



Universidad de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**SÍNTESIS DE DIHETEROARILETENOS FOTOCRÓMICOS Y
SU APLICACIÓN COMO ACEPTORES EN TRANSFERENCIA
DE ENERGÍA**

Luciana Giordano

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Elizabeth A. Jares-Erijman

LUGAR DE TRABAJO

Departamento de Química Orgánica

Tesis presentada para optar por el título de
DOCTOR DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
ÁREA CIENCIAS QUÍMICAS

2006

A mis padres por sembrar en mí la inquietud de conocer y por enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para lograr objetivos

A Santiago, mi amor, por la alegría de estos años y por todo lo que vendrá.

A la Dra. Elizabeth Jares, quien durante todos estos años y sin descanso, me inspiró y guió permanentemente, me motivó en mis momentos frágiles, me brindó la libertad, la confianza y los medios necesarios que posibilitaron mi crecimiento en la investigación científica. Por transmitirme su experiencia, su tesón, su optimismo y su afecto.

Deseo expresar mi agradecimiento a todos aquellos que han hecho posible la realización del presente trabajo.

En primer lugar a mis amigas Carla y Mimi, por compartir inquietudes, éxitos y fracasos, por el constante cariño, el eterno buen humor y la comprensión infinita.

A Eli, por las extensas charlas de ciencia y otras yerbas y por originar un espacio donde predomina la cordialidad y el gozo.

A los que comparten o compartieron el laboratorio, Seba, Jenny, Vicky, Guille, Rolf, Eli G., Avishay y Sandra por hacer tan grato y estimulante el trabajo diario.

Al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas por otorgarme la Beca Interna de Formación de Postgrado.

Al Departamento de Química Orgánica de la FCEyN, por brindarme el espacio para mi desarrollo como investigadora y docente.

A todos mis compañeros del Departamento de Química Orgánica, docentes y no docentes por su colaboración y aliento cuando fueron necesarios.

Y a Diego, Fernando, Olga, Raquel, Pupe, Esteban, Julieta, María y Javier por los intercambios de ideas, conocimientos y risas.

Mi profundo agradecimiento al Dr. Thomas Jovin por su generosidad científica y sus valiosas críticas, por permitirme realizar dos estadias en su laboratorio y por su calidez humana.

A Dr. Rolf Vermeij por su disposición a compartir su experiencia y por enriquecer mi trabajo con sus comentarios y sugerencias.

Al Instituto Max Planck de Biofísica Química de Göttingen por financiar mis estadias en el mismo.

A todo el personal del Departamento de Biología Molecular del Instituto Max Planck de Biofísica Química de Göttingen que hicieron posible que mi estadia en Alemania sea tan placentera como productiva. En especial, a Vero, Carlos, Pau, Greco, Rolf, Wolfgang, Janine, Diane, Keith, Darius, Renate, Gudrum, Achim, Stefan y Donna por el apoyo brindado y los momentos compartidos.

Al personal del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad de Göttingen por los espectros de resonancia magnética nuclear y de masa, por los análisis elementales y la cristalografía de Rayos-X.

Quiero agradecer, también, a mi adorada familia, mis padres Carmen y Héctor, mis hermanos Horacio, Esteban, Virginia y Julieta, mis sobrinos Pablo, Camila, Tomás, Agustín, Sofía y Valentín, mis abuelos Yiye y Nemesio, mi tía Cristina, por alentarme e iluminarme en todo momento y a mis abuelos Luis y Delia, quienes permanecen en mi memoria.

A Lili por su amistad eterna e imprescindible y por su constante estímulo.

A mis amigos por acompañarme y soportarme durante todos estos años. A Ceci y Diegui por los mates, las pizzas y su gran afecto. A Hernán y Jorge por los sabios y oportunos consejos.

A Santi, por su amor, su paciencia, su comprensión y por estar simplemente a mi lado.

El objetivo de la Tesis es el desarrollo de una nueva metodología para la determinación de interacciones moleculares, basada en la transferencia de energía de resonancia (FRET) que aprovecha las propiedades espectrales características y únicas de los compuestos fotocromicos (diheteroariltenos) actuando como aceptores de energía. En este método la emisión del donante fluorescente es modulada por transformaciones cíclicas de uno de los isómeros del aceptor fotocromico. Se sintetizaron tres familias de diheteroariltenos conteniendo benzotiofenos, tiofenos e indoles, funcionalizados convenientemente para su unión a biomoléculas y se validó el principio del método que denominamos fotocromismo-FRET (pc-FRET).

Utilizando estrategias simples y convergentes, se sintetizaron diheteroariltenos simétricos y asimétricos con grupos funcionales adecuados para su unión posterior a biomoléculas. Una de las nuevas estrategias involucró la utilización de un grupo metoxilo (en el anillo de benzotiofeno o en fenilo) como precursor que condujo a un intermediario triflato, el cual a su vez permitió realizar distintos tipos de acoplamiento C-C como la unión a triples enlaces y la introducción de grupos carboxilo activados como éster succinimidilo.

Otra de las estrategias consistió en la obtención de diheteroariltenos asimétricos con indoles y benzotiofenos. Por primera vez se utilizó para este tipo de compuestos el nitrógeno del indol como punto de unión a grupos funcionales. Para esto se utilizaron dos tipos de grupos protectores que al ser removidos proporcionaron un extremo funcional ortogonal al metoxilo.

El método fue validado con compuestos modelo que se diseñaron de modo de disponer un fluoróforo y un aceptor fotocromico a una distancia definida. Se estudió el “encendido y “apagado” del proceso de FRET por conversión del isómero abierto al cerrado del compuesto fotocromico y viceversa, respectivamente. Se propuso un esquema conceptual que describe los procesos fotofísicos involucrados, se determinaron las constantes fotocinéticas de cada proceso, incluyendo rendimientos cuánticos de ciclación y cicloversión, y se evaluó la interrelación entre los procesos involucrados.

Palabras claves: diheteroarilteno, fotocromismo, pcFRET, síntesis orgánica

The aim of the Thesis is the development of a new approach for the determination of molecular interactions based on fluorescence resonance energy transfer (FRET), taking advantage of the unique reversible spectral properties of photochromic compounds (diheteroarylethenes) acting as energy acceptors. In this method, the fluorescent emission of the donor is modulated by cyclical transformations of a photochromic acceptor. Three families of diheteroarylethenes were synthesized, containing benzothiophenes, thiophenes and indoles conveniently functionalized for their coupling with biomolecules. Additionally, a validation of the principle of the new methodology, that we denominated photochromism-FRET (pcFRET), was performed.

We developed convergent strategies for the synthesis of symmetric and asymmetric diheteroarylethenes with tethers for attachment to biomolecules. One of the parts included the introduction of a methoxy group as substituent of benzothiophene or phenyl groups, which lead to triflate substituted intermediates. These intermediates were used for different types of C-C coupling reactions, including the coupling to triple bonds and carbonation reactions leading to succinimidyl ester derivatives.

Another strategy for the preparation of functionalized asymmetric diheteroarylethenes was based on the derivatization at the *N* atom in the indole substructure. Two types of protecting groups were used allowing the introduction of a functional group orthogonal to the methoxy in the benzothiophene moiety.

The validation of the method involved the design and synthesis of model compounds consisting of a fluorescent donor covalently bound to an acceptor by a tether of a given length. The reversible activation of the process was evaluated by alternate exposure of the model compounds to UV and visible light. We developed a general conceptual scheme for such coupled photochromic-FRET reactions, allowing quantitative interpretations of the photostationary and kinetic data, from which the quantum yields for the cyclization and cycloreversion reactions of the photochromic acceptor, were calculated.

Keywords: diheteroarylethene, photochromism, pcFRET, organic synthesis

REACTIVOS Y SOLVENTES:

AcOEt	acetato de etilo
AcOH	ácido acético
B(<i>i</i> OPr) ₃	tri- <i>i</i> -propilborato
B(<i>n</i> OBu) ₃	tri- <i>n</i> -butilborato
Biotina = biot	ácido 5-(2-oxohexahidro-1 <i>H</i> -tien[3,4 <i>d</i>] imidazol-4-il)pentanoico
Biot-PEG-amino	(+)-biotinil-3,6,9-trioxaundecandiamina
Boc	<i>ter</i> -butoxicarbonilo
Boc ₂ O	di- <i>ter</i> -butildicarbonato
DCC	diciclohexilcarbodiimida
DEG	dietilenglicol
DMAP	dimetilaminopiridina
DME	dimetoxieteno
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
dppf	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno
ES	éster succinimidilo
EtOH	etanol
LY	Lucifer Yellow, N-(5-aminopentil)-4-amino-3,6-disulfo-1,8-naftilamida
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butil litio
NHS	<i>N</i> -hidroxisuccinimida
<i>n</i> -PrOH	<i>n</i> -propanol
Pd(AcO) ₂	Acetato de paladio (II)
PEG-diamino	2,2'-[oxi bis(etan-2,1-diiloxi)]dianamina
<i>p</i> -TsOH	ácido <i>p</i> -toluensulfónico
Py	piridina
TBAF	Fluoruro de tetrabutilamonio
TBDMSi	<i>ter</i> -butildimetilsililo
TBDMSiCl	cloruro de <i>ter</i> -butildimetilsililo
TEA	triethylamina
Tf ₂ O	anhídrido triflico
TfO = triflato	trimetansulfonato
THF	tetrahidrofurano
TMSA	acetileno de trimetilsililo
Xantphos	4,5-bis(difenilfosfino)-9,9'-dimetilxanteno

OTRAS

ccd	cromatografía en capa delgada
CGL	cromatografía gas-líquido
CLAR	cromatografía líquida de alta resolución
DHAE	diheteroarileno
EMAR	Espectroscopía de masa de alta resolución
FRET	Transferencia de energía de resonancia
P.e.	punto de ebullición
P.f.	punto de fusión
PSS	del inglés, photostationary state, estado fotoestacionario
R_f	relación de frente
t.a.	temperatura ambiente
t_R	tiempo de retención

ÍNDICE**INTRODUCCIÓN**

CAPÍTULO 1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	FOTOCROMISMO	3
1.1.1.	Familias de compuestos orgánicos fotocromicos	4
1.1.2.	Transformaciones fotoquímicas	5
1.1.3.	Isomerizaciones <i>cis-trans</i> (E/Z)	5
1.1.4.	Fotociclaciones	6
1.2.	DIHETEROARILETENOS	7
1.2.1.	Factores que influyen en la estabilidad térmica	8
1.2.2.	Reacciones de fotodegradación o procesos de “fatiga”	10
1.2.3.	Confórmeros paralelo y antiparalelo	12
1.2.4.	Efecto de los sustituyentes en posición 5 del tiofeno	13
1.2.5.	Efecto de los sustituyentes en el carbono central reactivo (C-2)	15
1.2.6.	Control conformacional	17
1.3.	APLICACIONES DE DIHETEROARILETENOS	18
1.3.1.	Reactividad fotocontrolada	18
1.3.2.	Fluorescencia	21
1.4.	SÍNTESIS DE DIHETEROARILETENOS	22
1.4.1.	Unidad puente: ciclopenteno	22
1.4.2.	Unidad puente: anhídrido maleico y maleimida	24
1.4.3.	Unidad puente: dihidrotiofeno	25
1.5.	TRANSFERENCIA DE ENERGÍA DE RESONANCIA (FRET)	26
1.5.1.	Teoría de la transferencia de energía de resonancia entre el par donante-aceptor	26
1.5.2.	Aplicaciones de FRET	29
1.6.	TRABAJO REALIZADO	31
1.7.	REFERENCIAS	32

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
OBJETIVOS DE LA TESIS	43
CAPÍTULO 2. DERIVADOS DE 1-BENZOTIOFENO	45
2.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS SIMÉTRICOS DE 1-BENZOTIOFENO	47
2.1.1. Benzotiofeno sin sustitución en el anillo aromático	47
2.1.2. Benzotiofeno sustituido en el anillo aromático	56
2.2. SÍNTESIS DE DERIVADOS ASIMÉTRICOS DE 1-BENZOTIOFENO	66
2.2.1. Síntesis de 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno	66
2.2.2. Estrategia para la síntesis de éster succinimidilo de 1-benzotiofeno	70
2.2.3. Nueva estrategia para la síntesis de éster succinimidilo fotocromico	73
2.3. REFERENCIAS	75
CAPÍTULO 3. DERIVADOS DE TIOFENO	79
3.1. ANTECEDENTES DE LA REACCIÓN DE ACOPLAMIENTO DE SUZUKI-MIYAUURA	82
3.2. SÍNTESIS DE LA UNIDAD TIOFENO FUNCIONALIZADA	83
3.2.1. Síntesis de unidades de tiofeno, metiladas y iodadas	83
3.2.2. Obtención de ácidos borónicos y acoplamiento de Suzuki-Miyaura	89
3.2.3. Síntesis de unidades de tiofeno bromadas y acoplamiento directo de Suzuki-Miyaura	94
3.3. SÍNTESIS DE DIHETEROARILETENOS ASIMÉTRICOS	100
3.4. REFERENCIAS	106
CAPÍTULO 4. DERIVADOS DE INDOL	109
4.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS ASIMÉTRICOS UTILIZANDO BOC COMO GRUPO PROTECTOR	112
4.1.1. Síntesis de la unidad indol	112
4.1.2. Síntesis de compuesto fotocromico asimétrico	116
4.2. SÍNTESIS DE DERIVADOS ASIMÉTRICOS UTILIZANDO TBDMS COMO GRUPO PROTECTOR	121

	ÍNDICE
4.2.1. Síntesis de unidad indol	121
4.2.2. Síntesis de compuestos fotocromicos asimétricos	125
4.3. REFERENCIAS	130
CAPÍTULO 5. ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ESPECTROSCÓPICAS	133
5.1. DETERMINACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE ABSORCIÓN MOLAR	136
5.1.1. Isómero abierto	136
5.1.2. Isómero cerrado	140
5.2. DETERMINACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS CUÁNTICOS Y EL GRADO DE CONVERSIÓN	145
5.2.1. Rendimientos cuánticos	145
5.2.2. Grado de conversión	147
5.3. DERIVADOS FOTOCRÓMICOS COMO ACEPTORES PARA PC-FRET	149
5.4. REFERENCIAS	151
CAPÍTULO 6. FOTOCROMISMO-TRANSFERENCIA DE ENERGÍA (PC-FRET)	153
6.1. DISEÑO MOLECULAR, SÍNTESIS Y PROPIEDADES ESPECTRALES	155
6.1.1. Diseño molecular y síntesis	155
6.1.2. Propiedades espectrales	157
6.2. FORMALISMO CUANTITATIVO PARA EL ESTADO FOTOESTACIONARIO Y FOTOCINÉTICA	161
6.3. ANÁLISIS DEL MODELO DONANTE-ACEPTOR	165
6.3.1. Análisis de la conversión fotocromica mediante cinética de absorción y RMN- ¹ H	165
6.3.2. Eficiencias de FRET para el isómero abierto y el estado fotoestacionario para los compuestos 127 y 128	170
6.3.3. Absorción y fluorescencia del donante para ciclos de modulación del aceptor	171
6.3.4. Cálculo de parámetros fotocinéticos	174
6.4. REFERENCIAS	176

EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 7.	PARTE EXPERIMENTAL	177
7.1.	GENERALIDADES	179
7.2.	SÍNTESIS DE COMPUESTOS	181
7.2.1.	Síntesis de derivados de 1-benzotiofeno (Capítulo 2)	181
7.2.2.	Síntesis de derivados de tiofeno (Capítulo 3)	196
7.2.3.	Síntesis de derivados de indol (Capítulo 4)	208
7.2.4.	Síntesis de los compuestos modelo para pc-FRET (Capítulo 6)	219
7.3.	MEDICIONES DE PROPIEDADES ESPECTROSCÓPICAS	222
7.3.1	Espectroscopía de estado estacionario	222
7.3.2.	Fotocinéticas	222
7.3.3.	Determinación de tiempos de vida de fotocinética	223
7.4.	REFERENCIAS	224
	<i>RESUMEN</i>	225

INTRODUCCIÓN

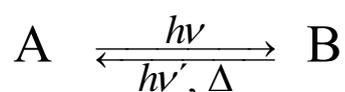
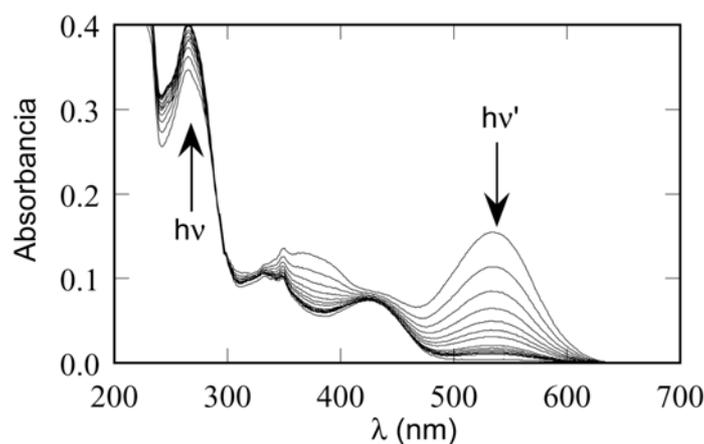
CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. FOTOCROMISMO

Se denomina fotocromismo a los cambios de color que se observan en un material o compuesto por exposición a la luz. Este fenómeno ha despertado un gran interés desde su descubrimiento en 1876 y sigue siendo un campo de gran actividad debido a sus aplicaciones presentes y potenciales. Las isómerizaciones¹⁻⁴ que ocurren con ciertas moléculas por absorción de luz, están acompañadas por cambios estructurales con sus consecuentes modificaciones en las propiedades físicas y químicas. Además, estos cambios en la geometría de la molécula generalmente dan lugar a cambios en su interacción con el entorno y como consecuencia en el espectro de absorción.

En el caso más sencillo, el sistema está compuesto por dos especies, A y B, que se interconvierten entre sí reversiblemente por absorción de luz UV o visible:



El fotoisómero generado B puede ser metaestable, en cuyo caso la reacción revertirá térmicamente (fotocromismo de tipo T), o bien puede ser estable y la reacción inversa se produce también por absorción de luz (fotocromismo de tipo P). También puede darse el caso de que la reversión sea térmica y fotoquímica. Los compuestos fotocromáticos son aplicados en tecnología fotoóptica como así también en el diseño de dispositivos cuyas propiedades pueden ser moduladas por luz.

Las reacciones que determinan los cambios estructurales que llevan de A a B pueden ser electrociclaciones, isomerizaciones en torno a un doble enlace (*E-Z*), rupturas de enlaces que implican aperturas de ciclos, migraciones de H, etc. Los isómeros A y B, en general difieren

también en sus índices de refracción, constantes dieléctricas, potenciales de óxido-reducción y otras propiedades.

1.1.1. Familias de compuestos orgánicos fotocromicos

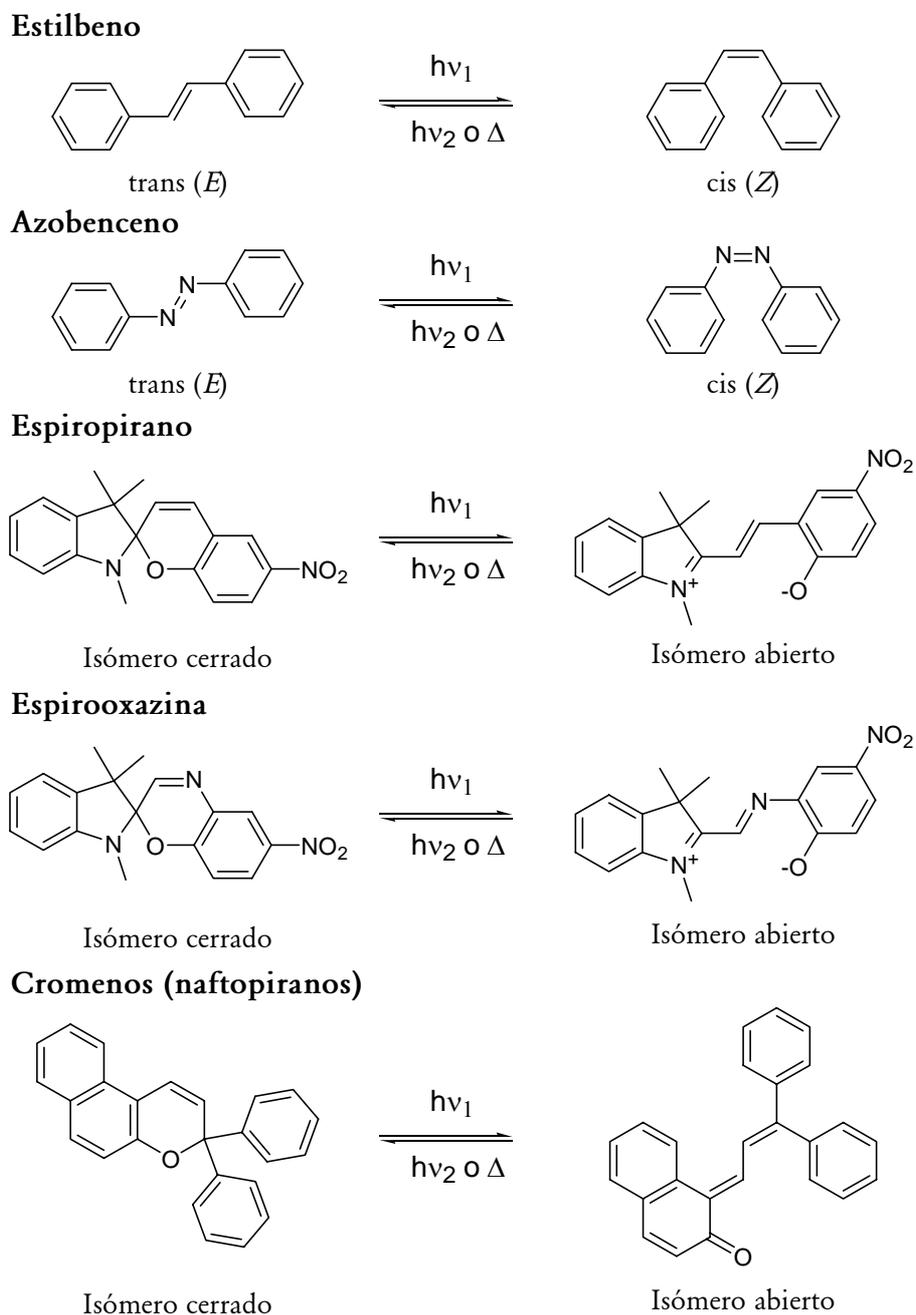


Figura 1.1. Familias de compuestos fotocromicos que revierten fotoquímicamente y térmicamente.

