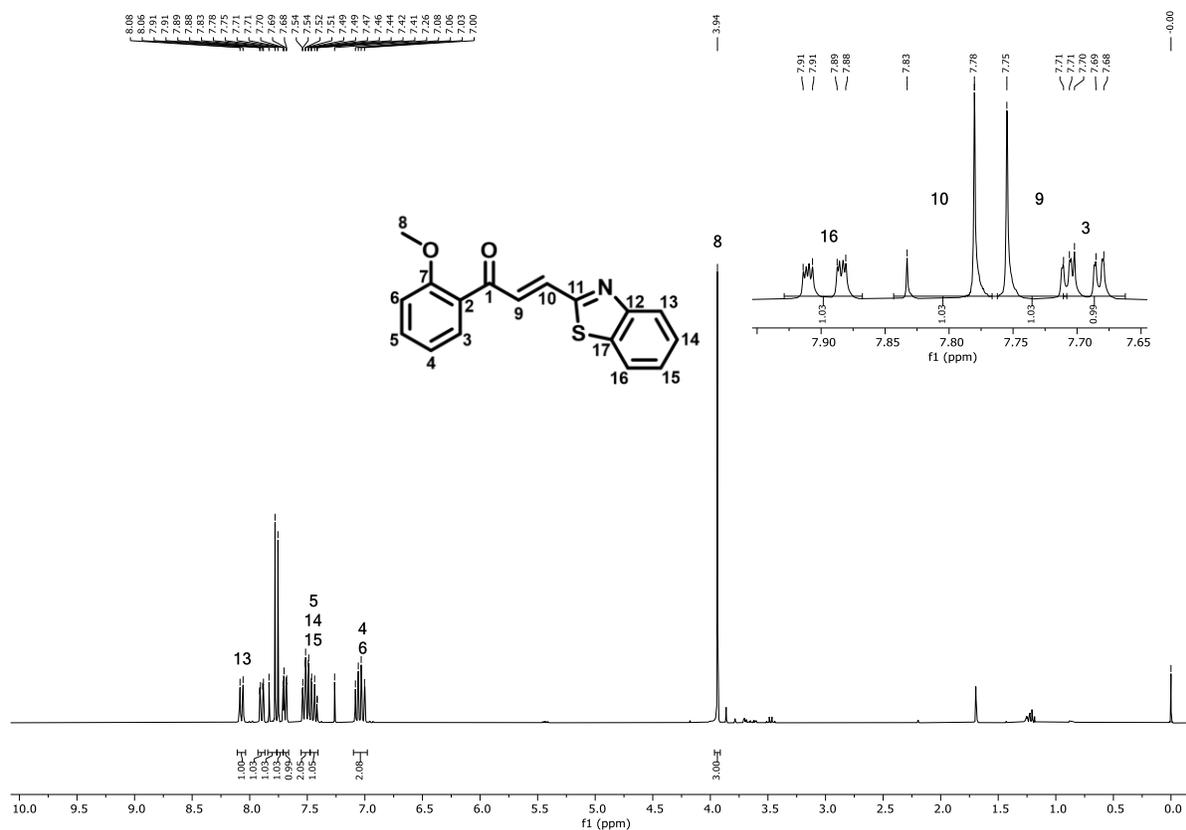
**1d**

Ensayo	mmol de aldehído	mmol de cetona	Base	Disolvente	t (h)	R (%)
<b>1</b>	2	2	LiOH•H <sub>2</sub> O	EtOH-Éter etílico	22	16
<b>2</b>	1	1	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	EtOH-Éter etílico	22	0
<b>3</b>	2	2	NaOH, Py	EtOH-H <sub>2</sub> O	48	33
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>NaOH, Py</b>	<b>EtOH-H<sub>2</sub>O</b>	<b>15</b>	<b>60</b>

Luego de varios intentos por llevar a cabo la reacción de condensación aldólica, se encontraron las mejores condiciones de reacción (Tabla 17, ensayo 4), para la cual fue de suma importancia el orden de adición de los reactivos y el tiempo de reacción.

Finalmente, se pudo obtener la (*E*)-3-(benzotiazol-2-il)-1-(2-metoxifenil)propan-1-ona **1d**. Esta fue caracterizada completamente por RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, IR y EM. A continuación, se muestran los espectros correspondientes a este compuesto.

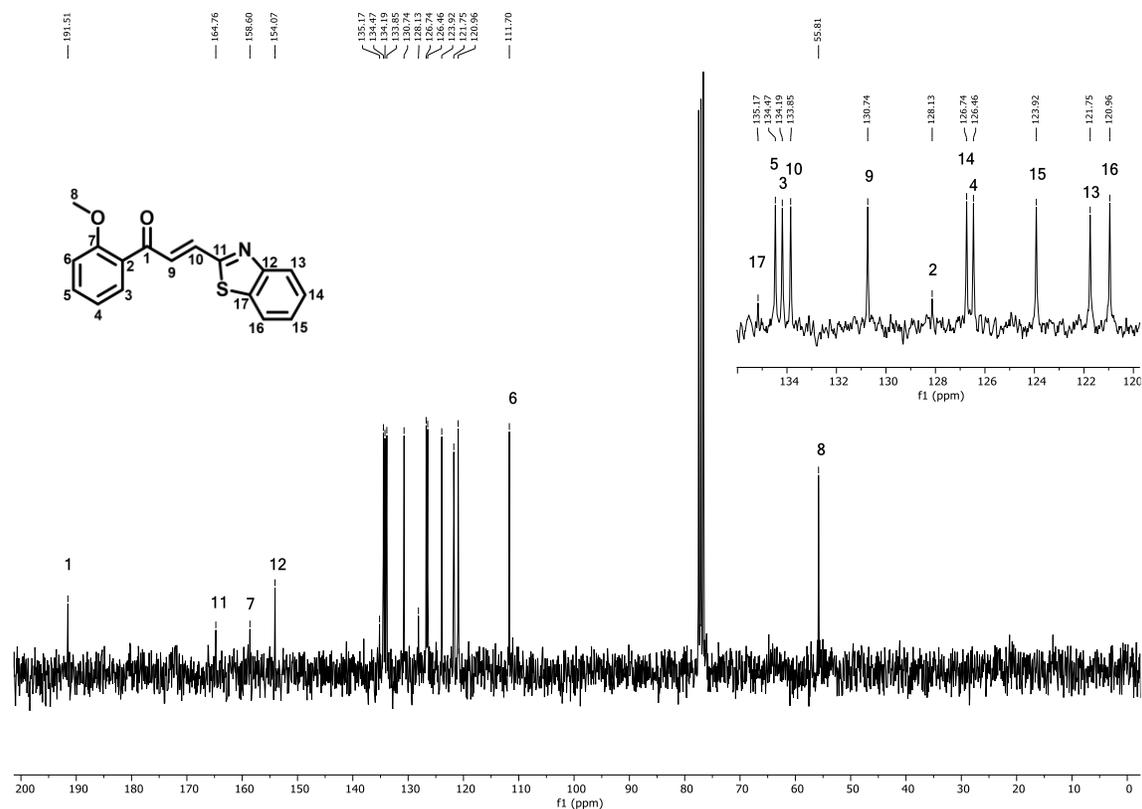
En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Espectro 16), se puede observar el sistema AB correspondiente al doble enlace de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada, apareciendo una señal doble para el protón H10 en 7.81 ppm y otra para el protón H9 en 7.73 ppm. También se observa la señal correspondiente a los tres protones del metilo H8 en 3.94 ppm. El resto de las señales, como se esperaba, se encuentran en la zona de hidrógenos aromáticos coincidiendo la integración total con el número de señales esperadas.



Espectro 16 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada **1d**.

Por otro lado, en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 17) se observa la señal correspondiente al carbono del carbonilo C1 en 191.5 ppm. También se observan las señales desplazadas en 164.8 ppm y 158.6 ppm correspondientes a los carbonos cuaternarios C11 y C7, desplazadas por efecto de los átomos cuaternarios a los que se encuentran unidos.

Una señal característica de este compuesto es la correspondiente al carbono C6, que tanto en la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada libre como en los complejos posteriores, aparece desplazada a 111.7 ppm o cerca de esta zona, debido al efecto inductivo del grupo metoxilo unido al carbono contiguo. Finalmente, se observa la señal del carbono C8 del metilo en 55.8 ppm.



Espectro 17 RMN de <sup>13</sup>C (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada **1d**.

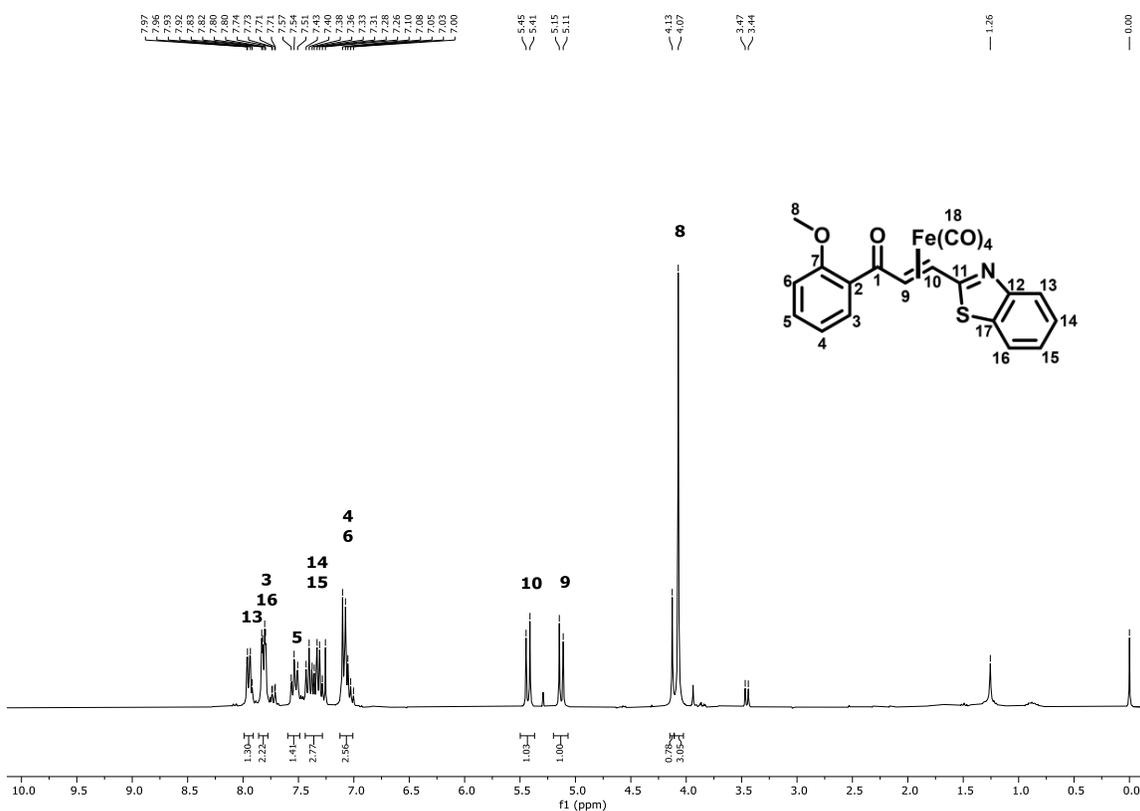
Una vez confirmada la obtención del compuesto **1d**, se procedió a la síntesis del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>], la cual se llevó a cabo en las condiciones de estandarización obtenidas previamente, pero con una modificación importante en la cantidad de disolvente, como se muestra en la **Tabla 18**.

**Tabla 18** Variación de condiciones para la formación del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>].

Ensayo	mmol de <b>1d</b>	mmol Fe <sub>2</sub> (CO) <sub>9</sub>	t (h)	mL de disolvente	% Rendimiento
<b>1</b>	0.25	0.38	5	30	50
<b>2</b>	0.65	0.98	5	30	40
<b>3</b>	2	3	5	50	17
<b>4</b>	1	1.5	5	80	71

En un comienzo, la reacción no superaba el 50 % de rendimiento, observándose una disminución importante al intentar escalar la reacción. Esto llevó a la observación de la baja solubilidad de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada, por lo que un aumento significativo en la cantidad de disolvente fue suficiente para aumentar el rendimiento de la reacción.

El producto obtenido se caracterizó por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM. En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 18), se observan las señales esperadas para el compuesto obtenido, siendo las más importantes de mencionar las correspondientes a los hidrógenos del doble enlace unido al hierro. Estas señales dobles se desplazan a 5.43 ppm para H10 y 5.13 ppm para el H9, desplazadas por efecto de donación-retrodonación con el Fe(0), como se mencionó anteriormente.



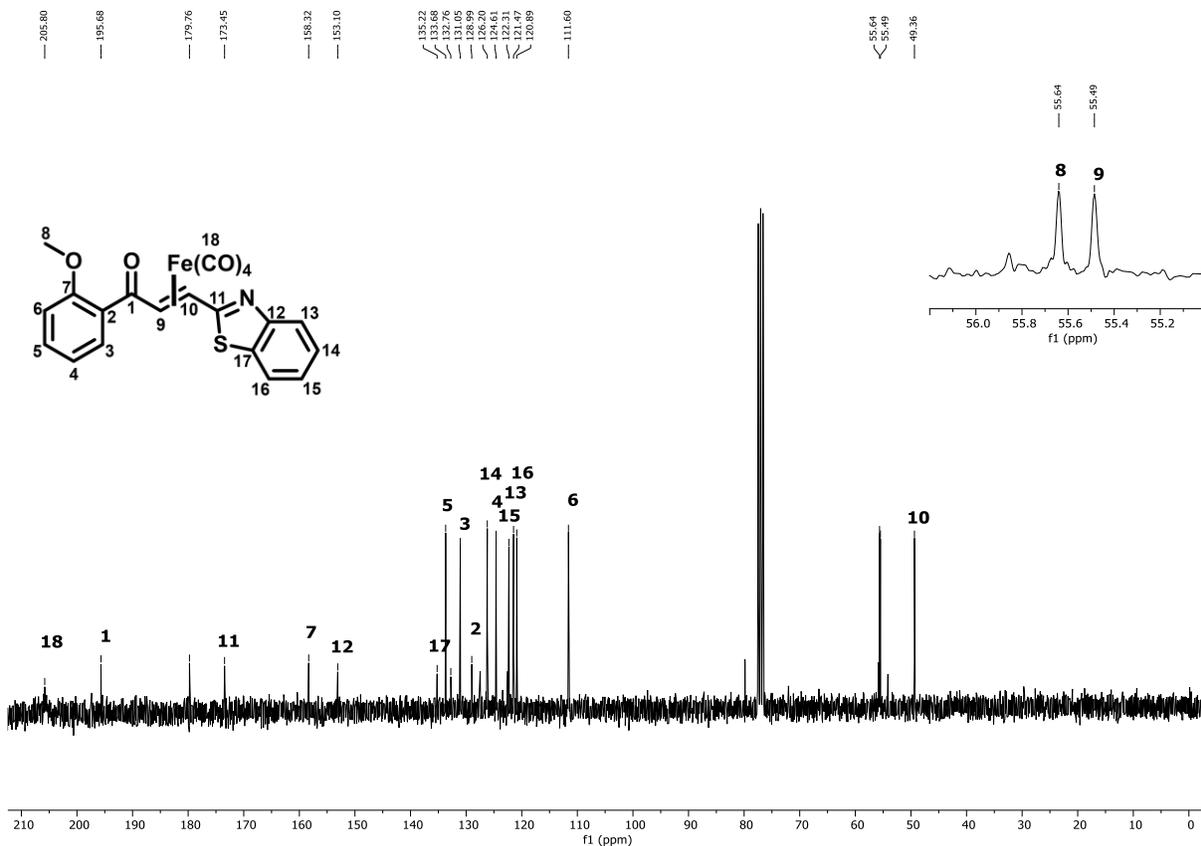
Espectro 18 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  **2d**.

Por otro lado, en el espectro de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 19) se observa en 205.8 ppm la señal correspondiente a los carbonilos unidos al hierro, lo que confirma la formación del complejo. En 195.7 ppm se observa la señal correspondiente al carbonilo de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada.

Cabe resaltar que en el espectro se aprecian señales que no pertenecen al compuesto. Debido al patrón observado, con una señal simple en 4.13 ppm y una señal doble en 3.46 ppm, es probable que éstas correspondan a un complejo de tipo  $\eta^4$  vinilcetona, que es otro modo de

coordinación posible del hierro hacia la vinilcetona. Sin embargo, éste no afecta a la reacción posterior.

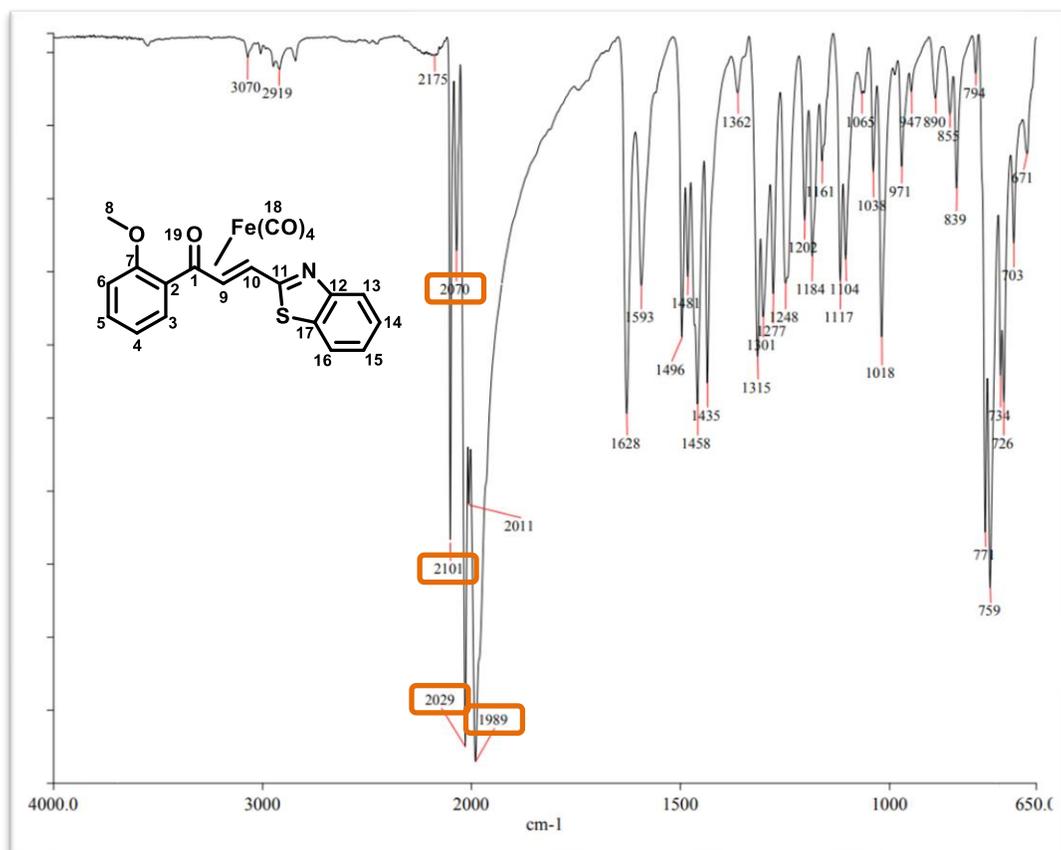
Por otro lado, también es posible ver un desplazamiento de los carbonos correspondientes al doble enlace por efecto de la coordinación con el Fe(0). En este caso, las señales de los carbonos C9 y C10 se desplazan a 55.5 ppm y 49.4 ppm, habiéndose desplazado hasta la zona característica de carbonos alifáticos.



Espectro 19 RMN de <sup>13</sup>C (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) del complejo η<sup>2</sup>-vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>] 2d.

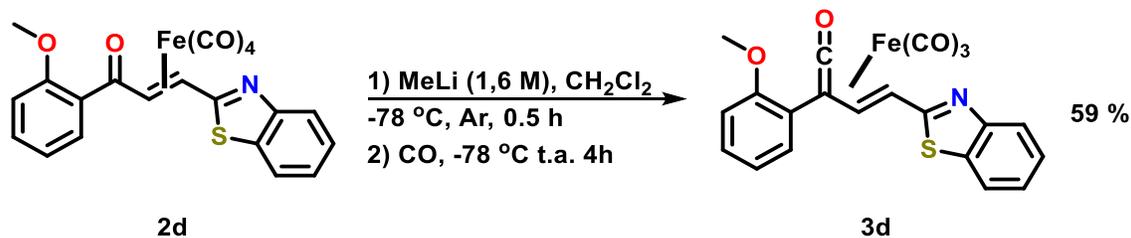
Finalmente, el espectro de IR (Espectro 20) muestra las bandas características a los carbonilos metálicos, observándose 4 bandas en 2101, 2070, 2029 y 1989 cm<sup>-1</sup>, lo que confirma de nuevo la formación del complejo e indica que la geometría más probable es un complejo de tipo Fe(CO)<sub>4</sub>L<sub>ecuatorial</sub>.

También es posible observar el estiramiento del enlace C=O correspondiente al carbonilo de la cetona, obteniéndose una señal en 1628 cm<sup>-1</sup>.



Espectro 20 IR-ATR del complejo  $\eta^2$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_4]$  **2d**.

Una vez confirmada la obtención del complejo **2d**, se realizó la síntesis del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$ . Para llevar a cabo la reacción, de nuevo se siguieron las condiciones previamente reportadas, realizando pequeñas modificaciones para aumentar el rendimiento (Esquema 20).

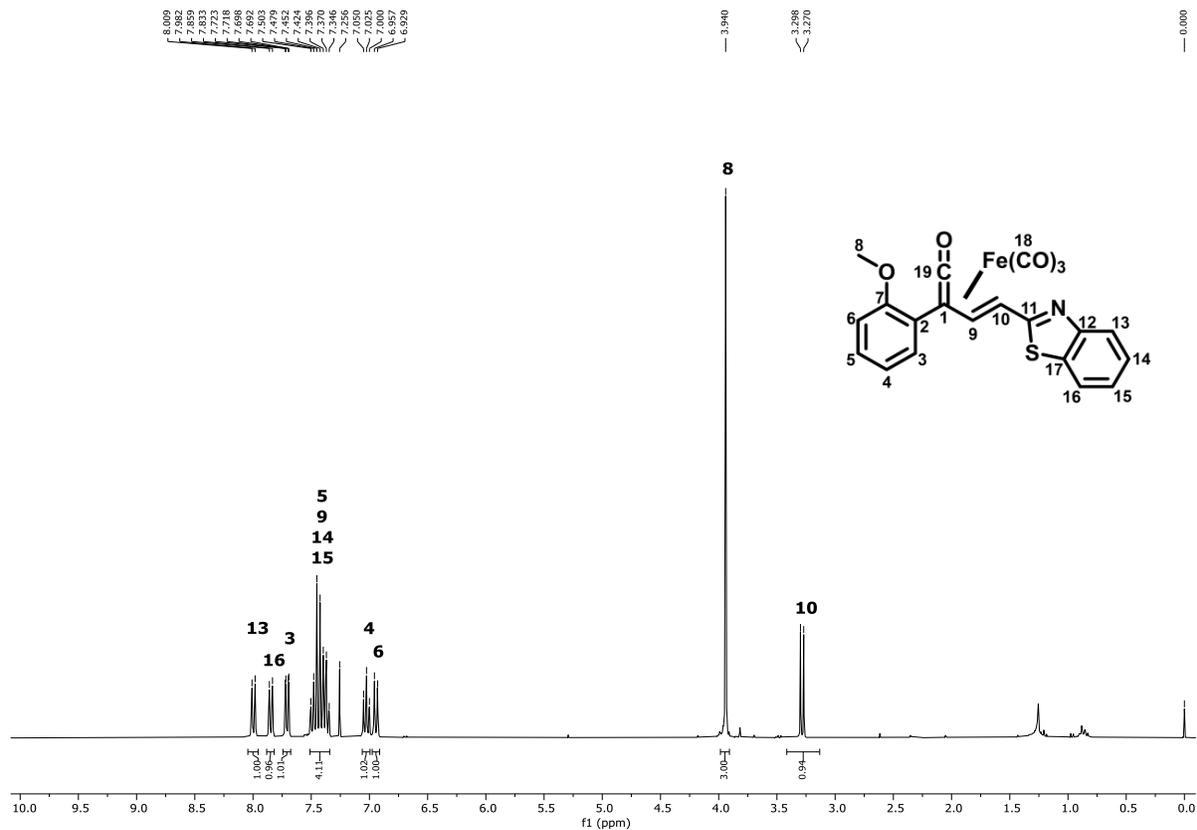


Esquema 20 Reacción de formación del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3d**.

Las modificaciones más importantes para aumentar el rendimiento de esta reacción fueron, en primer lugar, una adición muy lenta del MeLi para evitar que la temperatura dentro del matraz de reacción se elevara.

En segundo lugar, se modificó el sistema de disolventes usado en el método de purificación, el cual se llevó a cabo mediante columna usando gel de sílice como fase estacionaria, y mezclas hexano:diclorometano como fase móvil. El compuesto también fue caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM.

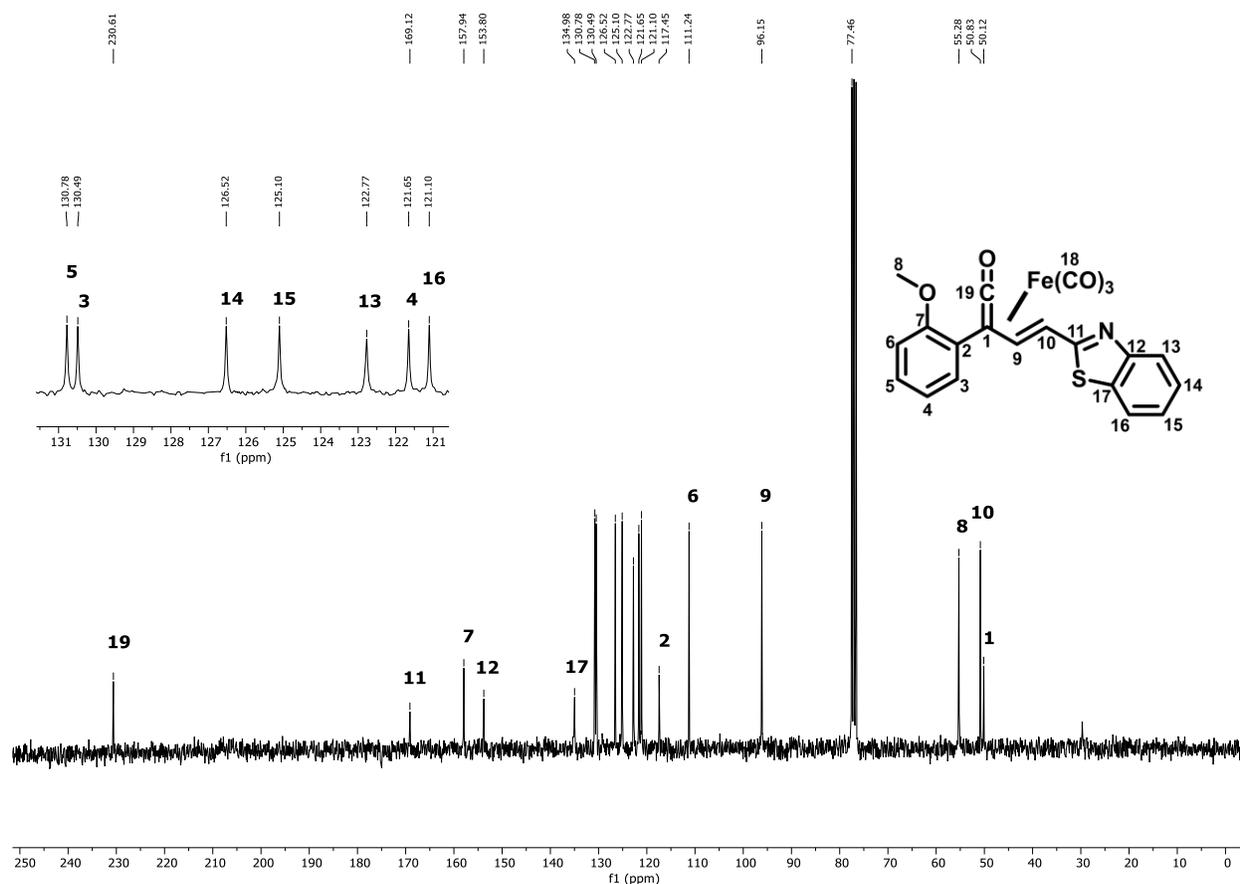
Al analizar el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 21), se observa de nuevo un desplazamiento importante en las señales de los hidrógenos de doble enlace del compuesto. Como se explicó anteriormente, esto se debe a los posibles equilibrios resonantes que puede adquirir el complejo, adquiriendo el carbono al que se encuentra unido el hidrógeno H10 un carácter marcado  $\text{sp}^3$ , mientras que el hidrógeno H9 está unido a un carbono (en todos los equilibrios resonantes) con hibridación  $\text{sp}^2$ . Esto explica el desplazamiento de las señales, apareciendo el hidrógeno H9 aproximadamente en 7.44 ppm mientras que el H10 aparece en 3.29 ppm.



Espectro 21 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del complejo  $\eta^4$ -vinilcetona  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3d**.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 22) se puede observar la señal correspondiente al C19 ( $\text{C}_\alpha$  de la cetena) en 230.6 ppm, mientras que la señal C1 ( $\text{C}_\beta$  de la cetena) aparece en 50.1 ppm. Estos desplazamientos coinciden con lo reportado en la literatura para vinilcetenas estabilizadas con hierro, por lo que sirven para confirmar la obtención del compuesto **3d**.<sup>61,62</sup>

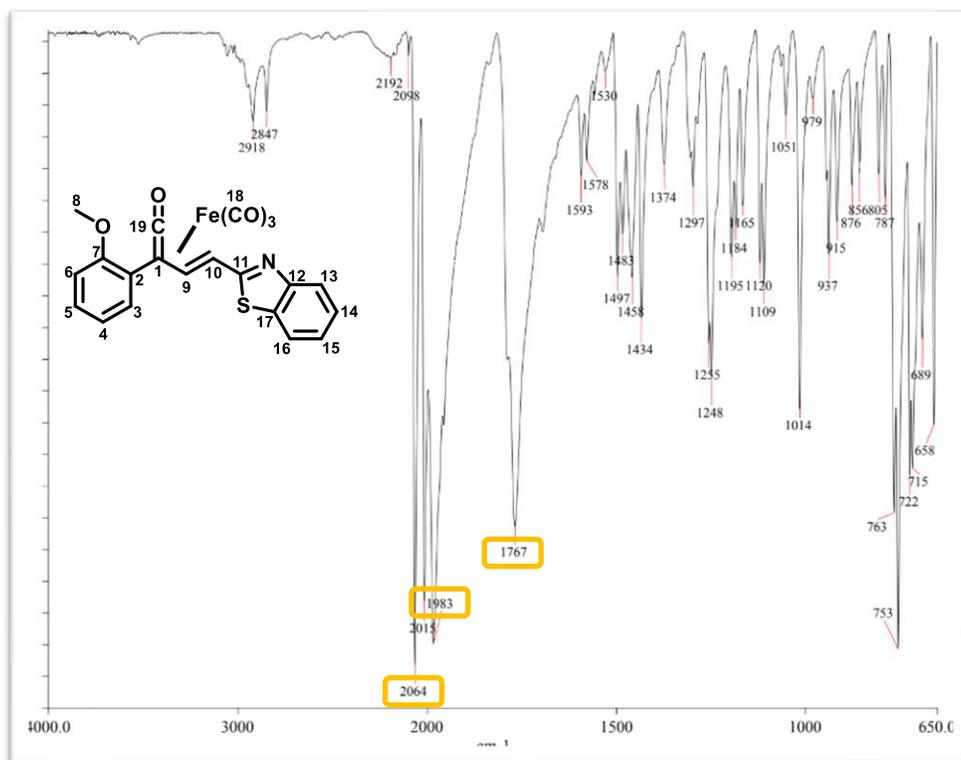
Por otro lado, también es posible observar el desplazamiento de los carbonos del doble enlace, apareciendo en 96.1 ppm la señal del C9, desplazamiento característico de carbonos  $sp^2$ , mientras que la señal del C10 aparece en 50.8 ppm, desplazamiento característico para carbono  $sp^3$ , como se mencionó anteriormente, debido al efecto de la coordinación con el Fe(0).



Espectro 22 RMN de  $^{13}C$  (75MHz,  $CDCl_3$ ) del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[Fe(CO)_3]$  **3d**.

En el espectro de IR (Espectro 23) se pueden observar tres bandas en 2064, 2015 y 1983  $cm^{-1}$  correspondientes a los carbonilos unidos al hierro. La aparición de 3 bandas sugiere la formación de un complejo de tipo  $Fe(CO)_4L_{2cis}$ .

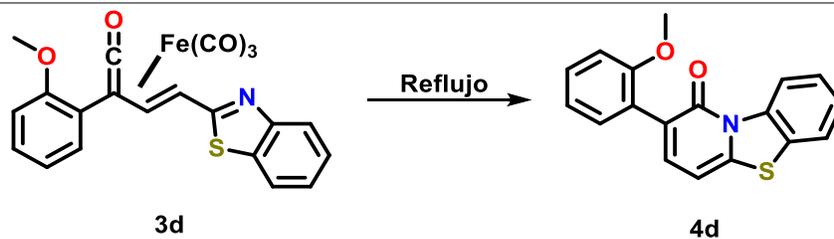
Por otro lado, se observa una banda intensa en 1767  $cm^{-1}$ . Esta corresponde al estiramiento del enlace  $C=O$  del grupo ceteno.



Espectro 23 IR-ATR del complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  **3d**.

Finalmente, se llevó a cabo la reacción de anillación electrocíclica usando el complejo  $\eta^4$ -vinilcetena  $[\text{Fe}(\text{CO})_3]$  como precursor sintético. En un comienzo, se usaron las condiciones de estandarización previamente obtenidas, sin embargo, con éstas se obtuvieron rendimientos muy bajos. Posteriormente, se probaron las condiciones usadas para la formación del compuesto **4a**, obteniéndose buenos rendimientos como se muestra en la **Tabla 19**.

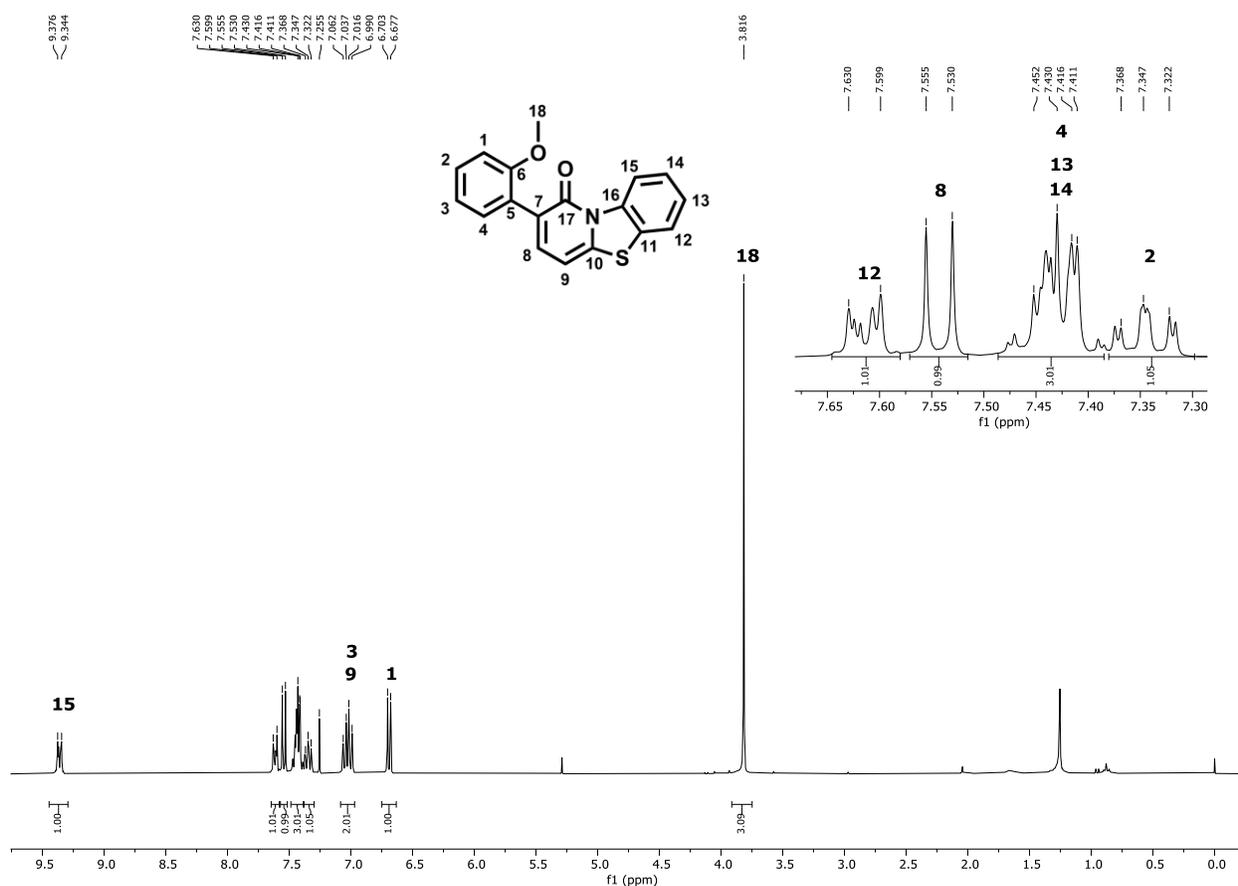
**Tabla 19** Rendimientos de la reacción de anillación para la obtención del compuesto **4d**.



Ensayo	mmol vinilcetena	Disolvente	(mL)	Temperatura	t (h)	R (%)
1 <sup>a</sup>	0.200	Benceno	30	Reflujo	4	10
2	0.200	Benceno	50	Reflujo	4	22
3	0.150	Tolueno	50	90 °C	2	35
4	<b>0.200</b>	<b>Tolueno</b>	<b>40</b>	<b>Reflujo</b>	<b>1</b>	<b>59</b>

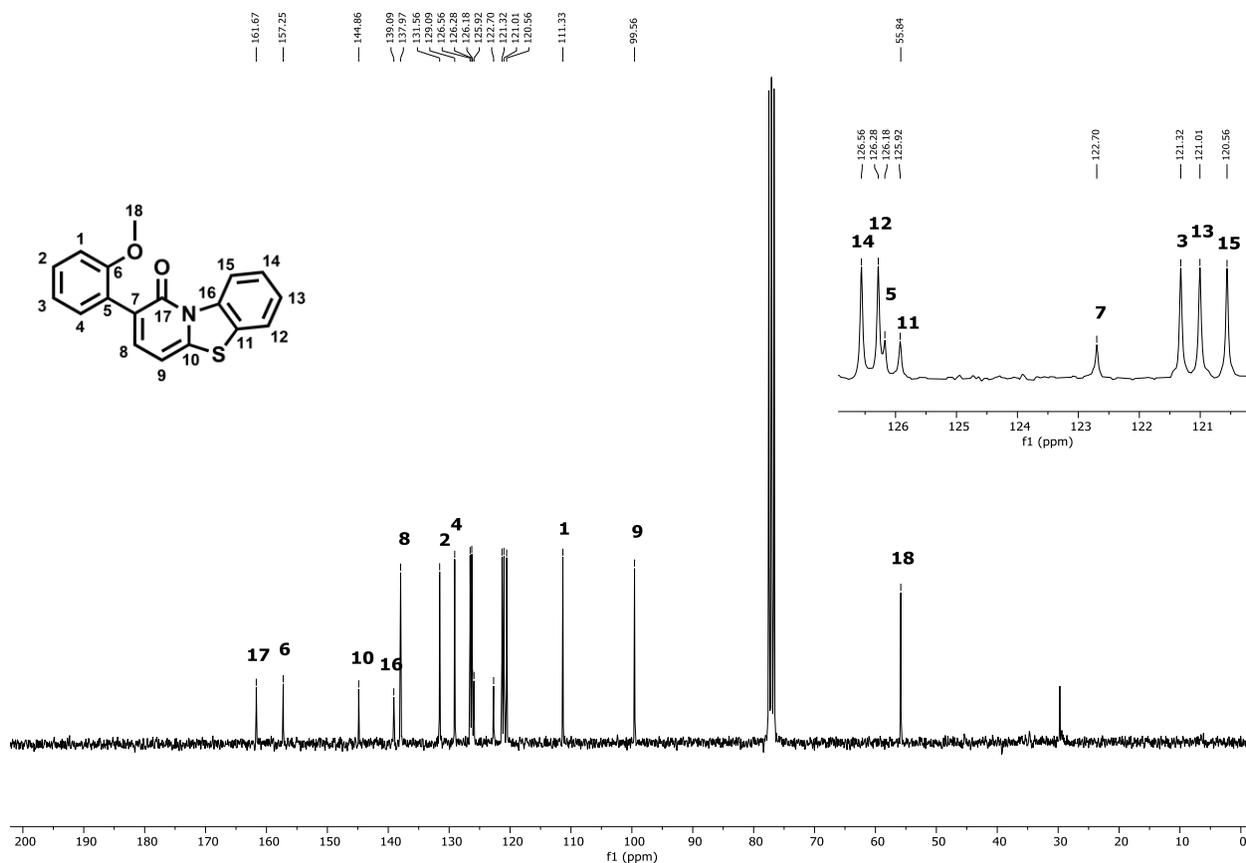
Una vez obtenido el compuesto final, éste fue purificado y caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 24) se observa la señal del hidrógeno H15 en 9.36 ppm desplazada probablemente debido a un puente de hidrógeno intramolecular con el oxígeno del carbonilo. En 3.82 ppm aparece la señal correspondiente a los hidrógenos H18 del metilo. También se observan las señales esperadas para el compuesto **4d** en zona de hidrógenos aromáticos.