Las familias de compuestos fotocromicos que revierten térmicamente se muestran en la figura 1.1, mientras que los compuestos térmicamente estables se muestran en la figura 1.2.

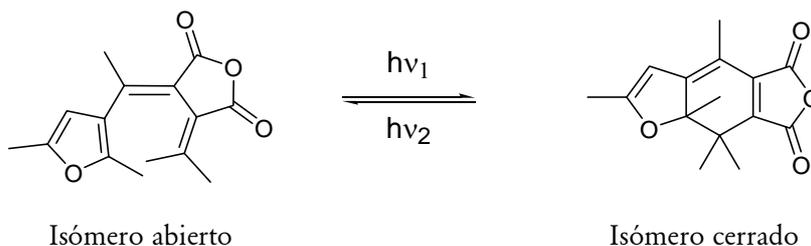
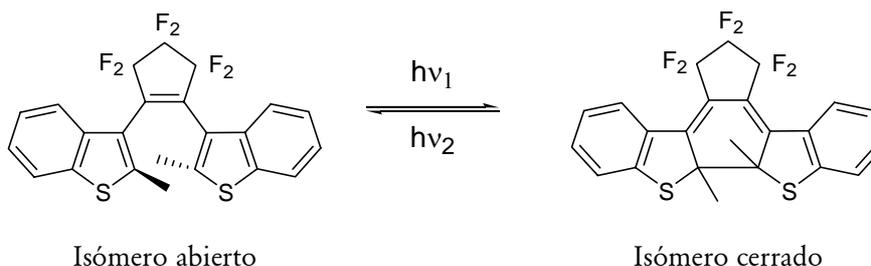
Fulgidas**Diheteroariletenos**

Figura 1.2. Familias de compuestos fotocromicos que revierten fotoquímicamente (tipo P).

1.1.2. Transformaciones fotoquímicas

Las moléculas fotocromicas pueden ser clasificadas de acuerdo al tipo de transformaciones químicas involucradas en la reacción inducida por luz. Los cambios estructurales más relevantes son isomerizaciones en torno a un doble enlace (*E-Z*) y electrociclaciones.

Según IUPAC se puede hacer una clasificación más completa: 1) reacciones pericíclicas [electrociclaciones (spiropiranos, diheteroariletenos, fulgidas), cicloadiciones (2+2), (4+4) y (4+2)], 2) isomerizaciones *cis-trans*, 3) transferencia de H intramolecular, 4) transferencia de grupo intramolecular (estas dos últimas corresponderían a tautomerizaciones), 5) procesos de disociación, 6) transferencia de electrón (red-ox). Nosotros nos concentraremos en la clasificación más restringida.

1.1.3. Isomerizaciones *cis-trans* (E/Z)

Una isomerización *cis-trans* de alqueno, que involucra una rotación de 180° alrededor del doble enlace del alqueno, tiene lugar como parte del mecanismo de la visión en sus ojos mientras lee esta tesis. Los pigmentos visuales están compuestos por la proteína opsina y el 11-*cis*-retinal. Este último sufre una isomerización *cis-trans* por absorción de luz. Este simple cambio en la forma de la molécula dispara una cascada de reacciones químicas, las cuales son finalmente convertidas en una señal eléctrica (impulso nervioso) que se propaga en el cerebro y nos permite ver.^{5, 6}

Una de las reacciones fotoquímicas mejor entendidas y más ampliamente estudiadas es la fotoisomerización de estilbenos entre las formas *cis* y *trans* (Figura 1.3). Tanto el *trans* como el *cis*-estilbeno son interconvertidos reversiblemente por la luz. El *cis*-estilbeno no es térmicamente estable y retorna a la forma *trans* en la oscuridad. La relación *cis/trans* en el estado fotoestacionario (PSS, photostationary state, en inglés) cuando el compuesto es irradiado a 313 nm en pentano es 11,5 (92.5% de *cis*).⁷ La barrera de activación térmica para la reacción se ubica alrededor de 154 kJ/mol para la mayoría de los estilbenos.⁸

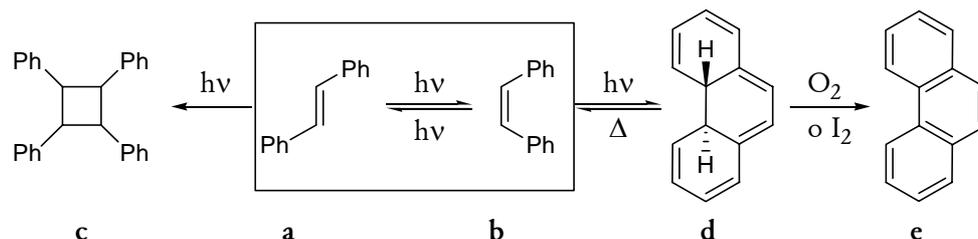


Figura 1.3. Reacciones fotoquímicas que involucran estilbenos.

En soluciones concentradas el *trans*-estilbeno (Figura 1.3, a) puede ser objeto de una reacción secundaria no deseada, la cicloadición [2+2] y formar el derivado ciclobutano (c). El *cis*-estilbeno puede también ser objeto de una electrociclación-6 π fotoinducida para dar el sistema 12- π 4a,4b-dihidrofenantreno (d). El dihidrofenantreno, por su parte, puede dar una apertura de anillo para revertir al compuesto *cis* o, en condiciones oxidantes, puede ser convertido irreversiblemente al sistema aromático más estable, fenantreno (e). Se cree que la fotociclación se alcanza desde el estado singulete excitado π - π^* del estilbeno. De acuerdo con las reglas de Woodward-Hoffmann basadas en la simetría de orbital p para el 1,3,5 hexatrieno, el cierre del anillo inducido por luz se produce en el modo conrotatorio mientras que la apertura térmica ocurre vía el modo disrotatorio.⁹ El tiempo de vida de los 4a,4b-dihidro derivados (análogos de d) depende fuertemente de sus características estructurales y varía desde menos de 1 segundo hasta 36,8 días en el caso de tener el producto de 1,2-bis(2-naftil)eteno.¹⁰ Las aplicaciones de estilbenos para fotoencendido reversible han sido limitadas debido a todas las reacciones secundarias no deseadas que tienen lugar.

1.1.4. Fotociclaciones

De acuerdo con las reglas de Woodward-Hoffmann basadas en la simetría de los orbitales p para el 1,3,5 hexatrieno, el cierre del anillo inducido por luz se produce en el modo conrotatorio mientras que la apertura térmica ocurre vía el modo disrotatorio. Por lo que el

cierre del anillo para la reacción fotoquímica genera una relación trans entre R_1 y R_2 (Figura 1.4). La apertura térmica del anillo es disrotatoria y produce una disposición cis de R_1 y R_2 .⁹

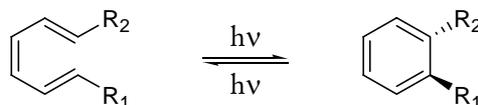


Figura 1.4. Fotociclaciones de derivados de 1,3,5-hexatrieno.

Entre los compuestos fotocromicos que son objeto de estos cierres de anillos están los spiropiranos, las fulgidas y los diheteroariletanos (Figura 1.5).

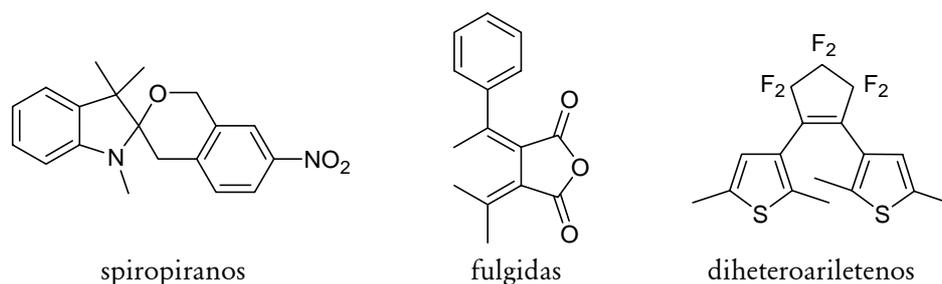


Figura 1.5. Compuestos que dan fotociclaciones.

1.2. DIHETEROARILETENOS

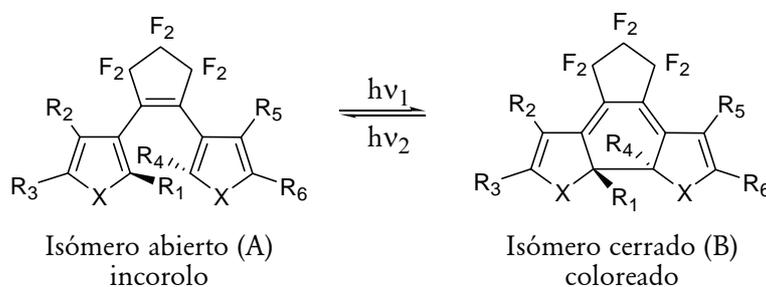


Figura 1.6. Ciclación y reversión para un diheteroarileno.

Al irradiar el diheteroarileno, isómero abierto (A), con luz UV se produce el cierre del anillo y se obtiene el isómero cerrado (B) coloreado (Figura 1.6). Al irradiar el sistema con luz visible retorna a la forma abierta. Las propiedades más importantes de estos compuestos son la elevada estabilidad térmica del isómero cerrado y la alta resistencia a las reacciones de fotodegradación denominadas “fatiga” (o bajo rendimiento cuántico de reacciones de fotodegradación).

Nuestro objetivo es aplicar los compuestos fotocromicos como aceptores de transferencia de energía de resonancia (Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET) (ver página 26) en

sistemas biológicos. Para ello requerimos un compuesto fotocromico que sea térmicamente estable luego de la irradiación y que pueda ser coloreado y decolorado repetitivamente sin degradarse. Además, todas estas propiedades deben mantenerse una vez incorporado el compuesto fotocromico al sistema biológico. De todos los compuestos fotocromicos mencionados sólo las fulgidas y los diheteroariletos mostraron estabilidad térmica. Por otra parte los diheteroariletos poseen una mayor resistencia a la fatiga que las fulgidas. Para una variedad de diheteroariletos los ciclos de coloración y decoloración pueden repetirse más de 10^4 veces sin descomposición mientras que la mayoría de las fulgidas raramente son estables por más de 100 ciclos. Otra ventaja es que los diheteroariletos son más sencillos de obtener. Estos motivos nos llevaron a elegir esta familia de compuestos como sistema fotocromico.

1.2.1. Factores que influyen en la estabilidad térmica

La irradiación de *cis*-estilbeno conduce a la formación de dihidrofenantreno, que es un diarileno en forma cerrada. Como ya fue explicado (*vide supra*), este compuesto no es térmicamente estable. Para desarrollar un compuesto térmicamente estable es necesario establecer que factores influyen en las reacciones térmicas. La estabilidad térmica de la forma cerrada está controlada por la barrera de energía. Esta barrera de energía se correlaciona con la diferencia de energía del estado fundamental entre el isómero abierto y el isómero fotoquímicamente cerrado.¹¹

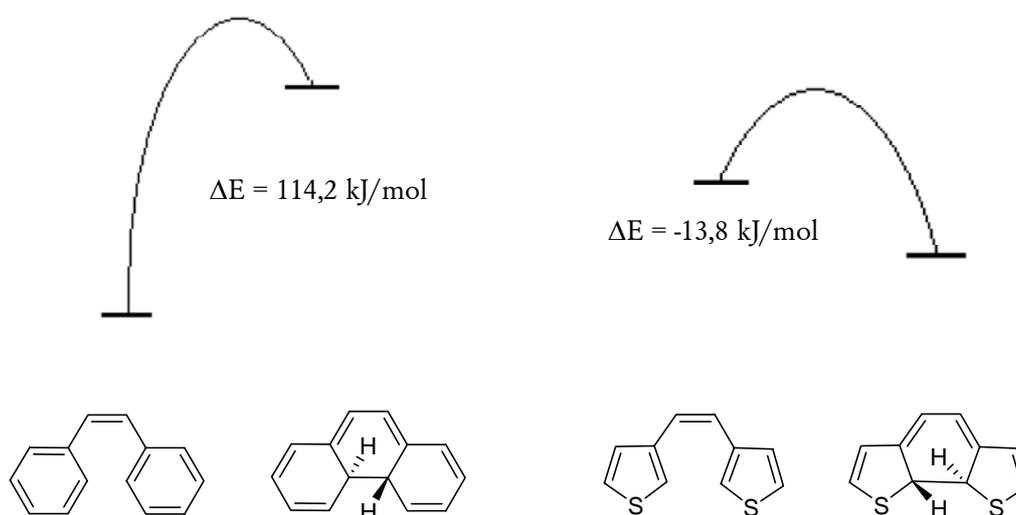


Figura 1.7. Diferencias de energía relativas de los estados fundamentales para los isómeros abiertos y cerrados fotoquímicamente.

Irie y colaboradores¹¹ realizaron cálculos semiempíricos MNDO en el modo conrotatorio para el mecanismo fotoquímico de la reacción electrocíclica de cierre del anillo (ciclación). La

diferencia de energía en los estados fundamentales para el caso del estilbeno es de 114,2 kJ/mol (Figura 1.7, izquierda). En consecuencia la barrera de energía para la reacción de apertura del anillo (cicloversión o reversión) resulta menor. En este caso, entonces, tiene lugar la reacción de cicloversión. Por otro lado, en el caso del 1,2-bis(tien-3-il)eteno (Figura 1.7, derecha) la barrera de energía para la reacción de cicloversión resulta mayor cuando la diferencia de energía de los estados fundamentales es menor (-13,8 kJ/mol). Es decir, el isómero cerrado resulta térmicamente estable cuando su energía del estado fundamental es cercana a la del isómero abierto.

La siguiente pregunta es que tipo de propiedad molecular produce esta diferencia entre los estados fundamentales de los dos isómeros. Se ha observado que la energía de estabilización aromática de los grupos arilo se correlaciona bien con la diferencia de energía de los estados fundamentales. La mayor diferencia de energía de estabilidad aromática fue calculada para el grupo fenilo (115,9 kJ/mol) y la menor para el grupo tienilo (19,7 kJ/mol). En consecuencia, la aromaticidad es la propiedad clave que controla la barrera de energía requerida para la estabilidad térmica de la forma cerrada. Estos requerimientos deben cumplirse para un sistema térmicamente estable. Por lo que los grupos tienil, benzotienil o tiazol deben estar presentes en la molécula (al menos uno de ellos) en función de introducir una gran barrera de energía para la reacción de cicloversión. Las formas cerradas de diheteroariltenos que poseen grupos fenilo, pirroílo o indoílo (en ambos lados del doble enlace) son térmicamente inestables porque la barrera de energía de estos compuestos es pequeña.

Algunos diheteroariltenos que poseen sustituyentes atractores de electrones se desvían de esta regla general (ej: iones piridinio, grupos formilo o ciano). La estabilidad térmica de estos isómeros cerrados se asigna al hecho que la unión central carbono-carbono fotogenerada en el isómero cerrado se encuentra debilitada por los sustituyentes atractores de electrones.

En la mayoría de los compuestos el alqueno que conecta los grupos arilo es parte de una estructura cíclica. Esto es útil para evitar la isomerización *cis-trans* durante la reacción de cierre del anillo inducida fotoquímicamente. Cuando se emplearon anillos de 4, 5 y 6 miembros 1,2-bis(benzotien-3-il)perfluorocicloalquenos¹² se observó que el máximo de absorción del isómero cerrado se desplaza a mayores longitudes de onda al disminuir el tamaño del anillo. Este último controla la planaridad y de esta manera la extensión de la conjugación- π en el isómero cerrado. Asimismo, el rendimiento cuántico de ciclación depende del tamaño del anillo. El mayor valor fue medido para anillos de 6 miembros.¹³ Se observa un compromiso entre estos

dos factores, por lo que el anillo de 5 miembros es la elección mas apropiada. Se han utilizado diversas estructuras cíclicas como unidades puentes, el hexafluorociclopenteno,¹² ciclopenteno,¹⁴ dihidrotiofeno,¹⁵ anhídrido maleico¹⁶ y unión maleimida,¹⁷ descritos en ese orden en la figura 1.8. De todos estos el hexafluorociclopenteno es el más frecuentemente utilizado. Los átomos de flúor aumentan la resistencia a las reacciones de fotodescomposición y a la estabilidad térmica.¹⁸

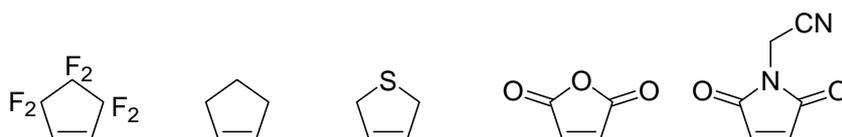
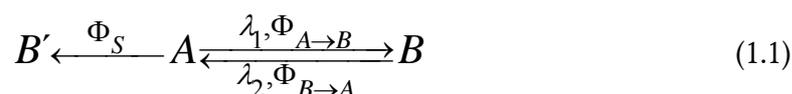


Figura 1.8. estructuras cíclicas usadas como alqueno de unión en diariletanos.

1.2.2. Reacciones de fotodegradación o procesos de “fatiga”

En un ciclo el compuesto A es transformado (fotoquímicamente) en el sistema B (ecuación (1.1)), el cual retorna a A (térmica o fotoquímicamente). Idealmente, las reacciones fotocromáticas son un proceso no destructivo que siempre está acompañado por reordenamientos de enlaces químicos. Sin embargo, durante el reordenamiento, pueden ocurrir reacciones secundarias no deseadas. Esto limita el número de ciclos de las reacciones fotocromáticas. La pérdida de rendimiento en el tiempo, dada por la degradación del compuesto, se llama “fatiga”. Se puede entender fácilmente la dificultad en obtener compuestos fotocromáticos resistentes a la fatiga mediante la siguiente secuencia de reacciones en la cual un producto secundario B' esta involucrado en el proceso.



Si el rendimiento cuántico de la reacción secundaria, Φ_S , es tan pequeño como 0,001 y B se convierte completamente en A ($\Phi_{B \rightarrow A} = 1$), el 63 % de la concentración inicial de A se descompondrá luego de 1.000 ciclos de coloración. Por lo que, el rendimiento cuántico de conversión a subproductos debería ser menor a 0,0001 para poder realizar los ciclos más de 10.000 veces. Esta no es una condición fácil de cumplir.

Para determinar la fatiga de un compuesto se realizan ciclos de irradiación sucesivos de la siguiente manera: primero con luz UV hasta alcanzar el estado fotoestacionario y luego con luz visible (por ej 100 veces), posteriormente se determina la absorbancia lograda. La medición de

la absorbancia se repite cada 100 ciclos. La fatiga se alcanza cuando la absorbancia disminuye un 80 % de su valor inicial luego de repetidos ciclos de ciclación y apertura del anillo.

Los compuestos anhídrido 1,2-bis(2,3,5-trimetiltien-3-il)maleico y 1,2-bis(2-dimetil-5-feniltien-3-il)perfluorociclopenteno se descomponen en menos de 80 ciclos en presencia de aire.^{16, 19} La baja resistencia está dada por la formación de endoperóxidos. La formación de anillos de seis miembros (Figura 1.9) puede también contribuir a la degradación del proceso. Cuando los anillos tiofeno fueron reemplazados por anillos benzotiofeno, el número de ciclos aumentó de manera notoria.^{20, 21} El grupo benzotiofeno tiene una reactividad más baja frente al oxígeno singulete, y el anillo de seis miembros no puede formarse a partir de derivados de benzotiofeno. Los ditieniletos muestran muy buenas propiedades de resistencia a la fatiga, especialmente en soluciones desgasificadas,²¹ si el sustituyente apropiado está presente en la posición 4.

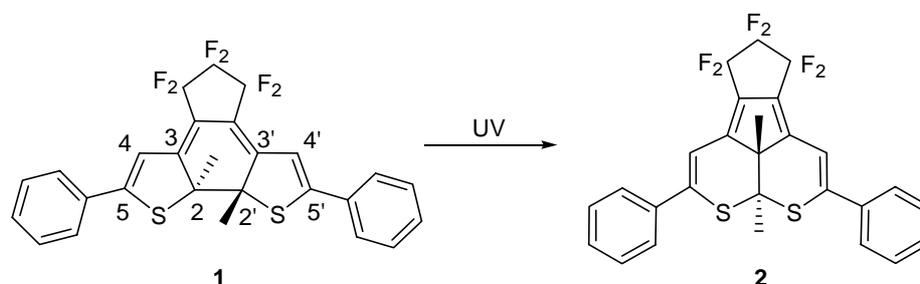


Figura 1.9. Producto de degradación luego de irradiación prolongada con luz UV-Vis.

Recientemente el producto de degradación 2 esquematizado en la figura 1.9 fue aislado y cristalizado por Irie y colaboradores para un ditienileno con la posición 4 sin sustituir.¹⁹ Posteriormente un producto de degradación similar apareció luego de una irradiación prolongada de un derivado de ciclopenteno.²² Se cree que la causa de la formación del subproducto es una migración de un radical en el sistema conjugado- π .²³ También se han encontrado productos de oxidación cuando la posición 2 del tiofeno no se encuentra sustituida.²⁴ Por lo tanto, para evitar la formación de subproductos, los hidrógenos en las posiciones 2 y 4 del tiofeno deben ser sustituidos por grupos que estabilicen el isómero cerrado, generalmente por grupos metilo.

En el caso de utilizar benzotiofeno como anillo heteroaromático, no se observan este tipo de subproductos. Los compuestos fotocromicos sintetizados en esta tesis contienen al menos uno de los anillos unidos al puente como benzotiofeno. En los casos en que el otro anillo unido al puente es un tiofeno, este se encuentra sustituido en las posiciones 2 y 4 por grupos metilo.

1.2.3. Conforméros paralelo y antiparalelo

Los diheteroariletos con anillos heterocíclicos de 5 miembros se encuentran en dos conformaciones (Figura 1.10): (1) la conformación paralela (izquierda), con los dos anillos en simetría espejo (plano de simetría) y (2) conformación antiparalela (derecha), con los anillos en una orientación C_2 (simetría C_2 axial).^{16, 20, 25}

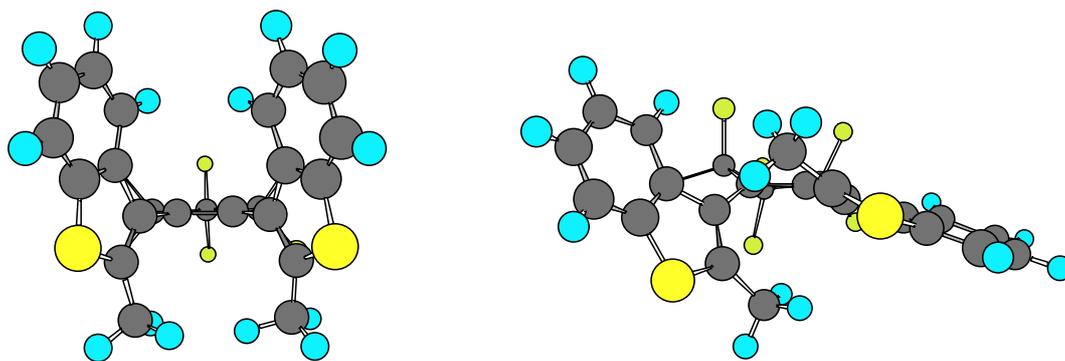


Figura 1.10. Conformaciones paralela (izquierda) y antiparalela (derecha).

La relación molar de isómeros conformacionales puede ser determinada por RMN- 1H .²⁵ La velocidad de interconversión entre los dos isómeros se ha estimado en un valor mucho menor que el tiempo de vida de los estados fotoexcitados. Por lo tanto, ambos conforméros son excitados independientemente, y sólo el conforméromo fotoexcitado anti-paralelo puede ser convertido a la forma cerrada. El estado fundamental para el cierre del anillo disrotatorio a partir de la forma paralela, que es predicho por las reglas de Woodward-Hoffmann está prohibido a causa del impedimento estérico de los grupos metilos centrales y por que el estado fundamental para el isómero cerrado es mayor que el correspondiente al isómero abierto. En la práctica esto significa que, si la relación molar de conforméros es 1:1, como ocurre para un gran número de estructuras, el máximo rendimiento cuántico para la reacción de cierre es 0,5.

La figura 1.11 muestra un ejemplo típico de un espectro de absorción de un diheteroariletano. El isómero abierto absorbe solamente en la región UV, mientras que el isómero cerrado, a causa de la desestabilización del estado fundamental y la disminución de la barrera HOMO/LUMO, muestra una absorción distintiva en la región visible.

La luz UV, que es absorbida por el isómero abierto, se utiliza para inducir la reacción de cierre del anillo. Durante esta reacción siempre se alcanza un estado fotoestacionario. Dado que la absorción de la forma cerrada en la región UV no es nula (Figura 1.11), tanto la reacción de cierre como la de apertura ocurren cuando se irradia el compuesto, lo que lleva a la situación de estado estacionario que está determinada por los rendimientos cuánticos de apertura y cierre.

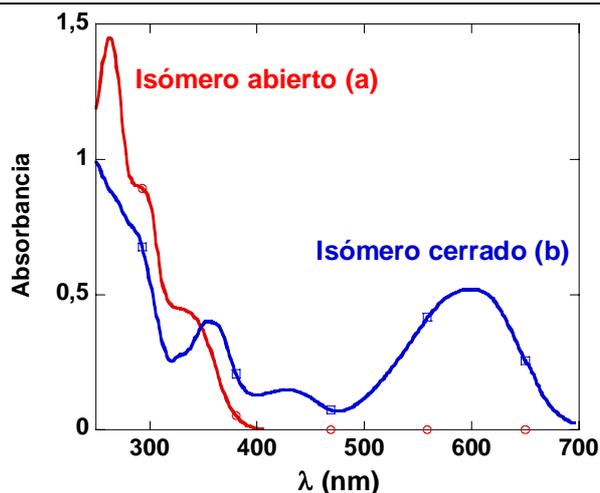


Figura 1.11. Absorbancia en hexano de los isómeros abierto y cerrado.

El grado de conversión está determinado no sólo por el coeficiente de absorción molar a la λ_{irr} para ambos isómeros (isómero abierto, IA e isómero cerrado, IC) sino también por el rendimiento cuántico de ciclación y apertura (Ecuación 1.2). Estos últimos pueden ajustarse modificando la naturaleza de los sustituyentes en posición 2 del anillo tiofeno o benzotiofeno y en posición *para* del fenilo sustituido en posición 5 del tiofeno (Figura 1.12). Si se obtiene un rendimiento cuántico de apertura de varios órdenes de magnitud menor que el de ciclación entonces la conversión puede resultar cercana al 100 %.

$$Conversión = \alpha_{PSS} = \frac{\epsilon_{IA}^{\lambda_{irr}} \Phi_{IA \rightarrow IC}}{\left(\epsilon_{IA}^{\lambda_{irr}} \Phi_{IA \rightarrow IC} + \epsilon_{IC}^{\lambda_{irr}} \Phi_{IC \rightarrow IA} \right)} \quad (1.2)$$

La luz visible es usada para pasar del isómero cerrado al isómero abierto. En este caso, la conversión ocurre con un 100 % de rendimiento. El corrimiento al rojo del isómero cerrado depende de la extensión de la conjugación de los anillos arenos unidos al puente y de los sustituyentes unidos a esos grupos arilo.

1.2.4. Efectos de los sustituyentes en posición 5 del tiofeno²⁵

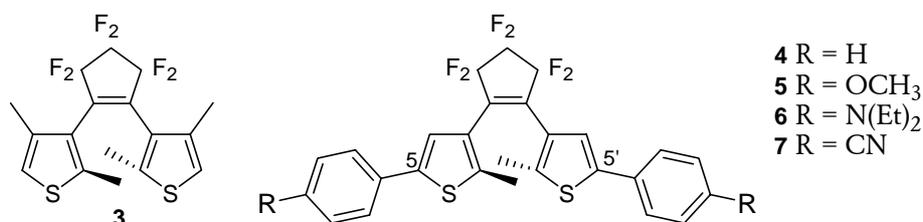


Figura 1.12. Derivados de tiofeno con la posición *para* sustituida.

Tabla 1.1. Máximos de absorción, coeficientes de absorción molar y rendimientos cuánticos de conversión para los isómeros abiertos (a) y cerrados (b) de los derivados de tiofeno.

	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	$\Phi_{\text{a}\rightarrow\text{b}}$		λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	$\Phi_{\text{b}\rightarrow\text{a}}$	Conversión
3a	234	13.000	0,21	3b	534	5.000	0,13	62
4a	262	28.000	0,46	4b	562	11.000	0.015	79
5a	270	33.000	0,48	5b	597	14.000	0.008	88
6a	305	40.000	0,37	6b	597	18.000	0.0025	>99
7a	300	30.000	0,50	7b	570	11.000	0.018	98

Para aumentar el coeficiente de absorción molar ϵ del isómero cerrado, lo más conveniente es extender la conjugación poliénica introduciendo cromóforos ricos en electrones en la molécula.²⁶ Reemplazando los hidrógenos en las posiciones 5 y 5' del anillo tiofeno (Figura 1.12) con grupos fenilos (**4**) el máximo de absorción se desplaza hacia el rojo en 28 nm y el coeficiente de absorción molar es dos veces mayor que el del compuesto **3**. Además, cuando el grupo fenilo está sustituido en la posición *para*, el máximo de absorción y el coeficiente de absorción molar aumentan al aumentar la capacidad donante del sustituyente (**5** y **6**). El sustituyente ciano atractor de electrones desplaza el máximo de absorción a longitudes de onda mayores pero no aumenta el valor de ϵ . El coeficiente de absorción de **6b**, que tiene un sustituyente dietilamino, es 3,6 veces mayor que para el isómero cerrado del compuesto sin sustituir (**3b**).

Los rendimientos cuánticos de ciclación para **4** y **5** fueron de 0,46 y 0,48, respectivamente y resultaron mayores que los medidos para los anhídridos diheteroarilmaleico. Cuando un grupo fuertemente donante de electrones, dietilamino, fue introducido en la posición *para* del grupo fenilo, el rendimiento cuántico disminuye en cierto grado. El sustituyente ciano, electroattractor, aumenta el rendimiento cuántico de ciclación hasta 0,50. Para estos compuestos, este valor es el máximo posible dado que los conformeros paralelo y antiparalelo existen en una proporción 1:1.

El rendimiento de apertura de ciclo depende fuertemente de los sutituyentes donantes de electrones. La introducción del grupo fenilo en las posiciones 5 y 5' disminuye el rendimiento cuántico de 0,13 a 0,015. El rendimiento cuántico disminuye aún más al sustituir el fenilo en posición *para* con grupos donantes de electrones. Se observa que el grupo atractor de electrones, ciano, no afecta el rendimiento cuántico de cicloversión.

1.2.5. Efecto de los sustituyentes en el carbono central reactivo (C-2)

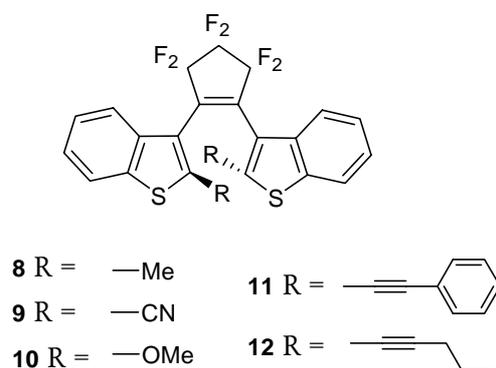


Figura 1.13. Derivados de benzotiofeno sustituidos en posición 2.

La introducción de grupos arilo π -conjugado a los derivados ditieniletano produce un desplazamiento batocrómico del máximo de absorción del isómero cerrado.^{25, 27, 28} El grupo metoxilo en la posición 2 (Figura 1.13) genera el mismo efecto, desplazamiento en 30 nm a longitudes de onda mayores (Tabla 1.2, **10b**).²⁹ El rendimiento cuántico de ciclación ($\Phi_{a \rightarrow b}$) al sustituir con grupo metoxilo no varía apreciablemente, por lo que esta sustitución no afecta la reacción de ciclación. El rendimiento cuántico de reversión ($\Phi_{b \rightarrow a}$) para el compuesto **10b** disminuye alrededor de un orden de magnitud con respecto al compuesto **8b** que posee metilo como sustituyente.

Tabla 1.2. Máximos de absorción, coeficientes de absorción molar y rendimientos cuánticos de conversión para los isómeros abiertos (a) y cerrados (b) de los derivados de benzotiofeno sustituidos en posición 2.

	λ_{\max} (nm)	ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$)	$\Phi_{a \rightarrow b}$		λ_{\max} (nm)	ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$)	$\Phi_{b \rightarrow a}$	Conversión
8a	258	14.000	0,35	8b	517	9.100	0,35	45
9a	273		0,28	9b	496		0,59	58
10a			0,34	10b	547		0,03	
11a	309	49.000	0,13	11b	520	11.000	0,55	55
12a	278	33.000	0,21	12b	520	9600	0,58	41

Si el sustituyente en posición 2 es un grupo ciano (**9b**), se observa un desplazamiento hipsocrómico de 30 nm respecto a **8b**. Los valores de rendimiento cuántico de ciclación fueron similares a los obtenidos para los compuestos con sustituyentes metilo y metoxilo. Por el contrario, el rendimiento cuántico de reversión se ve fuertemente afectado por el sustituyente en el carbono reactivo. El grupo ciano aumenta el rendimiento cuántico de reversión ($\Phi_{b \rightarrow a}$) 30 veces para **9b** respecto de **8b**.³⁰

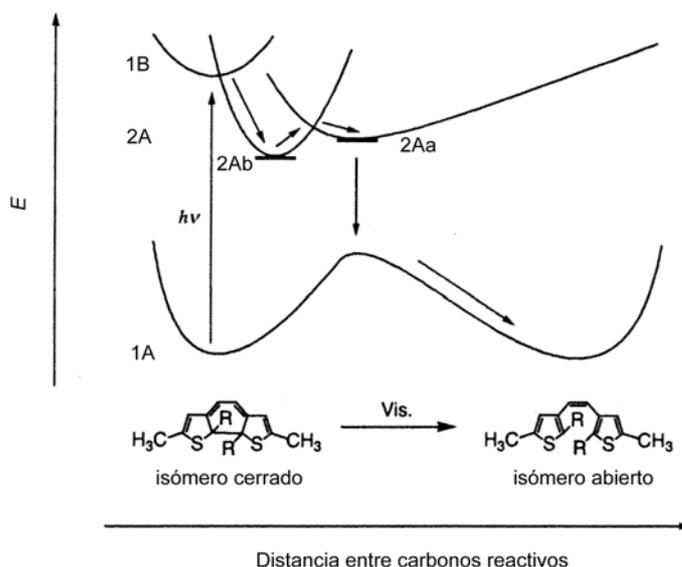


Figura 1.14. Superficies de energía potencial del estado fundamental (1A) y los dos estados excitados más bajos (2A y 1B) en función de la distancia entre los dos átomos de carbono reactivos, $R(C-C)$. a y b, representan los isómeros abierto y cerrado, respectivamente.

Irie y colaboradores realizaron cálculos teóricos para un sistema modelo para el estado excitado de diheteroarileno con Gaussian 98 y GAMESS para confirmar el efecto de los sustituyentes. En la figura 1.14 se representan las curvas de energía potencial del estado fundamental (1A) y los dos estados excitados más bajos (2A y 1B) en función de la distancia entre los dos átomos de carbono reactivos, $R(C-C)$ obtenidos a partir de los cálculos teóricos. a y b, representan los isómeros abierto y cerrado, respectivamente. El estado excitado permitido 1B está muy cerca en energía del estado 2A (Figura 1.14). Se supone que se llega a 2A por conversión interna. La energía de superficie de potencial para el estado excitado 2A posee dos mínimos (2Ab y 2Aa) cercanos al estado de transición del isómero cerrado. Por lo que existe una barrera de energía en el estado excitado en el camino para pasar del isómero cerrado al abierto. Cuando el punto 2Ab es poblado, el rendimiento cuántico depende de la capacidad del sistema para pasar esta barrera de energía, $\Delta E (= E(2Ab) - E(2Aa))$. Cuando la diferencia de energía es pequeña, se espera que la barrera también lo sea. Las diferencias calculadas fueron 1,1, 5,9 y 13,9 kcal/mol para los derivados ciano, metilo y metoxi respectivamente. El orden de ΔE , que depende de los sustituyentes, se correlaciona con los rendimientos cuánticos de reversión obtenidos experimentalmente.

Se observa en los derivados con sustituyentes etinilo en posición 2 (**11** y **12**) que poseen casi idéntico máximo de absorción del isómero cerrado y coeficiente de absorción que el derivado metilado (**8**).³¹ En consecuencia, el grupo etinilo no afecta la estructura electrónica del

diheteroarileno comparado con los derivados ciano y alcoxi. El rendimiento cuántico de ciclación disminuye por la introducción de etinilo. Por otro lado, el rendimiento cuántico de reversión aumenta.

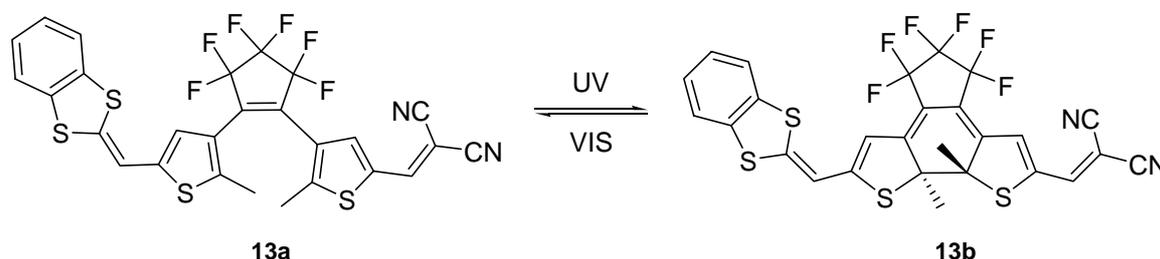


Figura 1.15. Diheteroarileno con el máximo de absorción en su isómero cerrado a la mayor longitud de onda.

La banda de mayor longitud de onda de absorción que ha sido publicada para el isómero cerrado es 828 nm en benceno (Figura 1.15, **13b**).^{32, 33} En este compuesto, un grupo CH=benzoditiol (donante fuerte de electrones) y dicianoetileno (atractor fuerte de electrones) son acoplados a un 1,2-bis(2-metil-3-il)perfluorociclopenteno. Sin embargo, el isómero cerrado es térmicamente inestable y se determinó que el tiempo de vida medio es de 186 minutos a 60 °C.

1.2.6. Control conformacional

Como ya se ha mencionado, los diheteroarilenos se encuentran en dos conformaciones, paralela y antiparalela. Sólo la conformación antiparalela da lugar a la reacción de ciclación. De modo que la relación entre ambas determina el máximo rendimiento cuántico de ciclación. Para incrementar el rendimiento cuántico se debe aumentar la concentración relativa de la conformación anti-paralela. Esto ha sido conseguido en tres diferentes caminos:

1- Por incorporación de sustituyentes voluminosos en las posiciones 2- y 2'- de los grupos arilo³⁴

2- Por incorporación del diheteroarileno a un esqueleto polimérico³⁵

3- Por inclusión del diheteroarileno en un espacio confinado, ej. β -ciclodextrina³⁶⁻³⁸

Al reemplazar los grupos metilos en posiciones 2- y 2'- por 2-isopropilo (Figura 1.16, **14**) aumenta el rendimiento cuántico de ciclación de 0,35 a 0,52,³⁹ pero desafortunadamente la forma cerrada de este compuesto no es térmicamente estable.⁴⁰ Cuando el compuesto fotocromico se incorpora a un esqueleto polimérico, la conformación anti-paralela es la única conformación que puede existir (Figura 1.16, **15**).³⁵ Este sistema provee el mayor rendimiento

cuántico para la reacción de cierre que ha sido publicado ($\Phi_{b \rightarrow a} = 0,86$). La molécula en la conformación anti-paralela posee una estructura extendida como una varilla, mientras que la molécula en la conformación paralela posee una estructura cúbica. En el caso de la β -ciclodextrina la conformación anti-paralela encaja mejor en la cavidad que el conformero paralelo, así incrementa el rendimiento cuántico.³⁶⁻³⁸ Este mismo efecto también fue encontrado con la γ -ciclodextrina, aunque en este caso el cambio es menos pronunciado. La cavidad de la α -ciclodextrina resulta ser demasiado pequeña.

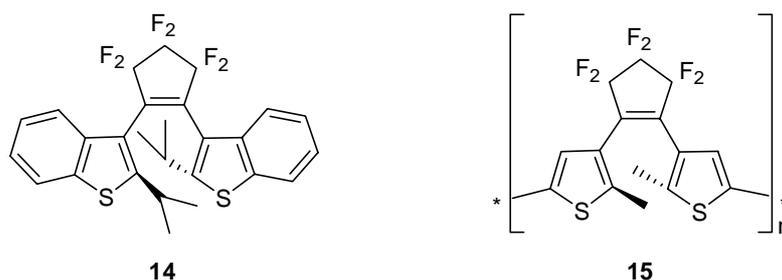


Figura 1.16. Diheteroariltenos que existen predominantemente en la conformación anti-paralela.

Las energías de ambas conformaciones y las probabilidades de transiciones se encuentran influidos por las propiedades físicas del medio.⁴¹ Como “medio” deben incluirse un gran número de sistemas ya sean líquidos, sólidos, micelas, films delgados organizados e incluso vacío. Por ejemplo, un cambio en la constante dieléctrica del solvente afecta los valores de los máximos de absorción para los espectros de absorción y emisión. Para aplicaciones de sistemas fotocromáticos a dispositivos optoelectrónicos, se requiere la utilización de los compuestos en matrices sólidas. La reactividad fotocromática es suprimida en la mayoría de los casos en el medio polimérico. Se ha estudiado el fotocromismo en medios amorfos y sólidos incluyendo monocristales.^{42, 43}

1.3. APLICACIONES DE DIHETEROARILETENOS FOTOCRÓMICOS

1.3.1. Reactividad fotocontrolada

Para lograr aplicaciones prácticas de los compuestos fotocromáticos en memoria óptica la longitud de onda necesaria para la lectura no debe interferir con el proceso de conversión alternada, porque si hubiera interferencia, la información almacenada sería borrada. Una

posible vía para lograr esto es por “reactividad fotocontrolada”. Si la molécula puede ser “atrapada” en el confórmero paralelo éste no conducirá a la forma cerrada. Irie y colaboradores utilizaron este concepto para diseñar un derivado ácido de diheteroarileno, el cual se fija en el confórmero paralelo por enlace de hidrógeno intramolecular en una solución de ciclohexano (Figura 1.17). El agregado de pequeñas cantidades de etanol rompe los enlaces de hidrógeno y el sistema retoma su actividad fotocromica.^{44, 45} En decalina el sistema también recupera su actividad cuando fue calentado por encima de los 100 °C.

Irie y colaboradores realizaron un estudio sobre diheteroarileno carboxilados tomando espectros de resonancia magnética nuclear protónica en ciclohexano- d_{12} y en distintas mezclas de ciclohexano- d_{12} /etanol- d_6 . Los protones metílicos brindan la información concerniente a las poblaciones relativas de las dos conformaciones. Los protones dan señales a diferentes campos dependiendo de su conformación, esto es, ya sea que los anillos arilo estén paralelos o antiparalelos. Las señales a campos bajos se atribuye a los protones en la conformación paralela mientras que las señales a campos altos (región de protección del sistema aromático) a la conformación antiparalela.