Espectro 24 RMN de  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto 2-(2-metoxifenil)-1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona **4d**.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 25) se observan todas las señales esperadas para la estructura del compuesto **4d**. Entre ellas, se destaca la señal C18 en 55.8 ppm correspondiente al metilo del grupo metoxilo. También es posible observar el carbono del carbonilo C17 en 161.7 ppm, característico de carbonilos de amida.



Espectro 25 RMN de  $^{13}\text{C}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto 2-(2-metoxifenil)-1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona **4d**.

El compuesto obtenido **4d** presentó el fenómeno de fluorescencia (Figura 45), por lo que se considera una sonda fluorescente válida dentro de esta serie.

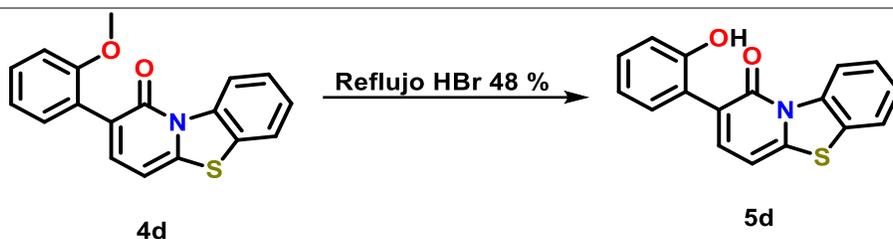


Figura 45 Luminiscencia del 2-(2-metoxifenil)-1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona **4d** disuelta en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  observado bajo la lampara de UV-Visible a 364 nm.

## 4.2 Obtención de la 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona.

Una vez obtenido con éxito el compuesto **4d**, se llevó a cabo la transformación del fragmento coordinante de metoxilo a hidroxilo. Para ello se siguió la metodología previamente estandarizada. Los rendimientos obtenidos se resumen en la **Tabla 20**.

**Tabla 20** Rendimientos de reacción de desmetilación.



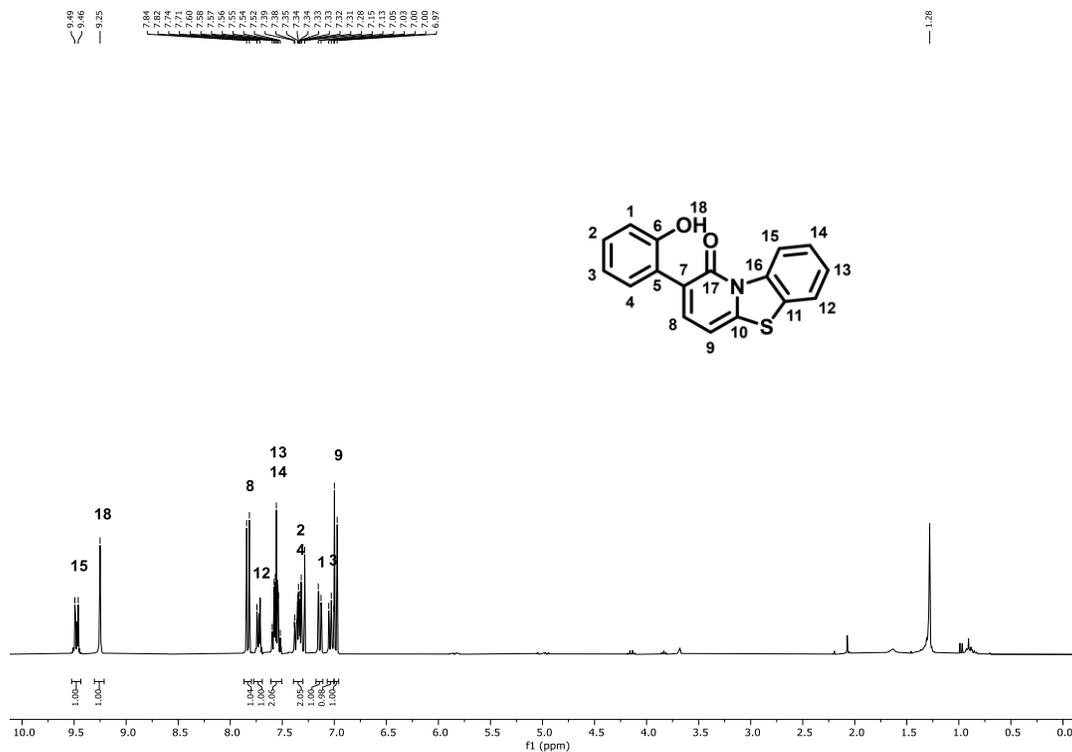
Ensayo	mmol de 4d	HBr 48 % (mL)	Tiempo	% Rendimiento
1	0.1843	5	4	-
2	0.1843	5	6	10
3	0.1843	5	8	58

El compuesto **5d** se pudo obtener en un rendimiento máximo del 58 %, aislándose como un sólido verde fluorescente. Éste se caracterizó por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM.

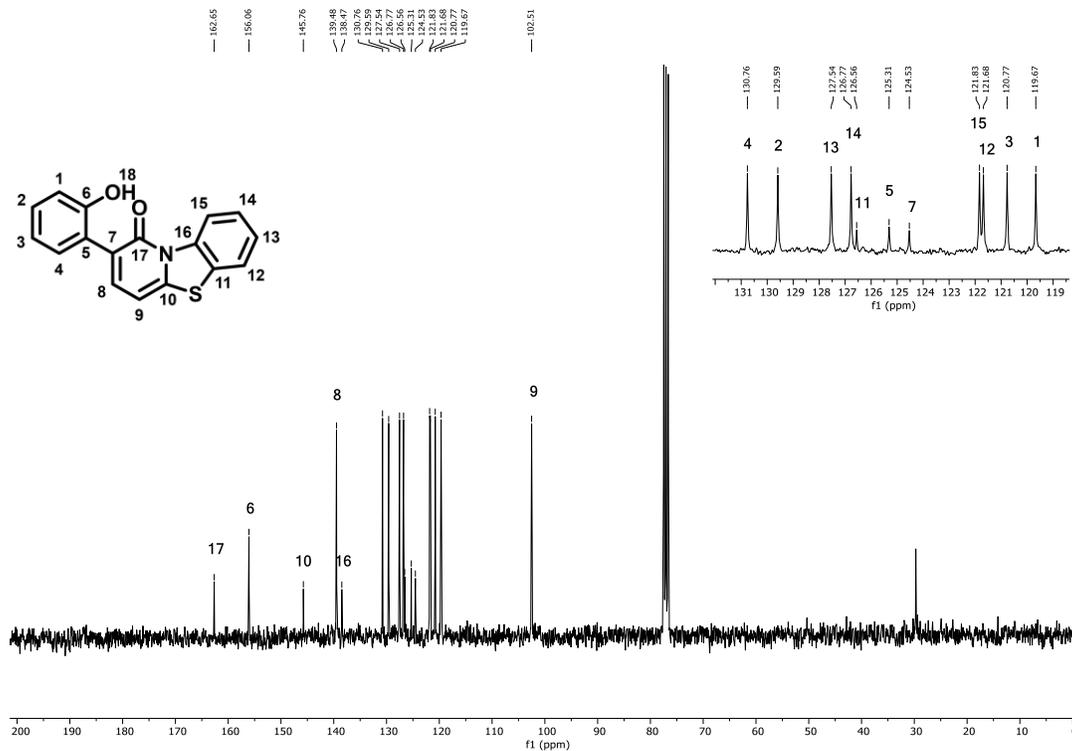
En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 26) se observa la señal del hidrógeno H18 en 9.46 ppm correspondiente al hidrógeno del grupo hidroxilo. Éste es observable y se encuentra muy desplazado debido al puente de hidrógeno que puede formar con el oxígeno del carbonilo. También se observa la señal característica del hidrógeno H15, apareciendo en 9.25 ppm. El resto de las señales coincide con lo esperado para la estructura del compuesto **5d**.

Por otro lado, en el espectro de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 27) se observa en 162.6 ppm la señal correspondiente al carbono C17 del carbonilo del heterociclo. También se observa la señal del carbono C6 en 156.1 ppm, muy desplazada por efecto del oxígeno del grupo hidroxilo al cual está unido.

Finalmente, también es posible observar las señales de los carbonos C8 y C9, apareciendo en 145.8 ppm y 102.5 ppm, señales características de anillo de 2-piridona.



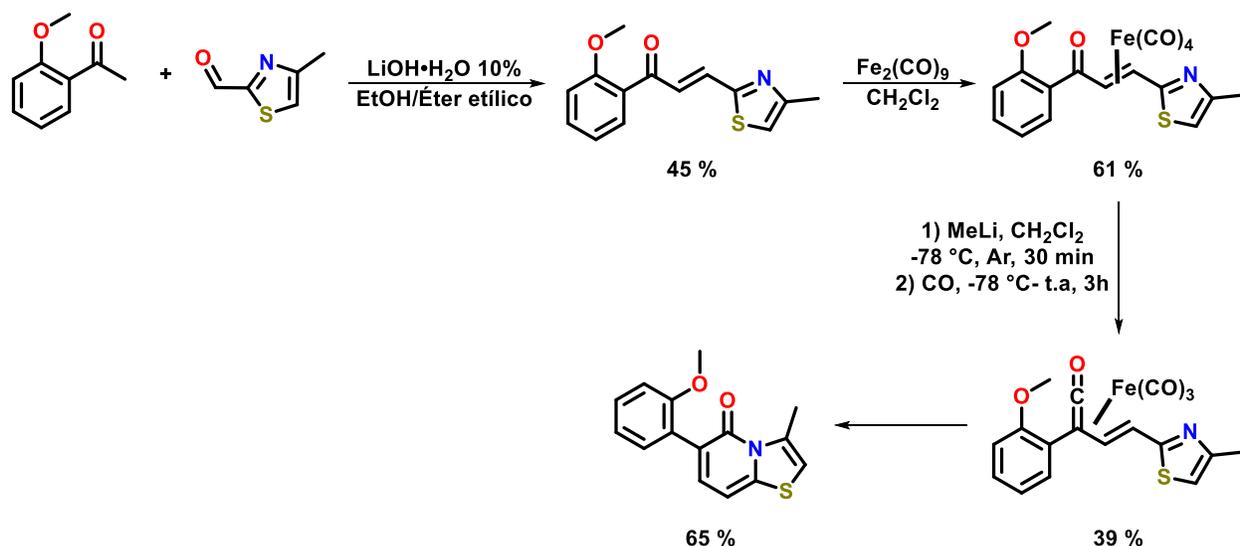
Espectro 26 RMN de <sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona **5d**.



Espectro 27 RMN de <sup>13</sup>C (75MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-benzo[4,5]tiazolo[3,2-*a*]piridin-1-ona **5d**.

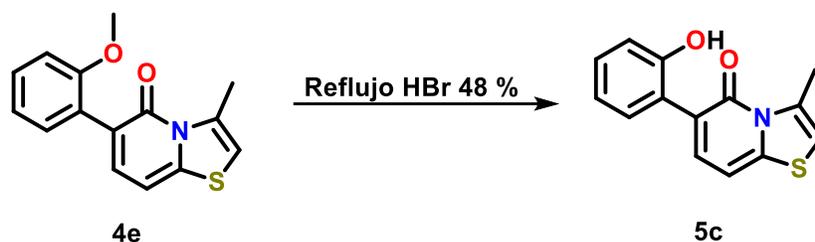
### 4.3 Obtención de la 6-(2-hidroxifenil)-3-metil-5H-tiazolo[3,2-a]piridin-5-ona.

Como molécula objetivo final, se planteó también la obtención de otra sonda fluorescente que incluyera un grupo hidroxilo en su estructura. El compuesto propuesto fue la 6-(2-hidroxifenil)-3-metil-5H-tiazolo[3,2-a]piridin-5-ona (compuesto **5c**), el cual se sintetizó a partir del 6-(2-metoxifenil)-3-metil-5H-tiazolo[3,2-a]piridin-5-ona (**4e**) como se muestra en el Esquema 22. Este precursor fue recientemente sintetizado y caracterizado en nuestro grupo de investigación, por lo que sus condiciones experimentales y rendimientos se resumen en el Esquema 21.<sup>85</sup>



Esquema 21 Resumen del método de síntesis y rendimientos para la obtención del precursor sintético utilizado.

En este trabajo, la transformación del grupo metoxilo a hidroxilo se llevó a cabo mediante un proceso de desmetilación selectiva, obteniéndose el producto final con rendimientos satisfactorios.



Esquema 22 Reacción de desmetilación para la obtención del compuesto **5c**.

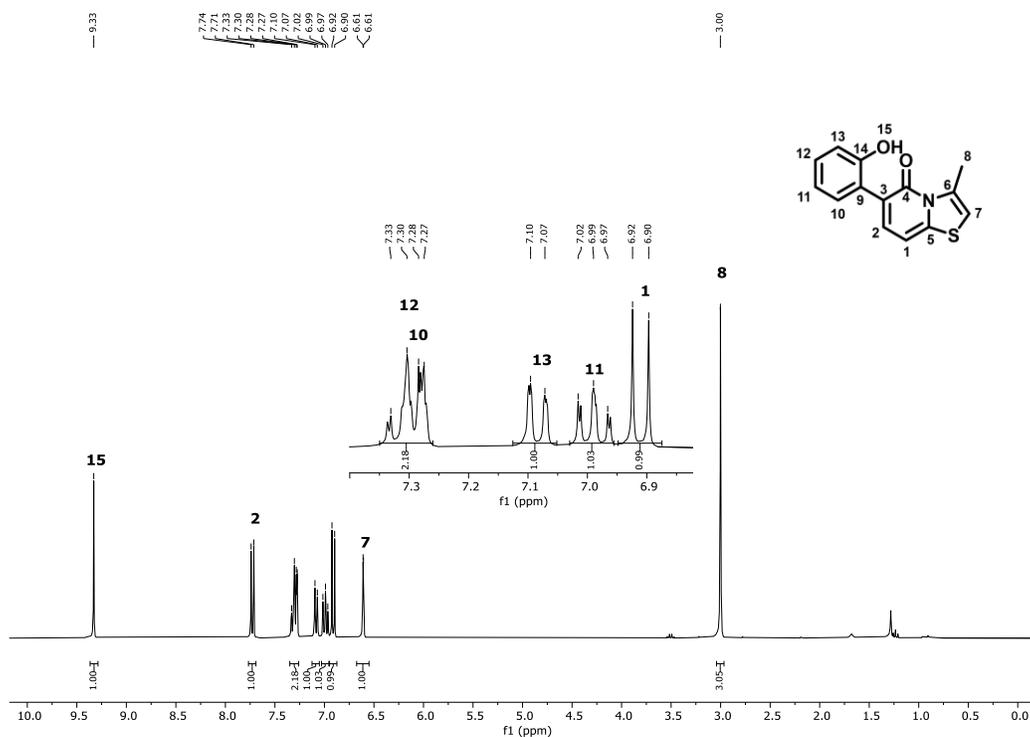
<sup>85</sup> I. García-Aguilar, Síntesis y propiedades ópticas de 3-metil-5H-tiazolopiridinonas, Tesis de Licenciatura. UNAM, 2023.

**Tabla 21** Rendimientos obtenidos en la reacción de desmetilación del compuesto **4e**.

Ensayo	mmol de <b>4e</b>	HBr 48 % (mL)	Tiempo	% Rendimiento
1	0.1843	5	4	-
2	0.1843	5	6	10
3	0.1843	5	8	32
4	0.1843	5	8	84

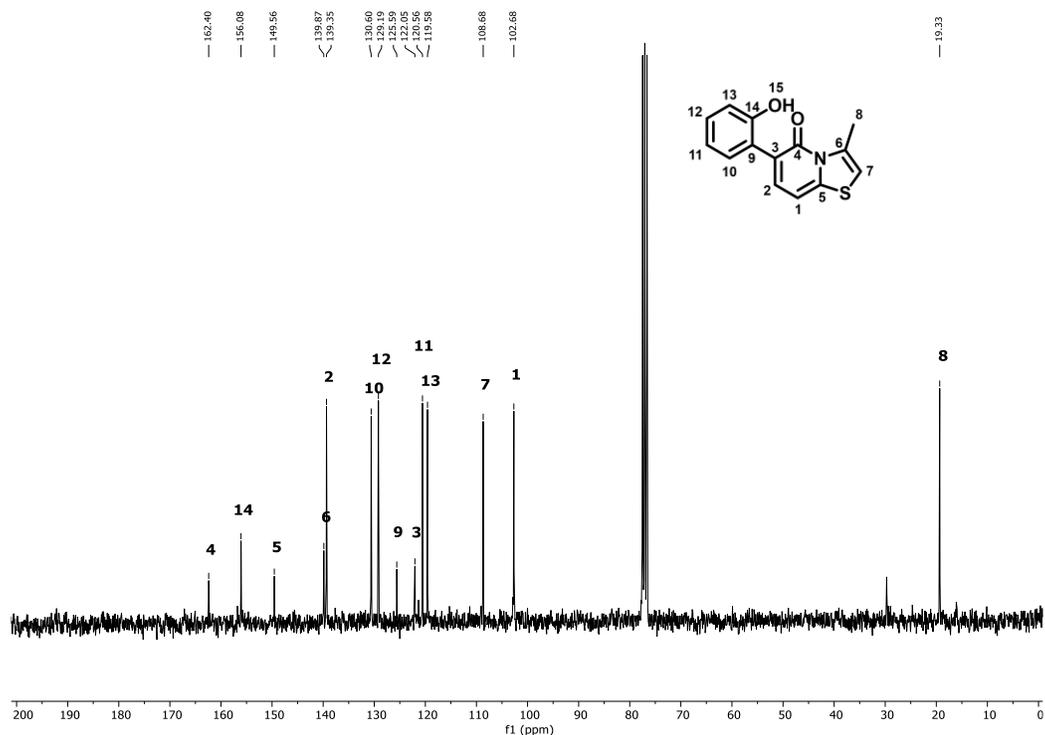
Luego de varios intentos, como se muestra en la **Tabla 21**, el compuesto **5c** fue exitosamente obtenido en un rendimiento máximo del 84%. Este fue completamente caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR y EM. A continuación, se muestran los espectros de RMN obtenidos.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Espectro 28) se observa la aparición de una señal simple en 9.33 ppm correspondiente al protón H15 del grupo hidroxilo, muy desplazado debido al puente de hidrógeno formado con el oxígeno del carbonilo. Esta señal confirma la formación del compuesto **5c**, pues no aparece en el precursor **4e**.



Espectro 28 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto **5e**.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Espectro 29) se observan las señales esperadas para el compuesto **5e**, destacando la señal en 162.4 ppm correspondiente al carbono C14, desplazada debido al efecto del oxígeno del grupo hidroxilo. También destaca la señal en 19.3 ppm correspondiente al carbono del metilo unido al heterociclo.



Espectro 29 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto **5e**.

## CAPÍTULO 5. ESTUDIO DE RESPUESTA ÓPTICA

La caracterización óptica es fundamental en el desarrollo de sondas fluorescentes, ya que permite evaluar su capacidad de detectar y responder ante estímulos específicos, como la presencia de iones metálicos o cambios en el entorno químico. Los estudios de absorción en el espectro UV-Visible y de emisión fluorescente proporcionan información sobre la sensibilidad de la sonda y su potencial aplicabilidad en diferentes medios. Estas propiedades son importantes, pues sirven para diseñar sondas que puedan funcionar en condiciones biológicas, ambientales, etc.

En este capítulo se presentan los resultados de la caracterización óptica de los compuestos fluorescentes sintetizados. Para ello, se evaluaron sus propiedades espectroscópicas mediante estudios de absorción UV-Visible y emisión de fluorescencia, lo que permitió determinar características como las longitudes de onda máximas de absorción y emisión, los desplazamientos de Stokes y los rendimientos cuánticos. A través de estos estudios, se pudo establecer la relación entre la respuesta óptica de las sondas en función de su estructura molecular y el entorno químico. El estudio se realizó para los compuestos mostrados en la Figura 46.

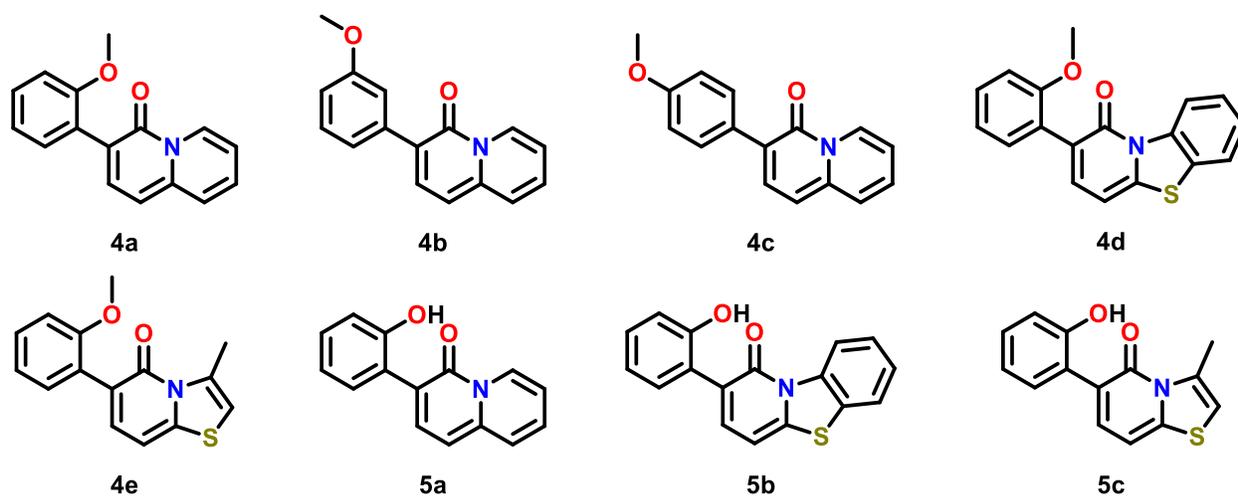


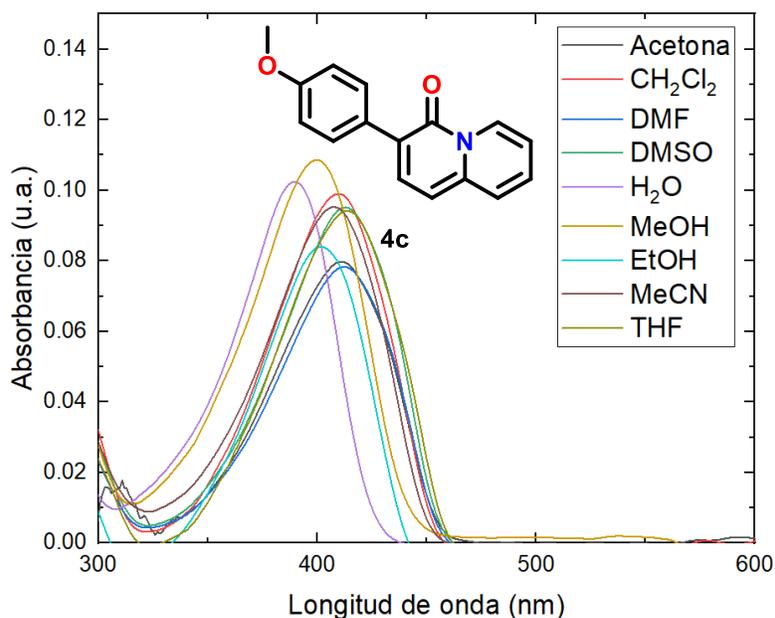
Figura 46 Estructura de los compuestos a estudiar como sondas fluorescentes.

## 5.1 Caracterización óptica mediante espectroscopía UV-Visible y de fluorescencia

### 5.1.1 Barrido de disolventes

En primer lugar, se llevó a cabo un estudio preliminar evaluando el efecto de diferentes disolventes sobre las propiedades ópticas de las sondas fluorescentes sintetizadas. Este análisis tuvo como objetivo identificar el medio que favoreciera una mayor fluorescencia, así como investigar la influencia del entorno en las propiedades de absorción UV-Visible, incluyendo posibles desplazamientos de los máximos de absorción y emisión, así como variaciones en la intensidad de señal. Para ello, se registraron los espectros de absorción y emisión de cada compuesto en una serie de disolventes con diferente polaridad, tales como DMSO, etanol, acetonitrilo y agua.

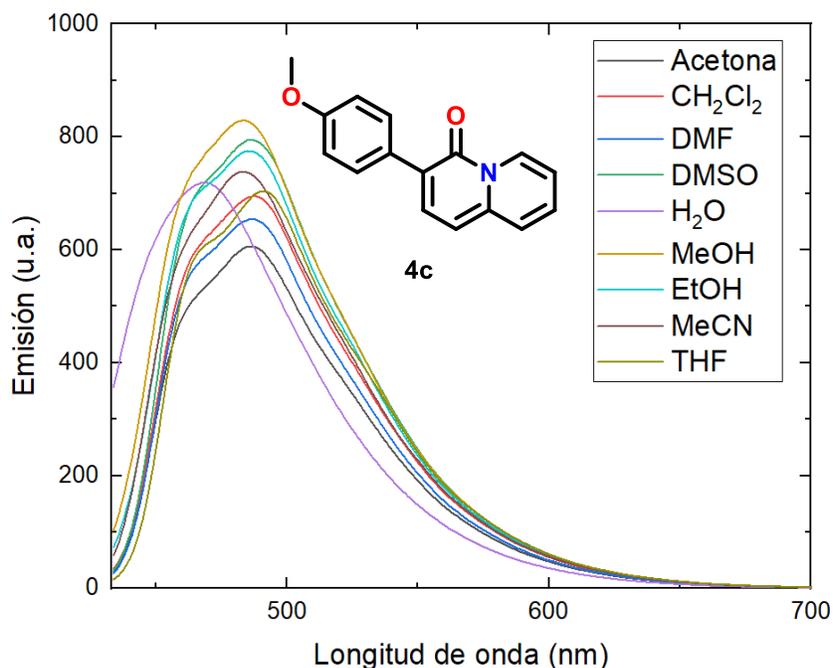
A continuación, se muestran los espectros de absorción y emisión del compuesto **4c**. En los espectros de absorbancia de la Gráfica 1, se observa una influencia notable del tipo de disolvente en los desplazamientos de longitud de onda máxima de absorción y variaciones en la intensidad de absorbancia.



Gráfica 1 Espectros de absorción del compuesto **4c** en distintos disolventes ( $5 \times 10^{-6}$  M).

Mientras que, en los espectros de emisión mostrados en la Gráfica 2 se observaron cambios menos significativos. Esto se debe a que el proceso de absorción está influenciado por la interacción entre el estado basal de la molécula y el entorno del disolvente. En disolventes con diferente polaridad la interacción con los estados electrónicos iniciales puede provocar

corrimientos batocrómicos o hipsocrómicos en la absorción. Sin embargo, se observa una disminución en los cambios de los espectros de emisión al modificar el disolvente. Una explicación a esto puede ser debido a la rigidez de las sonda fluorescente, que tienen un núcleo de 4*H*-quinolizina-4-ona muy conjugado, lo que limita las reorganizaciones estructurales y reduce la sensibilidad de los estados excitados a la polaridad del medio.<sup>86</sup>



Gráfica 2 Espectros de emisión del compuesto **4c** en distintos disolventes ( $5 \times 10^{-6}$  M,  $\lambda_{ex}=402$  nm).

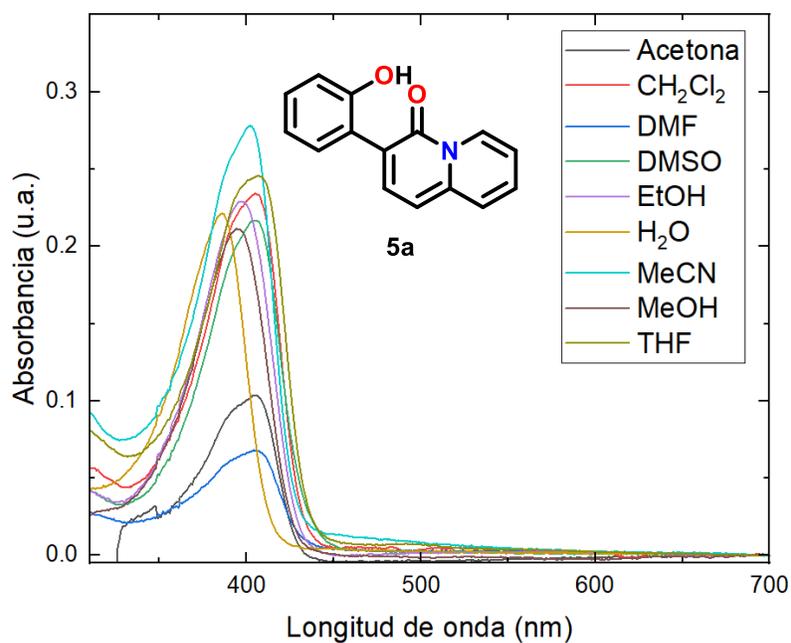
Este comportamiento también se observó en todos los compuestos sintetizados que cuentan con un fragmento metoxilo (**4a**, **4b**, **4d** y **4e**), lo que sugiere que la presencia de este grupo funcional no induce cambios significativos en la interacción del estado excitado con el medio y la rigidez estructural de los heterociclos ayuda a disminuir el efecto del disolvente en las propiedades de fluorescencia.

El análisis de los espectros de absorción de los compuestos **5a**, **5b** y **5c** (*Gráficas 3, 5 y 7 respectivamente*) en distintos disolventes reveló una variación mínima en la posición del máximo de absorción, con desplazamientos no mayores a 20 nm entre los distintos disolventes evaluados.

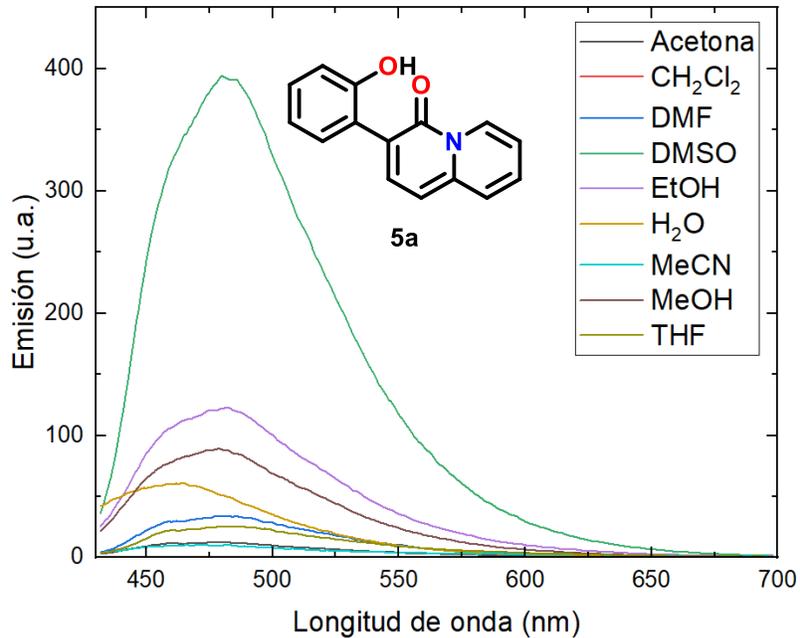
Este comportamiento sugiere que la naturaleza electrónica de los compuestos **5a**, **5b** y **5c** no se ve fuertemente afectada por la polaridad o las propiedades dieléctricas de los disolventes

<sup>86</sup> a) X. Huo, H. Shen, R. Liu and J. Shao, *ACS Omega* **2021**, *6*, 26499–26508, b) I. Ghosh, A. Mukhopadhyay, A. L. Koner, S. Subhas, W. M. Nau and J. Narasimha, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, *16*, 16436-16445

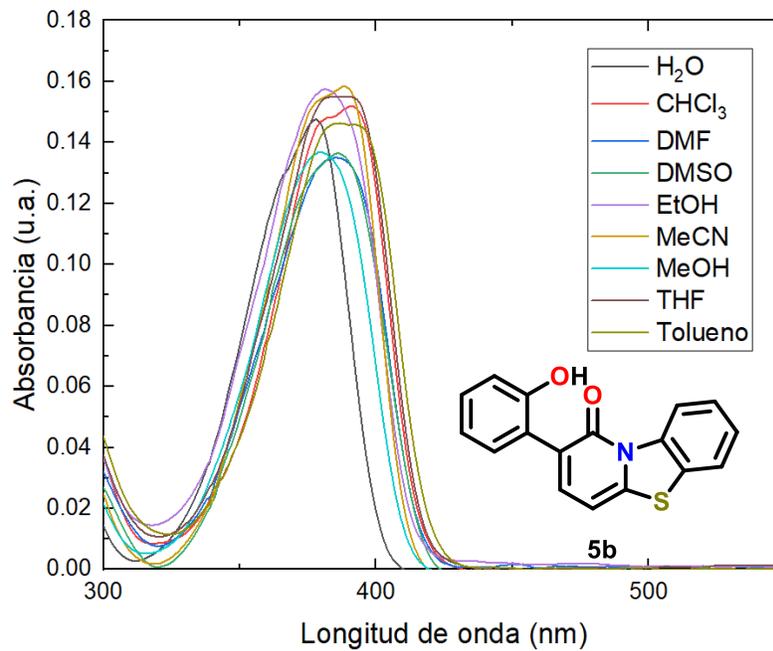
empleados, lo que indica la presencia de sistemas relativamente rígidos y poco sensibles al entorno químico.



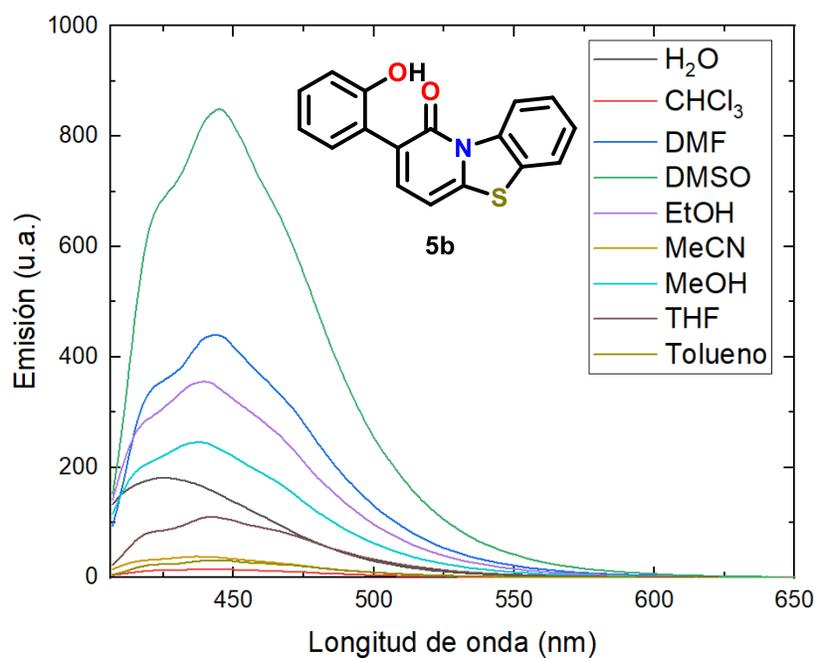
Gráfica 3 Espectros de absorción del compuesto **5a** en distintos disolventes ( $1 \times 10^{-5}$  M).



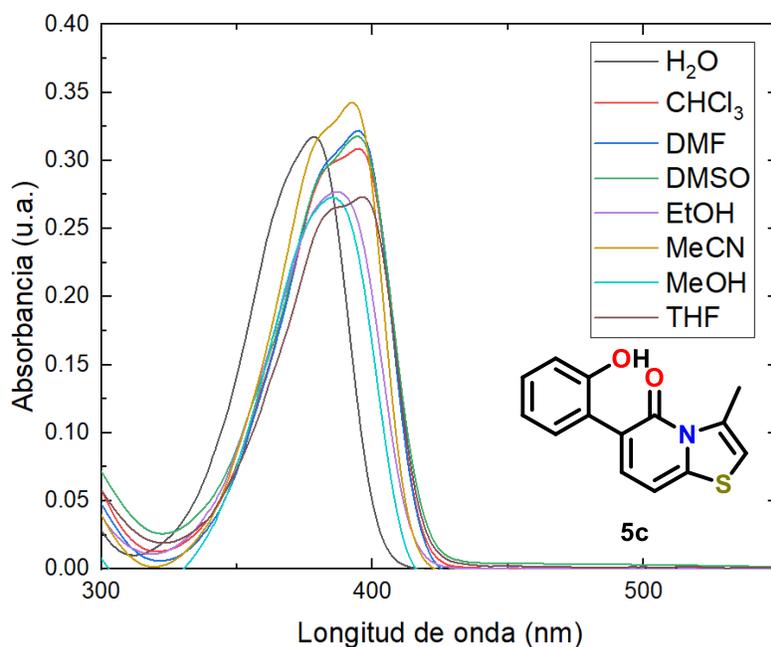
Gráfica 4 Espectros de emisión del compuesto **5a** en distintos disolventes ( $1 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{ex}=402$  nm).



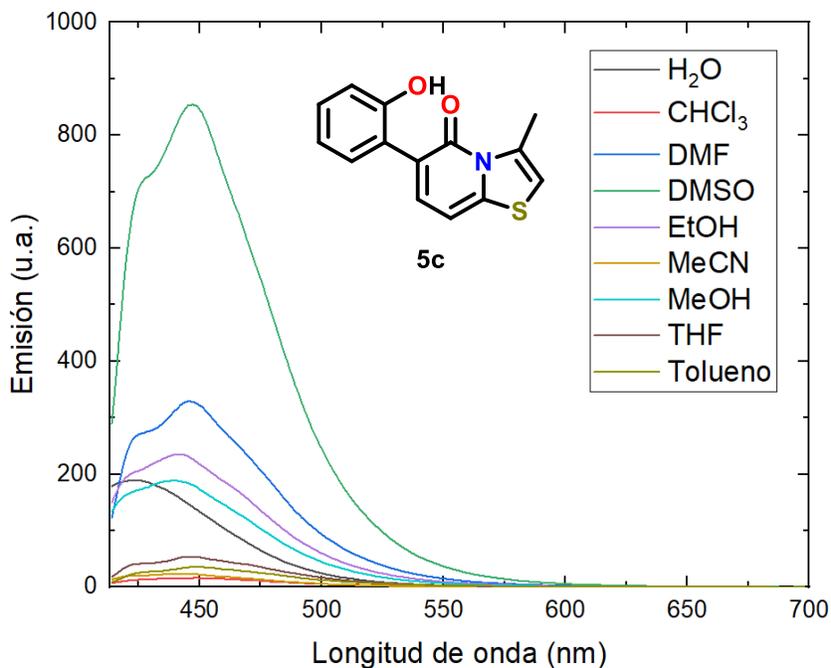
Gráfica 5 Espectros de absorción del compuesto **5b** en distintos disolventes ( $7.5 \times 10^{-6}$  M).



Gráfica 6 Espectros de emisión del compuesto **5b** en distintos disolventes ( $7.5 \times 10^{-6}$  M,  $\lambda_{ex}=385$  nm)



Gráfica 7 Espectros de absorción del compuesto **5c** en distintos disolventes ( $1.5 \times 10^{-5}$  M).



Gráfica 8 Espectros de emisión del compuesto **5c** en distintos disolventes ( $1.5 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{ex}=392$  nm)

Sin embargo, al analizar los espectros de emisión de los compuestos **5a**, **5b** y **5c** (Gráficas 4, 6 y 8, respectivamente), se observó una variación significativa en la intensidad de fluorescencia en función del disolvente utilizado. En particular, se nota que disolventes como acetonitrilo (MeCN) y cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) reducen drásticamente la fluorescencia, mientras que en disolventes como etanol (EtOH) la emisión es considerablemente mayor.

Además, en DMSO, se observa el aumento más notable en la fluorescencia, en comparación con los demás disolventes evaluados.

Una posible explicación para la disminución de la fluorescencia en ciertos disolventes es el fenómeno conocido como apagamiento por agregación (Aggregation-Caused Quenching, ACQ).<sup>87</sup> Este comportamiento se pudo observar en el compuesto **5a** disuelto en DMSO, donde, al hacer un barrido de concentraciones, se observó una disminución en la intensidad de fluorescencia al aumentar la concentración más allá de  $5 \times 10^{-5}$  M. Este comportamiento sugiere que, a concentraciones elevadas, el compuesto tiende a formar agregados moleculares que facilitan procesos de desactivación no radiativa. Sin embargo, este efecto parece estar relacionado específicamente con la concentración y no con el tipo de disolvente, ya que, en otros medios, tanto polares como no polares, la fluorescencia fue baja incluso a bajas concentraciones, lo que indica la influencia de otros factores, como la solubilidad o la viscosidad.