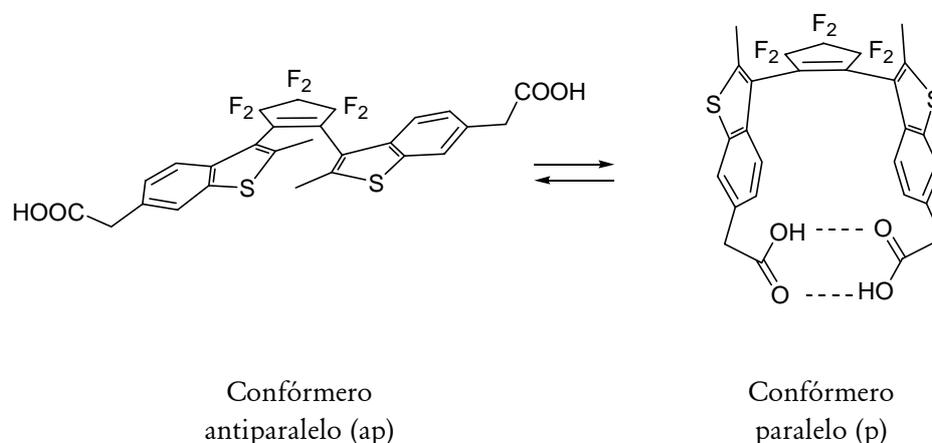


Figura 1.17. Formación del confórmero paralelo por enlace de hidrógeno.

En ciclohexano, no se observa la señal del metilo a campos altos mientras que esta señal aparece con el agregado de etanol. El espectro de resonancia magnética indica claramente que la molécula está en su conformación paralela en ciclohexano. Este atropoisómero es convertido a la conformación antiparalela con el agregado de etanol.

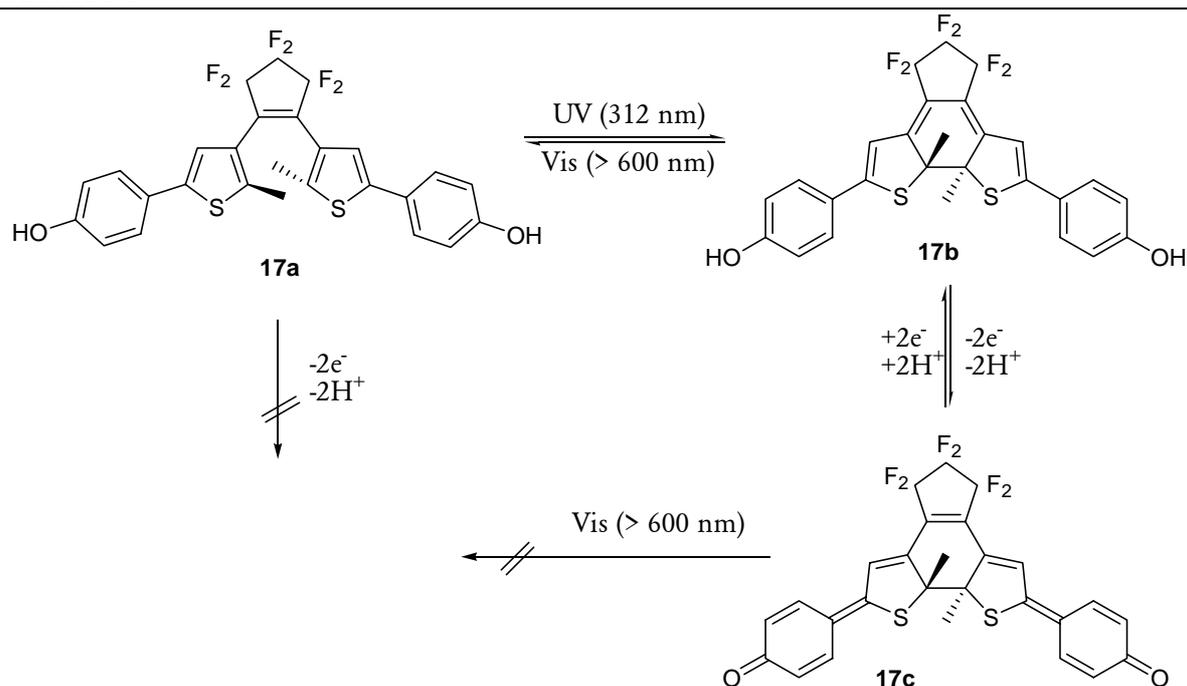


Figura 1.18. Sistema controlado foto y electroquímicamente.

Un sistema de conversión con más de un tipo de reactividad puede ser considerado para llevar a cabo reacciones fotocromáticas de compuertas. Estos sistemas combinan dos procesos reversibles que pueden ser dirigidos por dos estímulos independientes. Lehn y colaboradores sintetizaron una molécula que posee dos unidades activas, fotocromática y electrocromática (Figura 1.18).⁴⁶⁻⁴⁸

El comportamiento eléctrico es controlado en una manera encendido-apagado por luz, además, el fotocromismo es regulado electroquímicamente. Luego de irradiar con luz UV ($\lambda=312$ nm) se genera la forma cerrada, la cual es convertida químicamente a un compuesto quinoide por agregado de exceso de $K_3Fe(CN)_6$ y solución acuosa de KOH. Este compuesto puede también obtenerse por irradiación de 17a a $\lambda=254$ nm, lo cual conduce a la formación de 17b, que es luego oxidado irreversiblemente a 17c. La forma abierta es electroquímicamente inerte dentro de un rango entre -1 a +1 V, mientras que la forma cerrada posee una onda reversible de oxidación correspondiente a la formación de la forma quinoide. La forma quinoide es fotoquímicamente estable (<2% cambia luego de 8 h de irradiación a $\lambda > 600$ nm). De esta manera, 17b es fotocromático, por lo que la oxidación a 17c puede ser usado para bloquear efectivamente la reacción de apertura del anillo. Recientemente, el mismo grupo ha desarrollado un sistema de compuertas similar basado en una modulación fotocontrolada de pKa.⁴⁹

El rendimiento cuántico de reacción de cicloreversión fotoquímica de **18** (Figura 1.19) es 0,00013 a temperatura ambiente. Este aumenta 34 veces cuando se incrementa la temperatura de 25 a 150 °C. Este sistema también puede ser considerado para emplear reactividad fotocontrolada por temperatura.

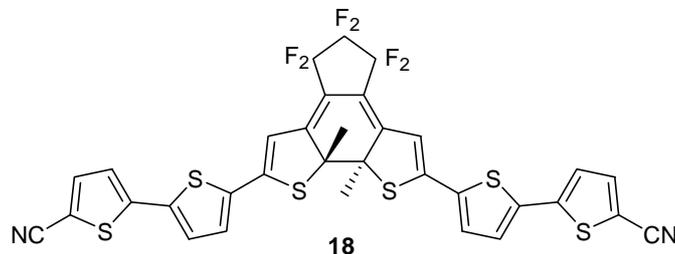


Figura 1.19. Reactividad del isómero cerrado controlada térmicamente.

1.3.2. Fluorescencia

Además de observarse modificaciones en la región espectral, la conversión resulta en otros cambios en las propiedades ópticas. Los cambios en las propiedades ópticas como transmitancia,⁵⁰ reflectancia,⁵¹ índice de refracción,⁵²⁻⁵⁴ rotación óptica,⁵⁵ IR⁵⁶ o fluorescencia⁵⁷⁻⁶⁰ pueden usarse para solucionar el problema de la lectura destructiva.⁶¹ La fluorescencia permite lograr una alta sensibilidad y es por lo tanto un método muy satisfactorio de lectura. La fluorescencia puede utilizarse como un método no destructivo de lectura si (a) existe una diferencia en la emisión fluorescente entre la forma abierta y cerrada del diheteroarileno, (b) la longitud de onda de excitación de fluorescencia no interfiere con el proceso de conversión del diheteroarileno.

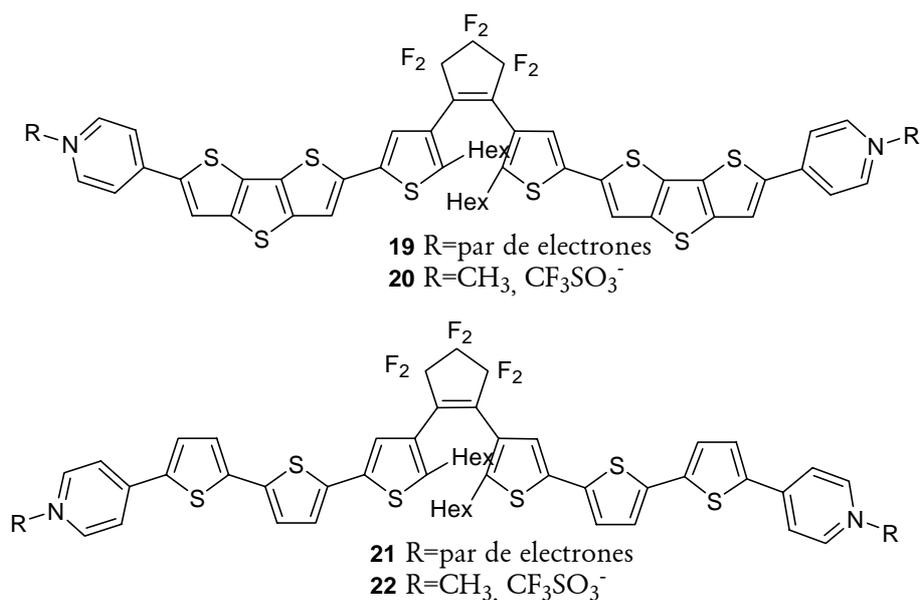


Figura 1.20. Ditienilenos fluorescentes.

Lehn y colaboradores sintetizaron una serie de diteniletos funcionalizados con oligotiofenos. Estos autores determinaron que la forma abierta de los compuestos descritos en la figura 1.20 era fuertemente fluorescente ya sea para los compuestos con $R = \text{CH}_3$ (**20** y **22**) como en los no metilados (**19** y **21**), mientras que la forma cerrada poseía una muy débil emisión. Las bandas de absorción que son usadas para la excitación de fluorescencia están inactivas respecto de las fotoreacciones de ciclación y cicloversión.

1.4. SÍNTESIS DE DIHETEROARILETENOS

1.4.1. Unidad puente: ciclopenteno

En los últimos años han aparecido en la literatura métodos para la síntesis de un gran número de derivados de diheteroariletos (DHAE) funcionalizados con interesantes propiedades fotocromicas. Los métodos de síntesis de estos compuestos no son triviales ya que involucran reacciones de formación de uniones C-C. Existen diversos sistemas 1,2-bis(tien-3-il) y 1,2-bis(benzotien-3-il) conteniendo unidades de anhídrido maleico, maleimida, hexafluorociclopenteno y ciclopenteno que han sido empleados recientemente. Cada unidad posee sus ventajas y desventajas. Los diheteroariletos con hexafluorociclopenteno como unidad puente poseen excelentes propiedades fotocromicas. Los diheteroarilhexafluorociclopentenos son preparados mediante una reacción de doble sustitución del octafluorociclopenteno con derivados litiados de heteroarilo (Figura 1.21).⁶²

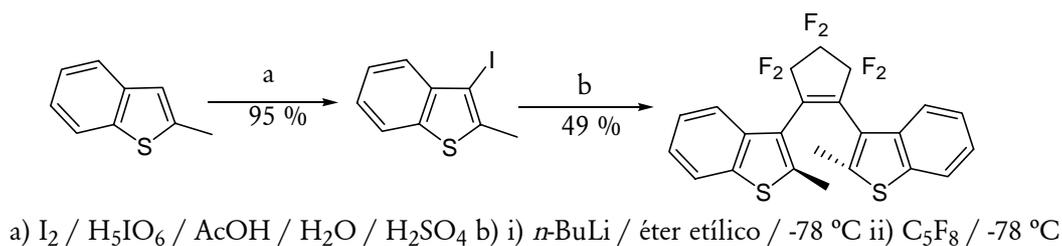


Figura 1.21. Síntesis de DHAE simétrico.

Los heptafluorociclopentenos hemi-sustituídos (Figura 1.22, **23**) pueden ser preparados selectivamente controlando la relación de octafluorociclopenteno y heteroarillitio. De esta manera, los compuestos hemi-sustituídos pueden ser utilizados para la síntesis de diheteroariletos asimétricos (**24**).⁶³⁻⁶⁶

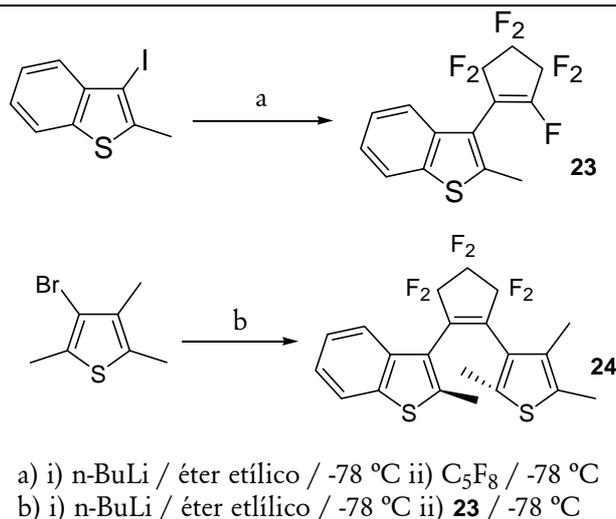


Figura 1.22. Síntesis DHAE asimétrico.

Recientemente ha sido publicada una estrategia basada en la acilación del derivado heteroarilo, seguido de un acoplamiento de McMurry⁶⁷ para la preparación de derivados perhidro y perfluorociclopenteno.¹⁴ La ruta se muestra en la figura 1.23.

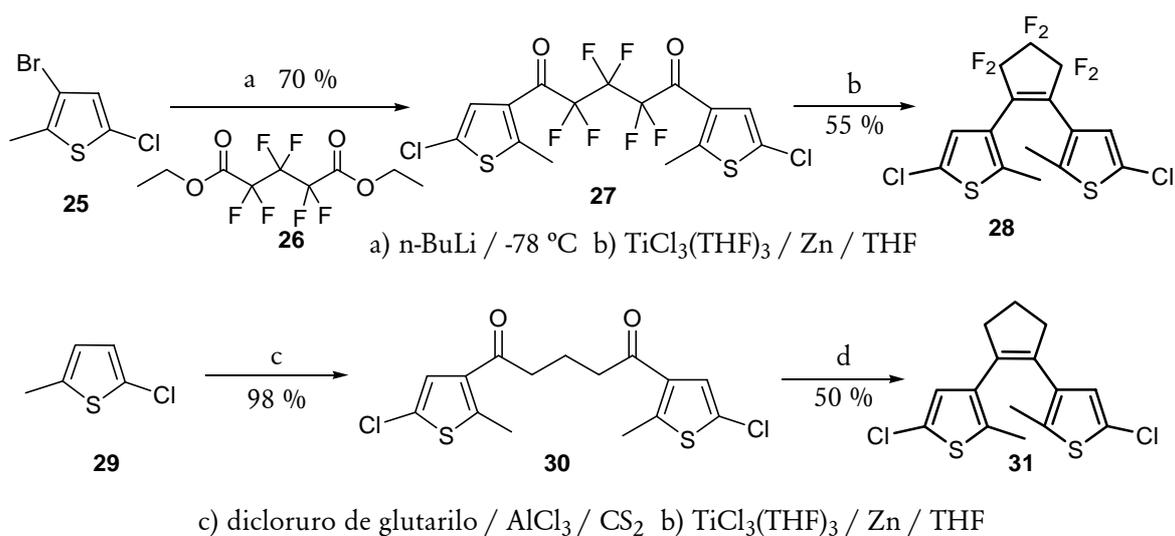


Figura 1.23. Ruta que utiliza la reacción de acoplamiento de McMurry.

El derivado litiado en posición 3 del tiofeno **25** se hace reaccionar con el éster **26** a -78 °C. La ciclación del producto **27** se lleva a cabo a través del acoplamiento mediado por titanio utilizando TiCl₃(THF)₃ y Zn en THF a 40 °C. El acoplamiento intramolecular de McMurry fue también utilizado para la síntesis de ciclopentenos 1,2-diheteroarilos sustituidos,⁶⁸⁻⁷⁰ los cuales poseen hidrógeno en lugar de fluor. En este caso el tiofeno **29** se hace reaccionar con el cloruro de ácido para dar el compuesto **30**. Este compuesto reacciona mediante el acoplamiento de McMurry para dar el derivado fotocromico **31**. Este procedimiento puede ser

llevado a grandes escalas con materiales de partida baratos. Los dos compuestos base **28** y **31** pueden prepararse fácilmente y dar lugar a una amplia variedad de compuestos fotocromicos mediante rutas sintéticas convergentes. El comportamiento fotocromico de los compuestos hexahidro y hexafluorociclopenteno es notablemente similar. Ambos compuestos combinan excelentes rendimientos cuánticos (0,6) con altos grados de conversión (0,85).⁷¹ La principal diferencia que se encontró fue la menor estabilidad fotoquímica y térmica de los compuestos hexahidrociclopenteno. Los tiempos de vida media, en todos los casos, para la reversión térmica exceden las 3 horas a 100 °C.

1.4.2. Unidad puente: anhídrido maleico y maleimida

Los compuestos fotocromicos basados en anhídrido maleico son también ampliamente utilizados. Su síntesis comienza a partir de tienilacetonitrilos **32**, los cuales reaccionan consigo mismo para formar una molécula de tipo estilbeno **33** (Figura 1.24). Este acoplamiento oxidativo involucra una sustitución nucleofílica seguida de una eliminación de HCl. La desventaja es que se forman ambos isómeros, *cis* y *trans*, pero luego de la hidrólisis, sólo el isómero *cis* puede sufrir un cierre de anillo para generar el anhídrido deseado **34**. En algunos casos ha sido posible obtener altos rendimientos del producto deseado **34** llevando a cabo primero una isomerización fotoquímica *trans-cis* seguida de hidrólisis para dar el anhídrido.¹⁶

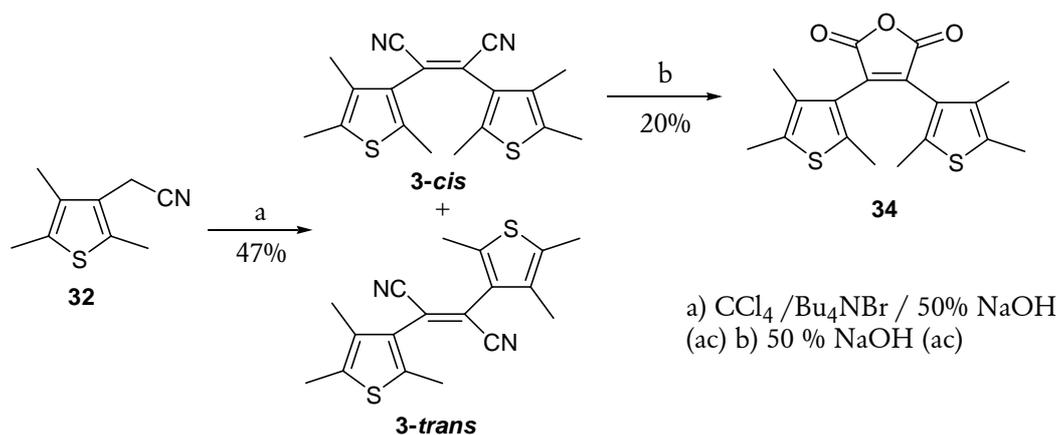


Figura 1.24. Síntesis de derivados anhídrido.

Los derivados de maleimida son menos frecuentemente utilizados. En la figura 1.25 puede observarse un ejemplo de estos derivados con su correspondiente síntesis. Además del hecho de que los derivados maleimidados pueden ser preparados a partir de los derivados anhídridos, se ha desarrollado una ruta alternativa para sintetizar, por ejemplo, derivados asimétricos **38**.¹⁷ El

compuesto **36** es preparado por acilación de **35** con cloruro de oxalilo en presencia de aminoacetnitrilo. Luego, el compuesto **38** se obtuvo por condensación del cloruro de ácido de **37** y el compuesto **36**.

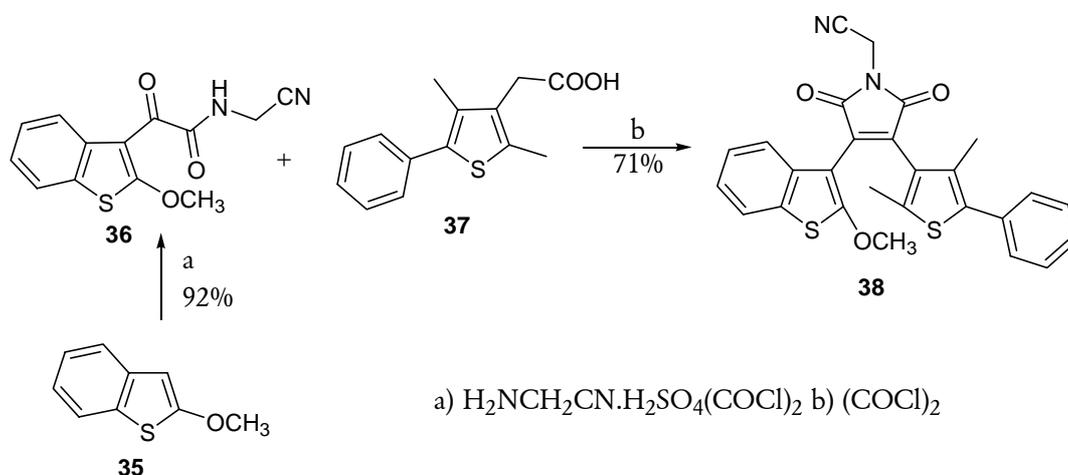


Figura 1.25. Síntesis de derivado de maleimida.

1.4.3. Unidad puente: dihidrotiofeno

Además, Fan y colaboradores han publicado recientemente una nueva ruta para sintetizar derivados ditienileténicos funcionalizados simétricos y asimétricos con 2,5-dihidrotiofeno como unidad de puente (Figura 1.26).⁷²

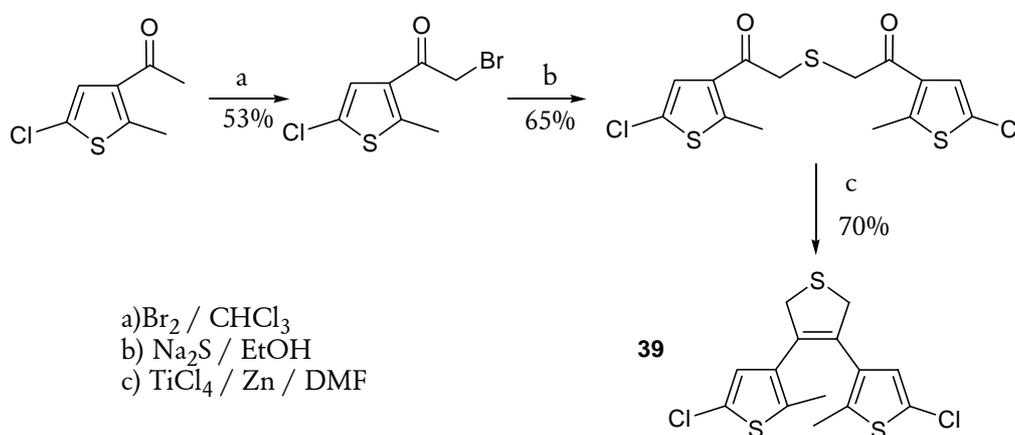


Figura 1.26. Derivados con unidad de 2,5 dihidrotiofeno.

El compuesto **39** puede ser fácilmente derivado para generar una amplia variedad de compuestos fotocromáticos. La síntesis puede realizarse a gran escala con materiales de partida poco costosos.

La mayoría de los derivados que hay publicados son simétricos y con tiofeno y benzotiofeno como heteroarilo.

1.5. TRANSFERENCIA DE ENERGÍA DE RESONANCIA (FRET)⁷³⁻⁷⁶

1.5.1. Teoría de la transferencia de energía de resonancia entre el par donante-aceptor

La transferencia de energía de resonancia es un proceso físico en el cual la energía se transfiere no radiativamente desde el estado excitado de una molécula cromófora donante (D) a otro cromóforo aceptor (A). Esta transferencia es principalmente el resultado de una interacción coulombica dipolo-dipolo de larga distancia entre el donante y el aceptor.^{77, 78} Para que la transferencia sea efectiva se requiere que: (a) la distancia donante-aceptor sea de 1-10 nm, (b) exista una buena superposición entre el espectro de emisión del donante y el espectro de absorción del aceptor (esto hace que varias transiciones vibracionales del donante posean la misma energía que las correspondientes transiciones en el aceptor, por lo que están acopladas es decir, en resonancia) y (c) sean suficientemente altos el rendimiento cuántico del donante (Φ_D) y el coeficiente de absorción molar del aceptor (ϵ_A), (e.g. $\Phi_D \geq 0,1$ y $\epsilon_A \geq 1000$). Además, para que la interacción vectorial dipolo-dipolo ocurra, los momentos dipolares de D y A deben estar orientados favorablemente uno con el otro. En general se quiere que uno (o ambos) tengan un cierto grado de libertad rotacional (que implique rotaciones rápidas en el tiempo del proceso de fluorescencia) para utilizar un valor restringido del factor de orientación, κ .

El fenómeno de transferencia se expresa en la literatura de diversas maneras. Las más comunes son resonance energy transfer (RET), fluorescence energy transfer (FET) y fluorescence resonance energy transfer (FRET). En esta tesis nos referiremos al proceso adoptando la denominación FRET.

Förster derivó la siguiente ecuación **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** para la constante de velocidad de transferencia a partir de consideraciones clásicas y de fundamentos mecánico-cuánticos,^{77, 78}

$$k_T = k_D \left(\frac{R_0}{R} \right)^6 = \left(\frac{1}{\tau_D} \right) \left(\frac{R_0}{R} \right)^6 \quad (1.3)$$

donde k_D es la constante de emisión del donante, τ_D es el tiempo de vida de fluorescencia del donante D en ausencia de transferencia, R es la distancia entre D y A (la cual supone que permanece sin cambios durante el tiempo de vida del donante), y R_0 es la distancia crítica o radio de Förster, la distancia en la cual la transferencia y el decaimiento espontáneo del

donante excitado son igualmente probables ($k_T=k_D$, cuando $R=R_0$, $k_T=1/\tau_D$). Debe notarse la característica dependencia de k_T con la inversa de la sexta potencia de la distancia.

R_0 puede determinarse a partir de datos espectroscópicos y esta dada por:

$$R_0^6 = \frac{9000(\ln 10)\kappa^2\Phi_D^0}{128\pi^5 N_A n^4} \int_0^\infty I_D(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda \quad (1.4)$$

donde κ^2 es el factor de orientación, Φ_D^0 es el rendimiento cuántico de fluorescencia del donante en ausencia de transferencia, n es el promedio del índice de refracción del medio en el rango de longitudes de onda donde la superposición espectral es significativa, I_D es el espectro de fluorescencia del donante normalizado tal que $\int_0^\infty I_D(\lambda)d\lambda=1$ y $\varepsilon_A(\lambda)$ es el coeficiente de absorción molar del aceptor. Por lo tanto, para R_0 en Å, l en nm, $\varepsilon_A(\lambda)$ en $M^{-1}cm^{-1}$, obtenemos:

$$R_0 = 0,2108 \left[\kappa^2 \Phi_D n^{-4} \int_0^\infty I_A(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda \right]^{1/6} \quad (1.5)$$

La integral de superposición, J , la cual expresa el grado de superposición espectral entre la emisión del donante y la absorción del aceptor, esta dada en longitud de onda como:

$$J = \int_0^\infty I_A(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda \quad (1.6)$$

El factor de orientación κ^2 esta dado por:

$$\kappa^2 = (\cos\theta_{DA} - 3\cos\theta_D \cos\theta_A)^2 \quad (1.7)$$

donde θ_{DA} es el ángulo entre los momentos de transiciones del donante y el aceptor, θ_D y θ_A son los ángulos entre el momento de transición respectivo y el vector separación. En principio, κ^2 puede tomar valores desde 0 (momentos de transición perpendiculares) a 4 (momentos de transición colineales). Cuando los momentos de transición están paralelos, $\kappa^2=1$. Cuando las moléculas, donante y aceptor, rotan libremente a una velocidad mayor que la velocidad de desexcitación del donante (promedio dinámico isotrópico), el valor promedio de κ^2 es $2/3$. Este es el valor que se supone para cálculos de R_0 . En un medio rígido, el promedio para κ^2 es 0,476 para un arreglo de aceptores que están estadísticamente distribuidos de manera aleatoria con respecto al donante en distancia y orientación (este caso es comúnmente nombrado promedio estadístico isotrópico).

La eficiencia de la transferencia de energía (E) es una medida cuantitativa del número de “cuantos” que son transferidos de D a A. Esencialmente, E es el “rendimiento cuántico” de transferencia de energía, el cual se define como:

$$E = \frac{\text{n}^\circ \text{ de "cuantos" transferidos de D a A}}{\text{n}^\circ \text{ de "cuantos" absorbidos por D}} \quad (1.8)$$

Además, E puede expresarse como la relación de k_T con la suma total de las constantes de todos los procesos por los cuales una molécula D excitada retorna al estado fundamental, incluyendo k_T :

$$E = \frac{k_T}{k_D + k_T} = \frac{k_T}{\tau_D^{-1} + k_T} \quad (1.9)$$

La eficiencia E se puede determinar empleando mediciones de estado estacionario o resueltas en el tiempo. Para medir E por el método del estado estacionario, se determina la intensidad de fluorescencia del donante en estado estacionario para una muestra que solo contiene D (F_D) y a una correspondiente muestra conteniendo A y D (F_{DA}). Los valores de F_D y F_{DA} son normalizados a las respectivas concentraciones de D, por lo que la eficiencia de par D-A puede ser calculada de la siguiente manera:

$$E = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} = \frac{1}{1 + (R/R_0)^6} \quad (1.10)$$

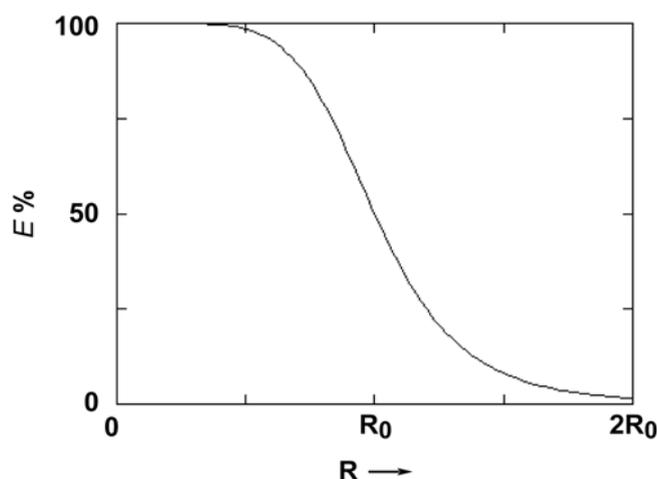


Figura 1.27. Eficiencia de la transferencia (E) versus distancia donante-aceptor.

Cabe destacar que la eficiencia de la transferencia es igual al 50% cuando la distancia donante-aceptor es igual al radio crítico de Förster (Figura 1.27). La gran utilidad de la transferencia de energía (FRET) proviene de la fuerte dependencia de la constante k_T y la

eficiencia de transferencia de energía con la sexta potencia de la distancia R entre D y A . Dada esta fuerte dependencia de E con R , frecuentemente, se hace referencia a FRET como “regla espectroscópica”.

1.5.2. Aplicaciones de FRET

La metodología de FRET ha sido extensamente utilizada para el estudio de las interacciones a escala molecular. Aplicada en forma cualitativa, FRET permite determinar si dos entidades moleculares se encuentran próximas como resultado de agregación, asociación, cambios conformacionales, etc. Valoraciones cuantitativas de la eficiencia de FRET permiten la determinación de distancias de separación y por lo tanto de aspectos estructurales y dinámicos de la interacción.^{79, 80}

Se ha utilizado asimismo en a) polímeros para interpenetración de cadenas poliméricas, separación de fases, compatibilidad entre polímeros, interdifusión de partículas de latex, b) sistemas supramoleculares como dispositivos moleculares, fotosíntesis artificial, efecto antena, c) sensores químicos, d) proteínas para interacciones proteína-proteína *in vivo*, cinética de plegamiento de proteínas, intercambio de subunidades de proteínas, ensayos de actividad enzimática e) membranas y modelos para dominios de membrana, distribución de lípidos, asociación peptídica, orden de lípidos en vesículas, ensayos de membranas de fusión f) estructuras de ácidos nucleicos para determinar la estructura primaria^{81, 82} y secundaria de fragmentos de DNA, translocación de genes entre dos cromosomas, detección de hibridización de ácidos nucleicos, formación de estructuras de horquilla, interacción con drogas, triple hélice de ADN, interacción ADN-proteína g) inmunoensayos h) biosensores.

La utilización del fenómeno de FRET asociada a microscopía de fluorescencia permite estudiar con gran selectividad interacciones moleculares en células vivas. La evaluación de asociación molecular dentro de un dado pixel o voxel está basada en el proceso fotofísico involucrado y no en las restricciones impuestas por el sistema óptico *per se*. Esto significa que se puede superar la resolución óptica limitada por la difracción ($\sim 0,3 \mu\text{m}$) en la mayoría de los instrumentos.

Existen dos problemas fundamentales asociados a la determinación cuantitativa de FRET en el microscopio: (i) las relaciones estequiométricas de los componentes involucrados y las distribuciones y los microentornos del donante y aceptor son generalmente desconocidas. De este modo el formalismo para estimar la eficiencia E de FRET debe ser apropiado para condiciones arbitrarias; y (ii) para estudios de células vivas se requieren métodos continuos de

observación.⁸³ Hasta el momento se utilizan dos técnicas principales para la determinación de FRET en el microscopio. Una de ellas consiste en la medición del tiempo de vida de fluorescencia ((FLIM), del inglés fluorescence lifetime imaging microscopy) y la otra a través de la medición de la cinética de fotodegradación de donante o aceptor (pbFRET, transferencia de energía por fotodestrucción selectiva del aceptor, del inglés: photobleaching FRET).⁸⁴ En ambos casos la limitación (i) es superada por evaluación de la absorción del donante determinada a través de la vida media relativa (FLIM), o por evaluación de la cinética relativa de fotodegradación (pbFRET) mediante la determinación de la intensidad del donante normalizada.

En los dos casos, se requiere un estado de referencia en el cual el donante no se encuentre extinguido por transferencia de energía, *i.e.* un estado donde el aceptor no se encuentre presente. Esto puede lograrse en el caso de pbFRET preparando una región en la cual el aceptor sea eliminado por destrucción fotoquímica. La limitación fundamental es que la fotodestrucción es irreversible y por eso la determinación sólo se puede realizar una vez.

Jares-Erijman y Jovin⁸⁵ han publicado un trabajo de revisión sobre el fenómeno fotofísico de FRET y han catalogado de manera sistemática las técnicas de determinación cuantitativa de FRET en microscopía. Se incluye una sección de la Tabla 1 (Tabla 1.3) expuesta en ese trabajo en donde se describen los métodos utilizados hasta el momento así como se proponen otros basados en la eliminación del aceptor.

Tabla 1.3. Métodos de determinación de FRET por depleción del aceptor (adFRET).*

Método	Parámetros de transferencia de energía	Referencias
1 A directo pb (irreversible)		86-88
2 A fotocromico (pcFRET)	$\rho = 1 - \frac{1 - I_{on}/I_{off}}{\alpha_{on} - \alpha_{off} (I_{on}/I_{off})}$; $\rho = I/I_0$	89
3 Saturación de A (FRET frustrado)	$\rho = \alpha_{sat} (I_{\alpha_{sat}} / I + \alpha_{sat} - 1)^{-1}$	Propuesto

*Modificado de la referencia⁸⁵

En la tabla se presenta un grupo de metodologías para la cuantificación del proceso de FRET basadas en la eliminación del aceptor de la región de interés. En esta región se debe determinar la relación D_{DA}/D_D (donante en presencia de aceptor/donante en ausencia de aceptor). El método más utilizado es la fotodestrucción del aceptor en la región de interés debido a su simplicidad. La desventaja de este método es que es destructivo. El segundo,

introducido en esta tesis, está diseñado para permitir determinaciones reversibles y continuas. El tercero, propuesto en el trabajo de revisión, es un método que involucra la saturación del aceptor por su irradiación selectiva de manera de anular su capacidad de actuar como aceptor.

1.6. TRABAJO REALIZADO

La tesis está basada en la utilización de compuestos fotocromicos en transferencia de energía de resonancia. El trabajo consistió en la síntesis de compuestos que puedan ser aplicados en biología y la caracterización del fenómeno de pc-FRET. El trabajo se ha centrado en la síntesis de diheteroariletanos donde al menos uno de los grupos heteroarilo sea un 1-benzotiofeno (Figura 1.28).

Los capítulos 2, 3 y 4 tratan sobre la síntesis de los compuestos fotocromicos (Figura 1.28). Cada uno de ellos presentará, en primer término, la obtención de la unidad funcionalizada correspondiente. Luego esta unidad se acoplará, en una estrategia convergente, a perfluorociclopenteno que actúa de puente.

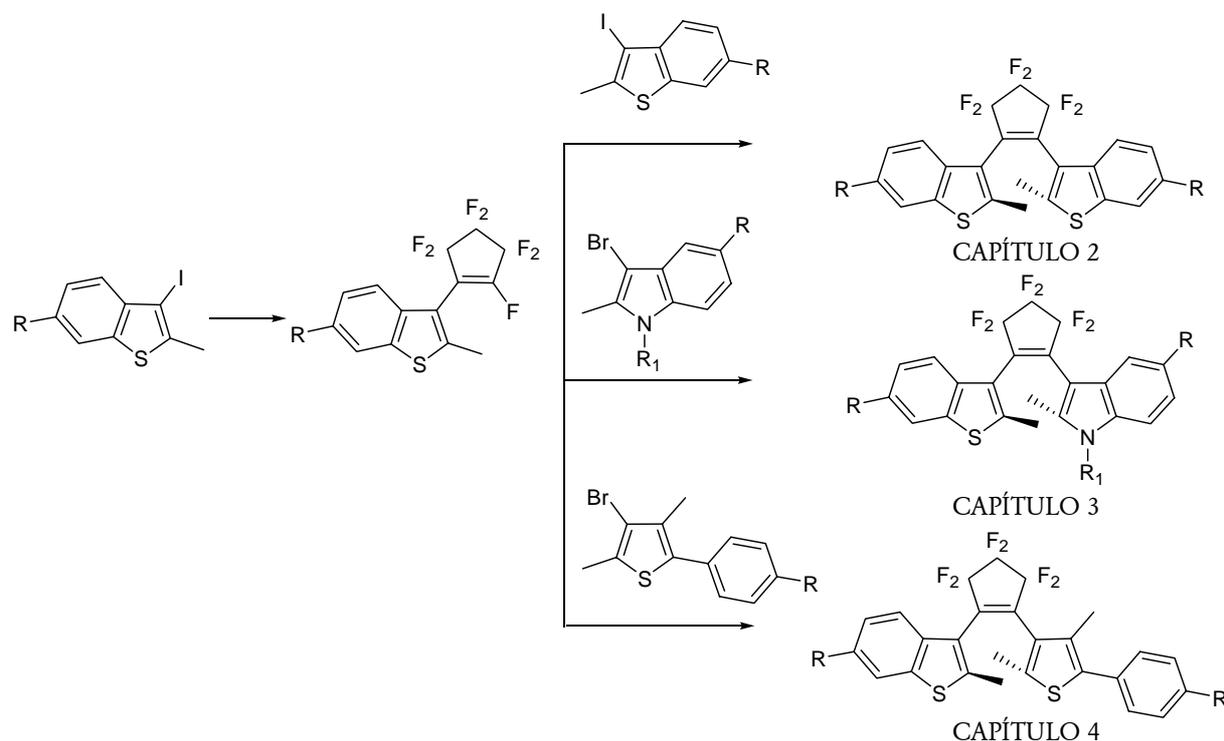


Figura 1.28. Esquema general de los capítulos 2, 3 y 4.

Específicamente, en el Capítulo 2 se describe la síntesis de derivados simétricos y asimétricos de 1-benzotiofeno, desarrollando una ruta que posibilitó la funcionalización de un extremo para su unión con biomoléculas.

El Capítulo 3 se dedica a la síntesis de derivados asimétricos con indol como el otro grupo heteroarilo, mientras que el Capítulo 4 trata sobre los derivados de tiofeno.

El Capítulo 5 describe la determinación de las propiedades fotoquímicas de los compuestos sintetizados. Estas propiedades incluyen espectros de absorción y emisión, coeficientes de absorción molar y rendimientos cuánticos de ciclación y cicloversión.

En el Capítulo 6 se presenta la validación del método propuesto.

Finalmente, la descripción detallada de todo el trabajo experimental efectuado, se muestra en el Capítulo 7.

1.7. REFERENCIAS

1. Bouas-Laurent, H. and Dürr, H., eds. Photochromism-molecules and systems. Elsevier, Amsterdam (1990).
2. Crano, J.C. and Guglielmetti, R.J., eds. Organic photocromic and thermochromic compounds - volumen 1: Main photochromic families. Plenum Press, New York (1999).
3. Crano, J.C. and Guglielmetti, R.J., eds. Organic photocromic and thermochromic compounds - volumen 2: Main photochromic families. Plenum Press, New York (1999).
4. Bouas-Laurent, H. and Dürr, H., Organic photochromism. *Pure Appl. Chem.*, **73**, 4, 639 (2001).
5. Ashwell, G.J., Chemistry - photochromic memory devices. *Nature*, **347**, 6294, 617 (1990).
6. Birge, R.R., Nature of the primary photochemical events in rhodopsin and bacteriorhodopsin. *Biochim. Biophys. Acta*, **1016**, 3, 293 (1990).
7. Saltiel, J., Marinari, A., Chang, D.W.L., Mitchener, J.C., and Megarity, E.D., Trans-cis photoisomerization of the stilbenes and a re-examination of the positional dependence of the heavy-atom effect. *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 11, 2982 (1979).
8. Talaty, E.R. and Fargo, J.C., Thermal cis-trans-isomerization of substituted azobenzenes - a correction of literature. *Chem. Comm.*, **2**, 65 (1967).

-
9. Woodward, R.B. and Hoffmann, R., *The conservation of orbital symmetry*. Verlag Chemie, Weinheim. 38 (1970)
10. Muszkat, K.A., *Top. Curr. Chem.*, **88**, 89 (1980).
11. Nakamura, S. and Irie, M., Thermally irreversible photochromic systems - a theoretical study. *J. Org. Chem.*, **53**, 26, 6136 (1988).
12. Hanazawa, M., Sumiya, R., Horikawa, Y., and Irie, M., Thermally irreversible photochromic systems - reversible photocyclization of 1,2-bis(2-methylbenzo b thiophen-3-yl)perfluorocycloalkene derivatives. *Chem. Comm.*, 3, 206 (1992).
13. Hohlneicher, G., Muller, M., Demmer, M., Lex, J., Penn, J.H., Gan, L.X., and Loesel, P.D., 1,2-diphenylcycloalkenes - electronic and geometric structures in the gas-phase, solution, and solid-state. *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 14, 4483 (1988).
14. Lucas, L.N., van Esch, J., Kellogg, R.M., and Feringa, B.L., A new synthetic route to symmetrical photochromic diarylperfluorocyclopentenes. *Tetrahedron Lett.*, **40**, 9, 1775 (1999).
15. Xu, B.A., Huang, Z.N., Jin, S., Ming, Y.F., Fan, M.G., and Yao, S.D., Synthesis and photochromic mechanism of 3,4-bis 2,5-dimethylthiophene-3-yl -2,5-dihydrothiophene. *J. Photochem. Photobiol., A*, **110**, 1, 35 (1997).
16. Irie, M. and Mohri, M., Thermally irreversible photochromic systems - reversible photocyclization of diarylethene derivatives. *J. Org. Chem.*, **53**, 4, 803 (1988).
17. Yamaguchi, T., Uchida, K., and Irie, M., Asymmetric photocyclization of diarylethene derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 26, 6066 (1997).
18. Uchida, K., Nakamura, S., and Irie, M., Photochromism of dinaphthylethene derivatives - stability of the closed-ring forms. *Res. Chem. Intermed.*, **21**, 8-9, 861 (1995).
19. Irie, M., Lifka, T., Uchida, K., Kobatake, S., and Shindo, Y., Fatigue resistant properties of photochromic dithienylethenes: By-product formation. *Chem. Comm.*, 8, 747 (1999).