Este comportamiento tampoco se relaciona claramente con la polaridad del disolvente, ya que no se sigue una tendencia con este parámetro. Sin embargo, la viscosidad del disolvente parece ser un parámetro clave. En este caso, la mayor viscosidad del DMSO podría reducir la movilidad molecular del fluoróforo, minimizando los procesos de desactivación no radiativa y favoreciendo una emisión fluorescente más intensa (**Tabla 22**).

**Tabla 22** Viscosidad de distintos disolventes en mPas (cP).<sup>88</sup>

Disolvente	Viscosidad (cP)
DMSO	1.99
Etanol	1.074
Agua	0.894
DMF	0.802
CHCl <sub>3</sub>	0.57
THF	0.55
MeOH	0.544
MeCN	0.38
Acetona	0.306

Sin embargo, además de estos efectos fisicoquímicos del entorno, también deben considerarse aspectos particulares de la estructura electrónica de los compuestos estudiados.

<sup>87</sup> Y. Huang, J. Xing, Q. Gong, L. C. Chen, G. Liu, C. Yao, Z. Wang, H. L. Zhang, Z. Chem and Q. Zhang, *Nat Commun.* **2019**, 10, 169

<sup>88</sup> D.R Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 85th ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, **2004**

Particularmente, en los compuestos **5b** y **5c** (Gráfica 6 y Gráfica 8), se observó un hombro a menores longitudes de onda respecto al máximo principal de emisión. Una posible explicación para este fenómeno podría estar relacionada con transiciones vibro-electrónicas adicionales, que puede permitir la aparición de transiciones que normalmente tendrían baja probabilidad, generando así señales secundarias en el espectro.<sup>89</sup>

Este comportamiento ha sido estudiado en otros sistemas moleculares, en el que emplearon cálculos TDDFT combinados con análisis de Franck–Condon para explicar la aparición de hombros en los espectros de absorción y emisión de ciertos colorantes, concluyendo que estos surgen de una combinación de modos vibracionales excitados individualmente, en lugar de un solo modo dominante.<sup>90</sup>

Finalmente, al reflexionar sobre los datos anteriores y considerando que posteriormente se realizaría un estudio de selectividad hacia metales, donde la presencia de agua es esencial para evitar problemas de solubilidad de las sales metálicas, se decidió emplear un sistema binario DMSO:H<sub>2</sub>O como disolvente óptimo.

### 5.1.2 Estudio del sistema de disolventes binario DMSO:H<sub>2</sub>O.

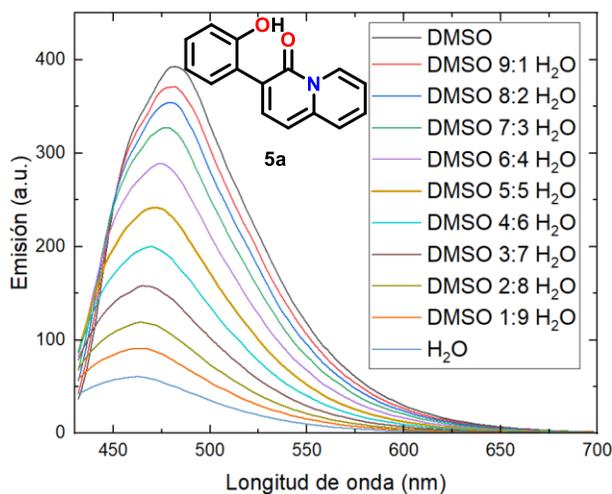
Con base en los resultados obtenidos previamente, se realizó un análisis más detallado del uso de un sistema binario DMSO:H<sub>2</sub>O como disolvente para las mediciones posteriores de UV-visible y fluorescencia. Este estudio se realizó específicamente para los compuestos **5a**, **5b** y **5c**, ya que fueron los tres compuestos en los que se observó una variación importante en la fluorescencia dependiente del disolvente.

Las Gráficas 9 a 11 muestran la evolución de la intensidad de emisión al modificar los porcentaje de DMSO y agua para los compuestos **5a**, **5b** y **5c**, lo que permitió seleccionar las condiciones óptimas para su evaluación espectroscópica.

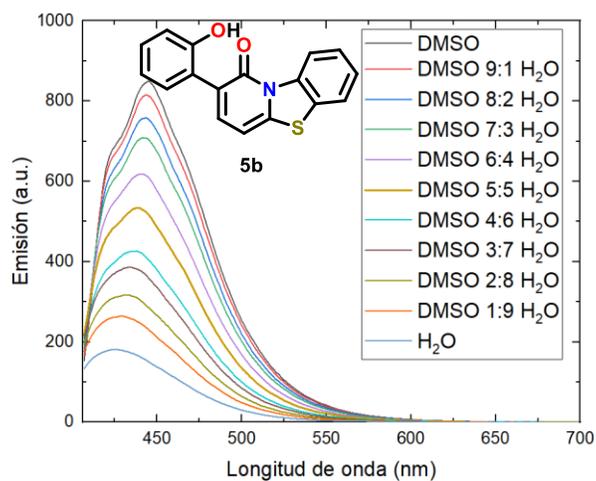
---

<sup>89</sup> J. M. Hollas, *Modern Spectroscopy*, 4th ed.; Wiley: Chichester, **2004**.

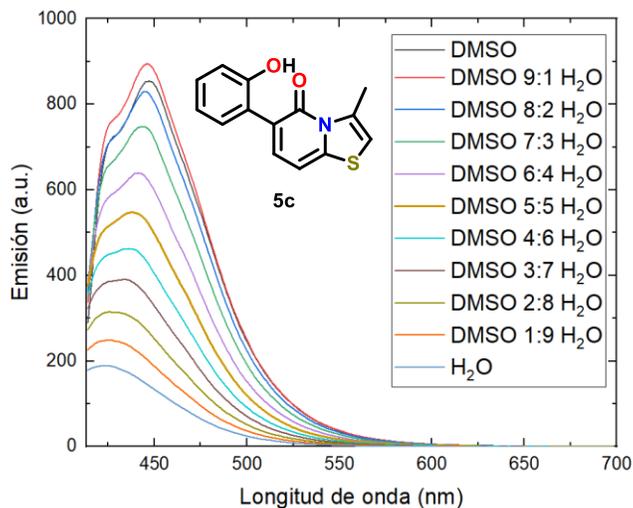
<sup>90</sup> J. D. Alia and J. A. Flack, *RSC Adv.*, **2020**, *10*, 43153-43167



Gráfica 9 Espectro de fluorescencia de **5a** en mezclas DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 ( $2.02 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{ex}=390$  nm)



Gráfica 10 Espectro de fluorescencia del compuesto **5b** en mezclas DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 ( $7.5 \times 10^{-6}$  M,  $\lambda_{ex}=385$  nm)



Gráfica 11 Espectro de fluorescencia del compuesto **5c** en mezclas DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 ( $5 \times 10^{-6}$  M,  $\lambda_{ex}=392$  nm)

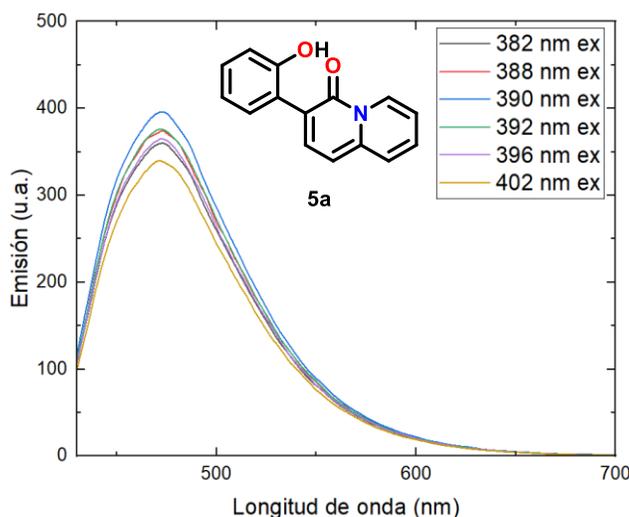
De las gráficas anteriormente mostradas, cabe destacar que la fluorescencia disminuye de manera considerable en agua, probablemente debido a efectos de agregación o desactivación no radiativa del estado excitado. Por esta razón, se seleccionó el sistema binario DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 como medio óptimo para los estudios de fluorescencia, ya que esta proporción permitió mantener un equilibrio adecuado entre una señal fluorescente intensa y la solubilidad requerida para la evaluación espectroscópica en presencia de especies metálicas en estudios posteriores.

### 5.1.3 Determinación de la longitud de onda de excitación óptima en el sistema DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1

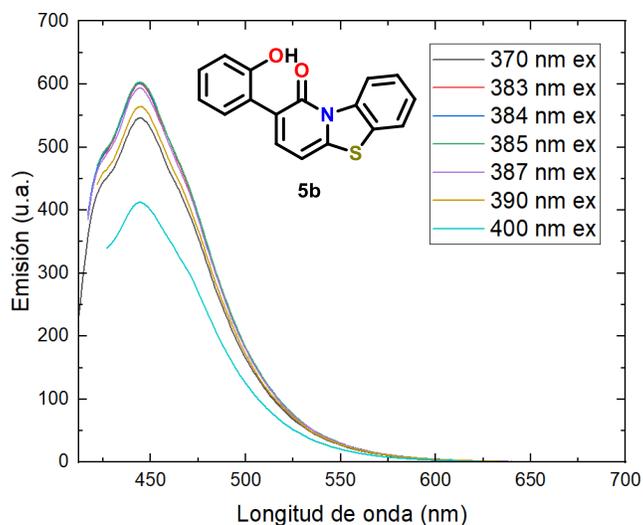
Una vez seleccionado el sistema binario DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 como medio óptimo para las mediciones de fluorescencia, se procedió a determinar la longitud de onda de excitación más adecuada para cada compuesto en estas condiciones. Para ello, se utilizaron los espectros de absorción UV-Vis de cada sonda, obtenidos previamente en el mismo sistema de disolventes, a partir de los cuales se identificaron las bandas de absorción más intensas.

Posteriormente, se realizaron barridos de excitación en un rango de  $\pm 20$  nm alrededor del máximo de absorción de cada compuesto, registrando la intensidad de emisión a una longitud de onda cercana al máximo estimado del espectro de emisión.

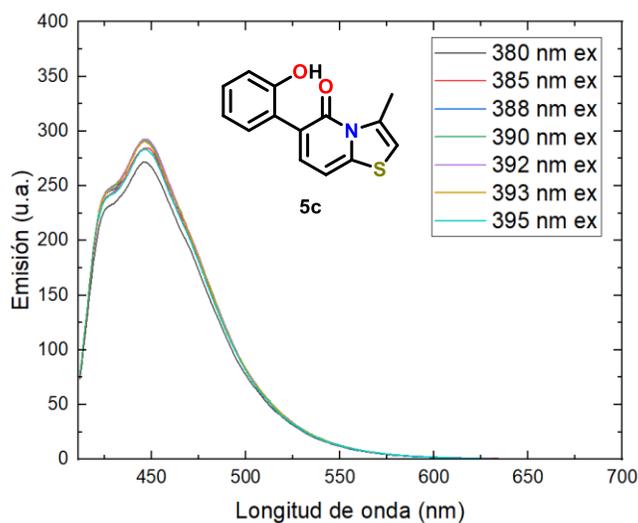
A continuación, se presentan algunas gráficas representativas de esta exploración (Gráficas 12-14), así como una tabla comparativa que resume los valores de longitud de onda máxima de absorción y la longitud de onda de excitación óptima determinada para cada compuesto en el sistema DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.



Gráfica 12 Respuesta fluorescente de la sonda **5a** en función de la longitud de onda de excitación (DMSO: H<sub>2</sub>O 1:1)



Gráfica 13 Respuesta fluorescente de la sonda **5b** en función de la longitud de onda de excitación (DMSO: H<sub>2</sub>O 1:1)



Gráfica 14 Respuesta fluorescente de la sonda **5c** en función de la longitud de onda de excitación (DMSO: H<sub>2</sub>O 1:1)

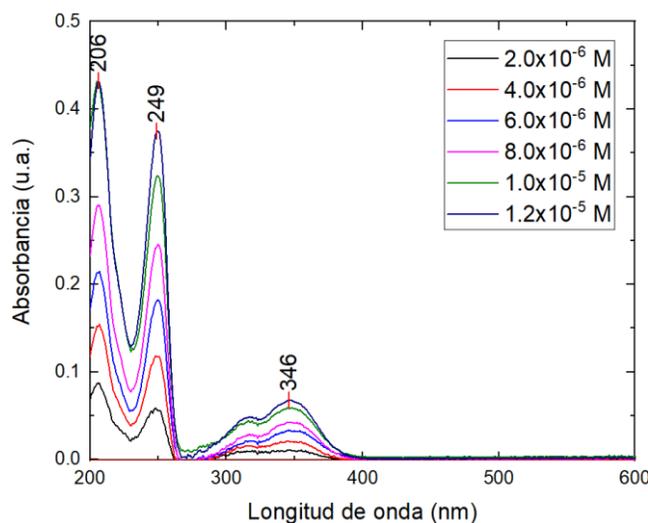
Aunque en los datos obtenidos en la **Tabla 23** se observa una variación entre  $\lambda_{\text{abs}}$  máxima y  $\lambda_{\text{ex}}$  con mejor respuesta de fluorescencia, esta diferencia es lo suficientemente pequeña como para considerar que los valores de absorción pueden predecir con muy buena exactitud las condiciones de excitación óptimas para la mayoría de los compuestos evaluados. Esta consistencia facilita la selección de las condiciones experimentales para futuras mediciones de fluorescencia para compuestos análogos.

**Tabla 23** Comparación de la longitud de onda máxima de absorción ( $\lambda_{\text{abs}}$ ) y longitud de onda de excitación óptima en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.

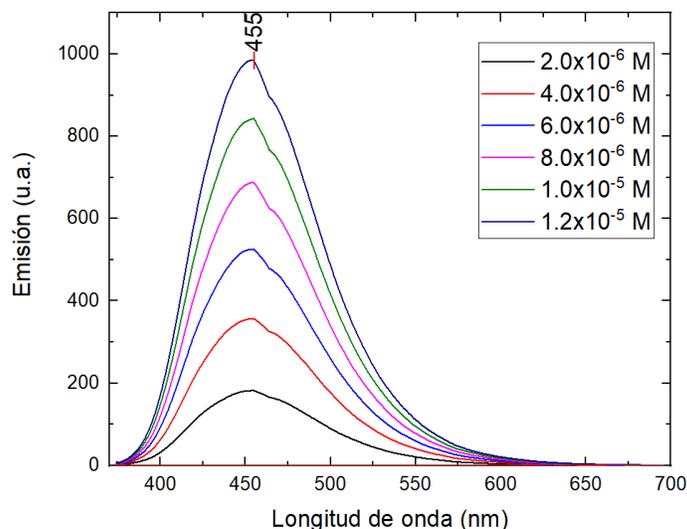
Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{ex}}$ en DMSO:H <sub>2</sub> O 1:1 (nm)
4a	390	402
4b	403	402
4c	401	402
4d	377	385
5a	395	390
5b	382	385
5c	388	392

## 5.2 Determinación de los rendimientos cuánticos

Como se mencionó en los antecedentes, en este trabajo se usó el método comparativo para calcular los rendimientos cuánticos de fluorescencia ( $\Phi$ ). Como primer paso, fue necesario calcular el valor de pendiente  $m$  de la muestra de referencia (Página 16, Ecuación (2)). Para llevar a cabo esto, se obtuvieron los espectros de absorción (Gráfica 15) y emisión (Gráfica 16) de la muestra de sulfato de quinina diluida.



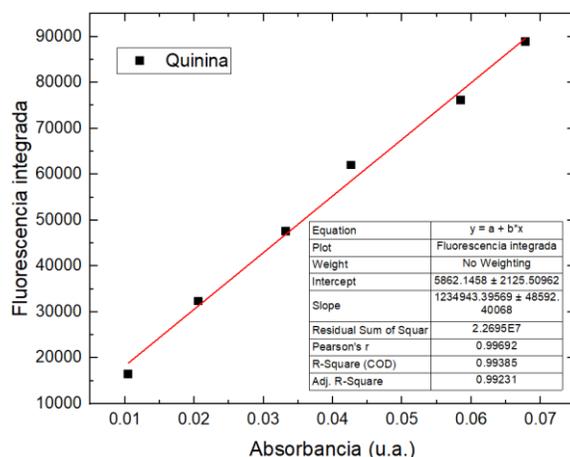
Gráfica 15 Espectros de absorción del sulfato de quinina disuelto en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1M a distintas concentraciones.



Gráfica 16 Espectros de emisión del sulfato de quinina disuelto en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1M a distintas concentraciones ( $\lambda_{\text{ex}} = 350$  nm).

En las gráficas anteriores se presentan los espectros de absorción y emisión del estándar, mostrando un máximo de absorción a **346 nm** y un máximo de emisión a **455 nm**, valores consistentes con la literatura.

Los espectros anteriores se emplearon para generar una gráfica de fluorescencia integrada (área bajo la curva de cada espectro de fluorescencia) frente a la absorbancia en diferentes concentraciones, como se muestra en la Gráfica 17. La relación lineal observada confirma la validez del método y asegura la precisión de las mediciones posteriores.



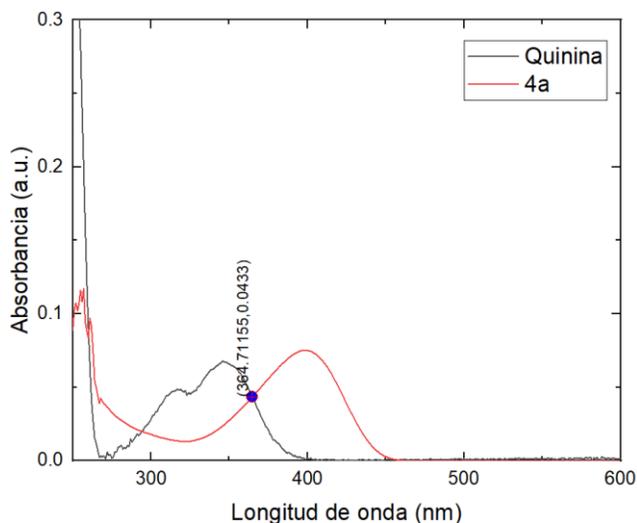
Gráfica 17 Área bajo la curva de los espectros de emisión vs máximos de absorción a 346 nm para el sulfato de quinina.

Con esta última gráfica fue posible obtener el valor de  $m_{ref}$ , el cual fue de 1234940, por lo que en este punto se contaba con los elementos necesarios para obtener los rendimientos cuánticos de fluorescencia de las sondas fluorescentes sintetizadas en este trabajo.

### 5.2.1 Espectros de absorción y emisión de los compuestos sintetizados

El siguiente paso consistió en obtención de los espectros de absorción y emisión de los compuestos sintetizados usando el sistema DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 en las condiciones adecuadas para poder usar el método comparativo. Estas condiciones consistieron en lo siguiente:

En primer lugar, se obtuvo el espectro de absorción de cada compuesto, ajustando las condiciones para lograr una intensidad comparable a la del estándar. A manera de ejemplo, en la Gráfica 18 se presenta la comparación entre el espectro de absorción del estándar y el correspondiente al compuesto **4a**.

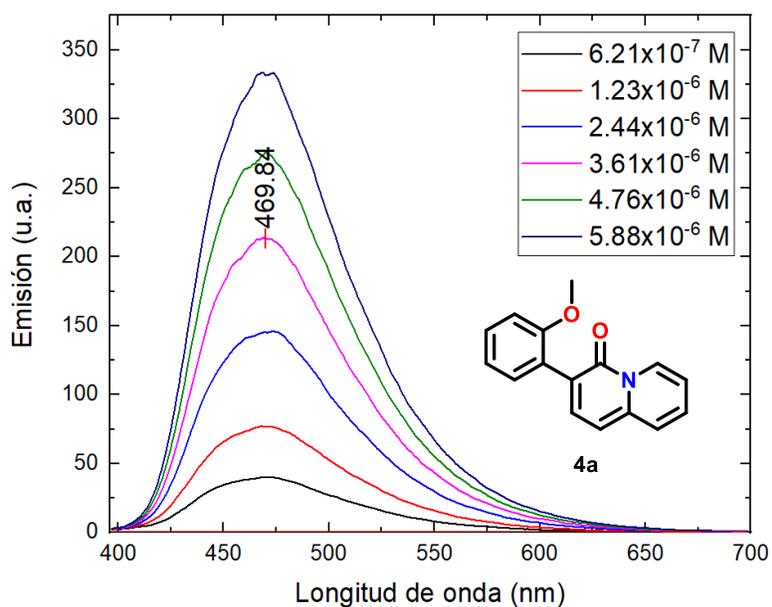
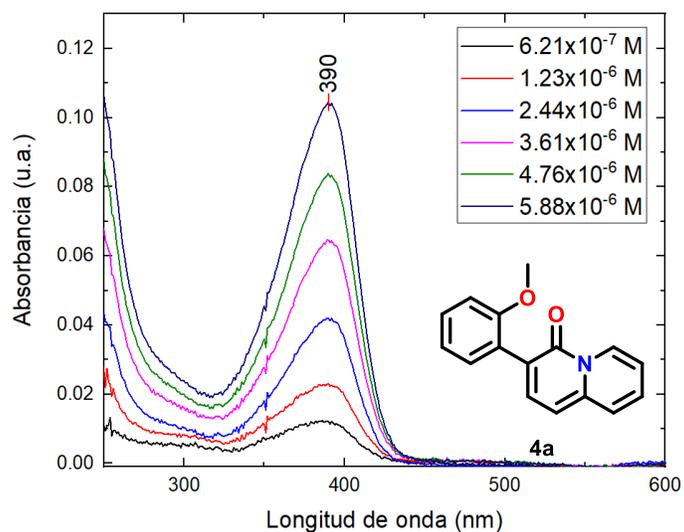


Gráfica 18 Comparación de los espectros de absorción del sulfato de quinina y del compuesto **4a**, marcando el punto de intersección de ambos espectros.

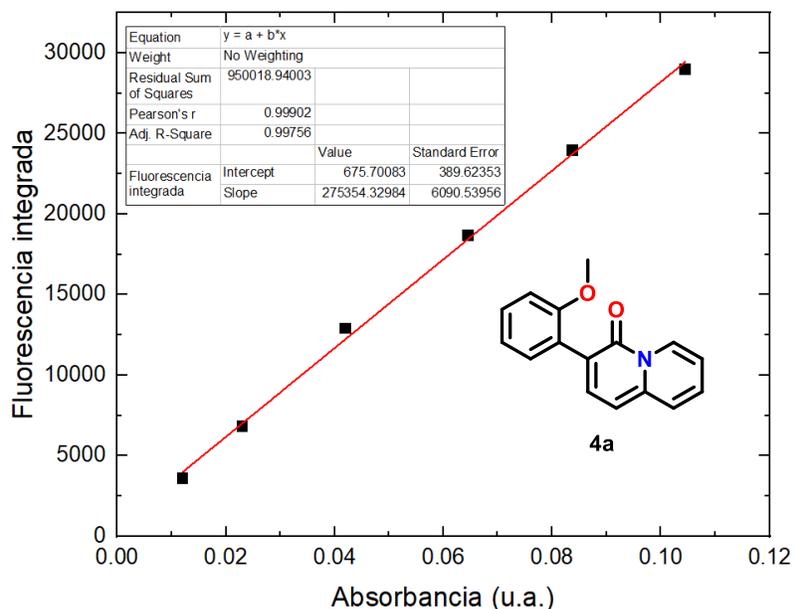
Esto se realizó con el propósito de identificar un punto de intersección entre los espectros de absorción de la referencia y la muestra, ya que en este punto la energía absorbida por ambos se iguala. La longitud de onda correspondiente a este punto de intersección se utilizó como la longitud de onda de excitación para la obtención de los espectros de emisión del compuesto **4a**.

Una vez determinadas las longitudes de onda de excitación adecuadas para cada sistema, se procedió a obtener los espectros de absorción y emisión de todas las sondas fluorescentes.

Como ejemplo, se muestran las gráficas de absorción y emisión para el compuesto **4a** (Gráfica 19-20) y **5a** (Gráfica 22-23).



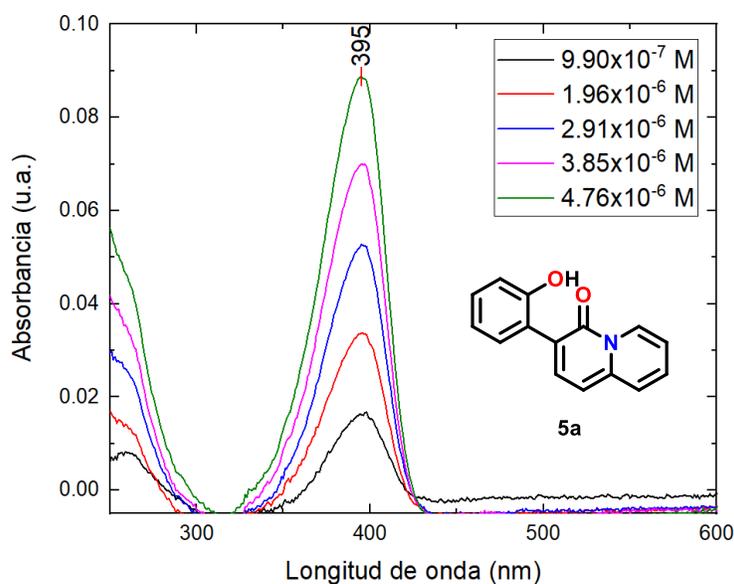
Una vez obtenidos los datos de absorción y emisión, se elaboraron las gráficas que correlacionan el área bajo la curva de emisión (obtenida para cada espectro de fluorescencia) con la absorbancia en el valor máximo observado. Como ejemplo, se muestran las gráficas correspondientes a los compuestos **4a** (Gráfica 21) y **5a** (Gráfica 24).



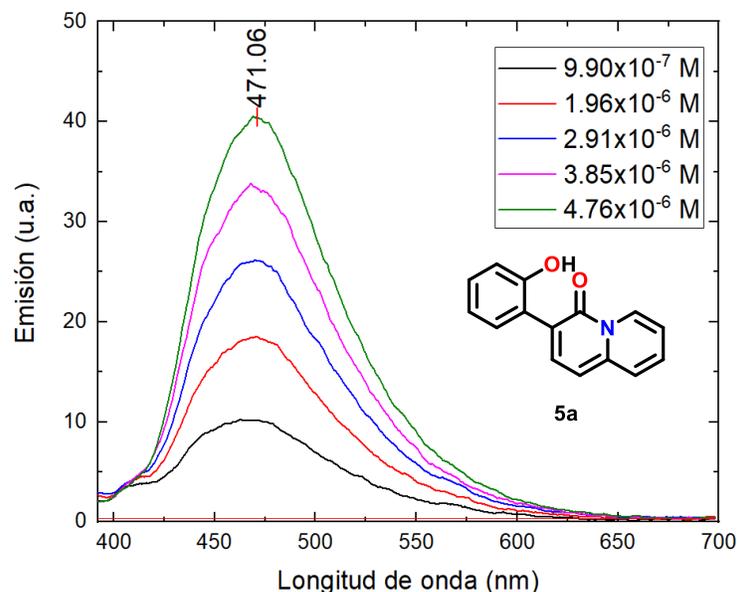
Gráfica 21 Fluorescencia integrada vs absorción máxima para el compuesto **4a**.

El valor de la pendiente obtenida de la Gráfica 21 fue integrada en la ecuación de fluorescencia correspondiente al método comparativo (Página 16, Ecuación (2)), lo que permitió calcular el rendimiento cuántico del compuesto **4a**.

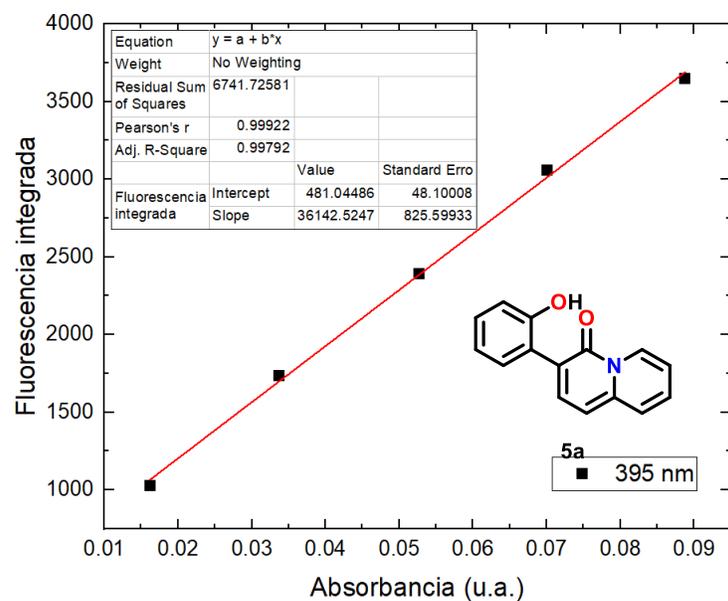
$$\Phi_{4a} = \Phi_{ref} \left( \frac{m_{4a}}{m_{ref}} \right) \left( \frac{n_{4a}}{n_{ref}} \right)^2 = 0.546 \left( \frac{275354}{1234940} \right) \left( \frac{1.407}{1.33} \right)^2 = 0.136$$



Gráfica 22 Espectros de absorción del compuesto **5a** en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 para la determinación del  $\Phi$ .



Gráfica 23 Espectros de emisión ( $\lambda_{ex} = 360 \text{ nm}$ ) del compuesto **5a** en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 para la determinación del  $\Phi$ .



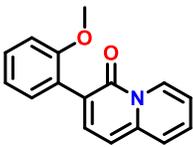
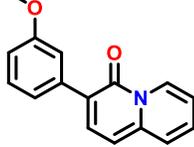
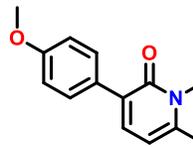
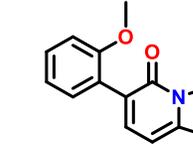
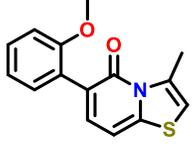
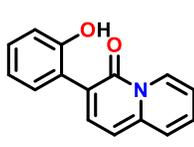
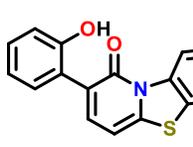
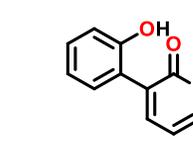
Gráfica 24 Fluorescencia integrada vs absorción máxima para el compuesto **5a**.

El valor de la pendiente obtenida de la Gráfica 24 también fue integrada en la ecuación de fluorescencia correspondiente al método comparativo (Página 16, Ecuación (2)), obteniendo el siguiente rendimiento cuántico para el compuesto **5a**.

$$\Phi_{5a} = \Phi_{ref} \left( \frac{m_{5a}}{m_{ref}} \right) \left( \frac{n_{5a}}{n_{ref}} \right)^2 = 0.546 \left( \frac{36142}{1234940} \right) \left( \frac{1.407}{1.33} \right)^2 = 0.018$$

Este procedimiento se repitió para todas las sondas fluorescentes obtenidas, tratando de mantener las mismas condiciones experimentales para asegurar la comparabilidad de los resultados. Los rendimientos cuánticos calculados se resumen en la Tabla 24, donde se presentan los valores obtenidos para cada compuesto, así como las longitudes de onda de excitación obtenidas por intersección entre las muestras y la referencia (sulfato de quinina).

**Tabla 24** Comparación de las longitudes de onda de absorción, excitación (obtenida por intersección con el compuesto de referencia), emisión y rendimientos cuánticos.

Compuesto	$\lambda_{\text{ex}}$ (nm) por intersección	$\Phi_f$
	364	0.136
	368	0.203
	366	0.23
	358	0.708
	365	0.211
	360	0.018
	362	0.16
	370	0.053

Al analizar con detenimiento los rendimientos cuánticos obtenidos, se observa una diferencia muy marcada entre los compuestos que tienen un grupo metoxilo (**4a**, **4b**, **4c**, **4d** y **4e**, **Tabla 24**), los cuales presentan una fluorescencia mayor en comparación con aquellos que poseen un grupo hidroxilo como sustituyente (**5a**, **5b** y **5c**, **Tabla 24**).

Una posible explicación a esto se debe a la formación de un puente de hidrógeno intramolecular. En el caso de los compuestos con el grupo hidroxilo en posición *orto* del anillo bencénico, el enlace de hidrógeno intramolecular restringe la movilidad del anillo fenilo respecto a la 4*H*-quinolizin-4-ona, posiblemente limitando la deslocalización electrónica entre ambos sistemas aromáticos, como se muestra en la Figura 47. Esto puede reducir la eficiencia de la fluorescencia, ya que la molécula pierde capacidad para estabilizar su estado excitado.



Figura 47 Restricción conformacional inducida por puente de hidrógeno en sondas fluorescentes.

Por otro lado, los compuestos que presentan un grupo metoxilo en la posición *orto* no forman enlaces de hidrógeno intramoleculares, lo que evita restricciones estructurales entre el anillo fenilo y el sistema de la 4*H*-quinolizin-4-ona. Esta mayor libertad rotacional permite un acoplamiento electrónico más eficiente entre ambos fragmentos aromáticos, favoreciendo la deslocalización del sistema  $\pi$ . Una mayor deslocalización electrónica facilita la estabilización del estado excitado, lo que reduce la probabilidad de desactivación no radiativa, incrementando el rendimiento cuántico de fluorescencia.

Otros tipos de compuestos que presentan una variación importante en los rendimientos cuánticos de fluorescencia son aquellos cuyo núcleo es diferente de 4*H*-quinolizin-4-ona. En la Figura 48 se muestran los compuestos ordenados de forma horizontal por tipo de heterociclo. Al comparar los compuestos **4a**, **4d** y **4e** (sondas con un grupo metoxilo como sustituyente) con los compuestos **5a**, **5b** y **5c** (sondas con un grupo hidroxilo como sustituyente) se observa que los compuestos que incluyen 4*H*-quinolizin-4-ona en su estructura presentan rendimientos cuánticos menores en comparación con aquellos que contienen un átomo de azufre en su estructura.

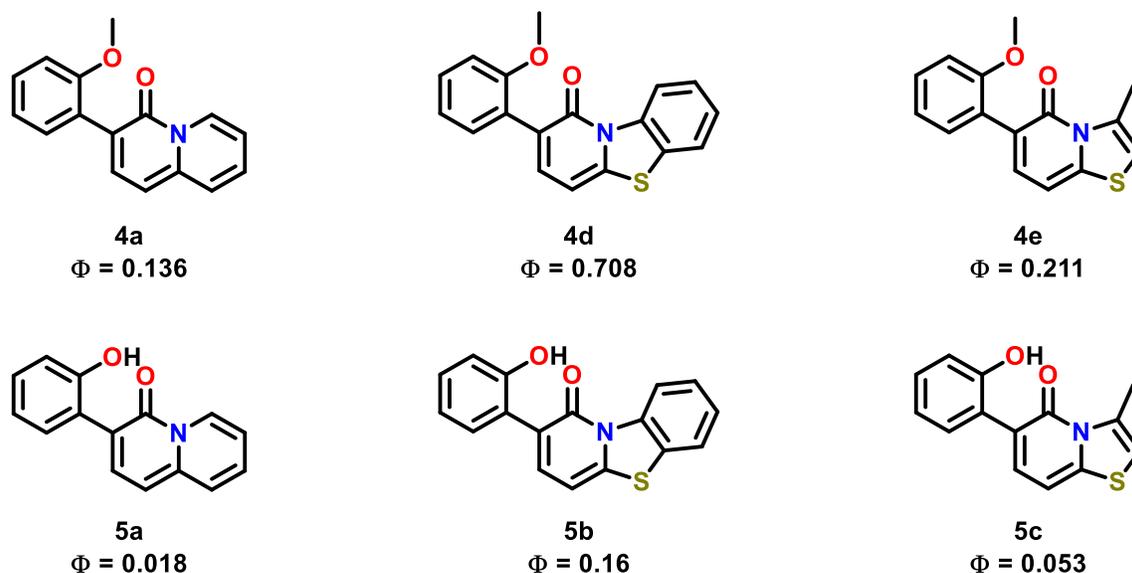


Figura 48 Comparación estructural de los rendimientos cuánticos de fluorescencia en función del núcleo de las sondas fluorescentes.

Esta diferencia puede explicarse por el hecho de que el azufre contribuye a una mayor estabilización del estado excitado, debido a su capacidad para interactuar con los electrones del sistema  $\pi$ -conjugado.<sup>91</sup> Además, el efecto inductivo del átomo de azufre favorece la deslocalización electrónica,<sup>92</sup> lo que refuerza la estabilidad del estado excitado y, en consecuencia, incrementa la probabilidad de emisión de fluorescencia (Figura 49).

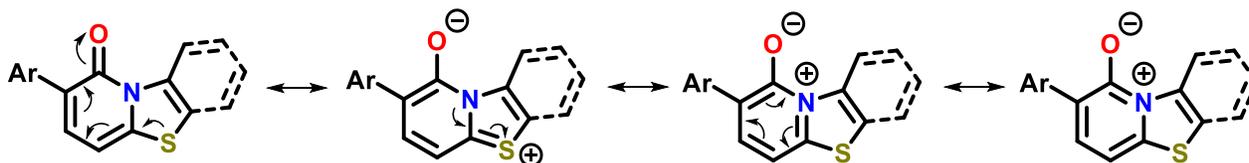


Figura 49 Posibles estructuras resonantes de los heterociclos que presentan un átomo de azufre en su estructura.

Por otro lado, la inclusión del anillo de benceno fusionado al tiazol también introduce rigidez estructural al sistema, lo que reduce las vibraciones y rotaciones que podrían llevar a pérdidas de energía por procesos no radiativos.

### 5.3 Determinación de los desplazamientos de Stokes

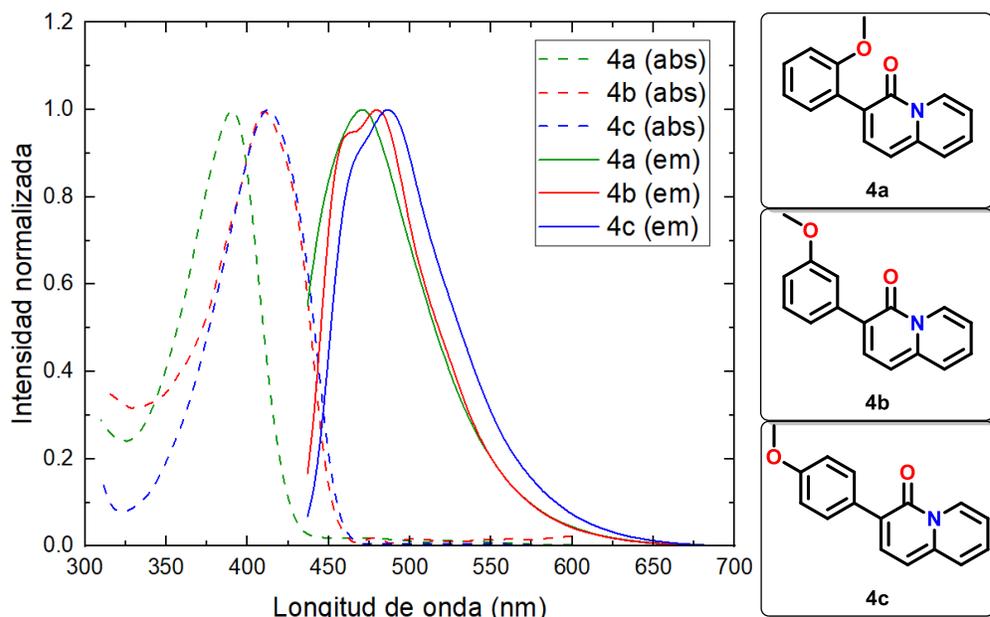
En las Gráficas 25-18 se muestra la comparación de las gráficas de intensidad normalizada de absorción y emisión de las sondas fluorescentes sintetizada en este trabajo.

En el caso de los compuestos **4a**, **4b** y **4c** mostrados en la Gráfica 25, el grupo metoxilo se encuentra en diferentes posiciones del anillo fenilo, lo que afecta la conjugación electrónica con la 4*H*-quinolizina-4-ona y la reorganización estructural tras la excitación.

También se observa que el compuesto **4a**, presenta el mayor desplazamiento de Stokes. Esto puede explicarse debido a que, en el estado basal, la proximidad del oxígeno del metoxilo en posición orto con el oxígeno del carbonilo puede generar una repulsión dipolo-dipolo intramolecular que restringe parcialmente la conjugación electrónica entre el anillo bencénico y la 4*H*-quinolizina-4-ona, teniendo como consecuencia que pasar a un estado excitado requiera de más energía. Esto se observa en el desplazamiento a menores longitudes de onda de su espectro de absorción respecto a los correspondientes a **4b** y **4c**.

<sup>91</sup> J. Yuan, Z. Xu and M. O. Wolf, *Chem. Sci.*, **2022**, 13, 5447-5464.

<sup>92</sup> Y. Pu, Q. Jin, Y. Zhang, C. Li, L. Duan and Y. Wang, *Nat. Commun.* **2025**, 16, 332.