20. Uchida, K., Nakayama, Y., and Irie, M., Thermally irreversible photochromic systems - reversible photocyclization of 1,2-bis(benzo b thiophen-3-yl)ethene derivatives. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 5, 1311 (1990).
21. Irie, M., Diarylethenes for memories and switches. *Chem. Rev.*, **100**, 5, 1685 (2000).
22. Peters, A. and Branda, N.R., Limited photochromism in covalently linked double 1,2-dithienylethenes. *Adv. Mater. Opt. Electron.*, **10**, 6, 245 (2000).
23. Higashiguchi, K., Matsuda, K., Kobatake, S., Yamada, T., Kawai, T., and Irie, M., Fatigue mechanism of photochromic 1,2-bis(2,5-dimethyl-3-thienyl)perfluorocyclopentene. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **73**, 10, 2389 (2000).
24. Higashiguchi, K., Matsuda, K., Yamada, T., Kawai, T., and Irie, M., Fatigue mechanism of photochromic 1,2-bis(3-thienyl)perfluorocyclopentene. *Chem. Lett.*, **12**, 1358 (2000).
25. Irie, M., Sakemura, K., Okinaka, M., and Uchida, K., Photochromism of dithienylethenes with electron-donating substituents. *J. Org. Chem.*, **60**, 25, 8305 (1995).
26. Fabian, J. and Hartmann, H., *Light absorption of organic colorants*. Springer-verlag, Berlin. 24 (1980)
27. Irie, M., Eriguchi, T., Takada, T., and Uchida, K., Photochromism of diarylethenes having thiophene oligomers as the aryl groups. *Tetrahedron*, **53**, 36, 12263 (1997).
28. Saika, T., Irie, M., and Shimidzu, T., Thiophene oligomers with a photoswitch. *Chem. Comm.*, **18**, 2123 (1994).
29. Morimitsu, K., Shibata, K., Kobatake, S., and Irie, M., Dithienylethenes with a novel photochromic performance. *J. Org. Chem.*, **67**, 13, 4574 (2002).
30. Morimitsu, K., Kobatake, S., Nakamura, S., and Irie, M., Efficient photocycloreversion reaction of diarylethenes by introduction of cyano substituents to the reactive carbons. *Chem. Lett.*, **32**, 9, 858 (2003).

-
31. Morimitsu, K., Kobatake, S., and Irie, M., Large geometrical structure changes of photochromic diarylethenes upon photoirradiation. *Tetrahedron Lett.*, **45**, 6, 1155 (2004).
32. Gilat, S.L., Kawai, S.H., and Lehn, J.M., Light-triggered molecular devices - photochemical switching of optical and electrochemical properties in molecular wire type diarylethene species. *Chem. Eur. J.*, **1**, 5, 275 (1995).
33. Gilat, S.L., Kawai, S.H., and Lehn, J.M., Light-triggered electrical and optical switching devices. *Chem. Comm.*, 18, 1439 (1993).
34. Uchida, K., Tsuchida, E., Aoi, Y., Nakamura, S., and Irie, M., Substitution effect on the coloration quantum yield of a photochromic bisbenzothienylethene. *Chem. Lett.*, **1**, 63 (1999).
35. Stellacci, F., Bertarelli, C., Toscano, F., Gallazzi, M.C., Zotti, G., and Zerbi, G., A high quantum yield diarylethene-backbone photochromic polymer. *Adv. Mater.*, **11**, 4, 292 (1999).
36. Takeshita, M., Choi, C.N., and Irie, M., Enhancement of the photocyclization quantum yield of 2,2'-dimethyl-3,3'-(perfluorocyclopentene-1,2-diyl)bis(benzo b -thiophen e-6-sulfonate) by inclusion in a cyclodextrin cavity. *Chem. Comm.*, 23, 2265 (1997).
37. Takeshita, M., Kato, N., Kawauchi, S., Imase, T., Watanabe, J., and Irie, M., Photochromism of dithienylethenes included in cyclodextrins. *J. Org. Chem.*, **63**, 25, 9306 (1998).
38. Takeshita, M. and Irie, M., Photoreversible circular dichroism change of 1,2-bis(1-benzothiophen-3-yl)perfluorocyclopentane modified cyclodextrin. *Tetrahedron Lett.*, **40**, 7, 1345 (1999).
39. Uchida, K., Matsuoka, T., Sayo, K., Iwamoto, M., Hayashi, S., and Irie, M., Thermally reversible photochromic systems. Photochromism of a dipyrrolylperfluorocyclopentene. *Chem. Lett.*, **8**, 835 (1999).
40. Kobatake, S., Uchida, K., Tsuchida, E., and Irie, M., Photochromism of diarylethenes having isopropyl groups at the reactive carbons. Thermal cycloreversion of the closed-ring isomers. *Chem. Lett.*, **11**, 1340 (2000).

41. Suppan, P. and Ghoneim, N., *Solvatochromism*. Cambridge, RSC (1997).
42. Kawai, T., Fukuda, N., Groschl, D., Kobatake, S., and Irie, M., Refractive index change of dithienylethene in bulk amorphous solid phase. *Jpn. J. Appl. Phys., Part 2*, **38**, 10B, L1194 (1999).
43. Kim, M.S., Kawai, T., and Irie, M., Synthesis of amorphous diarylethenes having diphenylethenyl substituents. *Chem. Lett.*, **10**, 1188 (2000).
44. Irie, M., Miyatake, O., and Uchida, K., Blocked photochromism of diarylethenes. *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 22, 8715 (1992).
45. Irie, M., Miyatake, O., Uchida, K., and Eriguchi, T., Photochromic diarylethenes with intralocking arms. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 22, 9894 (1994).
46. Kawai, S.H., Gilat, S.L., and Lehn, J.M., Dual-mode optical-electrical molecular switching device. *Chem. Comm.*, **8**, 1011 (1994).
47. Kawai, S.H., Gilat, S.L., Ponsinet, R., and Lehn, J.M., A dual-mode molecular switching device - bisphenolic diarylethenes with integrated photochromic and electrochromic properties. *Chem. Eur. J.*, **1**, 5, 285 (1995).
48. Tsivgoulis, G.M. and Lehn, J.M., Multiplexing optical systems: Multicolor-bifluorescent-biredox photochromic mixtures. *Adv. Mater.*, **9**, 8, 627 (1997).
49. Kawai, S.H., Gilat, S.L., and Lehn, J.M., Photochemical $pK(a)$ -modulation and gated photochromic properties of a novel diarylethene switch. *Eur. J. Org. Chem.*, **9**, 2359 (1999).
50. Tatzono, F., Harada, T., Shimizu, Y., Ohara, M., and Irie, M., Photochromic rewritable memory media - a new nondestructive readout method. *Jpn. J. Appl. Phys., Part 1*, **32**, 9A, 3987 (1993).
51. Tsujioka, T., Tatzono, F., Harada, T., Kuroki, K., and Irie, M., Recording sensitivity and superlow-power readout of photon-mode photochromic memory. *Jpn. J. Appl. Phys., Part 1*, **33**, 10, 5788 (1994).

-
52. Tanio, N. and Irie, M., Photooptical switching of polymer film wave-guide containing photochromic diarylethenes. *Jpn. J. Appl. Phys., Part 1*, **33**, 3A, 1550 (1994).
53. Kim, E., Choi, K.H., and Rhee, S.B., Stabilization of excited 2,3-bis(2-methyl benzothiophen-3-yl)maleic anhydride in a poly(ethylene glycol)-g-polysiloxane. *Macromolecules*, **31**, 17, 5726 (1998).
54. Kawai, T., Koshido, T., and Yoshino, K., Optical and dielectric-properties of photochromic dye in amorphous state and its application. *Appl. Phys. Lett.*, **67**, 6, 795 (1995).
55. Murguly, E., Norsten, T.B., and Branda, N.R., Nondestructive data processing based on chiroptical 1,2-dithienylethene photochromes. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **40**, 9, 1752 (2001).
56. Stellacci, F., Bertarelli, C., Toscano, F., Gallazzi, M.C., and Zerbi, G., Diarylethene-based photochromic rewritable optical memories: On the possibility of reading in the mid-infrared. *Chem. Phys. Lett.*, **302**, 5-6, 563 (1999).
57. Takeshita, M. and Irie, M., Reversible fluorescence intensity change of a diarylethene. *Chem. Lett.*, 11, 1123 (1998).
58. Fernandez-Acebes, A. and Lehn, J.M., Optical switching and fluorescence modulation in photochromic metal complexes. *Adv. Mater.*, **10**, 18, 1519 (1998).
59. Tsivgoulis, G.M. and Lehn, J.M., Photoswitched and functionalized oligothiophenes: Synthesis and photochemical and electrochemical properties. *Chem. Eur. J.*, **2**, 11, 1399 (1996).
60. Tsivgoulis, G.M. and Lehn, J.M., Photonic molecular devices - reversibly photoswitchable fluorophores for nondestructive readout for optical memory. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **34**, 10, 1119 (1995).
61. Jares-Erijman, E.A., Song, L.L., and Jovin, T.M., Photochromism-fret (phfret) - modulation of fluorescence resonance energy transfer by a photochromic acceptor. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **297**, 427 (1997).

62. Dixon, S., Elimination reaction of fluoroolefins with organolithium compounds. *J. Org. Chem.*, **21**, 4, 400 (1956).
63. Uchida, M. and Irie, M., Structural-properties required for 2-photon photochromism of pyran derivatives. *Chem. Lett.*, **4**, 323 (1995).
64. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of silsesquioxanes having photochromic diarylethene pendant groups. *Macromol. Rapid Comm.*, **18**, 8, 625 (1997).
65. Abe, S., Uchida, K., Yamazaki, I., and Irie, M., Fatigue-resistance property of diarylethene lb films in repeating photochromic reaction. *Langmuir*, **13**, 20, 5504 (1997).
66. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of polystyrene and poly(alkyl methacrylate)s having photochromic dithienylethene pendant groups. *Polym. J.*, **30**, 12, 985 (1998).
67. McMurry, J.E., Titanium-induced dicarbonyl-coupling reactions. *Acc. Chem. Res.*, **16**, 11, 405 (1983).
68. Huang, Z.N., Xu, B.A., Jin, S., and Fan, M.G., Facile synthesis of novel photochromic 1,2-diheteroaryl-substituted cycloalkenes by titanium-induced intramolecular coupling reaction. *Synthesis*, **8**, 1092 (1998).
69. Huang, Z.N., Jin, S., Ming, Y.F., and Fan, M.G., Syntheses and photochromic behaviour of 1,2-bis(1-alkyl-2-methylindol-3-yl)cycloalkene derivatives. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **297**, 99 (1997).
70. Lucas, L.N., van Esch, J., Kellogg, R.M., and Feringa, B.L., A new class of photochromic 1,2-diarylethenes; synthesis and switching properties of bis(3-thienyl)cyclopentenes. *Chem. Comm.*, **21**, 2313 (1998).
71. Jong de, J.J.D., Lucas, L.N., Hania, R., Pugzlys, A., Kellogg, R.M., Feringa, B.L., Duppen, K., and van Esch, J.H., Photochromic properties of perhydro- and perfluorodithienylcyclopentene molecular switches. *Eur. J. Org. Chem.*, **10**, 1887 (2003).
72. Chen, Y., Zeng, D.X., and Fan, M.G., Synthesis and photochromic properties of functional diarylethene with a 2,5-dihydrothiophene bridging unit. *Org. Lett.*, **5**, 9, 1435 (2003).

-
73. Lakowicz, J.R., *Principles of fluorescence spectroscopy*. 2nd ed. New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers (1999).
74. Valeur, B. and Brochon, J.-C., eds. *New trends in fluorescence spectroscopy: Applications to chemical and life sciences*. Springer series on fluorescence method and applications, ed. O. Wolfbeis. Vol. 1. Springer, Berlin, Heidelberg (2001).
75. Valeur, B., *Molecular fluorescence: Principles and applications*. Weinheim, Wiley-VCH (2002).
76. Van der Meer, B.W., Cooker, G.I., and Chen, S.S.-Y., *Resonance energy transfer, theory and data*. New York, VCH Publishers, Inc. (1994).
77. Förster, T., *Naturwissenschaften*, **6**, 166 (1946).
78. Förster, T., *Fluoreszenz organischer verbindungen*. Göttingen, Vandenhoeck & Ruprecht (1951).
79. Förster, T., Experimentelle und theoretische untershung des zwischemolekularen übergangs von elektronenanregungsenergie. *Z. Naturforsch.*, **4a**, 321 (1949).
80. Tsien, R.Y.B., B. J.; Adams, S. R., Fret for studying intracellular signalling. *Trends Cell Biol.*, **3**, 242 (1993).
81. Clegg, R.M., *Fluorescence resonance energy transfer (fret)*, in *Fluorescence imaging spectroscopy and microscopy*, X.F. Wang and B. Herman, Editors. John Wiley & Sons, New York. 179 (1996)
82. Jares-Erijman, E.A. and Jovin, T.M., Determination of DNA helical handedness by fluorescence resonance energy transfer. *J. Mol. Biol.*, **257**, 3, 597 (1996).
83. Clegg, R.M. and Schneider, P.C., Real-time fluorescence lifetime-resolved images in microscopy. *Biophys. J.*, **74**, 2, A8 (1998).

84. Jovin, T.M. and Arndt-Jovin, D.J., *Fret microscopy: Digital imaging of fluorescence resonance energy transfer. Application in cell biology*, in *Cell structure and function by microspectrofluometry*, E. Kohen, J.G. Hirschberg, and J.S. Ploem, Editors. Academic Press, London. 99 (1989)
85. Jares-Erijman, E.A. and Jovin, T.M., Fret imaging. *Nat. Biotechnol.*, **21**, 11, 1387 (2003).
86. Bastiaens, P.I.H. and Jovin, T.M., *Fluorescence resonance energy transfer microscopy*, in *Cell biology: A laboratory handbook*, J.E. Celis, Editor. Academic Press, New York. 136 (1998)
87. Lippincott-Schwartz, J., Snapp, E., and Kenworthy, A., Studying protein dynamics in living cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2**, 6, 444 (2001).
88. Kenworthy, A.K., Imaging protein-protein interactions using fluorescence resonance energy transfer microscopy. *Methods*, **24**, 289 (2001).
89. Song, L., Jares-Erijman, E.A., and Jovin, T.M., A photochromic acceptor as a reversible light-driven switch in fluorescence resonance energy transfer (fret). *J. Photochem. Photobiol., A*, **150**, 177 (2002).

RESULTADOS y DISCUSIÓN

OBJETIVOS

La metodología de FRET ha sido extensamente utilizada para el estudio de interacciones a escala molecular. Para la determinación de FRET, se requiere un estado de referencia en el cual el donante no se encuentre extinguido, i.e. un estado donde el aceptor no se encuentre presente. La técnica más utilizada actualmente por su simplicidad es la fotodestrucción del aceptor.¹ La limitación fundamental de esta técnica es que como se realiza la destrucción fotoquímica de una región de la célula, la medición puede realizarse sólo una vez.

Se planteó como objetivo general de este trabajo de Tesis el desarrollo de una metodología basada en el uso de compuestos fotocromicos como aceptores para FRET para que en el futuro puedan hacerse determinaciones cuantitativas de FRET en el microscopio. Un compuesto fotocromico se caracteriza por ser objeto de una transformación fotoreversible entre dos estructuras químicas isoméricas que poseen diferentes espectros de absorción. Las dos sondas utilizadas para FRET (donante y aceptor) son seleccionadas de acuerdo a sus propiedades espectroscópicas, de tal modo que sólo uno de los isómeros fotocromicos sea eficiente como aceptor. Se estudia si la emisión de fluorescencia del donante es de este modo modulada por la manipulación sistemática fotoquímica del aceptor fotocromico. Esto es, si la fluorescencia del donante podrá ser medida en "presencia" o en "ausencia" del aceptor, esto último corresponde al estado de referencia mencionado más arriba.

Los diheteroariletos fueron seleccionados porque han demostrado ser térmicamente estables y con elevada resistencia a la fatiga. Dado el interés en las aplicaciones biológicas que motivaron el proyecto de tesis, un aspecto importante para poder utilizar los compuestos es su conversión en medios acuosos. Cabe destacar que los derivados de anhídrido maleico y maleimida disminuyen su grado de conversión con el incremento de la polaridad del solvente.² ³ Este hecho limita su utilidad en medios acuosos. Los derivados de perfluorociclopenteno no modifican apreciablemente su conversión en estos medios por lo que son los elegidos para estas aplicaciones.

Otro aspecto importante para su aplicación en medios acuosos es la solubilidad en dicho medio. Para incrementar la solubilidad se puede: (a) introducir grupos cargados (ej: SO_3^- ,⁴ - NH_3^+ ,⁵ entre otros), (b) conjugar con grupos polares (ej, polietilenglicoles (PEG)) o utilizar derivados que puedan conjugarse covalentemente con biomoléculas ya que una vez unido la solubilidad estará determinada por la biomolécula.

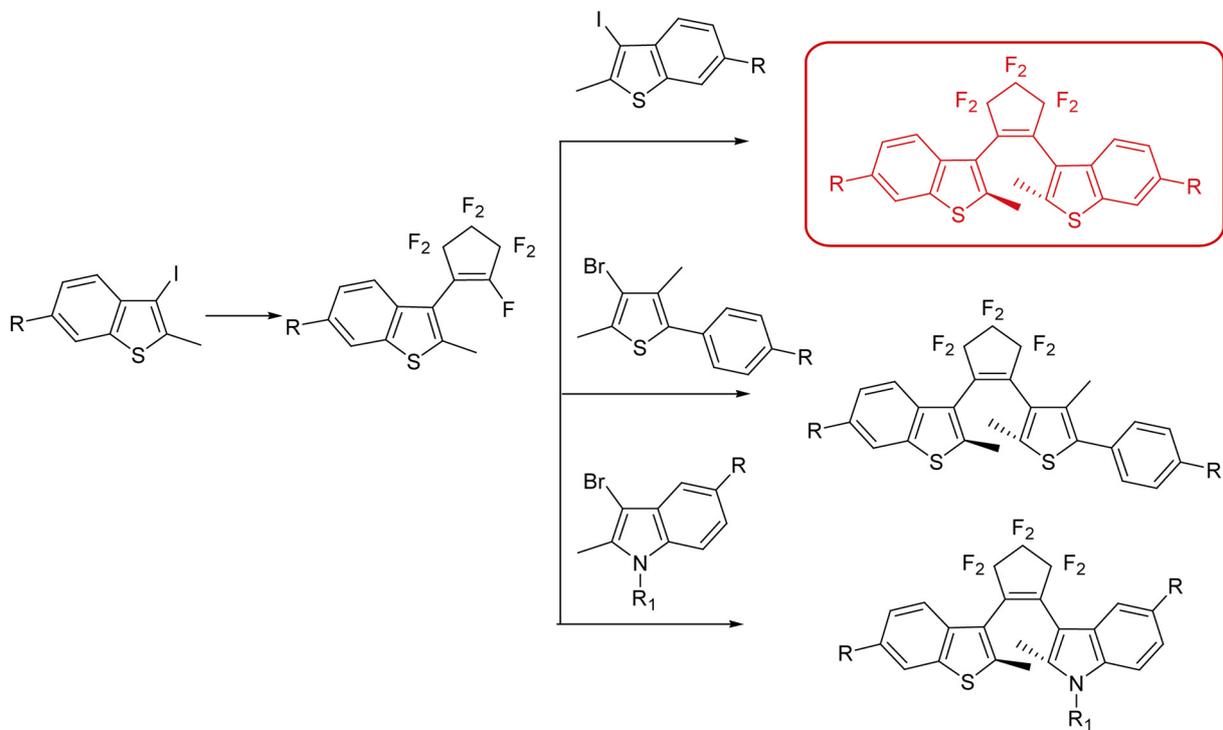
Para introducir los compuestos fotocromicos en sistemas biológicos, estos se pueden conjugar con biomoléculas covalentemente o unir a ligandos que a su vez interactúen con las biomoléculas de interés. En ambos casos es útil contar con grupos funcionales que ofrezcan versatilidad al momento de introducir estas moléculas en diferentes sistemas.

En este contexto, nos dedicaremos la síntesis de tres familias de diheteroarileno convenientemente funcionalizados para su unión a otras moléculas. Asimismo, se busca que estos compuestos posean diferentes propiedades espectroscópicas para que puedan utilizarse como aceptores de energía de diferentes compuestos fluorescentes.

REFERENCIAS

1. Jares-Erijman, E.A. and Jovin, T.M., Fret imaging. *Nat. Biotech.*, **21**, 11, 1387 (2003).
2. Irie, M. and Sayo, K., Solvent effects on the photochromic reactions of diarylethene derivatives. *J. Phys. Chem.*, **96**, 19, 7671 (1992).
3. Yamaguchi, T., Uchida, K., and Irie, M., Asymmetric photocyclization of diarylethene derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 26, 6066 (1997).
4. Takeshita, M., Kato, N., Kawauchi, S., Imase, T., Watanabe, J., and Irie, M., Photochromism of dithienylethenes included in cyclodextrins. *J. Org. Chem.*, **63**, 25, 9306 (1998).
5. Yamada, M., Takeshita, M., and Irie, M., Photochromism of diarylethene diammonium derivative in the cyclodextrin cavity. *Mol. Cryst. Liquid Cryst.*, **345**, 431 (2000).

CAPÍTULO 2



DERIVADOS DE 1-BENZOTIOFENO

2.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS SIMÉTRICOS DE 1-BENZOTIOFENO

2.1.1 Benzotiofeno sin sustitución en el anillo aromático

Se seleccionó comenzar con la síntesis de diheteroariletos simétricos debido a que estos compuestos resultaban ser los más simples de preparar y de acuerdo a la literatura, posteriormente se podía introducir grupos funcionales de forma simétrica o asimétrica.

La estrategia sintética involucró como paso inicial la halogenación en posición 3 del 2-metil-1-benzotiofeno. Posteriormente el compuesto halogenado se sometió a una reacción de intercambio halógeno-litio para dar el intermediario reactivo que se acoplaría con el carbono vinílico del octafluorociclopenteno (Figura 2.1).