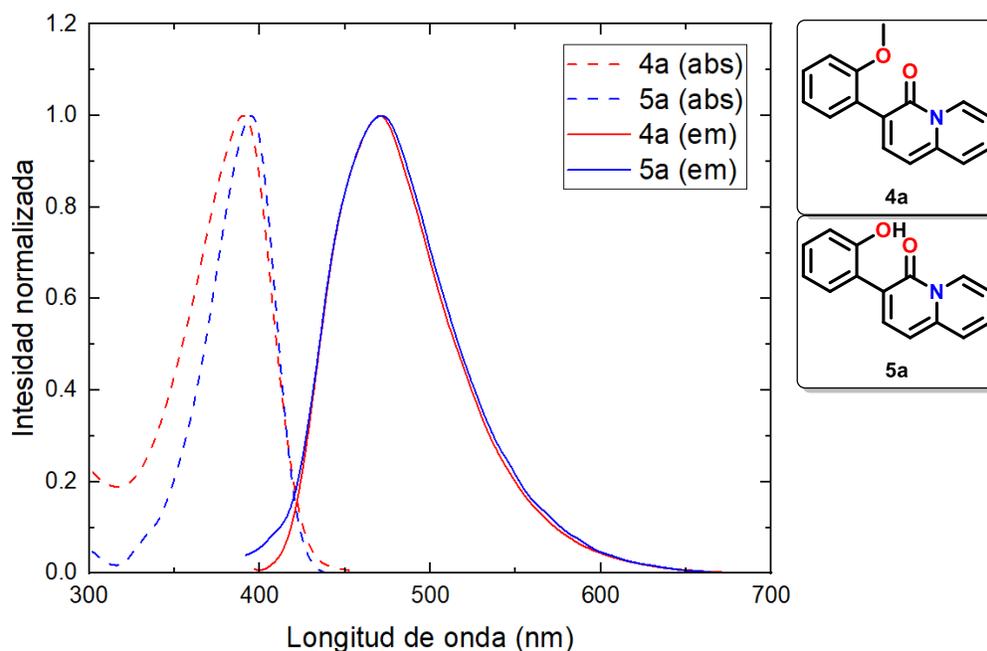
Gráfica 25 Absorción (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) normalizadas de los compuestos **4a**, **4b** y **4c** en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.

Por otro lado, tras la excitación electrónica, la distribución de densidad electrónica cambia, lo que puede debilitar esta interacción intramolecular. Esto se traduce en un mayor cambio conformacional entre los estados fundamental y excitado, aumentando el desplazamiento de Stokes.

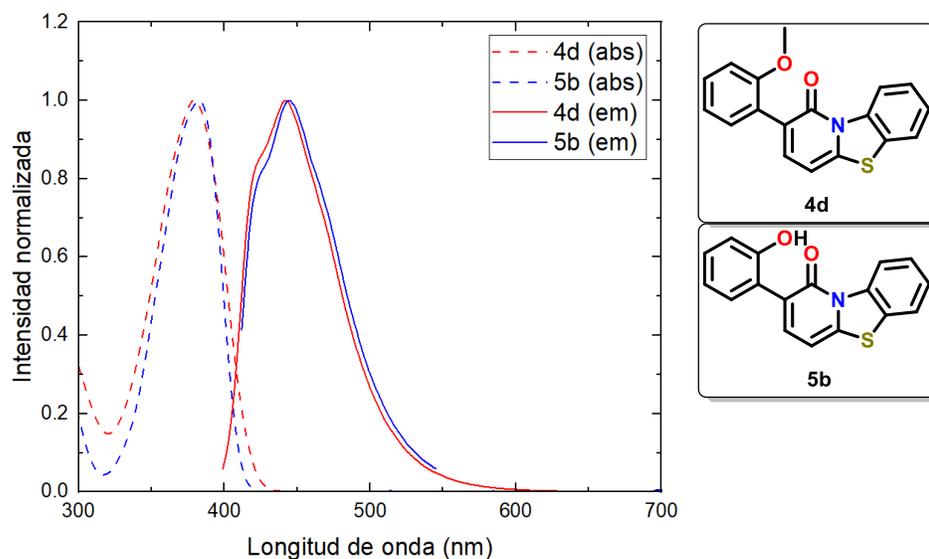
En el caso del compuesto **4b**, éste muestra el menor desplazamiento de Stokes (69 nm), lo que indica una menor reorganización estructural en el estado excitado. Una posible explicación a esto se debe a que el compuesto **4b** tiene el grupo metoxilo en la posición 3 del anillo benzénico. Esto reduce la influencia del efecto de resonancia directa sobre el sistema conjugado, lo que podría limitar la estabilización del estado excitado y resultar en una menor diferencia entre absorción y emisión.

Finalmente, el compuesto **4c**, con el grupo metoxilo en posición 4 del anillo benzénico, presenta un desplazamiento de Stokes de 73 nm, intermedio entre los valores de **4a** y **4b**. En esta posición, el grupo metoxilo ejerce un efecto de donación electrónica por resonancia más eficiente que en **4b**, pero sin los efectos conformacionales observados en **4a**. Esto sugiere que, si bien la posición *para* favorece una mayor deslocalización electrónica en comparación con la posición *meta*, el sistema aún no alcanza el mismo nivel de reorganización estructural que en **4a**.

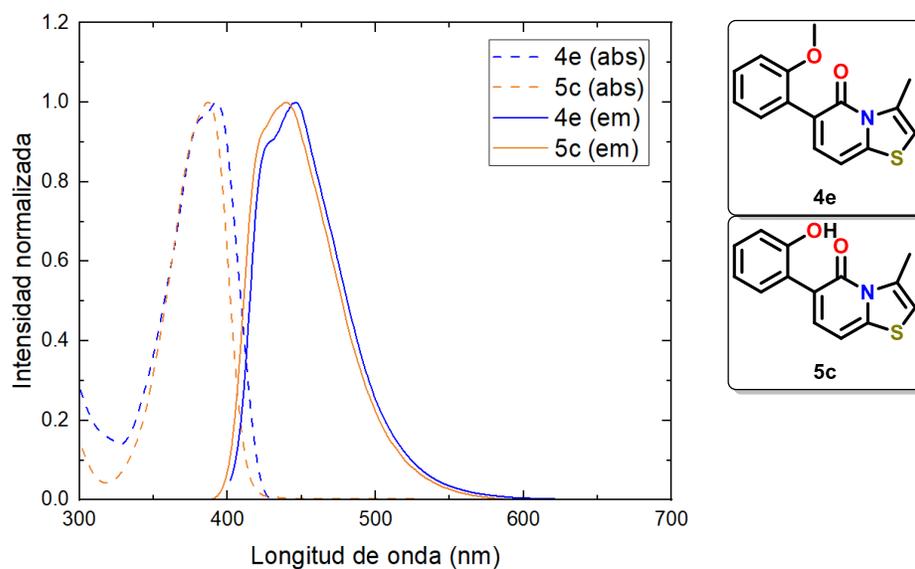
Al analizar los espectros de absorción y emisión de los compuestos **4a** y **5a** (Gráfica 26), se observa que la diferencia en el desplazamiento de Stokes entre estos es pequeña (81 nm vs. 78 nm), por lo que el cambio de los sustituyentes entre metoxilo e hidroxilo no afecta de manera importante este desplazamiento.



Un efecto similar se observa en la comparación de los espectros de absorción y de emisión de los compuestos **4d** vs **5b** (Gráfica 27, centro de BTP y anillo bencénico sustituido en posición 2 con un grupo metoxilo o hidroxilo) y de los compuestos **4e** y **5c** (Gráfica 28, centro de tiazolopiridinona y anillo bencénico sustituido en posición 2 con un grupo metoxilo o hidroxilo) donde el cambio de grupo funcional no afecta el comportamiento del desplazamiento de Stokes.



Gráfica 27 Absorción (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) normalizadas de los compuestos **4d** y **5b** en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.



Gráfica 28 Absorción (líneas punteadas) y fluorescencia (líneas continuas) normalizadas de los compuestos **4e** y **5c** en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.

Todos los datos de máximos de absorción, emisión y desplazamiento de Stokes se resumen en la **Tabla 25**. En ellos, se observa que, en comparación con fluoróforos de referencia como fluoresceína, rodamina 6G y Cy2, cuyos desplazamientos de Stokes fueron de 24 nm, 24 nm y 13 nm, respectivamente, los compuestos sintetizados presentan desplazamientos notablemente más amplios.

**Tabla 25** Resumen de las longitudes de onda de absorción, emisión y desplazamientos de Stokes de las sondas sintetizadas.

Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	Desplazamiento de Stokes $\Delta\lambda$ (nm)
<b>4a</b>	390	471	81
<b>4b</b>	410	479	69
<b>4c</b>	413	486	73
<b>4d</b>	379	442	63
<b>4e</b>	393	446	53
<b>5a</b>	395	473	78
<b>5b</b>	384	445	61
<b>5c</b>	387	446	59
<b>Fluoresceína</b> <sup>93</sup>	494	518	24
<b>Rodamina 6G</b> <sup>65</sup>	528	552	24
<b>Cy2</b> <sup>65</sup>	493	506	13

Esta diferencia indica que las nuevas sondas podrían ser muy útiles en aplicaciones analíticas que requieran una mayor separación entre las longitudes de onda de absorción y la emisión, pues un mayor desplazamiento de Stokes minimiza el solapamiento y reduce la interferencia óptica.

Asimismo, se observa una clara influencia por parte del tipo de heterociclo en los desplazamientos. En este caso, los compuestos con un núcleo de quinolizina (**4a**, **4b**, **4c** y **5a**) presentan desplazamientos de Stokes ligeramente mayores en comparación con aquellos que contienen núcleos de benzotiazolopiridinona (**4d** y **5b**) o tiazolopiridinona (**4e** y **5c**).

Una posible explicación para esta diferencia es que los anillos de benzotiazolopiridinona y tiazolopiridinona poseen sistemas heterocíclicos más rígidos, lo que limita la reorganización estructural tras la excitación y, en consecuencia, reduce la separación entre las longitudes de onda de absorción y emisión. No obstante, esta mayor rigidez estructural parece contribuir positivamente al rendimiento cuántico de fluorescencia, ya que minimiza las pérdidas de energía por procesos no radiativos.

Esta correlación entre estructura y desplazamiento de Stokes refuerza la importancia del diseño molecular para la optimización de propiedades ópticas en sondas fluorescentes.

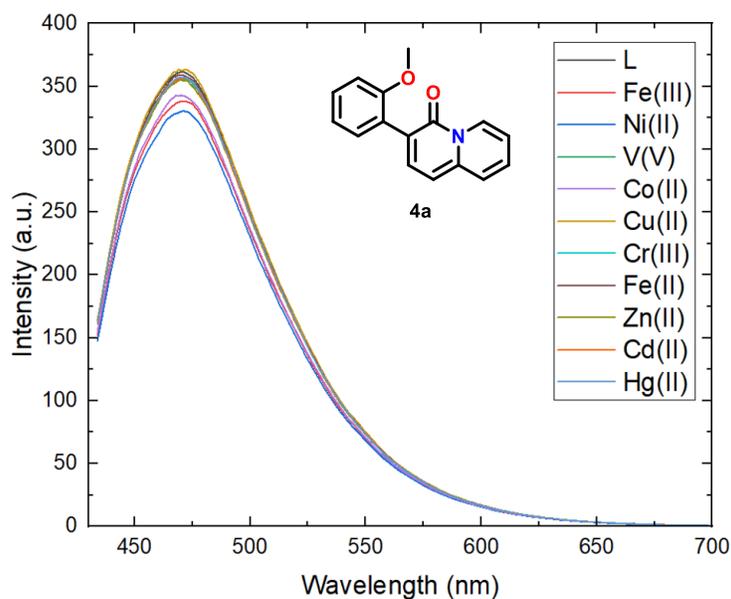
<sup>93</sup> Z. Gao, Y. Hao M. Zheng and Y. Chen, *RSC Adv.*, **2017**, *7*, 7604-7609.

## CAPÍTULO 6. ESTUDIOS DE SELECTIVIDAD

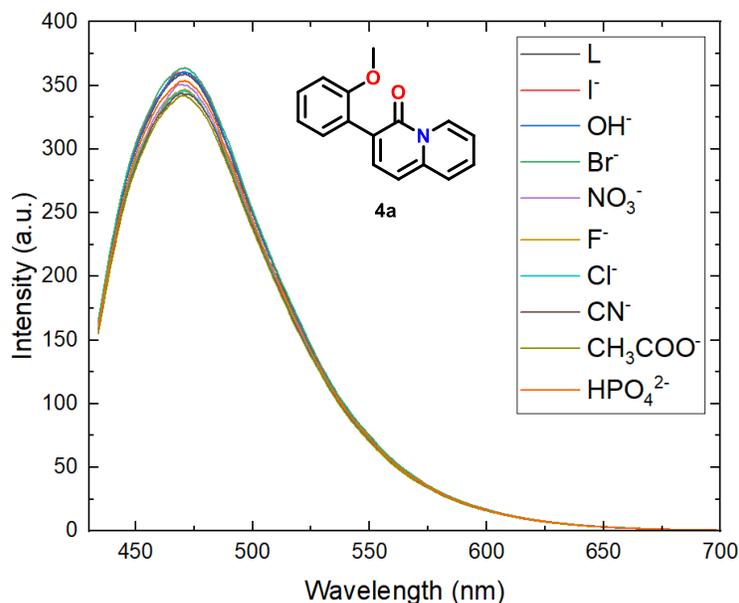
El siguiente estudio de selectividad se realizó mediante la exposición de las sondas a diferentes iones metálicos en condiciones controladas, analizando los cambios en su emisión fluorescente y las posibles interferencias. Por otra parte, los parámetros analíticos se determinaron siguiendo protocolos establecidos para garantizar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados.

### 6.1 Selectividad del compuesto 4a

En las gráficas siguientes (Gráfica 29 y Gráfica 30) se presentan los espectros de emisión de fluorescencia del compuesto **4a**. Los resultados obtenidos muestran que la respuesta de fluorescencia se mantuvo invariable frente a todos los iones analizados, indicando una ausencia de interacción específica que pudiera alterar sus propiedades ópticas.



Gráfica 29 Respuesta de fluorescencia del compuesto **4a** ( $\lambda_{\text{ex}} = 402 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.



Gráfica 30 Respuesta de fluorescencia del compuesto **4a** ( $\lambda_{ex} = 402$  nm) en presencia de aniones en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.

La falta de selectividad observada en el compuesto **4a** hacia los cationes y aniones estudiados puede atribuirse a varios factores, incluyendo la disposición espacial y el bajo carácter de base de Lewis de los fragmentos coordinantes. En este caso, el pobre carácter coordinante del grupo metoxilo puede ser una de las principales causas de la ausencia de interacción.

Otro factor importante es la posible competencia del sistema de disolventes utilizado en los experimentos (DMSO-H<sub>2</sub>O). En medios polares, como agua o acetonitrilo, los iones metálicos suelen formar interacciones preferentes con las moléculas del disolvente, lo que podría desplazar al compuesto **4a** como ligante.

## 6.2 Selectividad del compuestos **4d** y **4e**

Siguiendo el mismo procedimiento empleado para el compuesto **4a**, se evaluó la respuesta fluorescente de los compuestos **4d** y **4e** (Figura 50) en presencia de diversos cationes metálicos. En ambos casos, no se observó ninguna variación en la fluorescencia tras la adición de los iones analizados, lo que indica que no hay interacción entre estas sondas y los metales estudiados.

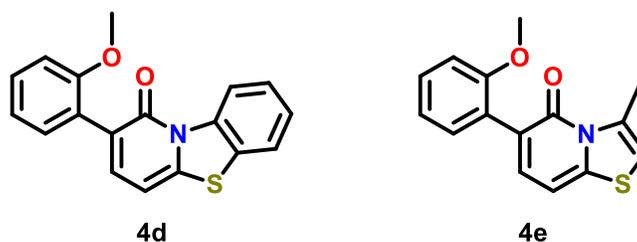
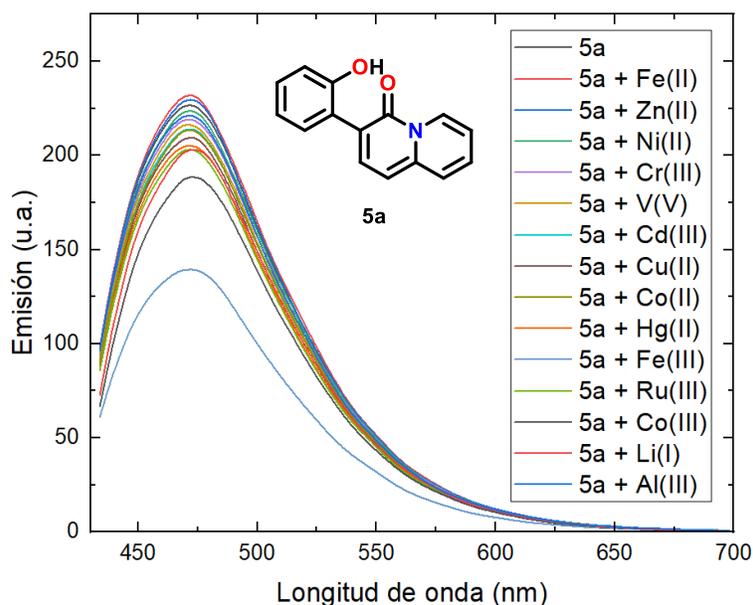


Figura 50 Estructura de los compuestos **4d** y **4e**.

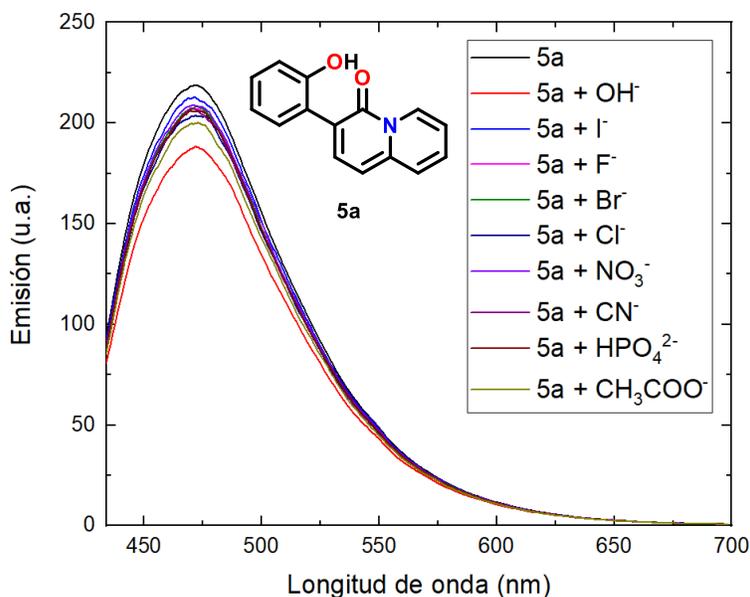
Este comportamiento se debe a la naturaleza electrónica de los fragmentos coordinantes en los compuestos **4d** y **4e**, los cuales, al igual que en **4a**, no presentan una capacidad coordinante suficiente para interactuar de manera eficiente con los metales analizados.

### 6.3 Selectividad del compuesto **5a**

Los resultados obtenidos para el compuesto **5a** (Gráfica 31 y Gráfica 32) mostraron que la fluorescencia del compuesto experimentó un apagamiento importante en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$ , mientras que los demás cationes metálicos generaron únicamente un apagamiento muy leve o nulo. En cuanto a los aniones, no se observó una respuesta fluorescente significativa, salvo en el caso del  $\text{OH}^-$ , que provocó un apagamiento ligero de la fluorescencia.



Gráfica 31 Respuesta de fluorescencia del compuesto **5a** ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en  $\text{DMSO}:\text{H}_2\text{O}$  1:1.



Gráfica 32 Respuesta de fluorescencia del compuesto **5a** ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) en presencia de aniones en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.

El comportamiento observado en el compuesto **5a** puede atribuirse a la estructura química de la molécula. En este caso, el fragmento de *4H*-quinolizina-4-ona unida a un grupo fenilo sustituido con un grupo hidroxilo en posición 2 introduce un sitio coordinante clave para interacciones con especies químicas, particularmente cationes metálicos.

El apagamiento de la fluorescencia solo en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  sugiere una interacción específica y altamente eficaz entre este catión y el compuesto **5a**. Este comportamiento puede atribuirse a la afinidad electrónica del  $\text{Fe}^{3+}$ , que favorece una coordinación fuerte con los sitios ricos en densidad electrónica presentes en el compuesto, particularmente con el oxígeno del grupo hidroxilo y el oxígeno del carbonilo de la quinolizina-4-ona.

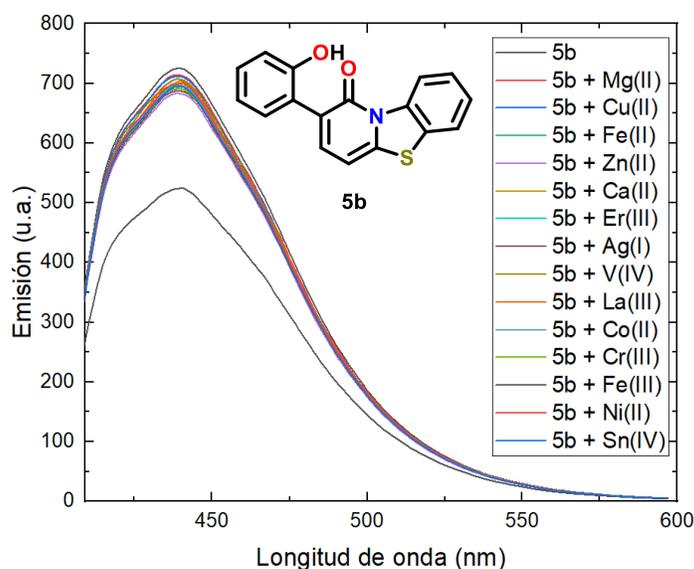
Para corroborar si este comportamiento era exclusivo  $\text{Fe}^{3+}$  se probaron otros cationes con propiedades oxofílicas similares, como  $\text{Al}^{3+}$  o  $\text{Co}^{2+}$ , obteniéndose un resultado negativo, esto confirmó que el compuesto **5a** tiene una respuesta fluorescente selectiva hacia el  $\text{Fe}^{3+}$ . Una posible explicación para esta selectividad podría estar relacionada con la geometría y el tamaño del  $\text{Fe}^{3+}$ , que permiten una coordinación más favorable con los grupos coordinantes del compuesto **5a** en comparación con los otros cationes medidos. Además, es posible que ocurra un proceso de transferencia de electrones fotoinducida (PET) o un apagamiento estático debido a la formación de un complejo no fluorescente, donde el  $\text{Fe}^{3+}$  actuaría como un quencher eficiente al alterar el estado excitado del compuesto, como se discutió en los antecedentes

En cuanto a los aniones, la falta de respuesta fluorescente puede explicarse por la ausencia de interacciones relevantes con los sitios activos del compuesto. Sin embargo, el leve apagamiento observado con  $\text{OH}^-$  podría atribuirse a la desprotonación del grupo hidroxilo en la posición 2, lo que altera el entorno electrónico del sistema fluorescente. También es posible que el anión  $\text{OH}^-$  interactúe de manera débil con el compuesto **5a** a través de un enlace de hidrógeno con el oxígeno del carbonilo o del grupo hidroxilo. Aunque la interacción sería débil, podría dar lugar a la formación de un complejo transitorio con la 4*H*-quinolizina-4-ona, aunque con una afinidad suficientemente baja como para no afectar de manera significativa la emisión fluorescente.

#### 6.4 Selectividad del compuesto **5b**

Los resultados obtenidos para el compuesto **5b** mostraron un comportamiento similar al observado en el compuesto **5a**, con un apagamiento significativo de la fluorescencia únicamente en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$ , mientras que otros cationes metálicos, incluidos  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$ , no generaron una respuesta fluorescente apreciable (Gráfica 33).

Este patrón de selectividad puede atribuirse a la similitud estructural entre los compuestos **5a** y **5b**, ya que ambos presentan los mismos fragmentos coordinantes a distancias similares. La disposición espacial de estos grupos funcionales genera un entorno coordinante similar, donde el oxígeno del grupo hidroxilo y el oxígeno del carbonilo actúan como centros donadores de electrones, capaces de coordinarse selectivamente con el  $\text{Fe}^{3+}$ .



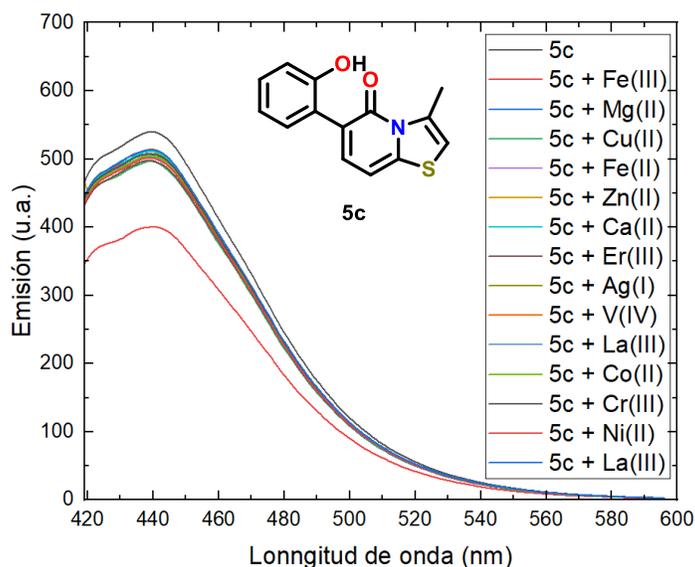
Gráfica 33 Respuesta de fluorescencia del compuesto **5b** ( $\lambda_{\text{ex}} = 385 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en  $\text{DMSO}:\text{H}_2\text{O}$  1:1.

Cabe destacar que, a pesar de la similitud en los grupos coordinantes, la diferencia estructural entre los núcleos heterocíclicos de **5a** y **5b** podría influir ligeramente en la densidad electrónica de los centros donadores, lo que podría ser explorado en futuros estudios comparativos. Sin embargo, en ambos casos, se ha observado una respuesta altamente selectiva y reproducible hacia  $\text{Fe}^{3+}$ , lo que posiciona al compuesto **5b** como un potencial sensor fluorescente selectivo para aplicaciones de detección de metales en soluciones acuosas.

### 6.5 Selectividad del compuesto **5c**

Los resultados obtenidos para el compuesto **5c** mostraron un comportamiento similar al observado en los compuestos **5a** y **5b**, con un apagamiento significativo de la fluorescencia únicamente en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$ , mientras que otros cationes metálicos, incluidos  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$ , no generaron una respuesta fluorescente apreciable (Gráfica 34).

Este patrón de selectividad sugiere que la estructura del compuesto **5c** mantiene la disposición espacial adecuada de los grupos funcionales responsables de la coordinación selectiva con  $\text{Fe}^{3+}$ . Al igual que en los casos anteriores, el grupo hidroxilo y el carbonilo desempeñan un papel clave como centros donadores de electrones, favoreciendo la interacción con el ion  $\text{Fe}^{3+}$ .



Gráfica 34 Respuesta de fluorescencia del compuesto **5c** ( $\lambda_{\text{ex}} = 392 \text{ nm}$ ) en presencia de cationes metálicos en  $\text{DMSO:H}_2\text{O}$  1:1.

Aunque las tres sondas **5a**, **5b** y **5c** presentan una respuesta fluorescente, la variación en sus núcleos heterocíclicos puede influir en la afinidad de coordinación y en la eficiencia del proceso de apagamiento de la fluorescencia. En particular, las diferencias electrónicas y estéricas entre los sistemas heterocíclicos podrían afectar la densidad electrónica en los sitios de coordinación, un aspecto que se observa en las constantes de asociación entre los ligantes y los metales.

Sin embargo, la reproducibilidad y selectividad del compuesto **5c** hacia  $\text{Fe}^{3+}$  confirman el potencial de esta familia de compuestos como sensores fluorescentes selectivos.

### **6.5.1 Reconocimiento selectivo de $\text{Fe}^{3+}$ frente a $\text{Fe}^{2+}$**

Finalmente, es importante resaltar la capacidad de los ligantes **5a**, **5b** y **5c** para diferenciar entre los iones de hierro, ya que, aunque el  $\text{Fe}^{3+}$  (0.645 Å) y  $\text{Fe}^{2+}$  (0.78 Å) presentan una diferencia en sus radios iónicos, esta no suele ser suficiente para una distinción adecuada en sistemas de detección basados en interacciones electrostáticas o formación de complejos en equilibrio.

Los compuestos **5a**, **5b** y **5c** presentan un comportamiento muy interesante, pues logran evitar interacciones no deseadas con  $\text{Fe}^{2+}$ , permitiendo una detección específica de  $\text{Fe}^{3+}$ . Esto sugiere que la disposición espacial de los grupos funcionales y la densidad electrónica de los sitios coordinantes en estas sondas juegan un papel determinante en la diferenciación de ambos estados de oxidación.

## **6.6 Determinación de parámetros analíticos**

Una vez que se encontró una respuesta positiva y selectiva por parte de las sondas fluorescentes, se evaluaron varios parámetros analíticos para caracterizar la sensibilidad y especificidad de las sondas sintetizadas, enfocándose en la detección de  $\text{Fe(III)}$ .

Los primeros parámetros analizados fueron los límites de detección (LD) y cuantificación (LC), pues son valores que permiten establecer la concentración mínima de analito que puede ser detectada o cuantificada con un nivel de certeza aceptable. Estos parámetros fueron determinados tanto para las sondas en ausencia de analito como para su respuesta frente a  $\text{Fe(III)}$ .

### 6.6.1 Cálculo de límites de detección y cuantificación

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) se calcularon con base en la relación señal-ruido de las respuestas fluorescentes de las sondas, de acuerdo con las Ecuaciones (3) y (4).

$$LD = \frac{3\sigma}{m} \quad (3)$$

$$LC = \frac{10\sigma}{m} \quad (4)$$

Donde:

- $\sigma$  es la desviación estándar de las mediciones del blanco (fluorescencia de la sonda sin analito).
- $m$  es la pendiente de la recta de calibración obtenida al graficar la intensidad de fluorescencia frente a la concentración de Fe(III).

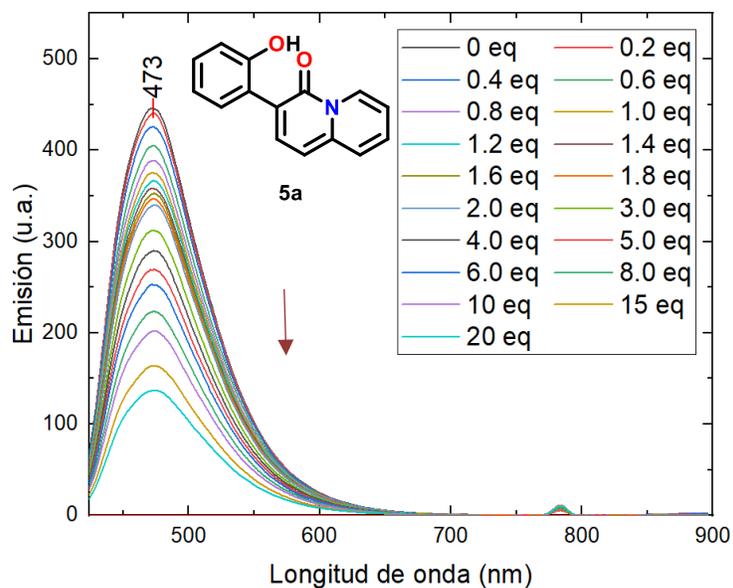
Para llevar a cabo la obtención de datos, se prepararon disoluciones a una concentración fija de cada compuesto fluorescente, a las cuales se les fueron adicionando volúmenes de entre 10 y 20  $\mu\text{L}$  (dependiendo del compuesto) de una disolución de Fe(III), con una concentración que podía ir de 5 a 100  $\mu\text{M}$  del metal.

Para cada disolución preparada, se registraron los espectros de fluorescencia, empleando las mismas condiciones de excitación y emisión para cada compuesto.

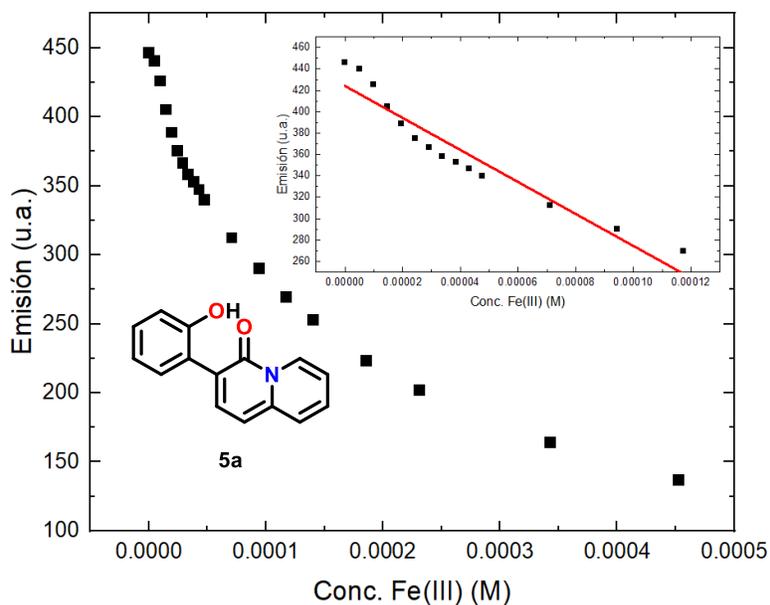
Adicionalmente, se realizaron 10 mediciones de la sonda sin Fe(III) con el fin de determinar la desviación estándar del blanco ( $\sigma$ ).

A partir de los datos de emisión obtenidos durante la titulación de las sondas con Fe(III), se construyó una curva de calibración que representa la relación entre la intensidad de fluorescencia, medida en la longitud de onda de máxima emisión, y la concentración de Fe(III). De esta curva se obtuvo la pendiente  $m$ , necesaria para el cálculo de los límites de detección (LD) y cuantificación (LC).

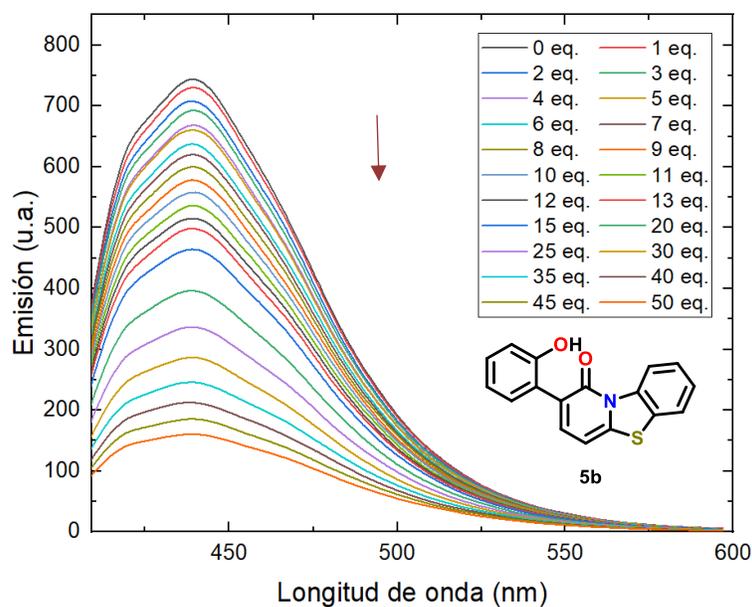
A continuación, se presentan los datos de fluorescencia obtenidos para los compuestos **5a**, **5b** y **5c**, junto con las curvas de calibración correspondientes (Gráficas 35-40).



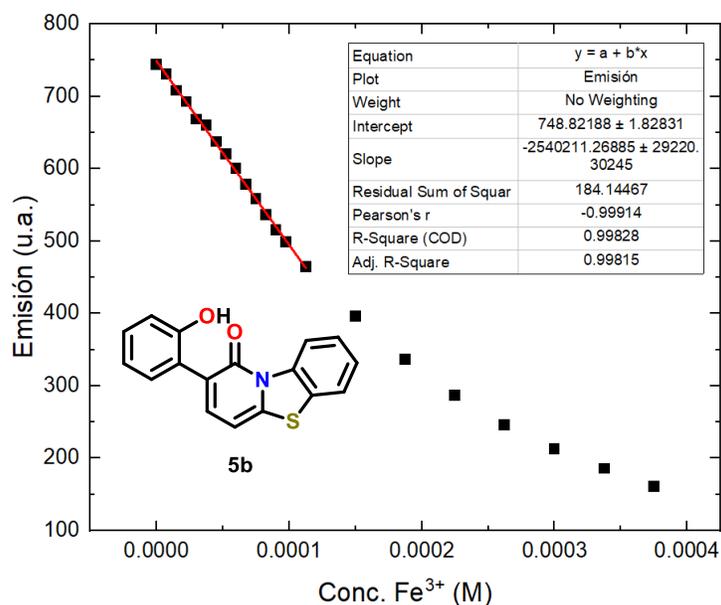
Gráfica 35 Espectro de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) de la titulación del compuesto **5a** (22.5 μM) con cantidades crecientes de Fe(III) hasta 10 equivalentes en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1)



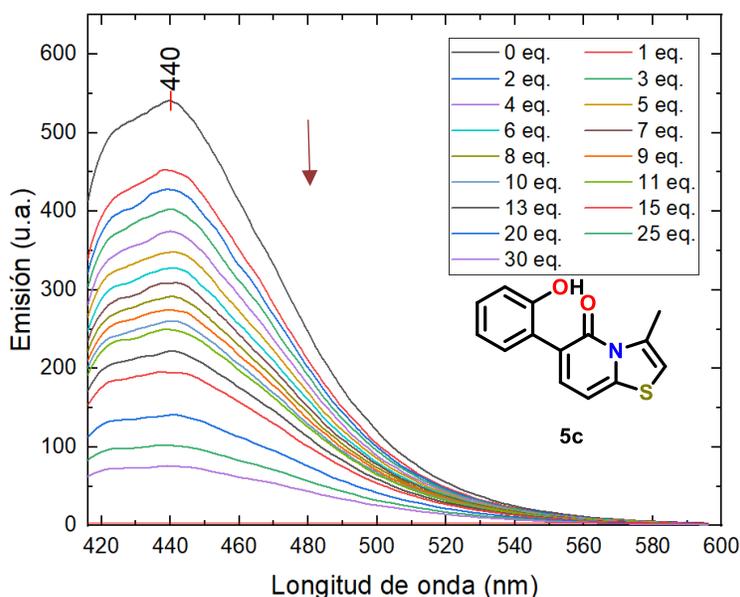
Gráfica 36 Curva de calibración de intensidad de fluorescencia contra concentración de Fe(III) en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1),  $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$  y monitoreado a  $\lambda_{\text{em}} = 473 \text{ nm}$ .



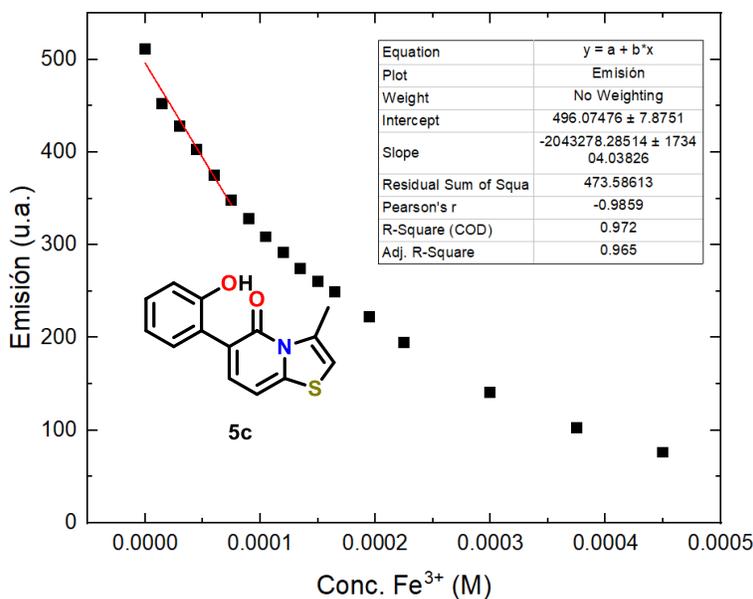
Gráfica 37 Espectro de fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} = 385 \text{ nm}$ ) de la titulación del compuesto **5b** (7.5  $\mu\text{M}$ ) con cantidades crecientes de Fe(III) hasta 50 equivalentes en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1)



Gráfica 38 Curva de calibración de intensidad de fluorescencia contra concentración de Fe(III) en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1),  $\lambda_{\text{ex}} = 385 \text{ nm}$  y monitoreado a  $\lambda_{\text{em}} = 439 \text{ nm}$ .



Gráfica 39 Espectro de fluorescencia ( $\lambda_{ex} = 392 \text{ nm}$ ) de la titulación del compuesto **5c** ( $15 \mu\text{M}$ ) con cantidades crecientes de Fe(III) hasta 30 equivalentes en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1)



Gráfica 40 Curva de calibración de intensidad de fluorescencia contra concentración de Fe(III) en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1),  $\lambda_{ex} = 392 \text{ nm}$  y monitoreado a  $\lambda_{em} = 440 \text{ nm}$ .

A partir de los datos obtenidos previamente, se calcularon los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) utilizando la desviación estándar determinada a partir de las mediciones del blanco y la pendiente de la curva de calibración generada durante la titulación de las sondas fluorescentes con Fe(III) (**Tabla 26**). Cabe destacar que dicha pendiente se consideró únicamente en el intervalo de concentraciones donde se observó una relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de Fe(III). Los resultados se resumen en la **Tabla 26**.