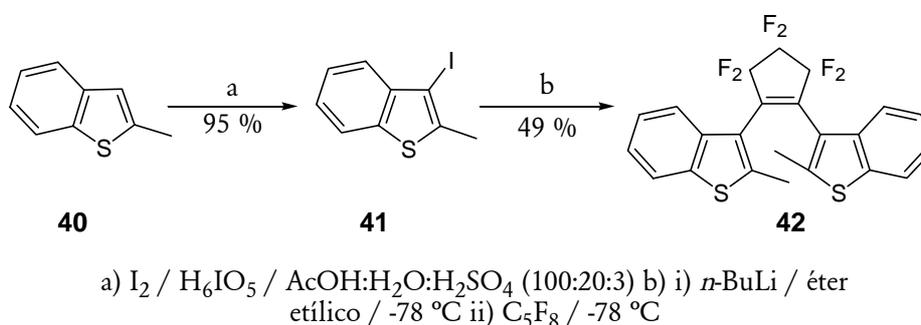
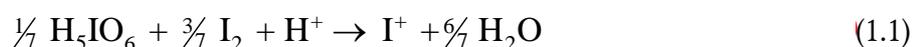


Figura 2.1. Síntesis del diheteroarileno simétrico **42**.

Los ioduros aromáticos son más reactivos hacia la reacción de intercambio metal-halógeno, aunque también resultan más costosos que los respectivos bromuros o cloruros. Para la preparación de estos derivados existe un considerable número de métodos diferentes, ya sea directos o indirectos.^{1, 2} La iodación directa de arenos puede llevarse a cabo con diversos agentes iodantes.³ La iodación con iodo molecular ocurre únicamente con fenoles y aminas. Esta falta de reactividad del iodo puede ser explicada por su muy baja electrofilicidad. La reacción directa requiere de un agente oxidante que convierta el iodo en un electrófilo más potente. El ácido iódico y el ácido periódico son agentes oxidantes muy buenos y suaves para la iodación de alquilbencenos.^{4, 5} Además, la iodación en presencia de ácido iódico o ácido periódico puede acelerarse considerablemente con el agregado de H_2SO_4 y en algunos casos, también con el agregado de agua.

En principio, todas las moléculas de iodo podrían ser introducidas al ser convertidas en el catión iodonio (I^+) de acuerdo a la ecuación (1.1).



El catión (I^+) sería un electrófilo ideal para iodación vía sustitución electrofílica aromática. Sin embargo, existe evidencia que el I^+ en presencia de H_2SO_4 dismuta en los iones IO^+ y I_2^+

por lo que la identidad del electrófilo real es incierta. A pesar de esto, es útil suponer que la ecuación (2.1) representa a las especies reactivas que se conservan para calcular las cantidades de reactivo necesarias. Las condiciones descritas han sido aplicadas a heterociclos aromáticos.⁶

En este trabajo, el compuesto 2-metil-1-benzotiofeno **40** fue halogenado por iodación directa en las mismas condiciones que se describen en literatura.⁴ De acuerdo con la ecuación (2.1) de formación de I^+ , se requiere para los reactivos una relación molar de I_2/H_5IO_6 (0,5/0,2 con respecto al sustrato) para la moniodación.⁷ La reacción se llevó a cabo en una mezcla de $AcOH/H_2O/H_2SO_4$ (100:20:3) a temperatura ambiente durante 3 horas. El compuesto **41** se obtuvo con un rendimiento de 95%. El tiempo de reacción se monitoreó por ccd (compuesto **40**: $R_f = 0,48$ y compuesto **41**: $R_f = 0,61$) y por cgl. En la figura 2.2 se observan los cromatogramas correspondientes al compuesto inicial **40** ((a) $t_R = 7,85$ minutos) y al producto de iodación **41** ((b), $t_R = 12,78$ minutos) luego de tres horas de reacción. Las condiciones cromatográficas se detallan en la figura.

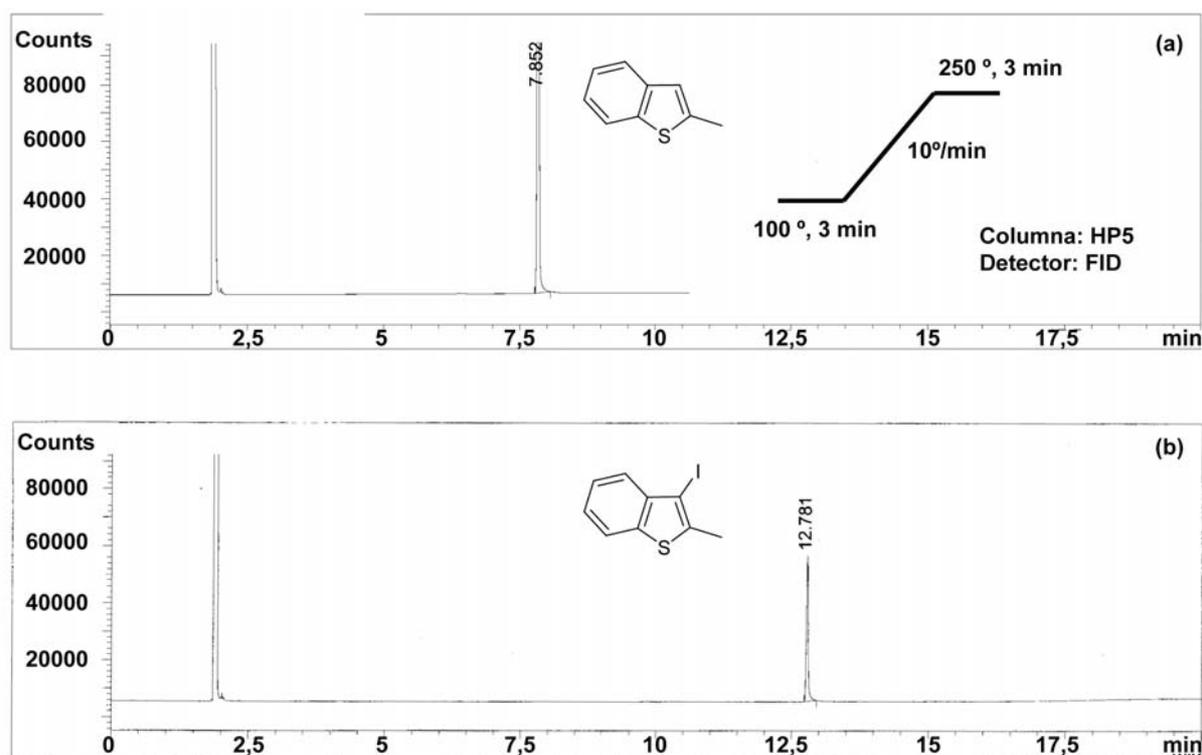


Figura 2.2. Cromatogramas de la reacción de iodación (a) Compuesto **40**, (b) compuesto **41**.

Dixon⁸ plantea el mecanismo esquematizado en la figura 2.3, que se incluye en la variante de adición nucleofílica seguida de eliminación.

Este mecanismo plantea la formación por adición nucleofílica (A_{dN}) de un intermediario carbaniónico. Este intermediario posee una vida media corta y espontáneamente elimina fluoruro de litio con retención de la configuración para dar la nueva olefina. Este mecanismo en dos pasos es válido cuando el grupo nucleófilo (F^-) es un grupo electronegativo por lo que será un activante para el ataque nucleofílico, siendo este primer paso el determinante de la

velocidad de la reacción. La ruptura del enlace C-F se producirá en un segundo paso. La estereoquímica depende del tiempo de vida del carbanión.

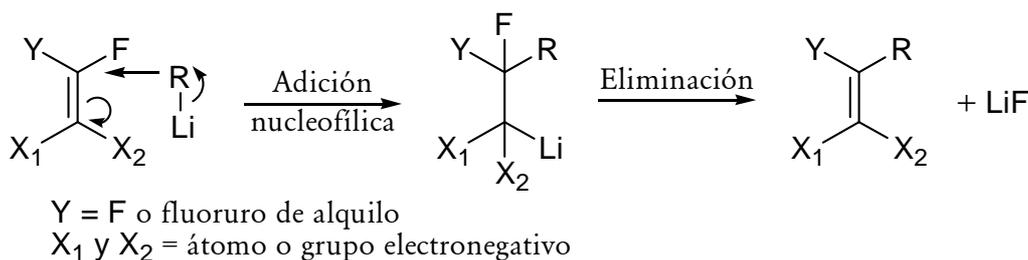


Figura 2.3. Sustitución nucleofílica vinílica.

En nuestro trabajo, la litiación del compuesto **41** se llevó a cabo con *n*-butil litio en éter etílico a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se obtuvo el derivado litiado que precipitó en el medio de reacción. Este se hizo reaccionar con octafluorociclopenteno a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una relación estequiométrica de 2:1, observándose la desaparición del precipitado, para dar el compuesto **42** con un 49 % de rendimiento.

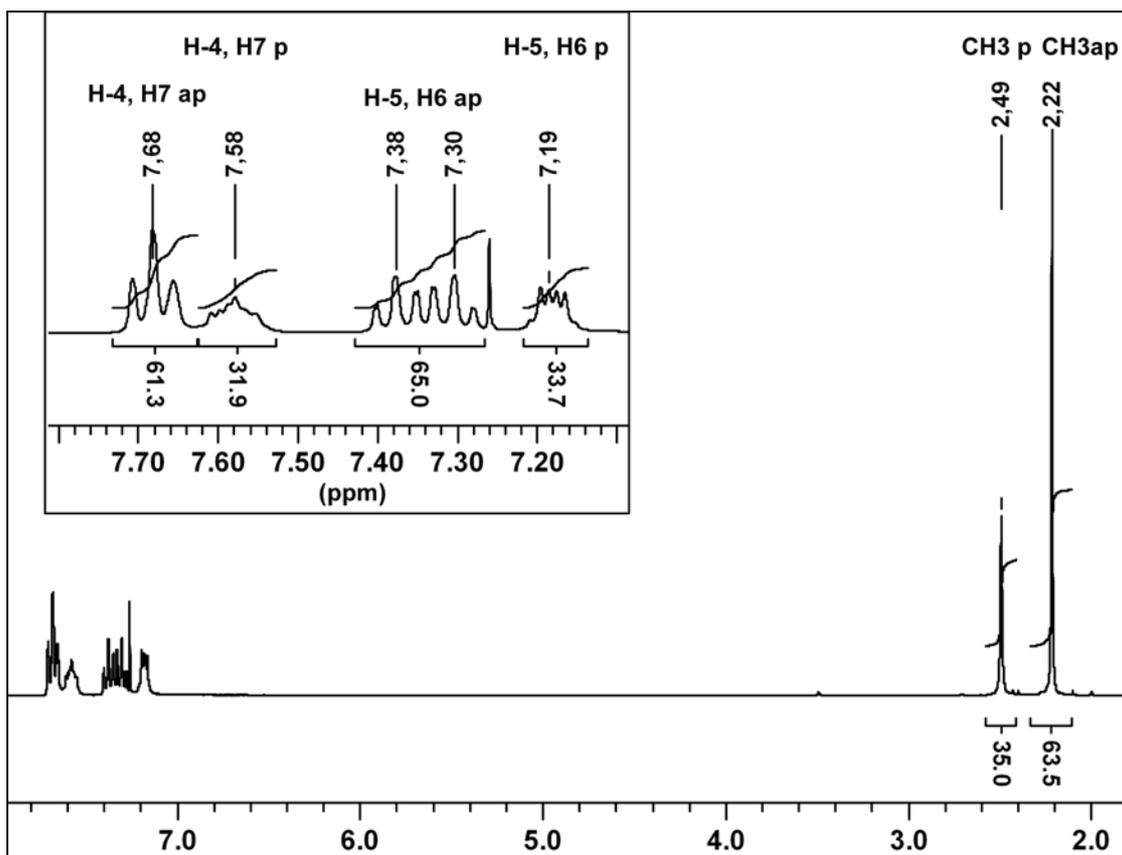


Figura 2.4. Espectro RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) del compuesto **42**.

El compuesto **42** ha sido caracterizado por RMN-¹H, RMN-¹³C, APT, COSY, HSQC, HMBC y espectrometría de masa de alta resolución. Este compuesto ha sido sintetizado previamente por Irie y sus colaboradores pero no se ha reportado en literatura un análisis

detallado de las señales (espectros RMN-¹H y RMN-¹³C: Figuras 2.4 y 2.6, respectivamente). Este compuesto, como se describió en la introducción, se encuentra en dos isómeros conformacionales, paralelo (p) y antiparalelo (ap).⁹ En los espectros de RMN pudieron distinguirse señales pertenecientes a ambas conformaciones. Se asignaron los hidrógenos metílicos a campos más bajos a los correspondientes al isómero paralelo.¹⁰ En consecuencia, las señales a 2,22 y 2,49 ppm en el espectro de RMN-¹H corresponden a los hidrógenos metílicos antiparalelo (ap) y paralelo (p), respectivamente (Tabla 2.1). La integración relativa de los hidrógenos metílicos permite establecer una relación 65:35 para los conformeros ap/p en solución de CD₃Cl.

Ambos isómeros presentan señales distinguibles en la región aromática. En la figura 2.5 se muestra una sección del espectro COSY correspondiente a la región aromática. Pueden asignarse las correlaciones entre los hidrógenos del anillo para la conformación paralela y las correlaciones que corresponden a la conformación antiparalela. Las señales aromáticas que aparecen a campos más altos se atribuyeron al conformero paralelo porque los anillos aromáticos enfrentados entre sí generan protección a los hidrógenos aromáticos.

Tabla 2.1. Asignación del compuesto 42.

Asignación	δ (ppm)	HSQC	HMBC
C-2 ap	142,6		2,22
C-2 p	142,1		2,49
C-3a* ap	138,3		7,68/7,38
C-7a* ap + C-3a** p	138,2		7,68//7,30//7,20-7,16
C-7a** p	138,0		7,61-7,55
C-5*** ap	124,6	7,36	
C-5 y C-6 p	124,4	7,20-7,16	
C-6*** ap	124,3	7,30	
C-4 y C-7 ap	122,1	7,68	
C-4 y C-7 p	121,8	7,61-7,55	
C-3 p	119,4		2,49
C-3 ap	119,1		2,22
CH ₃ p	15,2	2,49	
CH ₃ ap	15,1	2,22	

(*), (**), (***) Estas señales son intercambiables.

Los espectros de correlación C-H a corta y larga distancia permitieron realizar la asignación de las señales correspondientes a hidrógeno y carbono de ambos conformeros como se muestra en la tabla 2.1. Las señales correspondientes a los carbonos del ciclopenteno no fueron observadas debido a su acoplamiento con flúor.

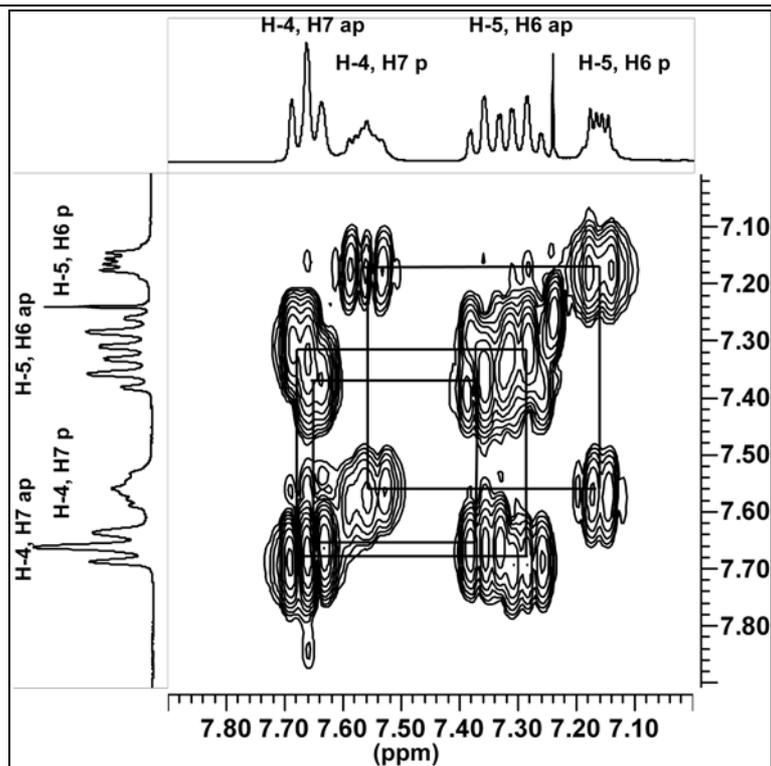


Figura 2.5. Región aromática del espectro COSY (300 MHz, CDCl_3) del compuesto 42.

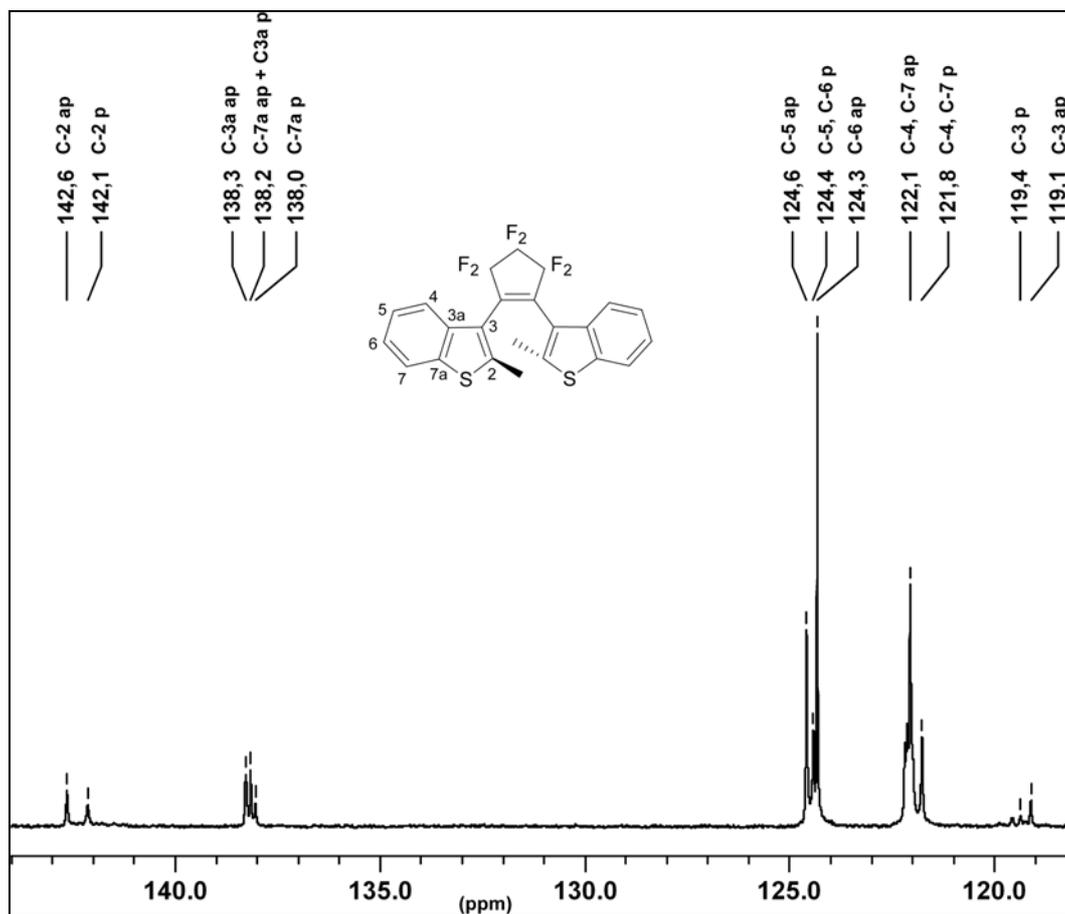


Figura 2.6. Espectro RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), región aromática, del compuesto 42.

La reacción de sustitución vinílica del benzotiofeno litiado sobre el octafluorociclopenteno se optimizó posteriormente incrementando la escala 5 veces (de 7 mmol a 36 mmol) para el compuesto **41**. Esto permitió un control preciso del volumen de ciclopenteno utilizado ya que este líquido de P.e.: 27 °C es difícil de manipular. Una de las dificultades encontradas al utilizar escalas mayores fue el control de la temperatura de la reacción a -78 °C. En este caso se hizo el agregado de octafluorociclopenteno en la relación 2:1 ya mencionada. Cuando la reacción finalizó y se analizó el producto de reacción (**43**) se observó que no se obtuvo compuesto fotocromático. En su lugar se obtuvo un compuesto de un $R_f = 0,11$ (ccd, hexano). Esta movilidad era menor que la del compuesto fotocromático deseado ($R_f = 0,3$). En RMN el compuesto presentó señales muy similares a las del compuesto de partida pero con desplazamientos ligeramente desplazados (Figura 2.7). Por espectrometría de masas se obtenía un peso molecular igual al compuesto fotocromático.