**Tabla 26** Resumen de valores de LD y LC obtenidos para las sondas fluorescentes **5a**, **5b** y **5c**.

Compuesto	Límite de detección (LD)	Límite de cuantificación (LC)
<b>5a</b>	$1.31 \times 10^{-5}$ M	$5.52 \times 10^{-5}$ M
<b>5b</b>	$7.55 \times 10^{-6}$ M	$2.52 \times 10^{-5}$ M
<b>5c</b>	$2.16 \times 10^{-6}$ M	$7.20 \times 10^{-6}$ M

El compuesto **5c** presenta el límite de detección más bajo ( $2.16 \times 10^{-6}$ ), lo que indica una mayor sensibilidad en la detección de Fe(III) en comparación con los compuestos **5a** y **5b**. Esto implica que **5c** es capaz de detectar concentraciones de Fe(III) considerablemente más bajas, lo que lo convierte en el compuesto más eficiente en términos de sensibilidad analítica.

El compuesto **5b** exhibe un LD intermedio de  $7.55 \times 10^{-6}$  M, mientras que el compuesto **5a** muestra el límite de detección más alto ( $1.31 \times 10^{-5}$  M), mostrando una menor sensibilidad relativa en comparación con los otros dos compuestos. Este bajo límite de detección puede estar relacionado con el también bajo rendimiento cuántico mostrado por este compuesto, pues implica una menor eficiencia en la emisión de luz por fotón absorbido, lo que disminuye la señal de fluorescencia y, por ende, la capacidad del sistema para detectar concentraciones bajas de Fe(III).

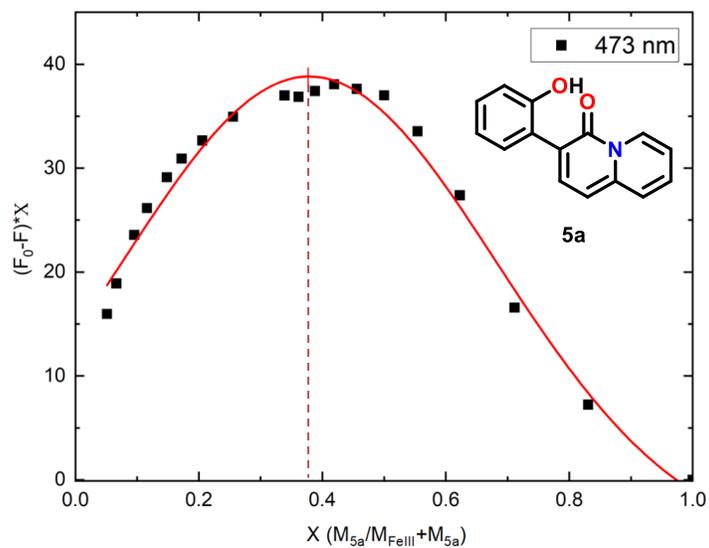
### 6.6.2 Estudio de estequiometría de los complejos formados.

El siguiente paso en el estudio consistió en comprender la naturaleza de la interacción entre las sondas fluorescentes sintetizadas y el ion Fe(III), mediante la determinación de la estequiometría de los complejos formados. La estequiometría describe la proporción molar entre el ligante y el metal en el complejo, lo que puede influir directamente en la intensidad y selectividad de la señal fluorescente observada.

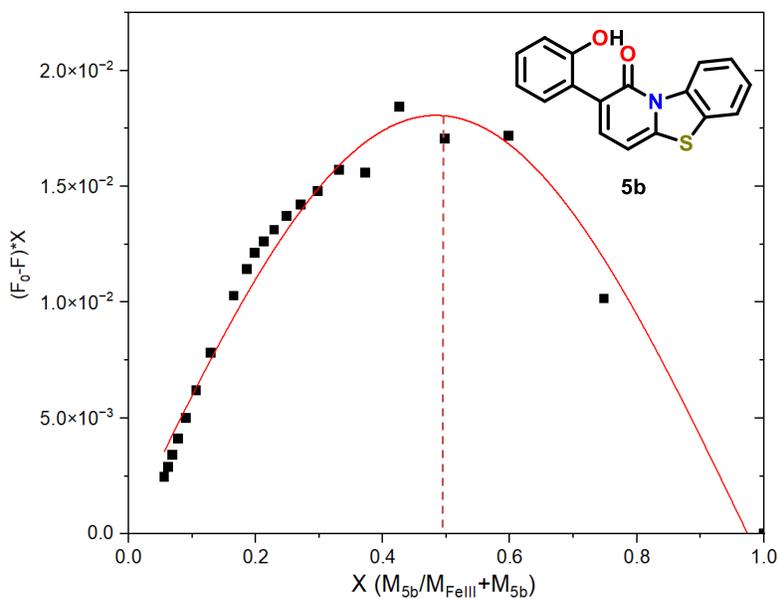
En este trabajo, la determinación de la estequiometría se realizó mediante el método de Jobs, también conocido como método de variación continua.

Para ello, se llevó a cabo la preparación de disoluciones con una concentración constante de ligante y una variación en la cantidad del ion Fe(III) adicionada. Al medir la respuesta fluorescente en cada mezcla, es posible graficar la intensidad de fluorescencia frente a la fracción molar del ligante. El máximo de la curva obtenida indica la relación estequiométrica entre el ligante y el metal, permitiendo identificar si el complejo formado es de tipo 1:1, 2:1 o de una relación distinta.

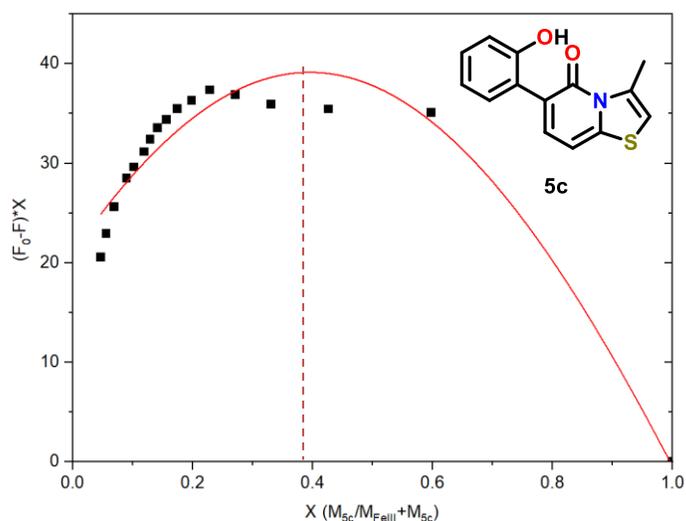
A continuación, se muestran las gráficas de Jobs obtenidas para los compuestos **5a**, **5b** y **5c** y el análisis de la estequiometría de los complejos formados entre las sondas fluorescentes y Fe(III) (Gráficas 41-43).



Gráfica 41 Gráfica de Jobs para determinar el número de ligandos por metal en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1),  $\lambda_{em} = 473$  nm para el compuesto **5a**.



Gráfica 42 Gráfica de Jobs para determinar el número de ligandos por metal en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1),  $\lambda_{em} = 439$  nm para el compuesto **5b**.



Gráfica 43 Gráfica de Jobs para determinar el número de ligantes por metal en DMSO:H<sub>2</sub>O (V/V, 1:1),  $\lambda_{em} = 440$  nm para el compuesto **5c**.

Las curvas fueron ajustadas mediante el método de deconvolución automática de Fourier (Fourier-self deconvolution) y suavizadas utilizando el método de Savitzky-Golay, implementado a través del software OriginPro.<sup>94</sup>

Al analizar detenidamente las gráficas de Jobs obtenidas para las sondas fluorescentes, se observa que, en los casos de las sondas **5a** y **5c**, se alcanza un máximo aproximadamente en 0.36, valor que corresponde a una interacción de tipo 1:2 (metal:ligante).<sup>95</sup> Esta interacción fue estudiada con mayor profundidad para el compuesto **5a** (como se describirá en la siguiente sección) lo que permitió confirmar la formación del complejo con la estequiometría determinada mediante este método.

Por otro lado, la gráfica de Jobs correspondiente al compuesto **5b** mostró un máximo aproximadamente en 0.5, valor que es más consistente con la formación de un complejo de tipo 1:1 (metal:ligante).

### 6.6.3 Determinación de las constantes de asociación ( $K_a$ )

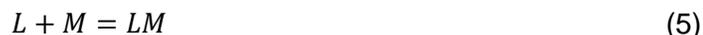
La constante de asociación ( $K_a$ ) es un parámetro que sirve para describir cuantitativamente la fuerza de interacción entre un ligante y un ion metálico en solución. En el caso de las sondas fluorescentes sintetizadas, la determinación de  $K_a$  permite evaluar la afinidad de las sondas por el ion Fe(III) y entender mejor la eficiencia del proceso de reconocimiento molecular.

<sup>94</sup> A. Savitzky and M. J. E. Golay, *Anal. Chem.* **1964**, 36, 1627–1639.

<sup>95</sup> C. Y. Huang, *Methods Enzymol.* **1982**, 87, 509-525.

Para su cálculo, se empleó el método de Benesi-Hildebrand, el cual se basa en el análisis de datos espectroscópicos obtenidos a partir de una titulación fluorimétrica.<sup>96</sup> Este método es una técnica ampliamente utilizada para la determinación de constantes de asociación ( $K_a$ ) en sistemas con formación de complejos, como en el caso de interacciones entre sondas fluorescentes y iones metálicos. Este método se basa en la linealización de datos espectroscópicos obtenidos durante una titulación y es aplicable a complejos con una estequiometría bien definida.

El método puede ser aplicado a la formación de complejos de distintas estequiometrías. En el caso de una estequiometría 1:1, la formación de un complejo entre el ligante (L) y el metal (M) se expresa como:



Donde  $K_a$  es la constante de asociación y se define como:

$$K_a = \frac{[LM]}{[L][M]} \quad (6)$$

Debido a que el complejo formado afecta la fluorescencia de la sonda, la intensidad de fluorescencia ( $I$ ) medida está relacionada con la concentración del complejo formado [LM]. Esta intensidad puede expresarse como:

$$I = I_0 + \Delta I[LM] \quad (7)$$

Donde:

- $I_0$  es la intensidad inicial (sin metal).
- $\Delta I$  es el cambio de intensidad máxima al formarse completamente el compleja

Reorganizando las ecuaciones anteriores, se obtiene la ecuación de Benesi-Hildebrand linealizada:<sup>97</sup>

$$\frac{1}{I - I_0} = \frac{1}{\Delta I} + \frac{1}{K_a \Delta I [M]} \quad (8)$$

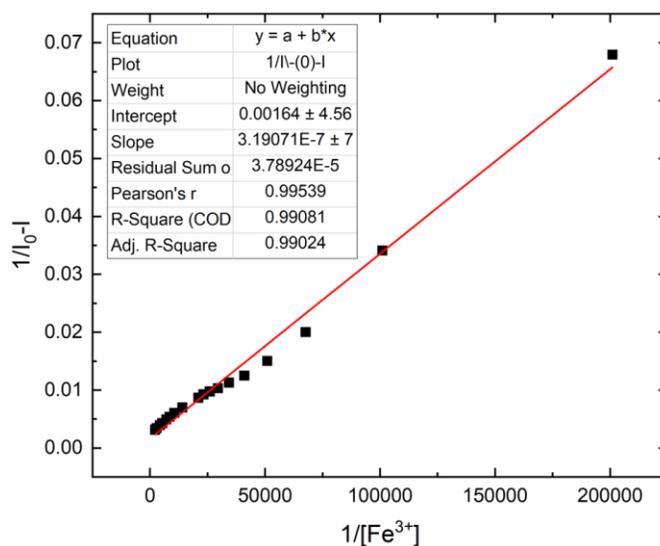
<sup>96</sup> H. A. Benesi and J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 2703–2707.

<sup>97</sup> B. K. Seal and H. Sil, *Spectrochim. Acta A*, **1982**, 38, 289-292.

Para una interacción 1:2 (metal:ligante), el modelo de Benesi-Hildebrand requiere una modificación en la ecuación para reflejar la formación de un complejo en el que un ion metálico se coordina con dos ligantes.<sup>98</sup> La ecuación modificada se expresa como:

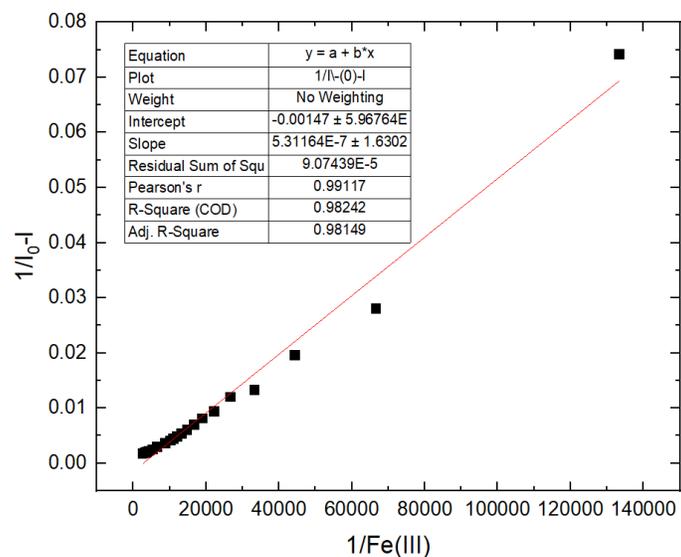
$$\frac{1}{I - I_0} = \frac{1}{\Delta I} + \frac{1}{K_a \Delta I [M]^{1/2}} \quad (9)$$

A continuación, se presentan las gráficas asociadas a las sondas **5a**, **5b** y **5c** así como los resultados obtenidos del cálculo de la constante de asociación  $K_a$  respecto a Fe(III) (Gráficas 44-46).

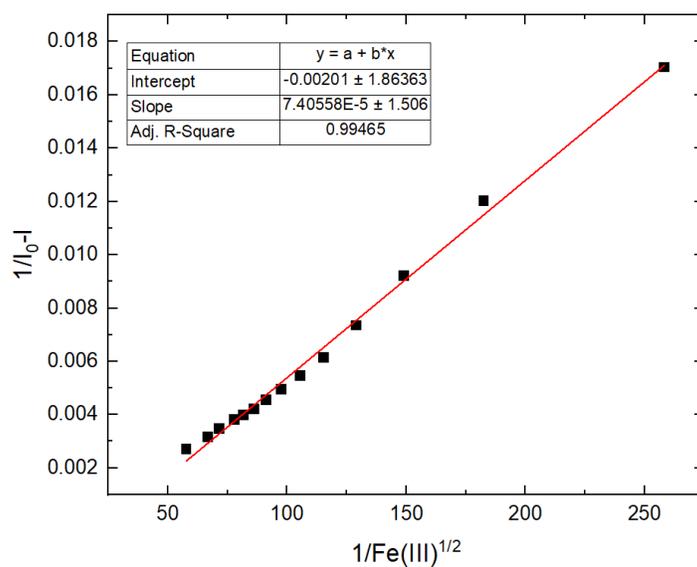


Gráfica 44 Ajuste del método de Benesi-Hildebrand entre la sonda **5a** y Fe(III)

<sup>98</sup> S. Fettouche, A. Boukhriss, M. Tahiri, O. Cherkaoui, F. Bazi and S. Gmouh, *Chem. Res.*, **2019**, 35, 598-603



Gráfica 45 Ajuste del método de Benesi-Hildebrand entre la sonda **5b** y Fe(III)



Gráfica 46 Ajuste del método de Benesi-Hildebrand entre la sonda **5c** y Fe(III)

**Tabla 27** Constantes de asociación calculadas para las sondas fluorescentes **5a**, **5b** y **5c**.

Compuesto	Constante de asociación Ka
<b>5a</b>	3.13x10 <sup>6</sup> M <sup>-2</sup>
<b>5b</b>	6.29 x10 <sup>7</sup> M <sup>-2</sup>
<b>5c</b>	1.67 x10 <sup>4</sup> M <sup>-2</sup>

## 6.7 Aislamiento y caracterización del complejo 6a

Para confirmar la formación del complejo entre la sonda fluorescente **5a** y el ion Fe(III), se llevó a cabo el aislamiento del complejo resultante tras las pruebas analíticas de fluorescencia y absorción UV-Visible. Este procedimiento tuvo como objetivo obtener evidencia experimental concluyente de la interacción metal-ligante observada en las titulaciones espectroscópicas y corroborar la estequiometría previamente determinada.

El complejo formado por **5a**-Fe(III) fue el único aislado y sometido a una caracterización espectroscópica y espectrométrica. Los complejos entre las sondas **5b** y **5c** con Fe(III) no fueron aislados ni caracterizados por técnicas adicionales debido a que el comportamiento espectroscópico observado para las tres sondas mostró una tendencia similar a la del complejo **5a**-Fe(III), por lo que se priorizó la caracterización de un sistema representativo (**5a**) con el objetivo de confirmar la naturaleza de la interacción metal-ligante.

La caracterización del complejo **5a**-Fe(III) incluyó análisis elemental para determinar la composición global del complejo, espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (EPR) para estudiar la presencia del ion metálico paramagnético, espectrometría de masas para confirmar la masa molecular del complejo, IR lejano para identificar modos vibracionales específicos de la interacción metal-ligante, así como espectroscopía UV-Visible y fluorescencia para comparar las propiedades ópticas del complejo con las de la sonda libre. Debido al carácter paramagnético del Fe(III), no fue posible realizar espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN).

A continuación, se describen detalladamente el procedimiento de aislamiento del complejo **5a**-Fe(III) y los resultados obtenidos de su caracterización espectroscópica y analítica.

### 6.7.1 Aislamiento del complejo

El aislamiento del complejo formado entre la sonda **5a** y Fe(III) se llevó a cabo mediante la combinación de disoluciones de la sonda y FeCl<sub>3</sub> en diferentes condiciones, con el propósito de obtener un sólido puro. A continuación, se describen los intentos realizados y las condiciones que permitieron obtener el material final con mayor rendimiento y calidad espectroscópica.

Inicialmente, se realizaron varias pruebas utilizando DMSO como disolvente, con la adición de 0.5 equivalentes de FeCl<sub>3</sub> en agua y tiempos de reacción de 12 horas. Sin embargo, los productos obtenidos presentaron bajos rendimientos, mostrando en IR señales indistinguibles entre el ligante libre y el complejo, además de ausencia de señal en EPR.

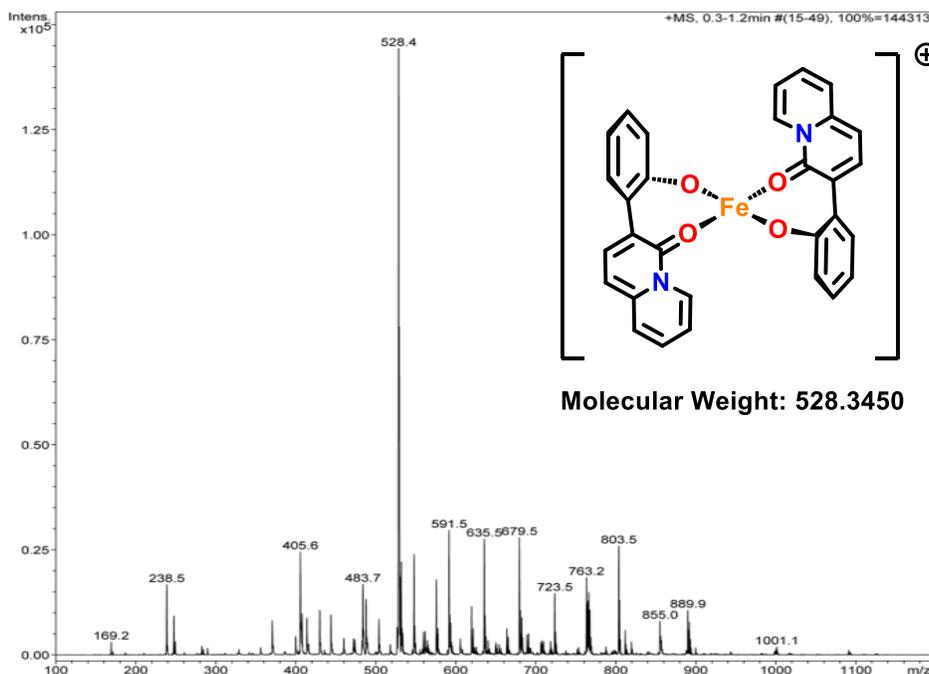
El procedimiento fue optimizado disolviendo 30 mg de la sonda **5a** en 0.7 mL de acetona, mientras que 0.5 equivalentes de  $\text{FeCl}_3$  se disolvieron en 0.1 mL de agua. La solución acuosa de  $\text{FeCl}_3$  se añadió lentamente a la disolución de la sonda en acetona y se dejó bajo agitación constante durante 12 horas.

Posteriormente, el disolvente se eliminó a presión reducida utilizando un evaporador rotatorio, obteniéndose un residuo seco. Este fue redisolto exclusivamente en acetona y agitado durante 3 horas para favorecer la precipitación del complejo. Finalmente, el disolvente se eliminó nuevamente a presión reducida, obteniéndose un polvo negro en buen rendimiento.

### 6.7.2 Caracterización espectroscópica y espectrométrica del complejo **5a-Fe(III)**

Para confirmar la formación y composición del complejo aislado, se realizaron diversas técnicas de caracterización espectroscópica y espectrométrica, las cuales permitieron corroborar la interacción metal-ligante y la estequiometría del complejo formado.

Como primer prueba, se llevó a cabo la caracterización mediante espectrometría de masas del complejo formado. El espectro de masas realizado por la técnica  $\text{ESI}^+$  (Espectro 30) mostró un pico a 528.4 m/z, correspondiente al fragmento  $[\text{Fe}(\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{NO}_2)_2]^+$ , lo que confirma la formación de un complejo 1:2 (metal:ligante) y muestra la desprotonación de ambos ligantes al coordinarse con  $\text{Fe(III)}$ .



Espectro 30 Espectro de masas ( $\text{ESI}^+$ ) del complejo **6a**.

Posteriormente, se llevó a cabo el análisis elemental de la muestra, el cual permitió determinar la composición exacta del complejo (**Tabla 28**). Los resultados obtenidos fueron consistentes con la fórmula empírica  $[\text{Fe}(\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{NO}_2)_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}\cdot\text{HCl}$ , lo que indica la presencia de dos moléculas de ligante desprotonadas, dos moléculas de agua coordinadas y un contraión cloruro adicional (Figura 51).

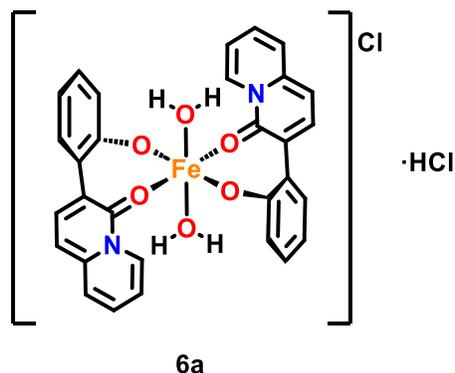


Figura 51 Estructura del complejo **6a**.

**Tabla 28** Comparación de los porcentajes de C, H y N obtenidos mediante análisis elemental del complejo **6a** en comparación con los valores teóricos.

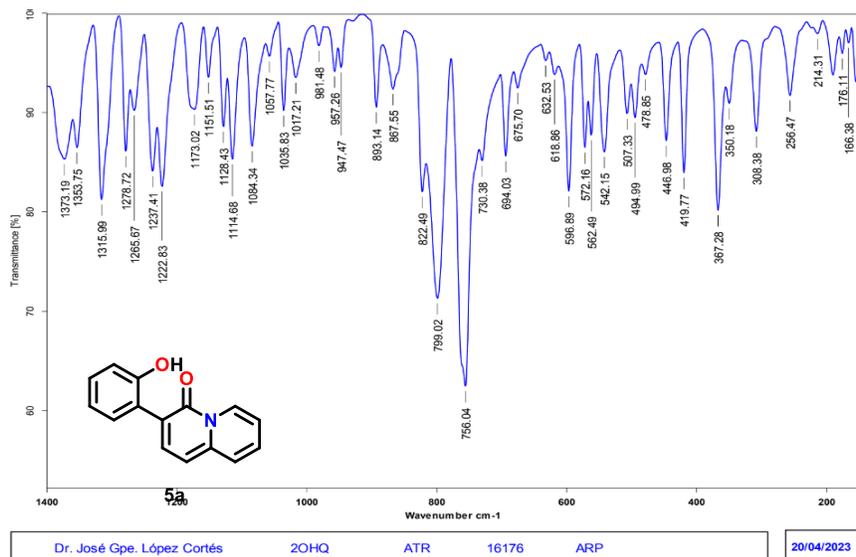
Tipo	C [%]	H [%]	N [%]
Experimental	56.72	3.94	4.30
Experimental	56.75	3.93	4.34
Promedio experimental	56.73	3.93	4.32
Teórico	56.45	4.26	4.39

En los datos experimentales y teóricos del análisis elemental, se observa que el valor experimental promedio de **56.73%** es ligeramente superior al valor teórico de **56.45%**, con una diferencia de **+0.28%**, lo que se considera dentro de un rango aceptable de variación experimental.

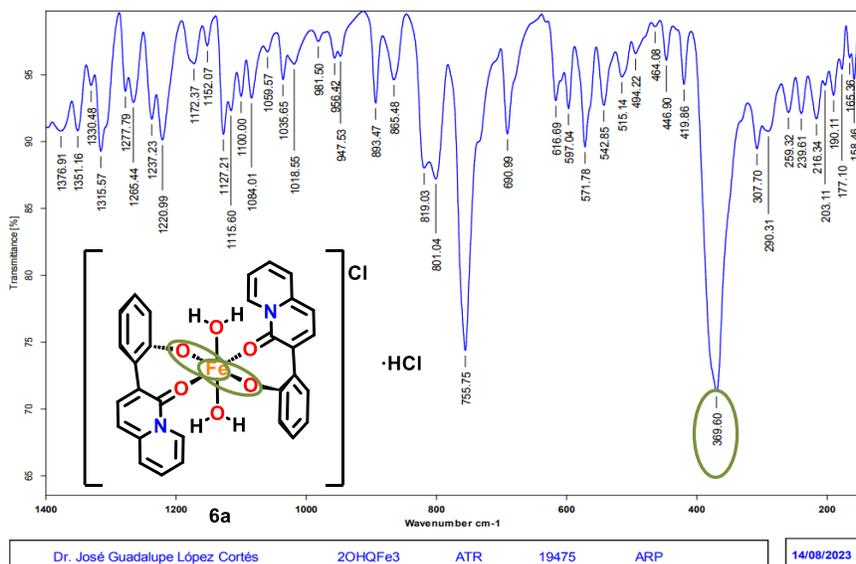
En el caso del hidrógeno, el valor experimental promedio de **3.93%** es un poco inferior al teórico de **4.26%**, con una diferencia de **-0.33%**. Esta discrepancia podría explicarse por una posible pérdida parcial de moléculas de agua durante el secado del complejo.

Finalmente, el valor experimental promedio del nitrógeno es de **4.32%**, el cual es muy cercano al valor teórico de **4.39%**, con una diferencia mínima de **-0.07%**, lo que indica una excelente correlación entre los datos experimentales y la composición teórica del complejo propuesto.

Otro análisis realizado al complejo aislado consistió en la obtención de su espectro de infrarrojo lejano, el cual presentó una banda intensa en  $369\text{ cm}^{-1}$ , atribuida a la interacción **O-Fe(III)**<sup>99</sup> misma que no se observa en el espectro del ligante libre (Espectro 31). Esta señal es indicativa del comportamiento del ligante **5a** como un quelante bidentado [**O-O**], consistente con la coordinación de dos átomos de oxígeno del ligante al centro metálico de Fe(III).



Espectro 31 IR lejano del compuesto **5a**.



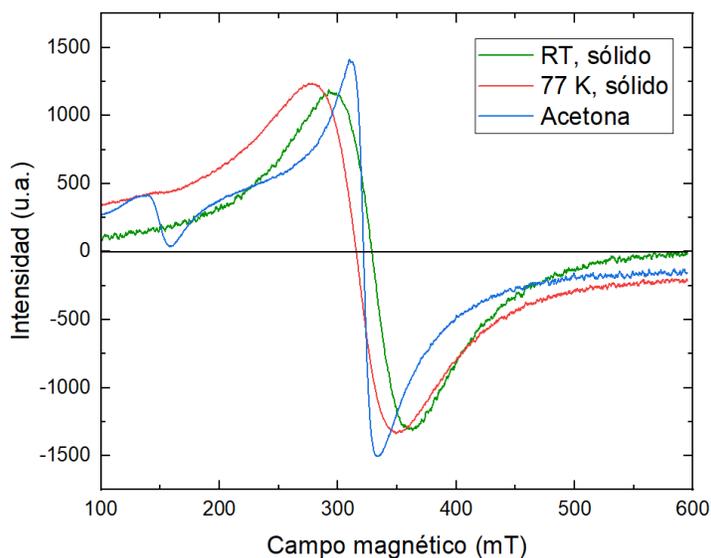
Espectro 32 IR lejano del complejo **6a**.

<sup>99</sup> K. Nakamoto, Infrared and Raman Spectra of inorganic and coordination Compounds, Part B. 6th Ed. John Wiley & Sons, 2009.

El complejo **6a** también fue analizado mediante EPR con el objetivo de obtener información sobre el entorno electrónico del ion Fe(III) y su estado de espín. Las mediciones se realizaron tanto a temperatura ambiente como a **77 K**, en estado sólido y en disolución, para evaluar posibles variaciones estructurales y electrónicas.

En estado sólido (Gráfica 47, línea verde), el espectro obtenido mostró una señal isotrópica ancha con un valor de  **$g = 2.05$**  y un ancho de línea  $\Delta H_{pp}$  de **69 mT**, lo cual es característico de una especie de Fe(III) en un estado de bajo espín ( $S=1/2$ ). Esta señal sugiere la formación de un complejo octaédrico, donde la intensidad del campo cristalino generado por los ligantes parece lo suficientemente fuerte como para estabilizar un estado de bajo espín en el ion metálico Fe(III).

En disolución (Gráfica 47, línea azul), el espectro presentó un perfil diferente, con valores de  **$g = 5.06, 4.38$  y  $2.008$** , lo que indica un estado de espín intermedio ( $S=3/2$ ). Este comportamiento es consistente con un ion Fe(III) paramagnético en un entorno de coordinación menos rígido o una posible disociación parcial del complejo en disolución, lo que genera una simetría más baja y un campo cristalino menos intenso.

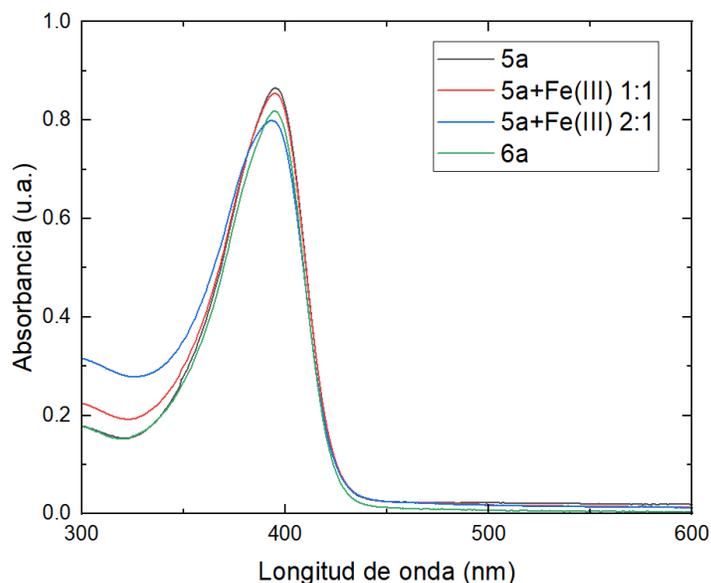


Gráfica 47 Combinación de EPR correspondientes al compuesto **6a** a temperatura ambiente, 77k y en solución

### 6.7.3 Confirmación del complejo mediante UV-Visible y fluorescencia

Para determinar si el complejo **6a** aislado correspondía al formado en disolución durante la titulación de la sonda **5a** con  $FeCl_3$ , se redisolvió una cantidad del complejo sólido en el sistema DMSO:agua (1:1). Posteriormente, se obtuvieron los espectros de UV-Visible bajo las mismas condiciones experimentales utilizadas previamente en las titulaciones espectroscópicas.

Los espectros obtenidos mostraron una coincidencia muy similar con los registrados durante la titulación de la sonda libre con Fe(III), lo que sugiere que el complejo aislado **6a** es estructuralmente idéntico al complejo formado *in situ* en disolución (Gráfica 48).

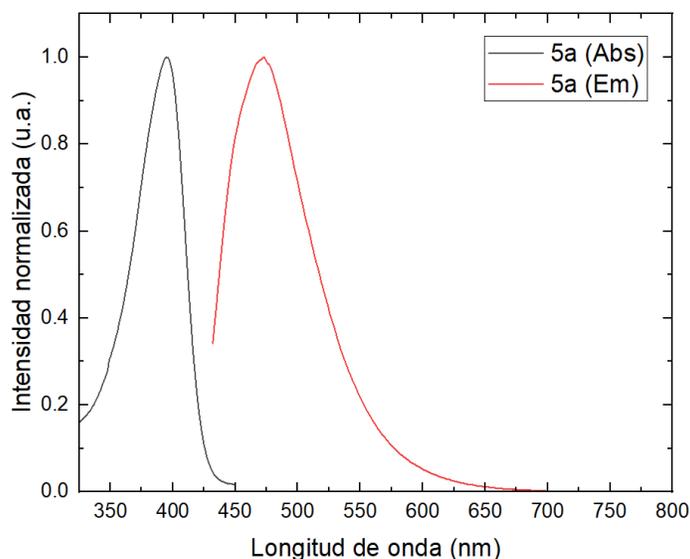


Gráfica 48 Comparación de los espectros de absorción de mezclas de **5a**-Fe(III) y el complejo **6a** aislado en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 ( $2.23 \times 10^{-5}$  M)

Estos resultados confirman la identidad molecular del complejo de hierro formado durante las pruebas analíticas y respaldan que el cambio óptico observado en la fluorescencia de **5a** tras la adición de Fe(III) se ve impulsado por la fuerte interacción entre la sonda y el ion metálico.

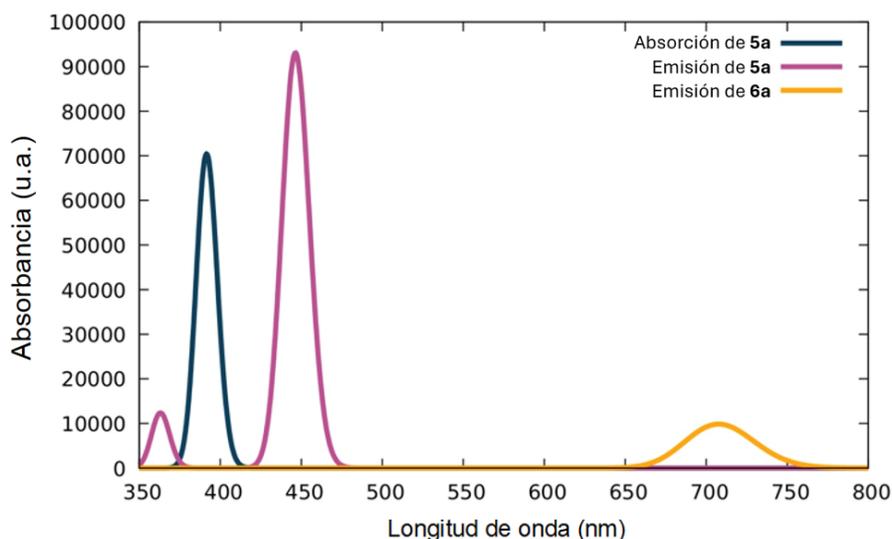
## 6.8 Cálculos teóricos

Para comprender mejor el apagamiento de la fluorescencia del compuesto **5a** debido a la formación del complejo con Fe(III), se calcularon las absorciones de este ligante, de sus emisiones y del complejo **6a**, como se muestra en la Gráfica 50. Los datos calculados concuerdan en general con los valores determinados experimentalmente (Gráfica 49). Por ejemplo, la absorción y emisión de **5a** ocurren experimentalmente a 3.14 y 2.63 eV, respectivamente mientras que los valores calculados correspondientes son 3.16 y 2.77 eV.



Gráfica 49 Absorción y fluorescencia normalizadas del compuesto **4a** en DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.

Por otro lado, los desplazamientos de Stokes experimentales y teóricos son 0.51 y 0.39 eV, respectivamente. El espectro de emisión calculado de **6a** reveló una pequeña banda de emisión alrededor de 708 nm (1.75 eV, Gráfica 50, línea naranja), la cual podría correlacionarse con la observada experimentalmente a 784 nm (1.58 eV). Todos los valores calculados presentan un error no mayor a 0.2 eV con respecto a las mediciones experimentales correspondientes.



Gráfica 50 Absorción y emisión calculadas del ligante **5a** junto con la emisión del complejo **6a**.

Los cálculos teóricos indican claramente el apagamiento de la fluorescencia del compuesto **6a** en la región del UV tras su complejación con Fe(III). Se examinó más a fondo el mecanismo de este apagamiento mediante el análisis de los Orbitales de Transición Natural (NTOs, por sus

siglas en inglés).<sup>100</sup> Los NTOs son orbitales moleculares que ofrecen una representación más intuitiva y localizada de los orbitales involucrados en las transiciones electrónicas, lo que facilita la interpretación del significado químico subyacente. La Figura 52 muestra los NTOs del compuesto **4b** en el momento de la emisión. La transición orbital que conduce a la fotoemisión ocurre de NTO-63 a NTO-62, como se muestra en la Figura 52a. Ambos orbitales son de naturaleza  $\pi$ , pero NTO-63 presenta un mayor número de nodos, lo que acentúa su carácter antienlazante. Además, NTO-62 incluye contribuciones relevantes de ambos átomos de oxígeno.

La situación en el complejo **6a** es diferente. El análisis de NTOs indica que, durante el proceso de emisión, la densidad electrónica se transfiere en gran medida de un ligante a otro. Los orbitales NTO involucrados son NTO-144 y NTO-143 en una transición  $\pi^* \rightarrow \pi$  (Figura 52b). Esta transición orbital abarca una distancia considerable y, por lo tanto, es desfavorecida, como lo demuestra el fuerte apagamiento observado tras la complejación con el átomo de hierro. El hecho de que Fe contribuya sustancialmente a NTO-144 y NTO-143 resalta la importancia de este átomo central en la transición orbital y en el proceso general de fotoemisión.

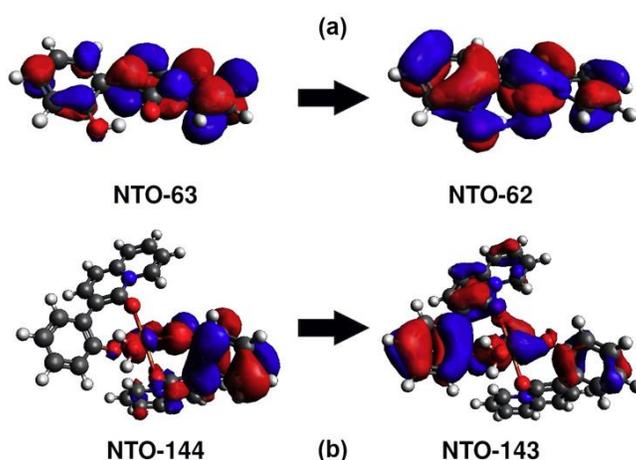


Figura 52 Orbitales de transición natural involucrados en la emisión de los sistemas **5a** y **6a**.

### 6.8.1 Análisis de la función de onda

Finalmente, se realizó el análisis de densidad electrónica de acuerdo con la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM, por sus siglas en inglés). La QTAIM establece una partición del espacio tridimensional en átomos considerando las propiedades topológicas de la densidad electrónica. Definimos las cuencas atómicas de la QTAIM como los conjuntos estables de atractores del campo vectorial  $\nabla\rho(r)$ , donde  $\rho(r)$  representa la densidad electrónica del sistema.

<sup>100</sup> R. L. Martin, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 4775–4777.

Los átomos de la QTAIM son subsistemas cuánticos propiamente definidos, para los cuales es posible calcular los valores esperados de diferentes observables de Dirac, como su carga. Dado el número de electrones dentro de una cuenca QTAIM,  $\Omega_A$ ,

$$N(\Omega_A) = \int_{\Omega_A} \rho(r) dr \quad \dots\dots\dots (10)$$

se puede calcular la carga QTAIM como:

$$Q(\Omega_A) = Z(\Omega_A) - N(\Omega_A) \quad \dots\dots\dots (11)$$

Esta expresión permite agrupar diferentes cuencas QTAIM para determinar la carga de grupos funcionales en una molécula o sistema electrónico:

$$Q(\mathcal{G}) = \sum_{\Omega_A \in \mathcal{G}} Q(\Omega_A) \quad \dots\dots\dots (12)$$

Se calcularon los cambios en las cargas QTAIM debido a la transición  $S_1 \rightarrow S_0$  como:

$$\Delta Q(\Omega_A) = Q^{S_0}(\Omega_A) - Q^{S_1}(\Omega_A) \quad \dots\dots\dots (13)$$

Similar a la ecuación (4), la fórmula (6) permite agrupar diferentes cuencas QTAIM para calcular el cambio de carga correspondiente en los grupos funcionales:

$$\Delta Q(\mathcal{G}) = \sum_{\Omega_A \in \mathcal{G}} \Delta Q(\Omega_A) \quad \dots\dots\dots (13)$$

Se dividieron los grupos funcionales en: (i) el grupo C-O-H, (ii) la unidad NCO del núcleo de la 4*H*-quinolizina-4-ona, (iii) el resto de la cadena hidrocarbonada del compuesto **4b**. En el caso del sistema **6a**, se añadieron: (iv) el centro metálico y (v) las moléculas de agua apicales, considerando además una versión modificada del grupo (i) C-O-H sin el protón. Estos grupos se ilustran en la Figura 53.

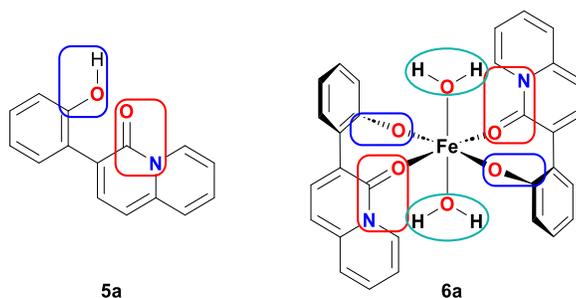


Figura 53 División de los compuestos **5a** y **6a** en grupos funcionales para el análisis de la transferencia de carga electrónica debido a la transición  $S_1 \rightarrow S_0$ .

La **Tabla 29** presenta los valores de carga de estos grupos funcionales en las especies **5a** y **6a** calculados a partir de la Ecuación (12), junto con los cambios de carga calculados debido a la transición  $S_1 \rightarrow S_0$  a partir de la Ecuación (13). Se observa que el centro de hierro y las moléculas de agua apicales en el compuesto **6a** pierden un número considerable de electrones (0.458 e en total) debido a esta transición electrónica. Estos electrones son adquiridos principalmente por el grupo funcional (iii), es decir, el resto de la cadena hidrocarbonada. Cabe destacar que el flujo de carga electrónica en la cadena hidrocarbonada es opuesto al que ocurre en el compuesto **5a**, donde esta cadena perdió 0.132 e como consecuencia de la fotoemisión.

El flujo de carga electrónica en los grupos funcionales (i) C-O-H y (ii) NCO debido a la transición  $S_1 \rightarrow S_0$  en **5a** también se ve significativamente afectado por la complejación con Fe(III). En todos los casos, estos grupos funcionales adquieren electrones debido a la desexcitación, pero la coordinación con Fe(III) incrementa esta ganancia en el grupo C-O-H, mientras que en la unidad NCO tiene el efecto contrario. Estos cambios son tan significativos que las proporciones relativas de ganancia electrónica en estos grupos se invierten en los compuestos **5a** y **6a**.

En resumen, la complejación del compuesto **5a** con Fe(III) altera significativamente las transferencias electrónicas asociadas con la transición  $S_1 \rightarrow S_0$ , lo que da lugar al apagamiento de fluorescencia previamente discutido.

**Tabla 29** Cargas de los grupos funcionales de las especies **5a** y **6a** mostradas en la Figura 47 en los estados electrónicos  $S_1$  y  $S_0$  (ecuación (3)). También se presentan los cambios correspondientes en dichas cargas debido a la transición  $S_1 \rightarrow S_0$  (fórmula (5)). Todas las unidades están expresadas en unidades atómicas.

<b>5a</b>			
	$S_1$	$S_0$	$\Delta Q(G) = Q^{S_0}(G) - Q^{S_1}(G)$
-COH	0.009	-0.047	-0.056
-NCO	-1.136	-1.211	-0.075
Rest of hydrocarbon chain	1.126	1.258	0.132
<b>6a</b>			
	$S_1$	$S_0$	$\Delta Q(G) = Q^{S_0}(G) - Q^{S_1}(G)$
-CO	-1.106	-1.236	-0.130
-NCO	-2.589	-2.613	-0.025
Rest of hydrocarbon chain	3.008	2.704	-0.305
Fe	1.609	1.991	0.382
H <sub>2</sub> O...	0.078	0.154	0.076

## CONCLUSIONES

En este trabajo se desarrolló con éxito la síntesis y caracterización de nuevas sondas fluorescentes, algunas de ellas capaces de detectar selectivamente el ion Fe(III) a través de un mecanismo de apagamiento fluorescente. La investigación se centró en la modificación estructural de heterociclos fusionados, lo que permitió explorar la relación entre la estructura del ligante y su comportamiento espectroscópico.

Se logró la síntesis y optimización de nuevos heterobiciclos funcionalizados, lográndose obtener una nueva familia de sondas fluorescentes usando como intermediario reactivo común un complejo  $\eta^4$ -vinilcetena estabilizada con hierro. Las modificaciones estructurales introducidas, como la variación de grupos coordinantes, resultaron clave para modular tanto la fluorescencia como la selectividad frente a Fe(III).

Se realizaron estudios detallados de UV-Visible y fluorescencia para determinar los máximos de absorción y emisión, así como los coeficientes de absortividad molar, desplazamientos de Stokes y rendimientos cuánticos de las sondas sintetizadas.

Se llevaron a cabo pruebas de selectividad hacia varios iones metálicos. Estos resultados permitieron identificar a tres compuestos (**5a**, **5b** y **5c**) con una respuesta óptica destacada frente a Fe(III). La interacción entre las sondas y el ion Fe(III) fue evaluada mediante gráficas de Jobs, evidenciando una estequiometría mayormente 1:2 (metal:ligante) en las sondas **5a** y **5c**, y una estequiometría 1:1 en la sonda **5b**.

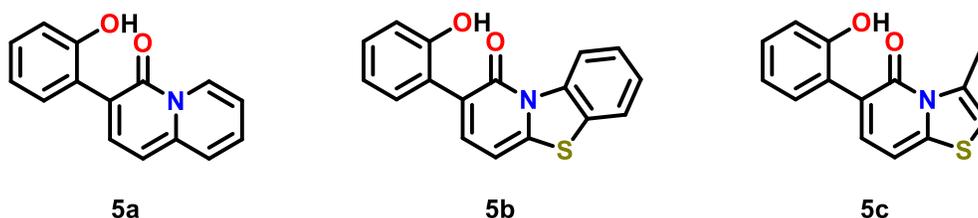


Figura 54 Estructura de las sondas fluorescentes selectivas a Fe(III)

Se determinó la constante de asociación  $K_a$  utilizando el método de Benesi-Hildebrand, con el que se calcularon las constantes de asociación de las sondas con Fe(III), evidenciando diferencias significativas en la afinidad y eficiencia de detección entre los compuestos evaluados.

Se logró aislar y caracterizar el complejo formado entre la sonda **5a** y Fe(III). La caracterización completa mediante espectrometría de masas, análisis elemental, IR lejano, EPR, UV-Visible y

fluorescencia confirmó la formación de un complejo 1:2 (metal:ligante) mediante una interacción a través de los átomos de oxígeno.

Finalmente, los resultados obtenidos en este trabajo no solo aportan al entendimiento de las relaciones estructura-propiedad en los sistemas fluorescentes presentados, sino que también abren nuevas posibilidades para el desarrollo de nuevos heterociclos fusionados complejos siguiendo una metodología estandarizada.

### **7.1 Impacto y perspectivas**

Este trabajo contribuye al diseño de sondas fluorescentes para la detección selectiva de iones metálicos, demostrando la viabilidad de sistemas heterobicíclicos modificados estructuralmente como sensores ópticos fluorescentes eficientes para la detección de Fe(III).

Como perspectivas futuras, se sugiere extender la metodología sintética para la obtención de otros tipos de heterociclos fusionados diferentes e incluso más complejos, debido a la versatilidad del método. Además, se puede evaluar la aplicación de estas sondas en muestras reales y sistemas biológicos.

## METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 8.1 Equipos e instrumentos

Todos los compuestos se caracterizaron mediante espectros IR, registrados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR y FT-IR NICOLET IS-50 Thermo Fischer Scientific, ambos aparatos cuentan con un accesorio de polarización ATR y todos los datos se expresan en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ). Los espectros de RMN se midieron en un espectrómetro Bruker Avance 300, a una frecuencia de operación de 300 MHz para  $^1\text{H}$  y 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ , utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y  $\text{CDCl}_3$  como disolvente; Los valores de los cambios químicos se dan en partes por millón (ppm), en relación con TMS.

Los análisis de espectrometría de masas se obtuvieron en un equipo JEOL SX102A (EI+ y FAB+) y en un equipo AccuTOF JMS-T100LC (DART), los valores de las señales se expresan en unidades de masa/carga (m/z), seguido de la intensidad relativa con referencia a un pico base del 100%.

El pH correspondiente se obtuvo con un potenciómetro Thermo Scientific Orion Versa Star Advanced Electrochemistry Meter.

Los puntos de fusión se obtuvieron en un aparato de punto de fusión Stuart SMP10 y no están corregidos.

Los espectros de absorción UV-Vis se registraron a 298 K en un espectrofotómetro UV-Vis Agilent con una resolución de 1 nm con una precisión de longitud de onda  $\leq \pm 0.5$  nm y una precisión fotométrica  $\leq \pm 0.005$  Å a 1,2. Se utilizaron células de cuarzo (longitud de paso 10 mm, volumen de 3 mL) usando los parámetros indicados en la **Tabla 30**.

**Tabla 30** Parámetros seleccionados para la obtención de datos de UV-Visible

<b>Parámetros</b>	<b>Datos</b>
<b>Instrumento</b>	Cary 100
<b>Inicio (nm)</b>	700
<b>Final (nm)</b>	200
<b>Modo de haz</b>	Doble
<b>Tipo de línea base</b>	Corrección por disolvente
<b>Tasa de escaneo (nm/min)</b>	600
<b>Intervalo de datos (nm)</b>	1
<b>Tipo de suavizado</b>	Sin suavizado

La espectroscopía de fluorescencia se realizó con un fluorímetro Agilent Cary Eclipse, con una precisión de longitud de onda de  $\pm 0,5$  nm y una relación señal-ruido de 550/1. Las celdas utilizadas son de cuarzo con un camino óptico de 10 mm y un volumen de 3 mL. Los espectros de fluorescencia se obtuvieron usando los parámetros indicados en la **Tabla 31**.

**Tabla 31** Parámetros seleccionados para la obtención de datos de fluorescencia

<b>Parámetros</b>	<b>Datos</b>
<b>Instrumento</b>	CaryEclipse
<b>Inicio (nm)</b>	30 más de la longitud de onda de excitación
<b>Final (nm)</b>	700
<b>Longitud de onda de excitación (nm)</b>	Depende de cada compuesto
<b>Slit de excitación (nm)</b>	5
<b>Slit de emisión (nm)</b>	5
<b>Tasa de escaneo (nm/min)</b>	600
<b>Intervalo de datos (nm)</b>	1
<b>Tipo de suavizado</b>	Moving average
<b>Voltaje (V)</b>	(600 o 620)

*Espectroscopia EPR (banda X)*. Las mediciones se realizaron en un tubo de cuarzo a 77 K en solución de acetona, utilizando un espectrómetro Jeol JES-TE300 que opera en modo Banda X a una frecuencia de modulación de 100 kHz y una cavidad cilíndrica en el modo TE011. La calibración externa del campo magnético se realizó utilizando un gaussímetro de precisión Jeol ES-FC5 con un contador de frecuencia de microondas 5350B HP. La adquisición espectral, las manipulaciones y la simulación se realizaron utilizando el software ES-PRITS-TE. Los espectros de EPR se registraron como primera derivada y se calcularon los parámetros principales, como los valores del factor g.

## 8.2 Síntesis y caracterización de compuestos

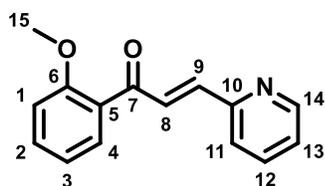
### 8.2.1 Síntesis de la fuente de hierro $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$

En un Schlenk de 500 mL se agregaron 50 mL de  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  (1 eq.) y 348 mL de ácido acético glacial (16 eq.) colocándose en agitación y llevándose a un sitio fuera de laboratorio bajo la luz del sol, todo el día durante 5 días. Al final de cada día, se filtró la mezcla, obteniendo  $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$  como producto sólido con un rendimiento máximo del 70 %.

### 8.2.2 Síntesis de las cetonas $\alpha,\beta$ -insaturadas

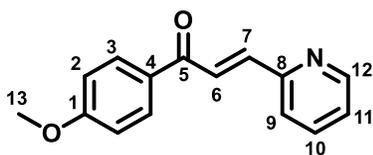
En un matraz bola de 100 mL se agregaron 0.2 mmol de  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (10 % mol) y se disolvieron en 3 mL de etanol por 15 minutos. Posteriormente, se agregaron 30 mL de éter etílico y adicionaron 2 mmol de la correspondiente metoxiacetofenona y 2.2 mmol del 2-piridincarboxaldehído. La reacción se monitoreó por CCF hasta que se observó la desaparición del 2-piridincarboxaldehído, en un tiempo de entre 3 a 5 horas. La mezcla de reacción se filtró en una columna de percolación con celita y el disolvente fue removido por destilación a presión reducida. Finalmente, el compuesto se purificó por cromatografía en columna usando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil variaciones de hexano-acetato de etilo (95:5 a 80:20 v/v).

#### *(E)*-1-(2-Metoxifenil)-3-(2-piridinil)-2-propen-1-ona (**1a**)



Sólido beige. Rendimiento (90 %). P.F. 72 °C. **IR** ( $\text{cm}^{-1}$ ) 1663 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1577 ( $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ )  **$^1\text{H RMN}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  8.65 (d, 1H, H14), 7.82 (d, 1H, H9), 7.71 (t, 1H, H12), 7.63 (m, 1H, H4), 7.63 (m, 1H, H4), 7.60 (d, 1H, H8), 7.47 (m, 2H, H2, H11), 7.25 (t, 1H, H3), 7.01 (m, 2H, H1, H13), 3.90 (s, 3H, H15).  **$^{13}\text{C RMN}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  193.1 (C-7), 158.3 (C-6), 153.7 (C-10), 150.1 (C-14), 141.6 (C-9), 136.7 (C12), 133.1 (C-2), 130.5 (C-8), 130.4 (C-4), 129.0 (C-5), 124.6 (C-3), 124.1 (C-11), 120.7 (C-13), 111.6 (C-1), 55.8 (C-15). **EM-AR** ( $\text{FAB}^+$ )  $m/z$  para  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ : calculado 239.0946, experimental 240.1026 [ $\text{M}^+ + 1$ ].

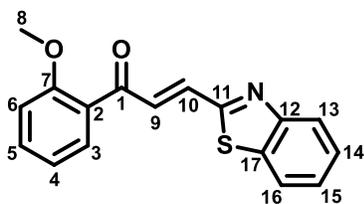
*(E)*-1-(4-Metoxifenil)-3-(2-piridinil)-2-propen-1-ona (**1c**)



Sólido amarillo claro. Rendimiento (53 %). P.F. 68 °C. **IR** ( $\text{cm}^{-1}$ ) 1659 (C=O), 1584 ( $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ )  **$^1\text{H RMN}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 8.69 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H, H12), 8.16-8.10 (m, 3H, H2, H7), 7.77 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H, H6), 7.73 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H, H10), 7.47 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, H9), 7.29 (t,  $J = 6.1$  Hz, 1H, H11), 6.98 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, H3), 3.88 (s, 3H, H13).  **$^{13}\text{C RMN}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 188.7, 163.7, 153.4, 150.2, 142.0, 137.0, 131.2, 130.9, 125.5, 125.5, 124.4, 113.9, 55.6. **EM-AR** (FAB<sup>+</sup>)  $m/z$  para  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ : calculado 239.0946, experimental 240.1026 [ $\text{M}^+ + 1$ ].<sup>46</sup>

Para la obtención del compuesto **1d**, se llevó a cabo una modificación del método de síntesis. En este caso, se usó NaOH al 20 % como base, la cual fue disuelta en 40 mL de una mezcla agua:etanol 1:1 para posteriormente agregar 2 equivalente de piridina y colocarse en baño de hielo. Una vez fría la solución, se adicionaron 0.002 mol de 2'-metoxiacetofenona, y posteriormente se agregaron muy lentamente y en solido 0.003 mol de benzotiazol-2-cboxaldehído. Se mantuvo la reacción en frío por una hora y se después se colocó a temperatura ambiente. La reacción se monitoreó por CCF hasta que se observó la desaparición del benzotiazol-2-cboxaldehído, en un tiempo de 2 horas. La mezcla de reacción se filtró en una columna de percolación con celita y el disolvente fue removido por destilación a presión reducida. Finalmente, el compuesto se purificó por cromatografía en columna usando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil hexano-acetato de etilo (98:2 v/v).

*(E)*-3-(Benzo[d]tiazolo-2-il)-1-(2-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1d**)



Sólido amarillo. Rendimiento (60 %). P..F. 81 °C. **IR** ( $\text{cm}^{-1}$ ) 1661 (C=O), 1601 ( $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ ) ( **$^1\text{H RMN}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  8.07 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H, H13), 7.89 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H, H16), 7.82 (d,  $J=15.9$  Hz, 1H, H10), 7.73 (d,  $J=15.9$  Hz, 1H, H9), 7.69 (dd, 1H, H3), 7.48 (m, 3H, H5, H14, H15), 7.04 (m, 2H, H4, H6), 3.94 (s, 3H, H8).  **$^{13}\text{C RMN}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  191.51 (C-1), 164.76 (C-11), 158.60 (C-7), 154.07 (C-12), 135.17 (C-17), 134.47 (C-5), 134.19 (C-3), 133.85 (C-10), 130.74 (C-9), 128.13 (C-2), 126.74 (C-14), 126.46 (C-4), 123.92 (C-15), 121.75 (C-13), 120.96 (C-16), 111.70 (C-

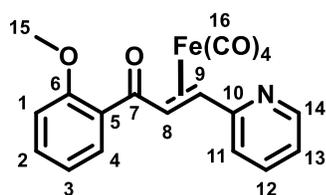
6), 55.81 (C-8). **EM-AR** (ESI) m/z for C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>S: calculado 295.0667, experimental 296.07377 [M<sup>+</sup> + 1].

### 8.2.3 Síntesis de los complejos $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>]

En un matraz bola de 50 mL se agregaron 2 mmol de la correspondiente cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada y se colocó en atmósfera de argón. Posteriormente, se agregaron 30 mL de diclorometano anhidro y se colocó en agitación en un tiempo variable de 3 a 6 horas. La reacción se siguió por CCF hasta observar la desaparición casi completa de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada sin coordinar. El crudo de reacción se filtró en una columna de percolación con celita y el disolvente fue removido por destilación a presión reducida.

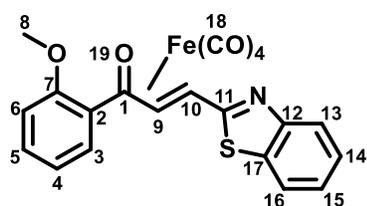
Finalmente, el compuesto se purificó por cromatografía en columna usando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil hexano-acetato de etilo (80:20 v/v).

#### $\eta^2$ -[(2E)-1-(2-Metoxifenil)-3-(2-piridinil)-2-propen-1-ona] tetracarbonilhierro (0) (**2a**)



Sólido naranja. Rendimiento (84 %). M.P. 80 °C (desc). **IR** (cm<sup>-1</sup>): 2092, 2066, 2014, 1976 (M-C  $\equiv$  O), 1641 (C=O) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  207.03 (C-16), 196.13 (C-7), 161.78 (C-10), 158.15 (C-6), 148.99 (C-14), 136.46 (C-12), 133.21 (C-2), 130.82 (C-4), 128.16 (C-5), 122.89 (C-11), 121.00 (C-13), 120.70 (C-3), 111.54 (C-1), 57.81 (C-8), 56.58 (C-15), 55.45 (C-9). **EM** (ESI<sup>+</sup>) m/z para C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>6</sub>Fe: calculado 407.0092, experimental 407.90.

#### $\eta^2$ -[(E)-3-(Benzo[d]thiazol-2-il)-1-(2-metoxifenil)prop-2-en-1-ona] tetracarbonilhierro (0). (**2d**)



Sólido naranja. Rendimiento (71 %). P.F. 67 °C (desc). **IR** (cm<sup>-1</sup>): 2101, 2070, 2029 y 1989 (M-C  $\equiv$  O), 1628 (C=O) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  7.94 (m, 1H, H13), 7.81 (m, 2H, H3, H16), 7.54 (t, 1H, H5), 7.36 (m, 2H, H14, H15), 7.05 (m, 2H, H4, H6), 5.43 (d, J=10.8 Hz, 1H, H10), 5.13 (d, J=10.8 Hz, 1H, H9), 4.07 (s, 3H, H8). **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  205.80 (C-18), 195.68 (C-1), 173.45 (C-11),

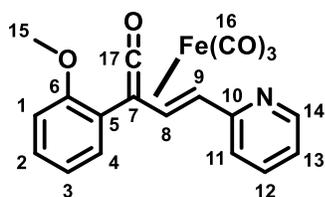
158.32 (C-7), 153.10 (C-12), 135.22 (C-17), 133.68 (C-5), 131.05 (C-3), 128.99 (C-2), 126.20 (C-14), 124.61 (C-4), 122.31 (C-15), 121.47 (C-13), 120.89 (C-16), 111.60 (C-6), 55.64 (C-8), 55.49 (C-9), 49.36 (C-10). **EM** (ESI<sup>+</sup>) m/z para C<sub>22</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>6</sub>Fe: calculado 462.9813, experimental 463.98.

### 8.2.4 Síntesis de los complejos $\eta^4$ -vinilcetena [Fe(CO)<sub>3</sub>]

En un matraz bola de 50 mL se agregaron 0.0015 mol del correspondiente complejo  $\eta^2$ -vinilcetona [Fe(CO)<sub>4</sub>] y se colocó en atmósfera de argón. Posteriormente, se agregaron 30 mL de diclorometano anhidro y se colocó en un baño de acetona con una sonda fría a -70 °C. Luego de que la mezcla de reacción alcanzó -70 °C, se agregó gota a gota 1.5 eq de MeLi y se dejó reaccionar por media hora. Pasado el tiempo, se llevó a cabo un cambio de atmósfera de argón a CO y se dejó subir la temperatura lentamente hasta temperatura ambiente.

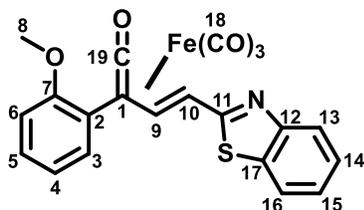
La reacción se retiró luego de 4h después del cambio de atmósfera. El crudo de reacción se filtró en una columna de percolación con celita y el disolvente fue removido por destilación a presión reducida. Finalmente, el compuesto se purificó por cromatografía en columna usando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil mezclas de hexano-diclorometano (50:50 a 30:70 v/v).

$\eta^4$ -[*(E)*-2-(2-Metoxifenil)-4-(2-piridinil)-1,3-butadien-1-ona] tricarbonilhierro (0) (**3a**)



Sólido amarillo. Rendimiento (70 %). P.F. 106 °C. **IR** (cm<sup>-1</sup>): 2061, 2046, 1983 (M-C  $\equiv$  O), 1761 (C=C=O) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  8.60 (m, 1H, H14), 7.31 (m, 8H, H1, H2, H3, H4, H8, H12, H13, H14), 3.91 (s, 3H, H15), 3.18 (d, 1H, H9). **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  157.72 (C-10), 149.82 (C-14), 136.62 (C-12), 133.22 (C-5), 130.46 (C-2), 130.28 (C-4), 122.81 (C-3), 121.65 (C-13), 120.96 (C-11), 118.72 (C-6), 111.11 (C-1), 96.26 (C-8), 58.57 (C-9), 55.20 (C-15), 50.01 (C-7). **EM** (ESI<sup>+</sup>) m/z para C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>Fe: calculado 391.0143, experimental 391.70.

$\eta^4$ -[(*E*)-4-(Benzo[*d*]thiazol-2-*il*)-2-(2-metoxifenil)buta-1,3-dien-1-ona] tricarbonilhierro (0). (**3d**)

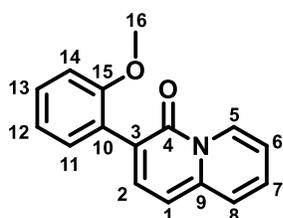


Sólido amarillo. Rendimiento (59 %). M.P. 125 °C desc. **IR (cm<sup>-1</sup>):** 2064, 2015 y 1983 (M-C≡O), 1767 (C=C=O) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 8.00 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, H13), 7.85 (d, *J*=7.8 Hz, 1H, H16), 7.71 (dd, 1H, H3), 7.42 (m, 4H, H5, H9, H14, H15), 7.03 (t, 1H, H4), 6.94 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H6), 3.94 (s, 3H, H8), 3.28 (d, *J*=8.4 Hz, 1H, H10). **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 230.61 (C-19), 169.12 (C-11), 157.94 (C-7), 153.80 (C-12), 134.98 (C-17), 130.78 (C-5), 130.49 (C-3), 126.52 (C-14), 125.10 (C-15), 122.77 (C-13), 121.65 (C-4), 121.10 (C-16), 117.45 (C-2), 111.24 (C-6), 96.15 (C-9), 55.28 (C-8), 50.83 (C-10), 50.12 (C-1). **EM** (ESI<sup>+</sup>) *m/z* para C<sub>21</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>SFe: calculado 446.9858, experimental 447.98.

### 8.2.5 Síntesis de los compuestos 4a, 4b, 4c y 4d.

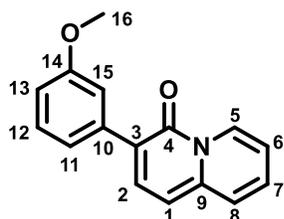
En un matraz bola de 100 mL se colocaron 0.001 mol del correspondiente complejo  $\eta^4$ -vinilcetena [Fe(CO)<sub>3</sub>] y se agregaron 40 mL de tolueno. Este se colocó en una parrilla a reflujo con agitación constante por 1 hora y se dejó enfriar. Posteriormente, la mezcla de reacción se pasó por en una columna de percolación con celita y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado mediante placa semipreparativa de sílice usando un sistema hexano : acetato de etilo : diclorometano como fase móvil.

3-(2-Metoxifenil)-4*H*-quinolizin-4-ona (**4a**)



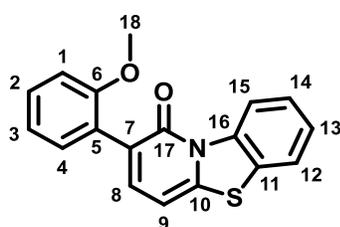
Sólido amarillo limón. Rendimiento (78 %). P.F. 141-142 °C. **IR (cm<sup>-1</sup>):** 1648 (C=O), 1296 (C-O) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 9.21 (d, 1H, H8), 7.80 (d, 1H, H2), 7.48 (m, 2H, H5, H13), 7.31 (m, 2H, H6, H14), 7.01 (m, 3H, H7, H11, H12), 6.71 (d, 1H, H3), 3.81 (s, 3H, H16). **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 157.14 (C-9), 157.07 (C-15), 141.96 (C-4), 138.91 (C-2), 131.68 (C-13), 128.83 (C-14), 128.81 (C-6), 127.72 (C-8), 126.89 (C-10), 125.32 (C-5), 120.58 (C-12), 118.24 (C-1), 114.87 (C-7), 111.36 (C-11), 102.57 (C-3), 55.80 (C-16). **EM-AR** (ESI<sup>+</sup>) *m/z* for C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>: calculado 251.0946, experimental 252.1142.09 [M<sup>+</sup> + 1].

### 3-(2-Metoxifenil)-4H-quinolizin-4-ona (**4b**)



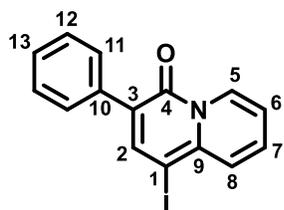
Líquido amarillo pálido. Rendimiento (42 %). **IR** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1625 (C=O), 1247 (C-O)  **$^1\text{H RMN}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.21 (d, 1H, H8), 7.80 (d, 1H, H2), 7.48 (m, 2H, H5, H13), 7.31 (m, 2H, H6, H14), 7.01 (m, 3H, H7, H11, H12), 6.71 (d, 1H, H3), 3.81 (s, 3H, H16).  **$^{13}\text{C RMN}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  157.14 (C-9), 157.07 (C-15), 141.96 (C-4), 138.91 (C-2), 131.68 (C-13), 128.83 (C-14), 128.81 (C-6), 127.72 (C-8), 126.89 (C-10), 125.32 (C-5), 120.58 (C-12), 118.24 (C-1), 114.87 (C-7), 111.36 (C-11), 102.57 (C-3), 55.80 (C-16). **EM-AR** (ESI+) m/z para  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ : calculado 251.0946, experimental 252.1142.09 [ $\text{M}^+ + 1$ ].

### 2-(2-Metoxifenil)-1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona (**4d**)



Sólido verde pálido. (59 %). M. P. 175 °C desc. **IR** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1639 (C=O), 1521 ( $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ )  **$^1\text{H RMN}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.36 (d,  $J=9.6$  Hz, 1H, H15), 7.61 (m, 1H, H12), 7.54 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H, H8), 7.43 (m, 3H, H4, H13, H14), 7.35 (t, 1H, H2), 7.03 (m, 2H, H3, H9), 6.69 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H, H1), 3.81 (s, 3H, H18).  **$^{13}\text{C RMN}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  161.67 (C-17), 157.25 (C-6), 144.86 (C-10), 139.09 (C-16), 137.97 (C-8), 131.56 (C-2), 129.09 (C-4), 126.56 (C-14), 126.28 (C-12), 126.18 (C-5), 125.92 (C-11), 122.70 (C-7), 121.32 (C-3), 121.01 (C-13), 120.56 (C-15), 111.33 (C-1), 99.56 (C-9), 55.84 (C-18). **EM-AR** (ESI+) m/z para  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$ : calculado 307.0667, experimental 308.07493 [ $\text{M}^+ + 1$ ].

### 1-Yodo-3-fenil-4H-quinolizin-4-ona (**4f**)



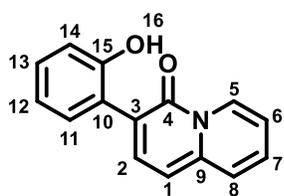
Sólido verde claro. (70 %). M. P. 175 °C desc. **IR** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1618 (C=O)  **$^1\text{H RMN}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.29 (d, 1H, H5), 8.26 (s, 1H, H2), 7.88 (d, 1H, H8), 7.80 (d, 1H, H11), 7.44 (m, 2H, H12, H13), 7.34 (t, 1H, H7) 7.08 (t, 1H, H6),  **$^{13}\text{C RMN}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  156.94 (C-4), 146.22 (C-2), 140.64 (C-9), 136.46 (C-10), 131.78 (C-5), 129.14 (C-7), 129 (C-13), 128.72 (C-12), 128.38 (C-11), 127.58 (C-8), 121.87 (C-3), 115.65 (C-6), 64.67

(C-1). **EM-AR** (ESI+) m/z para C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>INO: calculado 346.9807, experimental 347.9886 [M<sup>+</sup> + 1].

### 8.2.6 Síntesis de los ligantes 5a, 5b y 5c.

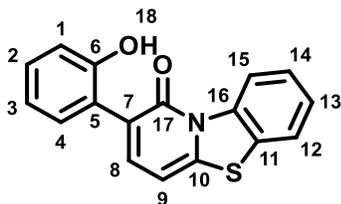
En un matraz bola de 10 mL se colocaron 0.0002 mol de los correspondientes compuestos **4a**, **4c** o **4e** y se adicionaron 5 mL de HBr al 48 %. La reacción se colocó a reflujo por 8 horas. Una vez transcurrido el tiempo, el matraz se colocó en un baño de hielo y se neutralizó la mezcla de reacción, usando primero una solución de NaOH al 20 % m/v y posteriormente una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Posteriormente, se llevó a cabo una extracción líquido-líquido usando como fase orgánica acetato de etilo. El disolvente se retiró por destilación a presión reducida y la mezcla de reacción fue purificada haciendo uso de una placa semipreparativa de sílice, usando un sistemas de disolventes hexano : acetato de etilo : acetonitrilo como fase móvil.

#### 3-(2-Hidroxifenil)-4H-quinolizin-4-ona (**5a**)



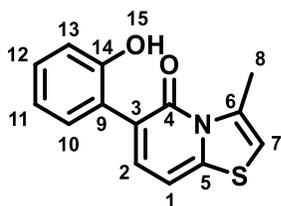
Sólido verde neón. Rendimiento (86 %). P.F. 165-167 °C. **IR** (cm<sup>-1</sup>): 1613 (C=O), 1476 (C<sub>sp</sub><sup>2</sup>-H) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 9.69 (s, 1H, H16), 9.38 (d, 1H, H5), 8.04 (d, 1H, H2), 7.65 (d, 1H, H8), 7.50 (t, 1H, H13), 7.34 (m, 2H, H6, H11), 7.23 (t, 1H, H12), 7.11 (d, 1H, H14), 7.01 (m, 2H, H1, H7). **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 156.93 (C-4), 156.51 (C-15), 141.39 (C-9), 139.51 (C-2), 130.70 (C-13), 129.92 (C-7), 129.36 (C-8), 127.68 (C-11), 125.73 (C-3), 125.38 (C-5), 120.58 (C-12), 120.47 (C-10), 119.74 (C-14), 116.96 (C-1), 106.41 (C-6). **EM-AR** (ESI+) m/z para C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>: calculado 237.0789, experimental 238.08647 [M<sup>+</sup> + 1].

2-(2-Hidroxifenil)-1H-benzo[4,5]tiazolo[3,2-a]piridin-1-ona (**5b**)



Amarillo pálido. Rendimiento. (58 %). P.F. 207 °C. **IR (cm<sup>-1</sup>):** 1616 (C=O), 1513 (Csp<sup>2</sup>-H) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 9.48 (d, *J*=10.2 Hz, 1H, H15), 9.25 (s, 1H, H18), 7.83 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, H8), 7.73 (m, 1H, H12), 7.56 (m, 2H, H10, H4), 7.35 (m, 2H, H9, H2), 7.14 (dd, *J*=8.1 Hz, 1H, H1), 7.03 (t, 1H, H3), 6.99 (d, *J*=7.8 Hz, 1H, H9). **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 162.65 (C-17), 156.06 (C-6), 145.76 (C-10), 139.48 (C-8), 138.47 (C-16), 130.76 (C-2), 129.59 (C-14), 127.53 (C-9), 126.77 (C-12), 126.56 (C-11), 125.31 (C-7), 124.53 (C-5), 121.83 (C-13), 121.68 (C-3), 120.77 (C-15), 119.67 (C-1), 102.51 (C-9). **AR-MS** (ESI+) *m/z* para C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>S: calculado 293.0510, experimental 294.05815 [M<sup>+</sup> + 1].

6-(2-Hidroxifenil)-3-metil-5H-tiazolo[3,2-a]piridin-5-ona (**5c**)



Amarillo pálido. Rendimiento. (80 %). P.F. 186-187 °C. **IR (cm<sup>-1</sup>):** 1618 (C=O), 1504 (Csp<sup>2</sup>-H) **<sup>1</sup>H RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 9.33 (s, 1H, H15), 7.73 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, H2), 7.30 (m, 2H, H12, H10), 7.08 (d, *J*=7.2 Hz, 1H, H13), 6.99 (t, 1H, H11), 6.91 (d, *J*=8.1 Hz, 1H, H1), 6.60 (s, 1H, H7), 3.00 (s, 3H, H8). **<sup>13</sup>C RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 162.40 (C-4), 156.08 (C-14), 149.56 (C-5), 139.87 (C-6), 139.56 (C-2), 130.60 (C-10), 129.19 (C-12), 125.59 (C-9), 122.05 (C-3), 120.56 (C-11), 119.58 (C-13), 108.68 (C-7), 102.68 (C-1), 19.33 (C-8). **EM-AR** (ESI+) *m/z* para C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>S: calculado 257.3070, experimental 258.05760 [M<sup>+</sup> + 1].

### 8.3 Caracterización espectroscópica

Para realizar las mediciones de los espectros de UV-Visible y fluorescencia, se prepararon las muestras de la siguiente manera. Para cada uno de los compuestos fluorescentes sintetizados (Página 98, Figura 46) se prepararon disoluciones madre de concentración 1 mM en diferentes disolventes. Los espectros de absorción se obtuvieron en el intervalo de 700 a 200 nm, corrigiendo la línea base con respecto al disolvente utilizado.

Para las mediciones de fluorescencia, se realizaron diluciones a partir de las correspondientes disoluciones madre para cada una de las sondas fluorescentes obtenidas. La concentración de estas disoluciones varió según la intensidad de fluorescencia de cada compuesto. La longitud de onda de excitación para las mediciones de fluorescencia se seleccionó a partir de los máximos de absorción correspondientes a cada compuesto.

*Rendimientos cuánticos.* Todas las mediciones se llevaron a cabo bajo condiciones controladas de temperatura y concentración, asegurando una absorción menor a 0.1 unidades de absorbancia en la longitud de onda de excitación, para evitar fenómenos de auto absorción o emisión reabsorbida.

El estándar empleado fue el sulfato de quinina, usando como disolvente ácido sulfúrico 0.1 M, el cual tiene un rendimiento cuántico reportado en la literatura de 0.54 y un rango de emisión de 400-600 nm.<sup>101</sup> El índice de refracción reportado para una solución 0.1 M de ácido sulfúrico es de 1.33, mientras que el reportado para el sistema DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 es de 1.407.<sup>102</sup>

*Estudios de selectividad.* Las soluciones de las sondas fluorescentes se prepararon disolviendo una cantidad específica de cada compuesto en el sistema DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 para obtener una disolución madre de concentración 1mM. En algunos casos fue necesario hacer una siguiente dilución, preparando nuevas disoluciones a partir de la disolución madre con concentraciones entre 0.1 y 0.5 mM. Por otro lado, las soluciones de los analitos (Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Cd<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, etc.) se prepararon a una concentración de 10mM también en un sistema DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1.

Los estudios de selectividad se realizaron añadiendo 10 equivalentes del ion a estudiar a disoluciones de cada sonda fluorescente a concentración constante. Tras cada adición, la disolución resultante fue monitoreada mediante espectroscopía de fluorescencia, midiendo inicialmente el ligante libre como referencia. Para asegurar la reproducibilidad de los resultados,

---

<sup>101</sup> W. H. Melhuish, *J. Phys. Chem.* **1961**, 65, 229–235

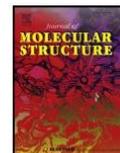
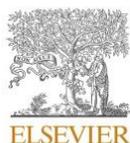
<sup>102</sup> R. G. LeBEL, A. I. Goring., *J. Chem. Eng. Data.* **1962**, 7, 100-101.

las mediciones se llevaron a cabo por triplicado para cada ion. En la literatura hay varios trabajos que reportan la unión de sondas fluorescentes a ciertos aniones, por lo que se llevó a cabo el estudio de selectividad también hacia los iones  $I^-$ ,  $OH^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $CN^-$ ,  $CH_3COO^-$  y  $HPO_4^{2-}$ .

Se mantuvo una temperatura constante de 25 °C y un pH de 7.4, ajustado mediante el buffer MOPS. Las muestras se irradiaron a una longitud de onda específica para cada compuesto (en la que se obtuvo la máxima respuesta de fluorescencia), como se muestra en la Página 109 **Tabla 23**.

## ANEXO 1 PUBLICACIONES

David Gallardo-Rosas, Luis D. Rosales-Vázquez, José M. Guevara-Vela, César I. Sandoval-Chávez, Alejandro Dorazco-González, Tomás Rocha-Rinza, José G. López-Cortés y M. Carmen Ortega-Alfaro. "Synthesis of a new water-soluble highly Fe(III)-selective fluorescent chemosensor based on 4*H*-quinolizin-4-one." *J. Mol. Struct.* **2025**, 1324, 140753.



## Synthesis of a new water-soluble highly Fe(III)-selective fluorescent chemosensor based on 4*H*-quinolizin-4-one

David Gallardo-Rosas<sup>a</sup>, Luis D. Rosales-Vázquez<sup>a</sup>, José M. Guevara-Vela<sup>c</sup>, César I. Sandoval-Chávez<sup>a</sup>, Alejandro Dorazco-González<sup>b</sup>, Tomás Rocha-Rinza<sup>b</sup>, José G. López-Cortés<sup>b</sup>, M. Carmen Ortega-Alfaro<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, México, CDMX, México

<sup>b</sup> Instituto de Química, UNAM, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, México, CDMX, México

<sup>c</sup> Departamento de Química Física Aplicada, Universidad Autónoma de Madrid, C. Francisco Tomás y Valiente, 7, Madrid 28049, Spain

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Fe(III) detection  
Fluorescent chemosensor  
Fluorescence turn-off mechanism  
4*H*-quinolizin-4-one  
PET

### ABSTRACT

We describe the design, synthesis and studies of a new Fe(III)-selective fluorescent chemosensor in aqueous media based on a 4*H*-quinolizin-4-one (4b). This chemosensor exhibits high sensitivity and selectivity for the detection of Fe(III) in aqueous mixtures in the micromolar concentration range as well as in the presence of other common interfering metal ions, making it a promising tool for the detection of Fe(III) with a limit of detection (LOD) of 13.15  $\mu\text{M}$  in binary solvents DMSO/water, 1:1. Furthermore, this chemoreceptor exhibits a linear and stable fluorescent response over a range of 0 to 12  $\mu\text{M}$  of Fe(III), with high affinity ( $3.13 \times 10^6 \text{ M}^{-2}$ ), which allows the quantitative determination of this metal ion. These results allow to envisage potential applications for the detection of Fe(III) in the diagnosis various of ferric-related diseases.

### 1. Introduction

The selective and sensitive detection of metal ions in aqueous solutions or biocompatible organic solvents is of great relevance due to their wide range of applications in biological and environmental processes [1]. In particular, Fe(III) is an important metal ion in biology, since it is involved in a wide variety of biochemical processes, including oxygen transport [2], DNA synthesis, and energy production in cells [3]. Hence, the selective and sensitive detection of this metal is essential for both fundamental and applied research [4]. One of the principal challenges in the detection of Fe(III), involves the common interferences with other metals as many of the available chemosensors show low selectivity for the particular cation. Another common limitation in the quantification of Fe(III) is a high Limit of Detection (LOD). The ability of a chemosensor to distinguish between Fe(II) and Fe(III) is particularly important in biological and medical studies, where the balance and interconversion of these iron oxidation states are closely related to cellular functions, metabolism, and diseases such as anemia, Parkinson's disease and diabetes [5]. However, many of the chemosensors developed for the detection of Fe(III) have a significant limitation in their ability to effectively differentiate between Fe(III) and Fe(II). This lack of specific

selectivity is often due to the chemical and structural similarity between these two iron oxidation states, which can result in indistinguishable signals when both ions are present in a sample [6]. An interesting approach to solve this drawback is to use a fluorescence molecular receptor that gives a selective and a sensitive response even in the presence of different metal cations, along with good LOD values [7,8]. Likewise, the paramagnetic nature of Fe(III) has made that most Fe(III) sensors are based on a fluorescence quenching mechanism as the main detection tool (Fig. 1).

On the other hand, heterocyclic compounds with a ring-junction nitrogen atom are interesting organic frameworks because of their biological and pharmaceutical properties [9]. For instance, the 4*H*-quinolizin-4-one derivatives (Fig. 2) display interesting biological properties as acetylcholine-muscarinic (M1) receptor inhibitors, related to schizophrenia and Alzheimer's disease [10]. These derivatives also act as phosphoinositide-3-kinase (PI3K $\delta$ ) enzyme inhibitors involved in B-cell proliferative disorders [11], antibacterial agents [12], prospective HIV integrase inhibitors, [13] and for the potential treatment of spinal muscular atrophy [14]. Likewise, some of them exhibit luminescent properties, highlighting their use as fluorescent contrast dyes for 3D imaging [15]. However, the exploitation of these heterocyclic

\* Corresponding author.

E-mail address: [carmen.ortega@nucleares.unam.mx](mailto:carmen.ortega@nucleares.unam.mx) (M.C. Ortega-Alfaro).

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140753>

Received 13 September 2024; Received in revised form 12 November 2024; Accepted 13 November 2024

Available online 22 November 2024

0022-2860/© 2024 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

compounds in cation sensing remains largely unexplored.

The synthetic methodologies for obtaining the core of a 4*H*-quinolizin-4-one often involve multistep synthetic routes and the use of hard reaction conditions [16]. Recently, some interesting synthetic approaches have appeared in the literature to prepare this interesting heterocyclic ring [16b-g]. In this regard, our group has reported a method for the synthesis of 4*H*-quinolizin-4-ones using a Fe(0)-stabilized vinyl ketene complex as a key intermediate [17]. As these compounds exhibited fluorescence properties, we realized that this heterocyclic scaffold can be properly functionalized for obtaining an [O, O] chelating ligand for the detection of oxyphilic metal ions such as Fe(III). The structural design of this 4*H*-quinolizin-4-one will also ensure its applicability in aqueous conditions, increasing its potential use in a broad range of sensing applications. Thus, the synthesis of this target compound can be easily accomplished using our methodology based on the  $\eta^4$ -vinylketene [Fe(CO)<sub>3</sub>] complex (A), that under thermal conditions undergoes an aza-cyclization (Fig. 3).

## 2. Materials and methods

All operations were carried out under an inert atmosphere of argon gas using standard Schlenk techniques. Column chromatography was performed using 70–230 mesh silica gel. All reagents and solvents were

obtained from commercial suppliers and used without further purification. NMR spectra were measured with a Bruker Avance III at 300 MHz for <sup>1</sup>H, and 75 MHz for <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} using CDCl<sub>3</sub> as a solvent. Chemical shifts are in ppm ( $\delta$ ), relative to TMS. All compounds were characterized by IR spectra recorded on a Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR and/or FT-IR NICOLET IS-50 Thermo Fischer Scientific spectrophotometers. Both apparatuses are equipped with an ATR accessory, and all data are expressed in wave numbers (cm<sup>-1</sup>). Melting points were obtained using a Stuart Melting Point Apparatus SMP10 and are uncorrected. HR-MS measurements were carried out on a Waters Micromass Q-TOF Premier instrument equipped with an orthogonal Z-spray ESI interface. MS-DART spectra were acquired on an AccuTOF JMS-T100LC; the values of the signals are expressed in mass/charge units (*m/z*).

UV-Vis absorption spectra were recorded at 298 K on an Agilent Cary 100 UV-Vis spectrophotometer with a resolution of 1 nm with a wavelength precision lesser than  $\pm 0.5$  nm and a photometric precision lesser than  $\pm 0.005$  A. Quartz cells were used (path length 10 mm, 3 mL volume), using spectrophotometric grade solvents purchased from Sigma-Aldrich Co. Fluorescence spectroscopy was performed with an Agilent Cary Eclipse fluorimeter, with a wavelength accuracy of  $\pm 0.5$  nm and a signal-noise ratio of 550/1.

EPR (X-band) spectroscopy measurements were carried out in a quartz tube at 77 K in acetone solution, using a Jeol JES-TE300

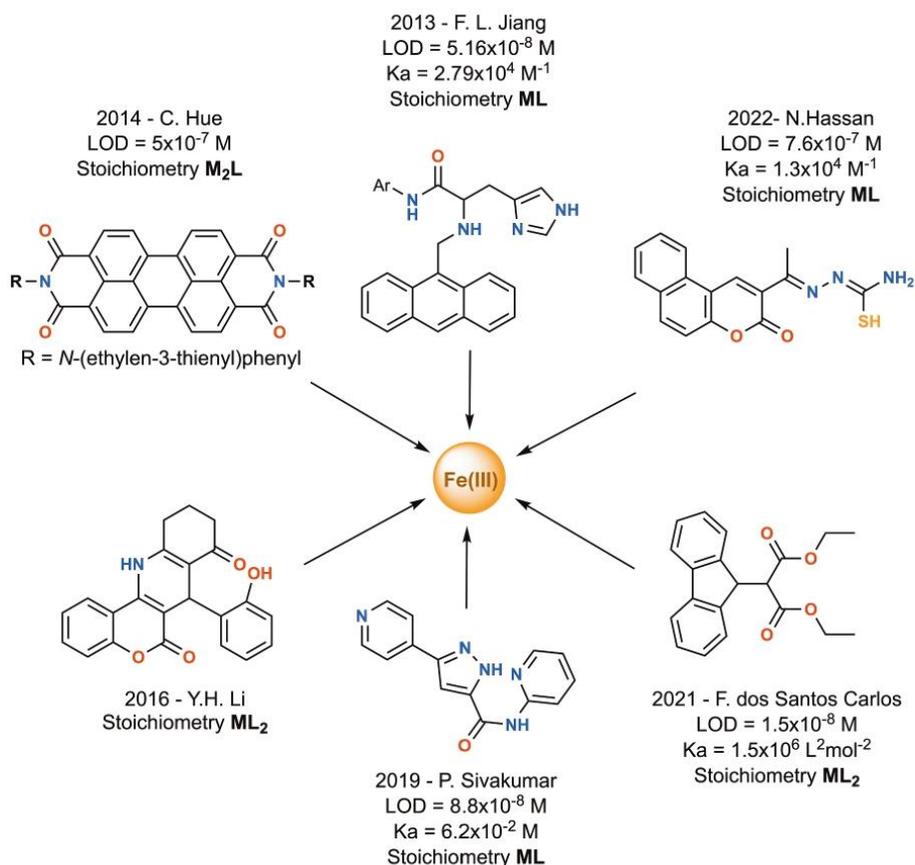


Fig. 1. Examples of some Fe(III) selective molecular receptors which exhibit fluorescence turn-off response reported in the literature [7,8].

spectrometer operating in X-Band fashions at 100 kHz modulation frequency and a cylindrical cavity in the mode TE011. The external calibration of the magnetic field was performed using a Jeol ES-FC5 precision gaussmeter with a 5350B HP microwave frequency counter. Spectral acquisition, manipulations and simulations were performed using the ES-PRITS-TE software. EPR spectra were recorded as the first derivative and the main parameters, such as g-factor values, were calculated.

### 2.1. Fluorescence quantum yield

The fluorescence quantum yield of the examined compounds was determined using the gradient method, described by Williams *et al.* [18]. This method compares the fluorescence intensity, measured as the area under the curve of the fluorescence spectrum, and that measured in the same way, of a reference solution with known quantum yield ( $\Phi_{ref}$ ). As the number of photons absorbed by the sample and the reference may be different, a correction must be made by considering the absorbance of both species at their corresponding excitation wavelengths using the same equipment, under identical conditions. In this way, the fluorescence quantum yield is determined by the following equation.

$$\Phi_X = \Phi_{ref} \left( \frac{m_X}{m_{ref}} \right) \left( \frac{n_X}{n_{ref}} \right)^2 \quad (1)$$

where  $\Phi_X$  is the quantum yield of the analyte,  $m_X$  is the slope of the curve constructed by plotting the area under the curve of the emission spectrum as a function of absorbance at the excitation wavelength, and  $n_X$  and  $n_{ref}$  are the corresponding refractive index of the solvents used. For the determination of the quantum yield, the excitation wavelength was chosen so that the absorbance is less than 0.05. Thus, the following results were obtained from the data shown in Figures S26 to S37 (supporting information).

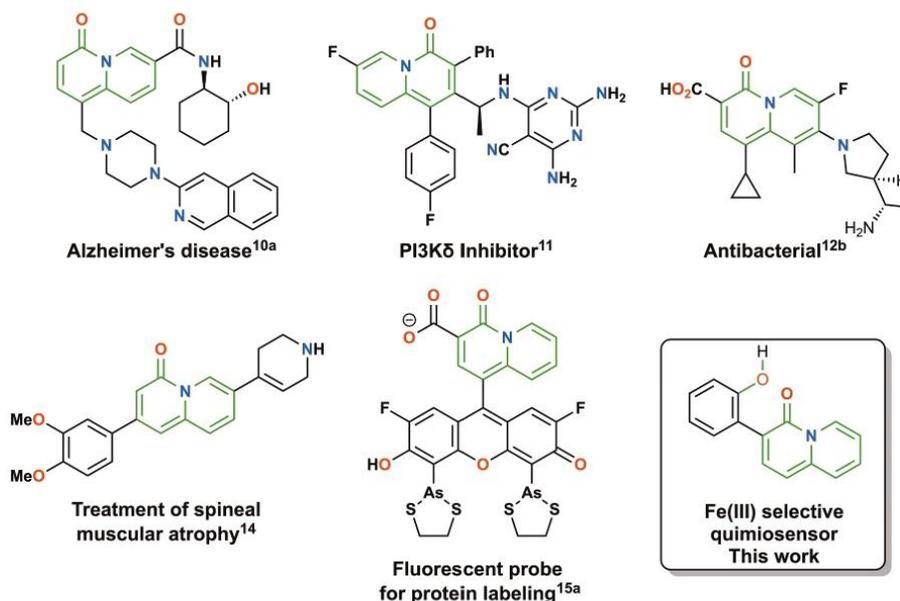


Fig. 2. Representative examples of 4H-quinolizin-4-one derivatives.

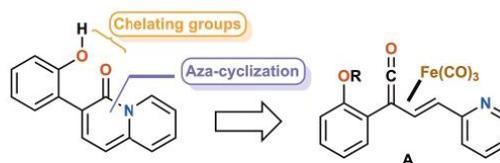


Fig. 3. Design of a fluorescent chemosensor inspired on a 4H-quinolizin-4-one.

### 2.2. Synthesis of intermediates 1–3 and fluorescent chemosensors 4a–b. (Spectroscopic data and copies of spectra are included in the ESI)

**Compound 1:** In a 50 mL round-bottom flask, 0.552 mL (4.0 mmol) of 2-methoxy acetophenone and 0.418 mL (4.4 mmol) of 2-pyridinecarboxaldehyde were dissolved in a solution of diethyl ether/EtOH (30 mL; ratio ethyl ether: EtOH equal to 10:1, v/v) and treated with LiOH•H<sub>2</sub>O (10 % mol) under constant magnetic stirring at room temperature (–20–25 °C) until the starting material was consumed. After completion of the reaction (4 h), the mixture was filtered through a neutral alumina/celite column (about 5 cm each phase) and the solvent was evaporated under reduced pressure using a rotary evaporator. The crude obtained was purified by column chromatography over silica gel using a hexane/ethyl acetate system (80:20, v/v) as eluent to afford 860.4 mg of **1** as a beige solid in 90 % of yield. m.p. 72 °C. IR (cm<sup>-1</sup>) 1663 (C=O), 1577 (Csp<sup>2</sup>-H) (<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  8.65 (d, 1H, H14), 7.82 (d, 1H, H9), 7.71 (t, 1H, H12), 7.63 (m, 1H, H4), 7.60 (d, 1H, H8), 7.47 (m, 2H, H2, H11), 7.25 (t, 1H, H3), 7.01 (m, 2H, H1, H13), 3.90 (s, 3H, H15). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  193.1 (C-7), 158.3 (C-6), 153.7 (C-10), 150.1 (C-14), 141.6 (C-9), 136.7 (C12), 133.1 (C-2), 130.5 (C-8), 130.4 (C-4), 129.0 (C-5), 124.6 (C-3), 124.1 (C-11), 120.7 (C-13), 111.6 (C-1), 55.8 (C-15). **MS-DART** *m/z*: 240 [M<sup>+</sup>+1]. **HR-MS** (ESI<sup>+</sup>) *m/z* for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>2</sub>: calculated 240.1025, found 240.1015 [M<sup>+</sup>+1].

**Compound 2:** In a 50 mL dried round-bottom flask, a solution of **1** (239 mg, 1 mmol) in 30 mL of anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was treated with

$\text{Fe}_2(\text{CO})_9$  (1.5 mmol) under inert atmosphere and magnetic stirring at room temperature ( $-20$ – $25$  °C). After 4 h, the reaction mixture was filtered through a neutral alumina/celite column (about 5 cm each phase) and the solvent was evaporated under reduced pressure using a rotary evaporator. The reaction mixture was purified by silica gel column chromatography using hexane/ethyl acetate (95:5, v/v) as eluent, yielding **2** in 84 % of yield (342.6 mg) as an orange solid. m.p. 80 °C (desc). IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2092, 2066, 2014, 1976 (M-C  $\equiv$  O), 1641 (C=O)  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  8.36 (d, 1H, H14), 7.92 (m, 1H, H4), 7.39 (m, 6H, H1, H2, H3, H11, H12, H13), 5.43 (d, 1H, H9), 5.03 (d, 1H, H8), 4.04 (s, 3H, H15)  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  207.0 (C-16), 196.1 (C-7), 161.8 (C-10), 158.1 (C-6), 149.0 (C-14), 136.5 (C-12), 133.2 (C-2), 130.8 (C-4), 128.2 (C-5), 122.9 (C-11), 121.0 (C-13), 120.7 (C-3), 111.5 (C-1), 57.8 (C-8), 56.6 (C-15), 55.4 (C-9). MS-ESI $^+$   $m/z$  (% ar): 407.9 [ $\text{M}^+$ ] (100), 379 [ $\text{M}^+ - \text{CO}$ ] (25). HR-MS (ESI $^+$ )  $m/z$  for  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}_6\text{Fe}$ : calculated 407.0092, found 407.90.

Compound **3**: In a 50 mL dried round-bottom flask, 1.1 mL of MeLi (1.2 equiv, 1.6 M) was added dropwise to a solution of **2** (600 mg, 1.47 mmol) in anhydrous dichloromethane (30 mL) at  $-78$  °C, under an inert atmosphere. The reaction mixture was stirred for 30 minutes before proceeding to exchange the inert atmosphere for CO at atmospheric pressure. The mixture was stirred for another 30 minutes at  $-78$  °C and afterwards, the temperature was allowed to rise slowly to room temperature until 4 h had elapsed. After the reaction was complete, the crude product was filtered through a celite column (5 cm), and the solvent was evaporated under reduced pressure using a rotary evaporator. The reaction mixture was purified by chromatography on a flash column over silica gel, using hexane/ dichloromethane (5:5, v/v) as eluent, giving 404 mg of **3** as a yellow crystalline solid with a yield of 70 % m.p. 106 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2061, 2046, 1983 (M-C  $\equiv$  O), 1761 (C=C=O)  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  8.60 (m, 1H, H14), 7.69 (d, 1H, H4), 7.60 (t, 1H, H12), 7.39 (m, 2H, H8, H2), 7.23 (m, 1H, H11), 7.14 (t, 1H, H3), 7.01 (t, 1H, H13), 6.93 (1H, H1), 3.91 (s, 3H, H15), 3.18 (d, 1H, H9).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  157.7 (C-10), 149.8 (C-14), 136.6 (C-12), 133.2 (C-5), 130.5 (C-2), 130.3 (C-4), 122.8 (C-3), 121.6 (C-13), 121.0 (C-11), 118.7 (C-6), 111.1 (C-1), 96.3 (C-8), 58.6 (C-9), 55.2 (C-15), 50.0 (C-7). MS-ESI $^+$   $m/z$ : 391.7 [ $\text{M}^+$ ], 307.8 [ $\text{M}^+ - 3(\text{CO})$ ]. HR-MS (ESI $^+$ )  $m/z$  for  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}_5\text{Fe}$ : calculated 391.0143, found 391.70.

Compound **4a**: In a 25 mL round-bottom flask, a solution of **3** (600 mg, 1.5 mmol) in 40 mL of anhydrous toluene was refluxed for 4 h. After the reaction was complete, the crude product was filtered off through a celite column (5 cm) and the solvent was evaporated under reduced pressure using a rotary evaporator. The reaction mixture was purified by chromatography on a silica gel column, using hexane/ethyl acetate (5:5, v/v) as eluent. Compound **4a** was obtained as a yellow-green solid with a yield of 78 % (295 mg). Lemon yellow solid. m.p. 141–142 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1648 (C=O), 1296 (C-O)  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.21 (d, 1H, H8), 7.80 (d, 1H, H2), 7.48 (m, 2H, H5, H13), 7.31 (m, 2H, H6, H14), 7.01 (m, 3H, H7, H11, H12), 6.71 (d, 1H, H3), 3.81 (s, 3H, H16).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  157.1 (C-9), 157.1 (C-15), 142.0 (C-4), 138.9 (C-2), 131.7 (C-13), 128.8 (C-14), 128.8 (C-6), 127.7 (C-8), 126.9 (C-10), 125.3 (C-5), 120.6 (C-12), 118.2 (C-1), 114.9 (C-7), 111.4 (C-11), 102.6 (C-3), 55.8 (C-16). MS-DART  $m/z$ , 252.1 [ $\text{M}^+$ ] HR-MS (ESI $^+$ )  $m/z$  for  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ : calculated 251.0946, found 252.1142.09 [ $\text{M}^+ + 1$ ].

Compound **4b**: In a 25 mL round-bottom flask, a solution of **4a** (60 mg, 0.24 mmol) in 5 mL of HBr was refluxed for 6 h. Then, an aqueous solution of KOH (40 %) was added until pH = 3, giving a solid that was recovered by filtration. The solid obtained was purified by chromatography on preparative TLC plates, using dichloromethane/methanol (95:5, v/v) as eluent, giving 49 mg of **4b** as a green solid with a yield of 86 %. m.p. 165–167 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1613 (C=O), 1476 (Csp $^2$ -H)  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  9.69 (s, 1H, H16), 9.38 (d, 1H, H5), 8.04 (d, 1H, H2), 7.65 (d, 1H, H8), 7.50 (t, 1H, H13), 7.34 (m, 2H, H6, H11), 7.23 (t, 1H, H12), 7.11 (d, 1H, H14), 7.01 (m, 2H, H1, H7).  $^{13}\text{C}$  NMR (75

MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  156.9 (C-4), 156.5 (C-15), 141.4 (C-9), 139.5 (C-2), 130.7 (C-13), 129.9 (C-7), 129.4 (C-8), 127.7 (C-11), 125.7 (C-3), 125.4 (C-5), 120.6 (C-12), 120.45 (C-10), 119.7 (C-14), 117.0 (C-1), 106.4 (C-6). MS-DART  $m/z$ , (% ar): 238 [ $\text{M}^+ + 1$ ] (100) HR-MS (ESI $^+$ )  $m/z$  for  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_2$ : calculated 237.0789, found 238.08647 [ $\text{M}^+ + 1$ ]

Complex **5**: In a 10 mL vial, a solution of **4b** (31 mg, 0.13 mmol) in 0.5 mL of acetone was added to 17.6 mg of  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  previously dissolved in 0.05 mL of water. The mixture immediately evolves into a black suspension. The solid obtained was filtered under vacuum and washed with acetone, giving 41 mg of the pure complex **5** as a dark green solid in quantitative yield. FIR (ATR) ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3500–2900 ( $\text{H}_2\text{O}$ ), 1612 (C=O), 369 (Fe-O). MS-ESI $^+$   $m/z$  for  $\text{mL}_2^+$  ( $\text{Fe}(\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{NO}_2)_2$ ) $^+$ , 528 [ $\text{M}^+$ ]. UV-Vis (DMSO- $\text{H}_2\text{O}$ , 1:1 v/v):  $\lambda_{\text{max}}$  400 nm.

### 2.3. Computational details

All quantum chemical calculations were performed using the ORCA program package [19,20] using the resolution of the identity approximation for the formation of the Coulomb matrix [21] and the ‘chain-of-spheres’ algorithm for the Hartree-Fock exchange [22,23]. Density Functional Theory (DFT) optimizations of the ground state geometries were conducted using the CAM-B3LYP functional [24] combined with the Def2-TZVP basis set [25] and its corresponding auxiliary basis set [26]. The optimizations used the atom-pairwise dispersion correction with the Becke-Johnson damping scheme (D3BJ) [27,28]. Solvent effects were considered by employing the SMD implicit solvation model [29,30], with the specific solvent parameters set to match experimental conditions.

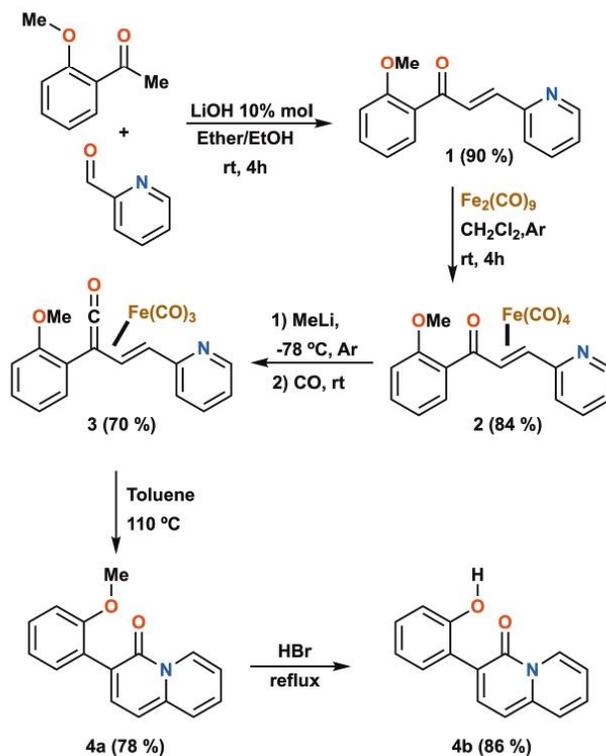
Following the ground state optimizations, Time-Dependent Density Functional Theory (TD-DFT) calculations were carried out with the CAM-B3LYP functional to optimize the excited state geometries of the different examined compounds. These optimized geometries were used for further excited-state analyses. To accurately simulate the absorption and emission spectra of compound **4b**, we employed the Equation-of-Motion Coupled-Cluster method with single and double excitations (EOM-CCSD) in combination with the domain-based local pair natural orbital approximation [31,32]. The EOM-CCSD approach was chosen for its ability to describe excited states with high accuracy, and these calculations were also carried out in the ORCA program environment.

The electronic densities for both the ground and excited states were obtained following the methodology described by Sánchez-Flores et al. [33]. For these computations, we utilized the Gaussian 09 program [34] to ensure consistency with the established procedure. Subsequently, Quantum Theory of Atoms in Molecules (QTAIM) analyses were performed on the obtained densities to investigate the topological properties of the electron density for the different compounds. The QTAIM analyses were carried out with the help of the AIMAll program [35].

## 3. Results and discussion

### 3.1. Chemistry

The synthesis of the fluorescent chemosensor inspired by the core of 4*H*-quinolizin-4-one began with the formation of (2*E*)-1-(2-methoxyphenyl)-3-(2-pyridin)-2-propen-1-one (**1**) using an aldol condensation reaction catalyzed with LiOH· $\text{H}_2\text{O}$  between 2-pyridinecarboxaldehyde and 2'-methoxyacetophenone as shown in Scheme 1. The coordination of **1** to  $\text{Fe}_2(\text{CO})_9$  led to the corresponding complex  $\eta^2$ -[(2*E*)-1-(2-methoxyphenyl)-3-(2-pyridin)-2-propen-1-one]tetracarbonyliron (**0**) (**2**) in good yield (84 %). This complex was thoroughly characterized by means of IR spectroscopy,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR along with mass spectrometry. For instance, the  $^1\text{H}$  NMR spectrum shows the expected signals at low frequencies for the protons of the double bond coordinated to the Fe ( $\text{CO}$ ) $_4$  fragment, C8 and C9, at 5.43 and 5.03 ppm, respectively. A similar behavior was observed in the  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum for these CH signals plus that assigned to the M-CO at 207 ppm. Once complex **2** was



Scheme 1. Synthetic methodology for the obtention of 4a-b.

obtained, we conducted the synthesis of the corresponding  $\eta^4$ -[vinylketene]Fe(CO)<sub>3</sub> complex (**3**) under the conditions described in Scheme 1.

Complex **3** was isolated as a stable solid compound with a yield of 70%. As expected, its <sup>1</sup>H NMR spectrum reveals the characteristic shift for signals of double bond protons coordinated to the [Fe(CO)<sub>3</sub>] fragment, at 7.31 and 3.18 ppm, respectively [17,36]. Additionally, the IR spectrum shows three absorption bands around 2000 cm<sup>-1</sup> which are assigned to the M-CO vibrations. These CO groups are typically disposed positions of a trigonal bipyramid geometry, with a C<sub>s</sub> point group and the absorption band at 1761 cm<sup>-1</sup> occurs due to the ketene group [17,36]. The 4*H*-quinolizin-4-one **4a** was obtained by a temperature-promoted intramolecular cyclization conducted at refluxing in anhydrous toluene, in 78% yield (Scheme 1). Finally, we obtained compound **4b** through a demethylation reaction carried out in acidic conditions. The molecular identity of this compound was confirmed by the presence of a single signal at 9.7 ppm, which corresponds to the hydrogen of the resulting hydroxyl group.

### 3.2. Study of optical properties

The optical properties of compounds **4a-b** were studied by recording their UV-Vis and emission spectra in various solvents. Both molecules exhibit a  $\lambda_{\text{max}}$  around 400 nm, with reasonable extinction coefficients ( $\epsilon \approx 1.4$  to  $1.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), assigned to a  $\pi-\pi^*$  transition [17a]. These compounds exhibit a slight solvatochromic behavior (see Figures S20 and S22). We selected DMSO, since **4a** and **4b** show greater emission w.r.t. the response observed in other tested solvents. As we envisaged

developing potential applications in biocompatible solvents, the optical properties in binary solvents such as DMSO-water were also evaluated, obtaining a good optical response when a ratio 1:1 (v/v) was used. In these conditions, emission spectra display a maximal intensity in the emission band around 470 nm with  $\lambda_{\text{ex}} = 402 \text{ nm}$  for **4a** and  $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$  for **4b**.

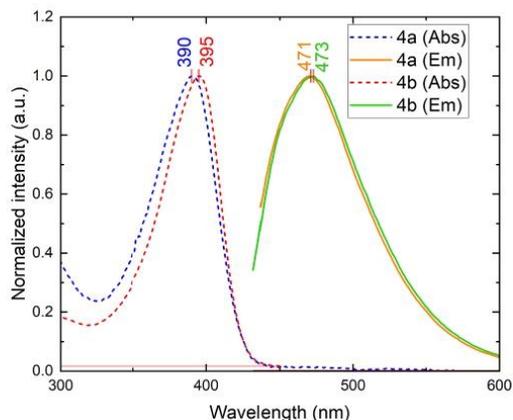


Fig. 4. Normalized absorbance (dotted lines) and emission (solid lines,  $\lambda_{\text{ex}} = 402 \text{ nm}$  for **4a** and  $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$  for **4b**) spectra for **4a** and **4b** in DMSO: H<sub>2</sub>O 1:1 v/v.

nm for **4b** (Figs. 4, S23 and S25). The Stokes shifts and the fluorescence quantum yields were also calculated (Table 1).

Most fluorescence dyes, like fluorescein, rhodamine, and cyanine, display small Stokes shifts (less than 30 nm) [37], resulting in a poor signal-to-noise ratio and self-quenching. Conversely, compounds **4a-c** show larger Stokes shifts as shown in Table 1. This feature is required for their applicability in biological systems, since self-excitation is avoided due to the backscattering of biological samples [38]. Larger Stokes shifts could be attributed to an internal energy redistribution after the initial photon absorption which provokes the radiated photon to have a longer wavelength than its absorbed counterpart. An analysis of the transition nature of this emission will be discussed in the Theoretical calculations section. Regarding other photophysical properties, compound **4a** displays a smaller fluorescence quantum yield compared to that obtained for its *p*-substituted analogue **4c** [17a]. An important decrease in the magnitude of this property is observed when the methoxy group is transformed into the hydroxyl derivative **4b**. This behavior can be associated with the trend of the -OH group to form inter/intramolecular hydrogen bonds, thereby quenching its luminescent behavior.

The acid-base properties of the phenol fragment included of **4b**, can play an important role in the chelating behavior of this ligand. On the other hand, the emission response of **4b** can be affected by changes on the ionization of the hydroxyl group. Thus, to investigate whether this compound is a pH-sensitive fluorophore, we determined the  $pK_a$  value of the hydroxyl group included in **4b**. Thus, pH measurements were conducted by potentiometric titrations. The titration of **4b** was carried out at an initial pH of 6, using MOPS as buffer, and additive additions of NaOH, obtaining a value of  $pH = 10.57$  ( $pK_a = 16.79$  in DMSO/water, 1:1 v/v). The optical response upon the titration was followed by UV-visible and fluorescence spectroscopy (Fig. 5). Details of the experimental procedure are described in the supporting information (Figures S38-S39). The results revealed that **4b** exhibits constant emission up to  $pH = 10.5$ , after which the emission decreases considerably due to the ionization of the hydroxyl group (Fig. 5b).

### 3.3. Evaluation of **4a-b** as fluorescent receptors

The selectivity and sensitivity of **4a-b** as fluorescent chemosensors were evaluated by selective metal ion recognition tests. Experiments were done using different metal ions, including Fe(III) and other ions that can display potential interference, such as Cu(II), Co(II), Mg(II) and Fe(II). Thus, solutions of **4a-b** were prepared at a concentration of  $1 \times 10^{-5}$  M in DMSO/H<sub>2</sub>O (1:1, v/v). Upon the addition of 10 equivalents of various transition metals, to solutions of **4a** and **4b**, we only observed significant quenching of the fluorescence response for **4b** in the presence of Fe(III), consistent with the effective chelation of this ligand to this

metal ion (Fig. 6 and Figures S46 and S48). Likewise, to probe the plausible recognition of anions, different tests using **4b** provided a negative response (Figures S49-S50).

A titration of **4b** (DMSO:H<sub>2</sub>O 1:1 v/v,  $2.25 \times 10^{-5}$  M) was then performed using additive additions of 0-10 equiv. of Fe(III). As shown in Fig. 7, the absorption profile of **4b** changes upon the addition of Fe(III), showing a clear isosbestic point and the formation of a new peak around 380 nm. These measurements were conducted at  $pH = 6.5$  using a MOPS buffer.

Likewise, fluorescence intensity at 473 nm (emission maximum) gradually decreases with increasing amounts of Fe(III). We also observe a small emission band around 784 nm as a result of a plausible Raman effect. The determination of the stoichiometry was achieved via a Job's plot for the fluorescence (Fig. 8a). The method revealed a maximal absorption when the molar fraction of Fe(III) approached 0.33, consistent with the formation of a complex with two ligands for each metal precursor. Once the stoichiometry was determined, the association constant ( $K_a$ ) of **4b** with Fe(III) was calculated using the Benesi-Hildebrand method [40]. The value of  $K_a$  was graphically established (Fig. 8b). The data were linearly fitted, and  $K_a$  was obtained from the corresponding slope. The  $K_a$  value of **4b**-Fe(III) was estimated as  $3.13 \times 10^6$  M<sup>-2</sup>. When the titration was conducted at higher values of  $pH (> 8)$ , a nonlinear behavior was observed, suggesting the plausible coordination of **4b** as a monodentate ligand and the competition of OH<sup>-</sup> ions for the Fe(III) center (See, Figure S51).

The detection limit of **4b** as a fluorescent chemosensor for Fe(III) was determined from the plot of the fluorescence intensity as a function of the concentration of Fe(III) (Fig. 9). We computed the LOD via the formula  $LOD = 3\sigma/S$ , where  $\sigma$  is the standard deviation of the blank solution and  $S$  is the slope of the calibration curve [41]. The determined value was  $LOD = 1.31 \times 10^{-5}$  M.

Notably, the sensitivity for the detection of Fe(III) is superior w.r.t previously reported studies (Fig. 1). The analysis unequivocally validates the efficacy of **4b** as a highly efficient molecular sensor for the detection of Fe(III). As we described before, the binding of Fe(III) to **4b** resulted in a change in absorbance and a decrease in fluorescence, presumably attributed to reverse photo-induced electron transfer (reverse PET) from the quinolizine-4-one unit to the carbonyl and the hydroxyl group. This phenomenon arises due to the decrease in electron density on the oxygen atoms after metal ion complexation [42]. The selectivity of **4b** for Fe(III) over other metal ions was further investigated by performing competitive experiments in DMSO/H<sub>2</sub>O solution (1:1, v/v). Thus, **4b** was mixed with 10 equiv. of Fe(III) ions in the presence of 15 equiv. of other metal ions [K(I), Ca(II), Li(I), Na(I), Zn(II), Fe(II), Mg(II) and Cu(II)]. The resulting solutions were individually analyzed by fluorescence spectroscopy.

**Table 1**  
Photophysical properties of **4a-c** in DMSO: H<sub>2</sub>O (1:1) at 25 °C.

Entry	Comp.	$\lambda_{abs}$ [nm]	$E_{abs}$ [eV]	$\epsilon \times 10^4$ [M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]	$\lambda_{em}$ [nm] <sup>a</sup>	$E_{em}$ [eV]	Stokes shift [nm]	$\Phi_f$ <sup>b,c</sup>
1	<b>4a</b> <sup>d</sup>	390	3.18	1.62	471	2.63	81	0.136
2	<b>4b</b> <sup>d</sup>	395	3.14	1.62	473	2.62	78	0.018
3	<b>4c</b> <sup>d</sup>	400	3.10	1.4	478	2.59	78	0.23

<sup>a</sup> Emission maxima in DMSO:H<sub>2</sub>O (1:1, v/v) at  $c = 3.54 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{ex} = 402$  nm for **4a** and  $c = 3.5 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{ex} = 390$  nm for **4b**

<sup>b</sup> Quantum yields for emission in solution referred to quinine sulfate in 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ( $\Phi = 0.546$ ).

<sup>c</sup> The refractive index for a mixture DMSO:H<sub>2</sub>O (1.1) is 1.407 (Ref. 39).

<sup>d</sup> UV-Vis and emission spectra for **4a-c** acquired in different solvents are included in the SI.

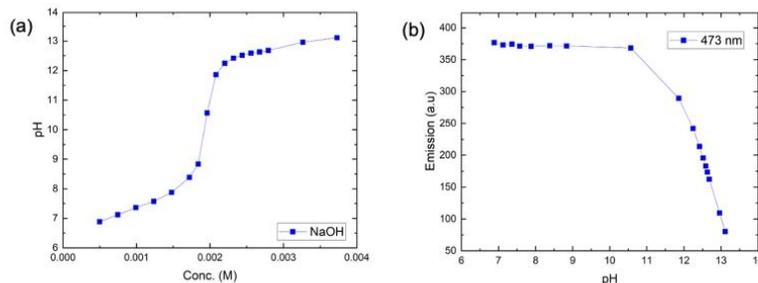


Fig. 5. Titration plots of **4b** in MOPS buffer solutions at different pH values. (a) pH as a function of the added NaOH [M] and (b) pH as a function of the emission fluorescence response.

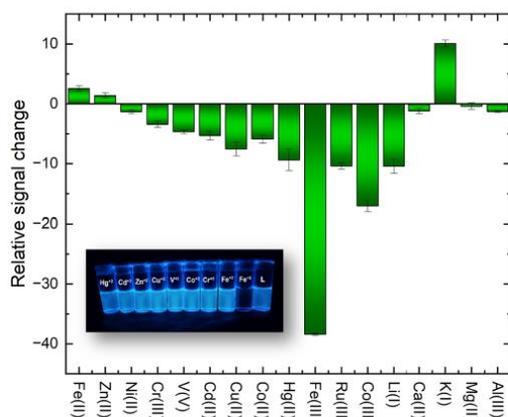


Fig. 6. Luminescent ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) response of **4b** ( $10.1 \mu\text{M}$ ) at  $473 \text{ nm}$  in the presence of different metal cations (10 equiv.) in DMSO:H<sub>2</sub>O (1:1, v/v). Inset: The corresponding photographs of aqueous solutions under UV light at  $365 \text{ nm}$ .

As illustrated in Figure S52, the chemosensor **4b** shows remarkable sensing ability towards Fe(III) ions in the presence of a higher concentration of other metal ions, which reveals that the ligand **4b** has higher affinity with Fe(III) than other metal ions, including Fe(II).

### 3.4. Evidence of the iron (III) complex formed during the analytical tests

In order to gain insights into the type of complex formed between the

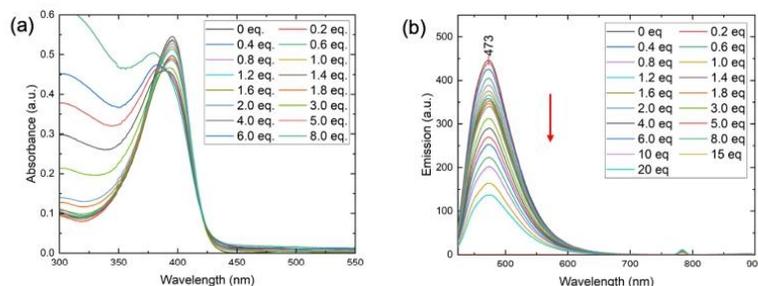


Fig. 7. (a) Absorbance and (b) fluorescence ( $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ nm}$ ) titration experiments of **4b** ( $22.5 \mu\text{M}$ ) with increasing amounts of Fe(III) up to 10 equiv. in DMSO:H<sub>2</sub>O (v/v, 1:1).

chemosensor **4b** and Fe(III), we explored the precipitation of this species in different solvent systems, including the solvent system DMSO/H<sub>2</sub>O (1:1) used in the sensing process. The Job plot (Fig. 7, left) confirmed the formation of a 1:2  $\text{ML}_2$  complex containing two units of ligands **4b** attached to the metal center. Finally, after several unsuccessful experiments conducted in DMSO/water, a coordination reaction using this stoichiometry in a mixture of acetone-water (9:1) as solvent, allowed the precipitation of the paramagnetic complex **5**, as a black solid in quantitative yield (Scheme 2).

Mass spectrometry was used to confirm the presence of this complex. The mass spectrum obtained displays a peak at  $528.4 \text{ m/z}$  that correspond to the  $[\text{Fe}(\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{NO}_2)_2]^+$  fragment. This result shows the release of a proton by each ligand **4b** upon Fe(III) binding, corroborating the formation of an  $\text{ML}_2$  type complex. Subsequently, elemental analysis allowed to determine the exact composition of this complex. The results obtained are consistent with a formula  $[\text{Fe}(\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{NO}_2)_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}\cdot\text{HCl}$ . On the other hand, far-IR analysis showed the characteristic absorption bands for the O-Fe(III) interaction at  $369 \text{ cm}^{-1}$ , confirming the behavior of **4b** as an [O-O]-chelate ligand [43].

Likewise, electron paramagnetic resonance measurements of complex **5** were acquired first at room temperature and then at  $77 \text{ K}$  in solid state and in solution. The spectra obtained from the solid sample show a broad isotropic signal at the central field with  $g = 2.05$  and  $\Delta H_{pp} = 69 \text{ mT}$  assigned to the Fe(III) species of low spin  $S = 1/2$ . On the other hand, the values obtained in solution show a system with  $S = 3/2$  state, with  $g$  values of 5.06, 4.38 and 2.008 at low rhombicity (E/D), consistent with an iron (III) species (Fig. 10) [44].

These results strongly suggest that two units of the ligand **4b** are coordinated to the metallic center forming a symmetric complex in an octahedral geometry slightly distorted. As revealed by elemental analyses, two water molecules complete the coordination sphere of iron, which implies that these molecules must be positioned on the apical

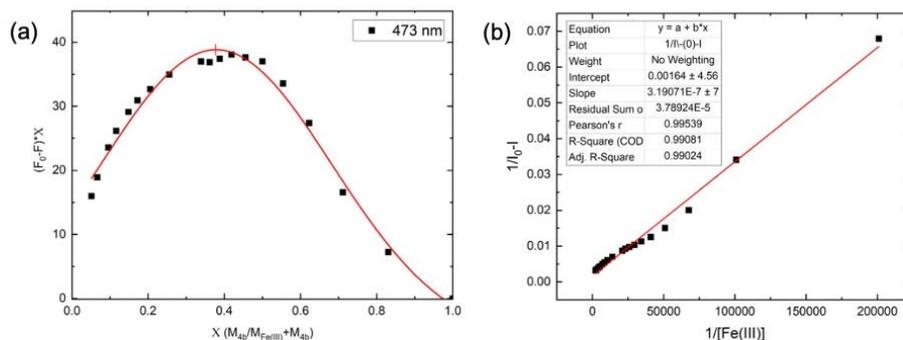


Fig. 8. (a) Jobs plot at 473 nm for determining the number of ligands per metal in solution H<sub>2</sub>O-DMSO (1:1, v/v). (b) Association constant of the complex **4b**-Fe(III) determined by the Benesi-Hildebrand method with linear fitting.

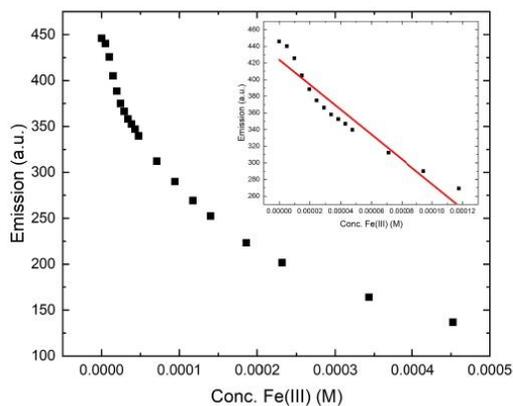


Fig. 9. Calibration curve for the recording of the photoemission of the complex **4b**-Fe(III) in DMSO-H<sub>2</sub>O (v/v = 1:1) solution,  $\lambda_{ex}$  = 390 nm and the monitored  $\lambda_{em}$  = 473 nm. The determined LOD = 13.15  $\mu$ M.

positions of the octahedron and are weakly bonded to iron, as a result of a Jahn-Teller elongation. To determine whether the isolated complex **5** corresponds to that formed in solution during the titration of **4b** with FeCl<sub>3</sub>, we re-dissolved an accurate quantity of **5** in the binary system DMSO:water (1:1). Then, UV-Vis and fluorescence spectra were acquired, obtaining a very good match with those obtained during the titration of **4b** (Figure S53). These results support the molecular identity

of the iron complex **5** formed during the test of this fluorescent receptor. Therefore, the optical change of **4b** induced by Fe(III) can be assigned to a static photoinduced electron transfer quenching mechanism driven by the strong **4b**-Fe(III) complexation.

### 3.5. Theoretical calculations

To gain further understanding about the quenching of the

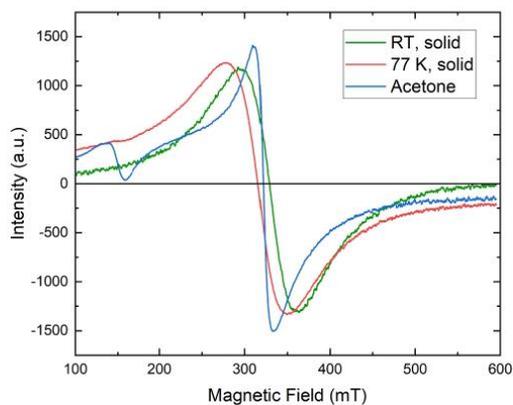
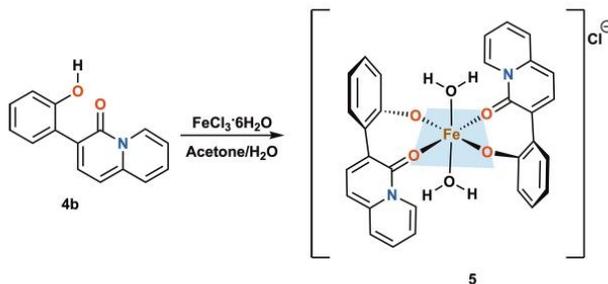


Fig. 10. EPR spectra of **5** acquired in solid state at room temperature and 77 K, and in solution at the same temperature.



Scheme 2. Synthesis of iron(III) complex **5**.

fluorescence of compound **4b** due to the formation of its complex with Fe(III), we computed the absorption of this ligand along with the emission of **4b** and its complex with Fe(III) (compound **5**) as shown in Fig. 11. The computed data agree well overall with the experimentally-determined values. For example, the absorption and emission of **4b** occur experimentally at 3.14 and 2.63 eV (Fig. 4 and Table 1). The corresponding computed values are 3.16 and 2.77 eV respectively. The experimental and theoretical computed Stokes shifts are 0.51 and 0.39 eV respectively. The calculated emission spectrum of **5** revealed a small emission band around 708 nm (1.75 eV) which could correlate with that experimentally observed at 784 nm (1.58 eV). All the computed values have an error no larger than 0.2 eV with respect to the corresponding experimental measurements.

The theoretical calculations clearly indicate the quenching of the fluorescence of compound **4b** in the UV region after its complexation with compound Fe(III). We examined further the quenching mechanism of this fluorescence via the analysis of Natural Transition Orbitals (NTOs) [45]. NTOs are molecular orbitals that offer a more intuitive and localized representation of the orbitals involved in electronic transitions. This circumstance facilitates the interpretation of the underlying chemical meaning. Fig. 12 illustrates the NTOs in compound **4b** upon emission. The orbital transition which leads to photoemission occurs from NTO-63 to NTO-62 as shown in Fig. 12a. Both orbitals are of  $\pi$  nature, but NTO-63 has a larger number of nodes and therefore its antibonding character is more pronounced. NTO-62 includes relevant contributions from both oxygen atoms as well. The situation for compound **5** is different. The NTO analysis indicates that throughout the emission process, the electronic density is largely transferred from one ligand to the other. The involved NTO orbitals are NTO-144 and NTO-143 in a  $\pi^* \rightarrow \pi$  transition (Fig. 12b). Such orbital transition spans a long distance and therefore, it is disfavored as evidenced by the strong quenching effect observed upon complexation with the iron atom. The fact that Fe contributes substantially to NTO-144 and NTO-143 implies the importance of this central atom in the orbital transition and the photoemission process overall.

Finally, we considered the electron density analyses according to the Quantum Theory of Atoms in Molecules (QTAIM). The QTAIM establishes a partition of the 3D space into atoms by considering the topological properties of the electron density. We define the QTAIM atomic basins as the stable manifolds of attractors of the vector field  $\nabla\rho(r)$ , wherein  $\rho(r)$  denotes the electron density of the system. The QTAIM atoms are proper quantum subsystems for which one can compute the expectation values of different Dirac observables, such as their charge. Given the numbers of electrons within a QTAIM basin,  $\Omega_A$ ,

$$N(\Omega_A) = \int_{\Omega_A} \rho(r) dr, \quad (2)$$

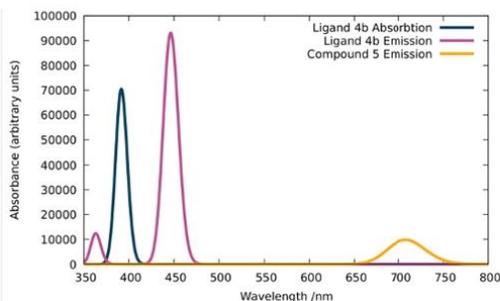


Fig. 11. Computed absorption and emission of ligand **4b** along with the emission of compound **5**.

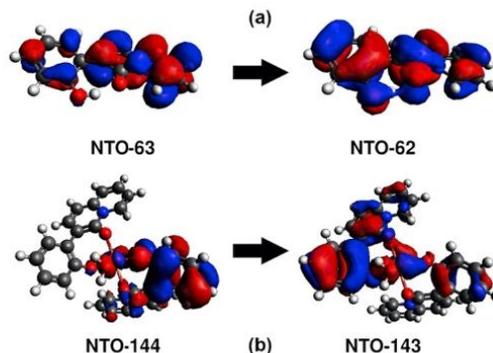


Fig. 12. Natural transition orbitals involved in the emission of systems (a) **4b** and (b) **5**.

one can compute the QTAIM charges, as

$$Q(\Omega_A) = Z(\Omega_A) - N(\Omega_A). \quad (3)$$

This expression allows the grouping of different QTAIM basins to determine the charge of functional groups in a molecule or electronic system,

$$Q(\mathcal{G}) = \sum_{\Omega_A \in \mathcal{G}} Q(\Omega_A). \quad (4)$$

We computed the changes in QTAIM charges because of the  $S_1 \rightarrow S_0$  transition,

$$\Delta Q(\Omega_A) = Q^{S_0}(\Omega_A) - Q^{S_1}(\Omega_A). \quad (5)$$

Alike expression (3), formula (5) permits the assembling of different QTAIM basins to compute the corresponding change of charge of functional groups,

$$\Delta Q(\mathcal{G}) = \sum_{\Omega_A \in \mathcal{G}} \Delta Q(\Omega_A). \quad (6)$$

We divide the groups as (i) the C-O-H group, (ii) the NCO moiety of the core of the 4*H*-quinozilin-4-one and (iii) and the rest of the hydrocarbon chain of compound **4b**. Concerning system **5**, we add (iv) the metal center and (v) the apical waters and we consider a modified (i) C-O-H group without the proton (Fig. 13). Table 2 reports the values of the charges of these functional groups within species **4b** and **5** (Eq. (4)) along with the computed changes of charges due to the  $S_1 \rightarrow S_0$  transition (formula (6)). We note that the iron center and the apical waters in compound **5** lose a considerable number of electrons (0.458 e together) due to this electronic transition. These electrons are mostly acquired by the functional group (iii), i.e., the rest of the hydrocarbon chain. We note that the flux of electron charge of the hydrocarbon chain is opposed to that which occurs in compound **4b**, wherein this hydrocarbon chain lost 0.132 e because of photoemission (Table 2). The flux of electronic charge for the (i) C-O-H and (ii) NCO moieties due to the  $S_1 \rightarrow S_0$  transition in **4b** is also considerably affected due to the complexation with Fe (III). In all cases, these functional groups acquire electrons due to de-excitation, but the formation of coordination of Fe(III) increase such a gain of electrons for the group C-O-H whereas it has the opposite effect for the NCO moiety. These changes occur to the extent that the relative amounts of electron gain of these groups are reversed in compound **4b** and **5**. In short, the complexation of compound **4b** with Fe(III) changes strongly the electronic transfers which occur due to the  $S_1 \rightarrow S_0$  transition, resulting in the above-discussed quenching of fluorescence.

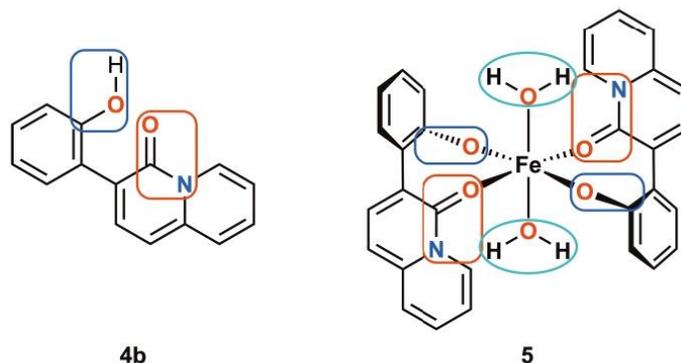


Fig. 13. Division of the species **4b** and **5** in functional groups for the examination of the electronic charge transfer due to the  $S_1 \rightarrow S_0$  transition.

Table 2

Charges of the functional groups of the species **4b** and **5** shown in Fig. 13 in the electronic states  $S_1$  and  $S_0$  (Eq. (4)). The corresponding changes in such charges due to the  $S_1 \rightarrow S_0$  transition (formula (6)) are also reported. Atomic units are used throughout.

<b>4b</b>			
	$S_1$	$S_0$	$\Delta Q(\mathcal{F}) = Q^{S_0}(\mathcal{F}) - Q^{S_1}(\mathcal{F})$
-COH	0.009	-0.047	-0.056
-NCO	-1.136	-1.211	-0.075
Rest of hydrocarbon chain	1.126	1.258	0.132
<b>5</b>			
	$S_1$	$S_0$	$\Delta Q(\mathcal{F}) = Q^{S_0}(\mathcal{F}) - Q^{S_1}(\mathcal{F})$
-CO	-1.106	-1.236	-0.130
-NCO	-2.589	-2.613	-0.025
Rest of hydrocarbon chain	3.008	2.704	-0.305
Fe	1.609	1.991	0.382
H <sub>2</sub> O...	0.078	0.154	0.076

#### 4. Conclusions

In summary, we have successfully developed a new fluorescent chemosensor based on a 4H-quinolizin-4-one framework for highly selective sensing of Fe(III) at micromolar levels. The receptor **4b** works through a turn-off mechanism, with a LOD of 13.15  $\mu\text{M}$ . This system displays a highly selective and sensitive fluorescence response toward Fe(III) in the presence of other interfering cations such as Zn(II), Ni(II), Cr(III), V(V), Cd(II), Cu(II), Co(II), Hg(II), Ru(III), Co(III) and Li(I) in aqueous media. Notably, this chemosensor can effectively discriminate between Fe(III) and Fe(II) ions. The molecular identity of the iron(III) complex formed during the sensing tests was corroborated by the formation of **5**. We also determined that the ligand **4b** is stable in aqueous solutions and efficiently coordinates the Fe(III) cation with a binding constant of  $3.13 \times 10^6 \text{ M}^{-2}$ . The highly selective quenching of **4b** by Fe(III) in aqueous media, allow us to envisage potential applications for the detection of Fe(III) in the diagnosis of various ferric-related diseases.

#### Funding

This work was supported by UNAM project PAPIIT IN216123, CONAHCYT (Ph.D. grant: 887548 for D. Gallardo-Rosas), DGAPA-ICN (Post-doctoral fellowship for L. D. Rosales-Vázquez) and DGTIC/UNAM (grant LANCAD-UNAM-DGTIC-250).

#### CRedit authorship contribution statement

David Gallardo-Rosas: Writing – original draft, Methodology,

Investigation, Formal analysis. Luis D. Rosales-Vázquez: Methodology, Formal analysis, Data curation. José M. Guevara-Vela: Software, Methodology, Formal analysis. César I. Sandoval-Chávez: Supervision, Methodology, Formal analysis. Alejandro Dorazco-González: Validation, Supervision, Methodology, Investigation, Formal analysis. Tomás Rocha-Rinza: Writing – review & editing, Validation, Software, Methodology, Investigation, Formal analysis. José G. López-Cortés: Writing – review & editing, Supervision, Methodology, Investigation, Formal analysis. M. Carmen Ortega-Alfaro: Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Validation, Supervision, Project administration, Methodology, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation, Conceptualization.

#### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the technical assistance provided by Martín Cruz Villafañe, M. Carmen García González, Virginia Gómez-Vidales and Ma. Paz Orta-Pérez. T.R.R. gratefully acknowledges DGTIC/UNAM for computer time (grant LANCAD-UNAM-DGTIC-250).

#### Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.molstruc.2024.140753](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140753).

#### Data availability

No data was used for the research described in the article.

#### References

- [1] a) F.G. Banica, *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications, First Edition*, John Wiley & Sons, 2012; b) N.R. Council, *Expanding the Vision of Sensor Materials*, National Academies Press, Washington, 1995, <https://doi.org/10.17226/4782>; c) T. Mako, J.M. Racicot, M. Levine, *Supramolecular Luminescent Sensors*, Chem. Rev. 119 (2019) 322–477, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00260>.
- [2] a) J. Gérard, *Bioorganometallics*, Wiley-VCH, Weinheim, 2006; b) X.B. Zhang, G. Cheng, W.J. Zhang, G.L. Shen, R.Q. Yu, A fluorescent chemical sensor for Fe(III) based on blocking of intramolecular proton transfer of a quinazolinone derivative, *Talanta* 71 (2007) 171–177, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.036>.

- [3] a) J.J.R. Frausto da Silva, R.J.P. Williams, *The biological chemistry of the elements*, Oxford University Press, 2001;
- b) P. Li, M. Zhang, X. Sun, S. Guan, G. Zhang, M. Baumgarten, K. Müllen, *Biosens. Bioelectron.* 85 (2016) 785–791, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.046>.
- [4] a) S.K. Sahoo, G. Crisponi, Recent advances on Iron(III) selective fluorescent probes with possible applications in bioimaging, *Molecules* 24 (2019) 3267, <https://doi.org/10.3390/molecules24183267>;
- b) S.K. Sahoo, D. Sharma, R.K. Bera, G. Crisponi, J.F. Callan, Iron(III) selective molecular and supramolecular fluorescent probes, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 7195–7227, <https://doi.org/10.1039/C2CS35152H>.
- [5] a) J.A. Simcox, D.A. McClain, Iron and diabetes risk, *Cell metab* 17 (2013) 329–341, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.02.007>;
- b) P. Arosio, R. Ingrassia, P. Cavadini, Ferritins: a family of molecules for iron storage, antioxidant and more, *Biochim Biophys Acta* 1790 (2009) 589–599, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2008.09.004>;
- c) R.J. Ward, F.A. Zucca, J.H. Duyn, R.R. Crichton, L. Zecca, The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders, *Lancet Neurol* 13 (2014) 1045–1060, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70117-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70117-6).
- [6] a) L. Zhipeng, H. Weijiang, G. Zijian, Metal coordination in photoluminescent sensing, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 1568–1600, <https://doi.org/10.1039/C2CS35363F>;
- b) S.J. Dixon, B.R. Stockwell, The role of iron and reactive oxygen species in cell death, *Nat. Chem. Biol.* 10 (2014) 9–17, <https://doi.org/10.1039/C2CS35363F>;
- c) Y. Xiang, A. Tong, A new rhodamine-based chemosensor exhibiting selective Fe<sup>III</sup>-amplified fluorescence, *Organic Letters* 8 (2006) 1549–1552, <https://doi.org/10.1021/ol060001i>;
- d) M. Jie, W. Lian, D. Wei, T. Xiaoliang, Y. Yong, L. Weisheng, Tuning the selectivity of two chemosensors to Fe(III) and Cr(III), *Org. Lett.* 9 (2007) 4567–4570, <https://doi.org/10.1021/ol7020687>.
- [7] a) L. Fu, J. Mei, J.T. Zhang, Y. Liu, F.L. Jiang, Selective and sensitive fluorescent turn-off chemosensors for Fe(III), *Luminescence* 28 (2013) 602–606, <https://doi.org/10.1002/lum.2406>;
- b) V.N. Tirtso, S. Celik-Erbas, O. Birel, C. Xue, Iron(III) selective fluorescence probe based on perylene tetracarboxylic diimide, *J. Anal. Chem.* 69 (2014) 856–863, <https://doi.org/10.1134/S1061934814090123>;
- c) C.J. Hua, H. Zheng, K. Zhang, M. Xin, J.R. Gao, Y.J. Li, A novel turn off fluorescent sensor for Fe(III) and pH environment based on coumarin derivatives: the fluorescence characteristics and theoretical study, *Tetrahedron* 72 (2016) 8365–8372, <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.08.023>;
- d) P. Madhu, P. Sivakumar, A novel pyridine-pyrazole based selective "turn-off" fluorescent chemosensor for Fe(III) ions, *J. Photochem. Photobiol. A* 371 (2019) 341–348, <https://doi.org/10.1016/j.jphtchem.2018.11.033>;
- e) F. dos Santos Carlos, L.A. da Silva, C. Zanlorenzi, F.Souza Nunes, Turn-off fluorene-based chemosensor switch to Fe(III): Spectroscopic study, merit parameters, theoretical calculations, and its application in Brazilian ethanol fuel, *Inorg. Chim. Acta* 526 (2021) 120511, <https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120511>;
- f) G.M. Khairy, A.S. Amin, A. Medhat, N. Hassan, Fluorescence determination of Fe(III) in drinking water using a new fluorescence chemosensor, *RSC Adv* 12 (2022) 27679–27686, <https://doi.org/10.1039/D2RA05144C>.
- [8] a) P. Kaur, H. Kaur, K. Singh, A quinoline-based turn-off fluorescent cation sensor, *RSC Adv* 3 (2013) 64–67, <https://doi.org/10.1039/C2RA22572G>;
- b) H. Singh, J. Sindhu, J.M. Khurana, Determination of dipole moment, solvatochromic studies and application as turn off fluorescence chemosensor of new 3-(4-(dimethylamino)phenyl)-1-(5-methyl-1-(naphthalen-1-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)prop-2-en-1-one, *Sensors Actuators, B Chem* 192 (2014) 536–542, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.137>;
- c) C. Pan, K. Wang, S. Ji, H. Wang, Z. Li, H. He, Y. Huo, Schiff base derived Fe(III) selective fluorescence turn-off chemosensors based on triphenylamine and indole: synthesis, properties and application in living cells, *RSC Adv* 7 (2017) 36007–36014, <https://doi.org/10.1039/C7RA05064J>;
- d) S. Chaudhary, M.D. Milton, Dicationic imidazolium salts as fluorescent probes for selective detection of Fe(III) ion in pure aqueous media, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 356 (2018) 595–602, <https://doi.org/10.1016/j.jphtchem.2018.02.003>;
- e) X. Gong, H. Zhang, N. Jiang, L. Wang, G. Wang, Oxadiazole-based 'on-off' fluorescence chemosensor for rapid recognition and detection of Fe(II) and Fe(III) in aqueous solution and in living cells, *Microchem. J.* 145 (2019) 435–443, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.11.011>.
- [9] a) B. Nie, W. Wu, Y. Zhang, Jiang H. J. Zhang, Recent advances in the synthesis of bridgehead (or ring-junction) nitrogen heterocycles via transition metal-catalyzed C–H bond activation and functionalization, *Org. Chem. Front.* 7 (2020) 3067–3099, <https://doi.org/10.1039/D0QO00510J>;
- b) J.J. Vaquero, J. Alvarez-Builla, Heterocycles containing a ring-junction nitrogen, modern heterocyclic chemistry, Wiley-VCH 4 (2011) 1989–2070, <https://doi.org/10.1002/9783527637737.ch22>;
- c) J.P. Michael, Chapter one - simple indolizidine and quinolizidine alkaloids, in: H.J. Knölker (Ed.), Chapter one - simple indolizidine and quinolizidine alkaloids, *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 75 (2016) 1–498, <https://doi.org/10.1016/bs.alkal.2014.12.001>;
- d) L.D. Quin, J.A. Tyrrell (Eds.), *Fundamentals of Heterocyclic Chemistry: Importance in Nature and in the Synthesis of Pharmaceuticals*, Wiley, Hoboken, NJ, 2010;
- e) J.A. Joule, K. Mills (Eds.), *Heterocyclic Chemistry*, 5th edn, Wiley, Chichester, WestSussex, 2010.
- [10] a) S.D. Kuduk, R.K. Chang, T.J. Greshock, W.J. Ray, L. Ma, M. Wittmann, M. A. Seager, K.A. Koepfingler, C.D. Thompson, G.D. Hartman, M.T. Bilodeau, Identification of amides as carboxylic acid surrogates for quinolizidinone-based M1 positive allosteric modulators, *ACS Med. Chem. Lett.* 3 (2012) 1070–1074, <https://doi.org/10.1021/ml300280g>;
- b) S.D. Kuduk, R.K. Chang, C.N. Di Marco, D.R. Pitts, T.J. Greshock, L. Ma, M. Wittmann, M.A. Seager, K.A. Koepfingler, C.D. Thompson, G.D. Hartman, M. T. Bilodeau, W.J. Ray, Discovery of a selective allosteric M1 receptor modulator with suitable development properties based on a quinolizidinone carboxylic acid scaffold, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 4773–4780, <https://doi.org/10.1021/jm200400m>;
- c) S.D. Kuduk, R.K. Chang, C.N. Di Marco, W.J. Ray, L. Ma, M. Wittmann, M. A. Seager, K.A. Koepfingler, C.D. Thompson, G.E.D. Hartman, M.T. Bilodeau, Quinolizidinone carboxylic acids as CNS penetrant, selective M1 allosteric muscarinic receptor modulators, *ACS Med. Chem. Lett.* 1 (2010) 263–267, <https://doi.org/10.1021/ml100095k>.
- [11] M.R. Shukla, S. Patra, M. Verma, G. Sadasivam, N. Jana, S.J. Mahangare, P. Vidhate, D. Lagad, A. Tarage, M. Cheemala, C. Kulkarni, S. Bhagwat, V. D. Chaudhari, M. Sayyed, V. Pachpute, R. Phadtare, G. Gole, S. Phukan, B. Sunkara, C. Samant, M. Shingare, A. Naik, S. Trivedi, A.K. Marisetti, M. Reddy, M. Gholve, N. Mahajan, S. Sabde, V. Patil, D. Modi, M. Mehta, P. Nigade, K. Tamane, S. Tota, H. Goyal, H. Volam, S. Pawar, P. Ahirrao, L. Dinchhana, S. Mallurwar, A. Akarte, A. Bokare, R. Kanhere, N. Reddy, S. Koul, M. Dandekar, M. Singh, P.R. Bernstein, L. Narasimham, M. Bhonde, J. Gundu, R. Goel, S. Kulkarni, S. Sharma, R. K. Kamboj, V.P. Palle, Discovery of a Potent and Selective PI3K Inhibitor (S)-2,4-Diamino-6-(1-(7-fluoro-1-(4-fluorophenyl)-4-oxo-3-phenyl-4H-quinolizin-2-yl)ethyl)amino)pyrimidine-5-carbonitrile with improved pharmacokinetic profile and superior efficacy in hematological cancer models, *J. Med. Chem.* 63 (2020) 14700–14723, <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01264>.
- [12] a) F. Al-Omran, A.Z. Alkassar, A.A. El-khair, Synthesis of condensed heteroaromatics: novel synthesis of aminoquinolizidinone derivatives as anti-HIV agents, *Tetrahedron* 57 (2001) 10163–10170, [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)01039-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)01039-0);
- b) Q. Li, D.T.W. Chu, A. Claiborne, C.S. Cooper, C.M. Lee, K. Raye, K.B. Berst, P. Donner, W. Wang, L. Hasvold, A. Fung, Z. Ma, M. Tufano, R. Flamm, L.L. Shen, J. Baranowski, A. Nilus, J. Alder, J. Meulbroek, K. Marsh, D. Crowell, Y. Hui, L. Seif, L.M. Melcher, R. Henry, S. Spanton, R. Faghili, L.L. Klein, S.K. Tanaka, J. J. Plattner, Synthesis and structure–activity relationships of 2-pyridones: a novel series of potent DNA gyrase inhibitors as antibacterial agents, *J. Med. Chem.* 39 (1996) 3070–3088, <https://doi.org/10.1021/jm960207w>.
- [13] Y.-S. Xu, C.-C. Zeng, Z.-G. Jiao, L.-M. Hu, R. Zhong, Design, synthesis and Anti-HIV integrase evaluation of 4-Oxo-4H-quinolizine-3-carboxylic acid derivatives, *Molecules* 14 (2009) 868–883, <https://doi.org/10.3390/molecules14020868>.
- [14] H. Qi, S. Choi, A. Dakka, G. M. Karp, J. Narasimhan, N. Naryshkin, A. A. Turpoff, M. L. Weetall, E. Welch, M. G. Woll, T. Yang, N. Zhang, X. Zhang, X. Zhao, L. Green, E. Pinard and H. Ratni, Compounds for treating spinal muscular atrophy, *WO* 2013/119916 A2, 2013.
- [15] a) T. Fujii, Y. Shindo, K. Hotta, D. Citterio, S. Nishiyama, K. Suzuki, K. Oka, Design and synthesis of a FlAsH-Type Mg<sup>2+</sup> fluorescent probe for specific protein labeling, *J. Am. Chem. Soc.* 136 (2014) 2374–2381, <https://doi.org/10.1021/ja410031n>;
- b) H. Komatsu, N. Iwasawa, D. Citterio, Y. Suzuki, T. Kubota, K. Tokuno, Y. Kitamura, K. Oka, K. Suzuki, Design and synthesis of highly sensitive and selective fluorescein-derived magnesium fluorescent probes and application to intracellular 3D Mg<sup>2+</sup> imaging, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 16353–16360, <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja049624l>.
- [16] a) M.R. Kulkarni, N.D. Gaikwad, Recent advances towards the synthesis of 4H-quinolizin-4-one, *Tetrahedron* 76 (2020) 131409, <https://doi.org/10.1016/j.tet.2020.131409>;
- b) S. Lee, W. Kim, I. Kim, Divergent annulation modes of (Z)-4-Aryl-4-oxo-2-(pyridin-2-yl)but-2-enitrile and methyl nitroacetate: selective access to 2-Acyl-4H-quinolizin-4-one, Isoxazole, and 2-Acylindolizine, *ACS Omega* 9 (2024) 38126–38141, <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c05375>;
- c) Y. Baek, Y.G. Kim, P.H. Lee, Synthesis of quinolizidones from rhodium-catalyzed C–H activation reaction of 2-(1-Cycloalkenyl)pyridines with diazo Meldrum's acids, *Bull. Korean Chem. Soc.* 42 (2021) 495–498, <https://doi.org/10.1002/bkcs.12196>;
- d) K. Antolin, H. Brodnik, U. Groselj, B. Stefane, N. Petek, J. Svete, Catalytic photoredox C–H Arylation of 4-Oxo-4H-pyridol[1,2-a]pyrimidine-3-diazonium tetrafluoroborate and related heteroaryl diazonium salts, *J. Org. Chem.* 88 (2023) 13934–13945, <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c01517>;
- e) P. Xu, B. Qian, Z. Qi, B. Gao, B. Hu, H. Huang, Palladium-catalyzed dearomative cyclocarbonylation of allyl alcohol for the synthesis of quinolizidones, *Org. Biomol. Chem.* 19 (2021) 1274–1277, <https://doi.org/10.1039/D0OB02529A>;
- f) X. Zhou, A. Chen, W. Du, Y. Wang, Y. Peng, H. Huang, Palladium-catalyzed hydrocarboxylative cyclization enabled by formal insertion of aromatic C–N bonds into Pd–acyl bonds, *Org. Lett.* 21 (2019) 9114–9118, <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b03503>;
- g) H. Yu, G. Zhang, H. Huang, Palladium-catalyzed dearomative cyclocarbonylation by C–N bond activation, *Angew. Chem. Int. Ed.* 54 (2015) 10912–10916, <https://doi.org/10.1002/ange.201504805>;
- h) J.-W. Fang, F.-J. Liao, Y. Qian, C.-C. Dong, L.-J. Xu, H.-Y. Gong, One-pot synthesis of 3-Substituted 4H-Quinolizin-4-ones via alkyne substrate control strategy, *J. Org. Chem.* 86 (2021) 3648–3655, <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c2484>;
- i) Z. Chen, T. Liu, X. Ma, P. Liang, L. Long, M. Ye, A One-pot sonogashira coupling

- and annulation reaction: an efficient route toward 4H-Quinolizin-4-ones, *Synlett* 30 (2019) 863–867, <https://doi.org/10.1055/s-0037-1611748>.
- [17] a) A. Rosas-Sánchez, J.G. López-Cortés, A. Toscano, M.C. Ortega-Alfaro, An expedient approach to synthesize fluorescent 3-substituted 4H-quinolizin-4-ones via  $\eta^4$ -vinylketene-Fe(CO)<sub>3</sub> complexes, *Dalton Trans* 44 (2015) 578–590, <https://doi.org/10.1039/C4DT03021D>;  
b) M.C. Ortega-Alfaro, A. Rosas-Sánchez, B.E. Zarate-Picazo, J.G. López-Cortés, F. Cortés-Guzmán, R.A. Toscano, Iron(0) Promotes Azn Cyclization of an Elusive Ferrocenylketene, *Organometallics* 30 (2011) 4830–4837, <https://doi.org/10.1021/am200302z>.
- [18] A.T.R. Williams, S.A. Winfield, J.N. Miller, Relative fluorescence quantum yields using a computer-controlled luminescence spectrometer, *Analyst* 108 (1983) 1067–1071, <https://doi.org/10.1039/AN9830801067>.
- [19] F. Neese, Software update: the ORCA program system—Version 5.0. WIREs computational molecular science (2022) 12, <https://doi.org/10.1002/wcms.1606>.
- [20] F. Neese, The SHARK integral generation and digestion system, *J. Comput. Chem.* 44 (2022) 381–396, <https://doi.org/10.1002/jcc.26942>.
- [21] F. Neese, An improvement of the resolution of the identity approximation for the formation of the coulomb matrix, *J. Comput. Chem.* 24 (2003) 1740–1747, <https://doi.org/10.1002/jcc.10318>.
- [22] F. Neese, F. Wennmohs, A. Hansen, U. Becker, Efficient, approximate and parallel hartree-fock and hybrid DFT calculations. a 'chain-of-spheres' algorithm for the hartree-fock exchange, *Chem. Phys.* 356 (2009) 98–109, <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2008.10.036>.
- [23] B. Helmich-Paris, B. de Souza, F. Neese, R. Izsák, An improved chain of spheres for exchange algorithm, *J. Chem. Phys.* 155 (2021) 104109, <https://doi.org/10.1063/5.0058766>.
- [24] T. Yanai, D.P. Tew, N.C. Handy, A new hybrid exchange-correlation functional using the coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP), *Chem. Phys. Lett.* 393 (2004) 51–57, <https://doi.org/10.1016/j.cpllett.2004.06.011>.
- [25] F. Weigend, R. Ahlrichs, Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: design and assessment of accuracy, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 7 (2005) 3297–3305, <https://doi.org/10.1039/b508541a>.
- [26] F. Weigend, Accurate coulomb-fitting basis sets for H to Rn, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8 (2006) 1057–1065, <https://doi.org/10.1039/b515623h>.
- [27] S. Grimme, S. Ehrlich, L. Goerigk, Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory, *J. Comput. Chem.* 32 (2011) 1456–1465, <https://doi.org/10.1002/jcc.21759>.
- [28] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, A Consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu, *J. Chem. Phys.* 132 (2010) 154104, <https://doi.org/10.1063/1.3382344>.
- [29] A.V. Marenich, C.J. Cramer, D.G. Truhlar, Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 6378–6396, <https://doi.org/10.1021/jp810292n>.
- [30] M. Garcia-Ratés, F. Neese, Effect of the solute cavity on the solvation energy and its derivatives within the framework of the gaussian charge scheme, *J. Comput. Chem.* 41 (2019) 922–939, <https://doi.org/10.1002/jcc.26139>.
- [31] A.K. Dutta, M. Saitow, B. Demoulin, F. Neese, R.A. Izsák, Domain-based local pair natural orbital implementation of the equation of motion coupled cluster method for electron attached states, *J. Chem. Phys.* 150 (2019) 164123, <https://doi.org/10.1063/1.5089637>.
- [32] M. Saitow, F. Neese, Accurate spin-densities based on the domain-based local pair-natural orbital coupled-cluster theory, *J. Chem. Phys.* 149 (2018) 034104, <https://doi.org/10.1063/1.5027114>.
- [33] E.I. Sánchez-Flores, R. Chávez-Calvillo, T. A. Keith, G. Cuevas, T. Rocha-Rinza, F. Cortés-Guzmán, F. Properties of atoms in electronically excited molecules within the formalism of TDDFT, *J. Comput. Chem.* 35 (2014) 820–828, <https://doi.org/10.1002/jcc.23559>.
- [34] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B.G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H.P. Hratchian, J. V. Ortiz, A.F. Izmaylov, J.L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J.M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J.B. Foresman, D.J. Fox, Gaussian 09, Revision A.02, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
- [35] Todd A. Keith, AIMAll (Version 19.10.12) (2019), [aim.tkgristmill.com](http://aim.tkgristmill.com).
- [36] a) V. González-López, D.A. Reséndiz-Lara, A. Rosas-Sánchez, L.G. Ledesma-Olvera, J.-C. Daran, José E. Barquera-Lozada, J.G. López-Cortés, M.C. Ortega-Alfaro, Iodine-promoted insertion of the oxygen atom from water in  $\eta^4$ -vinylketene [Fe(CO)<sub>3</sub>] complexes, *Dalton Trans* 51 (2022) 6868–6875, <https://doi.org/10.1039/D2DT00674J>;  
b) D. Reséndiz-Lara, A. Rosas-Sánchez, D. Hashizume, J.E. Barquera-Lozada, R. A. Toscano, J.G. López-Cortés, M.C. Ortega-Alfaro, Synthesis of  $(\mu^2, \eta^2\text{-allyl-}\eta^2\text{-oxapentadienyl})\text{diiron pentacarbonyl}$  complexes, an unusual reaction product from  $\eta^4$ -vinylketene-Fe(CO)<sub>3</sub> complexes: structure and electron density distribution analysis, *Dalton Trans* 52 (2023) 2722–2734, <https://doi.org/10.1039/D2DT03700A>.
- [37] a) L.D. Lavis, R.T. Raines, Bright building blocks for chemical biology, *ACS Chem. Biol.* 9 (2014) 855–866, <https://doi.org/10.1021/cb500078u>;  
b) T.B. Ren, W. Xu, W. Zhang, X.X. Zhang, Z.Y. Wang, Z. Xiang, L. Yuan, X. B. Zhang, A general method to increase Stokes shift by introducing alternating vibronic structures, *J. Am. Chem. Soc.* 140 (2018) 7716–7722, <https://doi.org/10.1021/jacs.8b04404>.
- [38] a) X. Peng, F. Song, E. Lu, Y. Wang, W. Zhou, J. Fan, Y. Gao, Heptamethine cyanine dyes with a large Stokes shift and strong fluorescence: a paradigm for excited-state intramolecular charge transfer, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 4170–4171, <https://doi.org/10.1021/ja043413z>;  
b) C. Liu, X. Jiao, Q. Wang, K. Huang, S. He, L. Zhao, X. Zeng, A unique rectilinearly  $\pi$ -extended rhodamine dye with large Stokes shift and near-infrared fluorescence for bioimaging, *Chem. Commun* 53 (2017) 10727–10730, <https://doi.org/10.1039/C7CC06220F>;  
c) N. Hananya, A.E. Boock, C.R. Bauer, R. Satchi-Fainaro, D. Shabat, Remarkable enhancement of chemiluminescent signal by dioxetane-fluorophore conjugates: turn-on chemiluminescence probes with color modulation for sensing and imaging, *J. Am. Chem. Soc.* 138 (2016) 13438–13446, <https://doi.org/10.1021/jacs.6b09173>.
- [39] R.G. LeBEL, A.I. Goring, Density, viscosity, refractive index, and hygroscopicity of mixtures of water and dimethyl sulfide, *J. Chem. Eng. Data.* 7 (1962) 100–101, <https://doi.org/10.1021/jc60012a032>.
- [40] S. Fettoche, A. Boukhriss, M. Tahiri, O. Cherkaoui, F. Bazi, S. Gmouh, Naked eye and selective detection of Copper(II) in mixed aqueous media using a cellulose-based support, *Chem. Res. Chinese Universities* 35 (2019) 598–603, <https://doi.org/10.1007/s40242-019-9313-4>.
- [41] S.R. Liu, S.P. Wu, New water-soluble highly selective fluorescent chemosensor for Fe (III) ions and its application to living cell imaging, *Sens. Actuators B Chem.* 171 (2012) 1110–1116, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.06.041>.
- [42] M. Kumar, R. Kumar, V. Bhalla, P.R. Sharma, T. Kaur, Y. Qurishib, Thiacalix[4] arene based fluorescent probe for sensing and imaging of Fe(III) ions, *Dalton Trans* 41 (2012) 408–412, <https://doi.org/10.1039/C1DT11169H>.
- [43] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, Part B, Wiley, USA, 2009.
- [44] a) A. Müller, K. Schneider, K. Knütel, W.R. Hagen, PR spectroscopic characterization of an 'iron only' nitrogenase. S = 3/2 spectrum of component 1 isolated from *Rhodobacter capsulatus*, *FEBS Lett* 303 (1992) 36–40, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80472-s](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80472-s);  
b) L.A. Yatsunyk, F.A. Walker, Structural, NMR, and EPR studies of S = 1/2 and S = 3/2 Fe(II) Bis(4-Cyanopyridine) complexes of dodecasubstituted porphyrins, *Inorg. Chem.* 43 (2004) 757–777, <https://doi.org/10.1021/ic035010q>.
- [45] R.L. Martin, Natural transition orbitals, *J. Chem. Phys.* 118 (2003) 4775–4777, <https://doi.org/10.1063/1.1558471>.