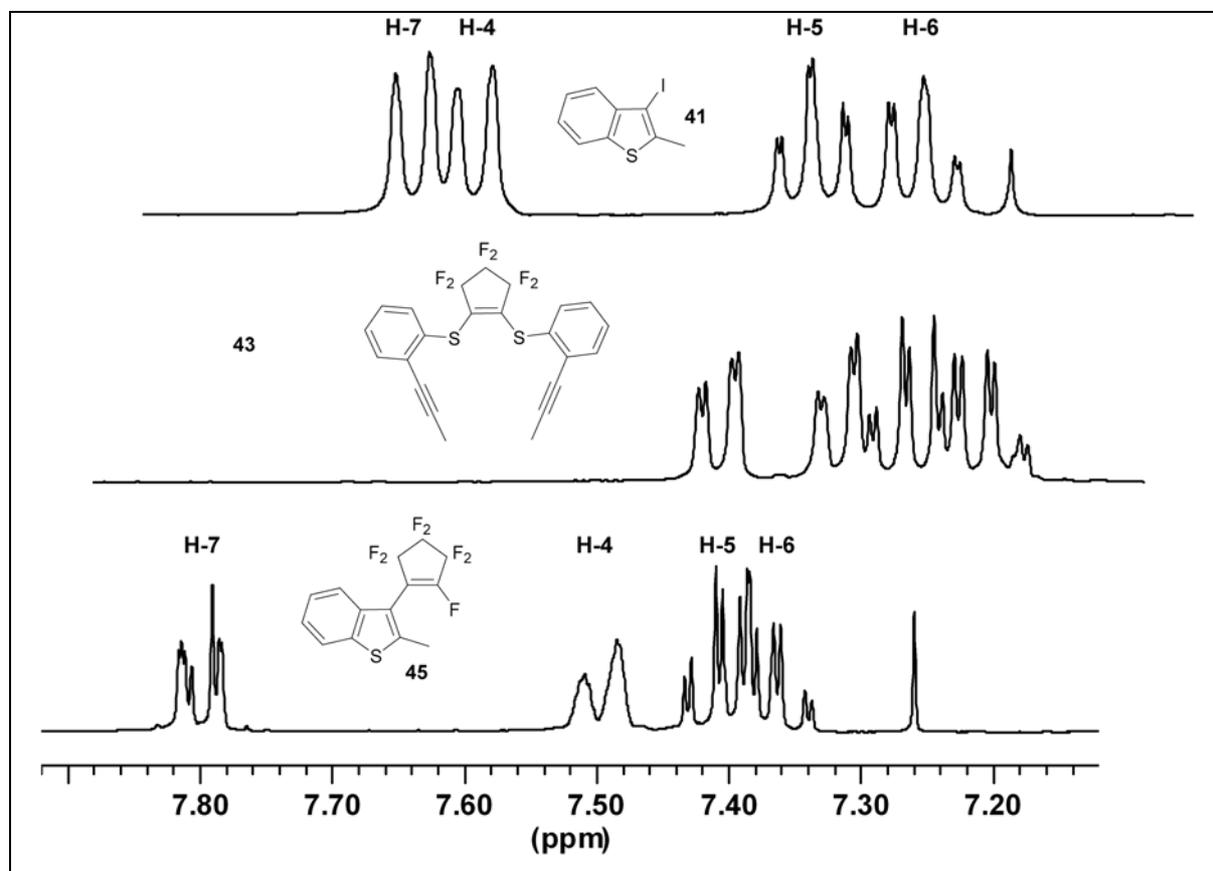


Figura 2.7. Comparación de la región aromática para los compuestos **41**, **43** y **45**.

En vista de que el compuesto se obtenía forma cristalina (cristales monoclinicos) se procedió a estudiarlo por cristalografía de rayos X. De esta manera pudimos observar que se trataba del compuesto **43** (Figura 2.8).

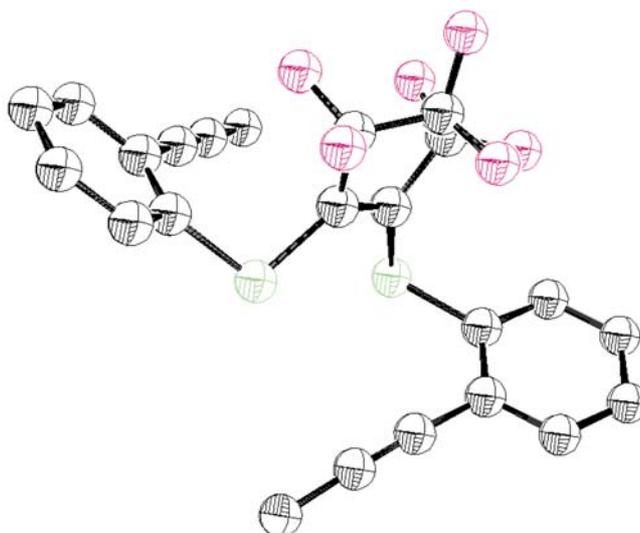


Figura 2.8. Estructura cristalográfica del compuesto **43**.

Este tipo de reacción ya había sido descrito para los derivados de tiofenos litiados en posición 3. Estos también deben generarse a bajas temperaturas dada su baja estabilidad térmica. En la figura 2.9 se muestra el mecanismo propuesto, que consiste en una apertura del anillo tiofeno que resulta en la formación de un tioóxido de litio **44** que posteriormente actuaría como nucleófilo.¹¹⁻¹³

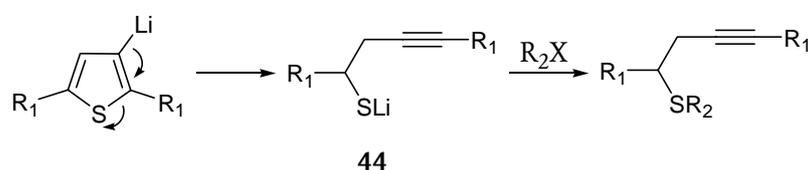
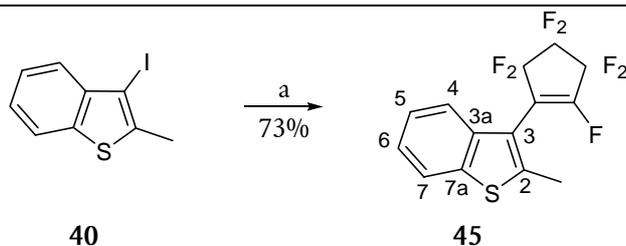


Figura 2.9. Reacción de apertura del anillo tiofeno.

Dadas las evidencias que surgen del análisis cristalográfico, es muy probable que este mismo mecanismo sea el responsable de la formación del subproducto obtenido cuando la reacción no se realiza a una temperatura suficientemente baja en el caso de los derivados de benzotiofeno.

Los heptafluorociclopentenos hemi-sustituídos pueden ser preparados selectivamente controlando la relación de octafluorociclopenteno y heteroarillitio. De esta manera, los compuestos hemi-sustituídos pueden ser usados para la síntesis de diheteroariltenos asimétricos.¹⁴⁻¹⁷



a) i) *n*-BuLi / éter etílico / -78 °C ii) C₅F₈ (1,5 equiv) / -78 °C

Figura 2.10. Síntesis del compuesto 45.

El compuesto **45** se generó a partir del derivado iodado **40** utilizando *n*-butil litio en éter etílico a -78 °C seguido de la adición de 1,5 equivalentes de octafluorociclopenteno (73 % de rendimiento). El tiempo de reacción fue monitoreado por cromatografía gas líquida.

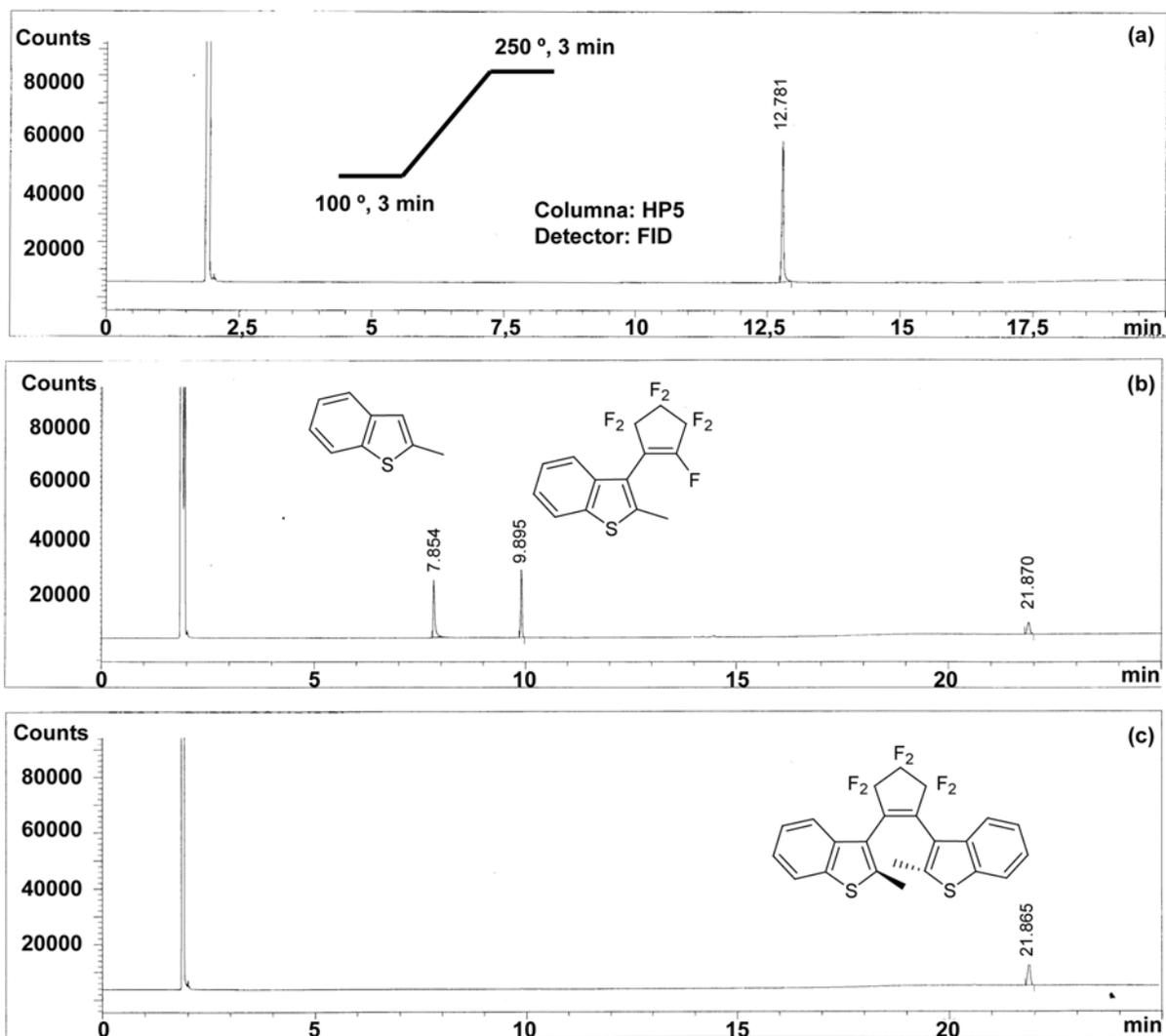


Figura 2.11. Cromatogramas correspondientes a los compuestos.

En la figura 2.11 se incluyen los cromatogramas correspondientes a (a) benzotiofeno iodado **41** de partida ($t_R = 12,78$ minutos), (b) control luego de 30 minutos de agregado de octafluorociclopenteno, que muestra la completa reacción del compuesto iodado para dar el producto hemi-sustituido **45** ($t_R = 9,89$ minutos). También se observa un pico a 7,85 minutos, asignado al compuesto **40**, que puede provenir de la reacción del carbanión con agua. Además, se observa la aparición de un pico a 21,87 minutos. Este último pico se asignó al compuesto fotocromático **42** de acuerdo al cromatograma (c), correspondiente al compuesto purificado analizado en las mismas condiciones cromatográficas.

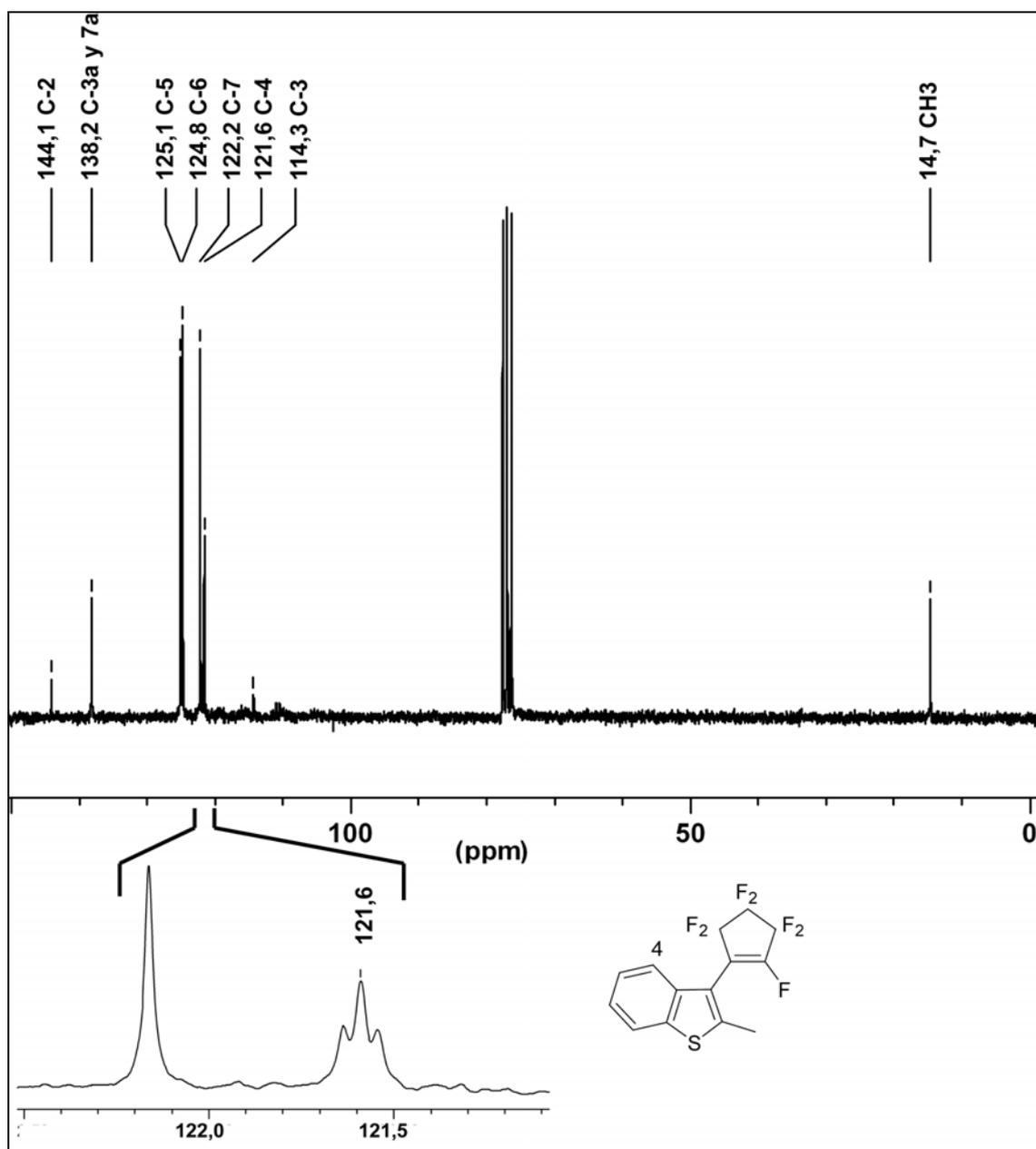


Figura 2.12. Espectro RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **45**. Ampliación de la señal a 121,6 ppm.

En la figura 2.7 (ver página 52) se muestra la región aromática del espectro RMN-¹H del compuesto **45**. Por otra parte, en la figura 2.10 se observa el espectro RMN-¹³C y la señal a 121,6 ppm ampliada para el compuesto **45**. En este caso, la asignación (Tabla 2.2) fue también realizada basándose en las correlaciones H-C a corta y larga distancia.

La señal que aparece a 14,7 ppm se asignó al carbono metílico. El C-2 se asignó a la señal que aparece a 144,1 ppm por su correlación a 2 enlaces con los hidrógenos metílicos. Mientras que la señal a 114,3 ppm se asignó al C-3 por su correlación a 3 enlaces con los mismos hidrógenos metílicos. Este C-3 presentó, además, una correlación con un hidrógeno aromático (7,49 ppm, doblete) que se atribuyó al H-4. El H-7 se asignó a la otra señal que aparece como doblete en 7,80 ppm y su correspondiente carbono en 122,2 ppm. El C-5 se asignó a la señal que aparece a 125,1 ppm por su correlación a 3 enlaces con el H-7. Los carbonos cuaternarios 3a y 7a se atribuyeron a la señal que aparece a 138,2 ppm.

Es interesante que la señal de RMN-¹³C para el C-4 a 121,6 ppm aparece en forma de triplete ($J = 2,3$ Hz). A pesar de encontrarse a 5 enlaces de distancia de los átomos de flúor, se consideró que este carbono podría tener un acoplamiento con los dos átomos de flúor ubicados en el metileno más cercano en el anillo ciclopenteno. Esta observación se realizó también para los compuestos **62** y **111**. Como se describe más adelante con el compuesto **62**, se estableció que el triplete corresponde al acoplamiento con los dos átomos de flúor a 5 enlaces favorecido por la geometría de la molécula.

Tabla 2.2. Asignación del compuesto **45**.

Asignación	δ (ppm)	HMQC	HMBC
C-2	144,1		2,53
C-3	114,3		7,49 / 2,53
C-4	121,6	7,49	Triplete ($J = 2,3$ Hz)
C-5	125,1	7,40	7,80
C-6	124,8	7,36	
C-7	122,2	7,80	
C-3a	138,2		7,80
C-7a	138,2		
CH ₃	14,7	2,53	

2.1.2 Benzotiofeno sustituido en el anillo aromático

En la literatura se han publicado condiciones de iodación^{18, 19} y acilaciones de Friedel-Crafts^{20, 21} para el compuesto fotocromico simétrico **42**. Estas reacciones permiten funcionalizar el compuesto fotocromico. Sin embargo, a pesar de reiterados intentos y aún variando diversas condiciones de reacción no se obtuvieron en nuestro laboratorio los

resultados informados en literatura. En consecuencia, se decidió cambiar la estrategia sintética e introducir la funcionalización como paso previo a la formación del compuesto fotocromico.

Antecedentes: Se ha informado en la literatura una gran variedad de métodos para la síntesis de 1-benzotiofeno y sus derivados. Entre los métodos que fueron utilizados con relativo éxito se encuentra la ciclación de (ariltio)acetaldehído dietilacetales o dimetilacetales o cetonas en presencia de ácido polifosfórico (PPA) a presión reducida o a presión atmosférica y en presencia o ausencia de solventes aromáticos a ebullición tales como benceno, clorobenceno u *o*-diclorobenceno (Figura 2.12).²²⁻²⁴

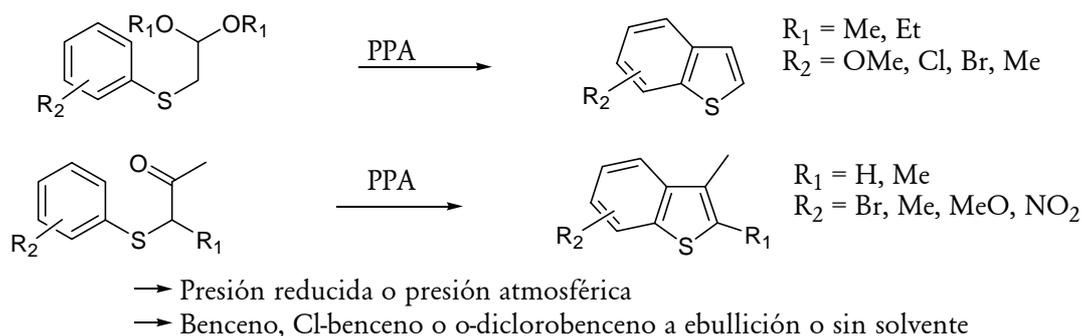


Figura 2.13. Condiciones para la ciclación de 1-benzotiofeno con PPA.

Estos procesos de ciclación, sin embargo, poseen muchas desventajas. En la mayoría de los casos, el 1-benzotiofeno se encuentra atrapado en el ácido polifosfórico y se degrada rápidamente, lo cual conduce a bajos rendimientos.²⁴ Asimismo, en presencia o en ausencia del solvente, la manipulación y el descarte de los residuos ácidos de PPA resultan significativamente dificultosos. Además, en el medio ácido ocurre como reacción secundaria una adición de protón al doble enlace en la posición 2,3 del 1-benzotiofeno, **46** (Figura 2.14). Los carbocationes resultantes (**47** y **48**) reaccionan con otra molécula de 1-benzotiofeno u otro compuesto aromático generándose a una mezcla compleja de subproductos (**49** y **50**).²⁵ En la figura 2.14 se muestra el mecanismo general ejemplificado para un grupo fenilo.

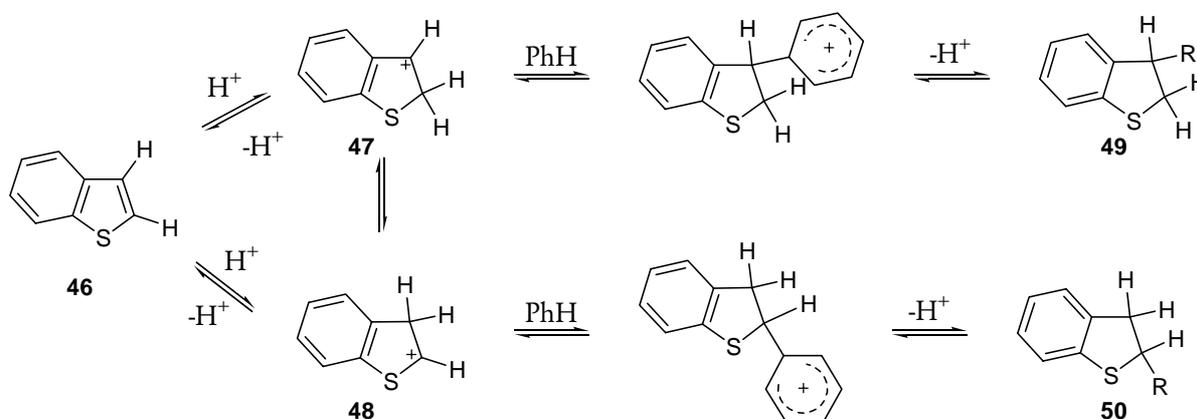


Figura 2.14. Reacciones secundarias para la ciclación de 1-benzotiofeno con PPA.

Las mejores condiciones que se encontraron para los casos en los que se utiliza el ácido polifosfórico como agente deshidratante resultaron al hacer reaccionar 1-(2,2-dietoxietilsulfanil)-3-metoxibenzeno con PPA en clorobenceno a 180 °C durante 24 horas.²⁶ Se obtuvo una mezcla de 6-metoxi-1-benzotiofeno/4-metoxi-1-benzotiofeno de 3,3:1 con un rendimiento del 58%.

Para mejorar los rendimientos evitando las reacciones secundarias ya mencionadas y facilitar la purificación de los productos se han utilizado diversos catalizadores, que actúan como ácidos de Lewis promoviendo la ciclación mediante una reacción de tipo Friedel-Crafts.^{27, 28} El mecanismo planteado, para los diversos ácidos de Lewis, involucra la coordinación de uno de los oxígenos del acetal con el ácido de Lewis (Figura 2.15). De esta manera se genera un complejo **51** donde el carbono “carbonílico” se encuentra activado para dar una reacción de ciclación intramolecular, rindiendo el compuesto **52**. La coordinación del compuesto **52** a través del oxígeno genera el producto de ciclación deseado **53**.

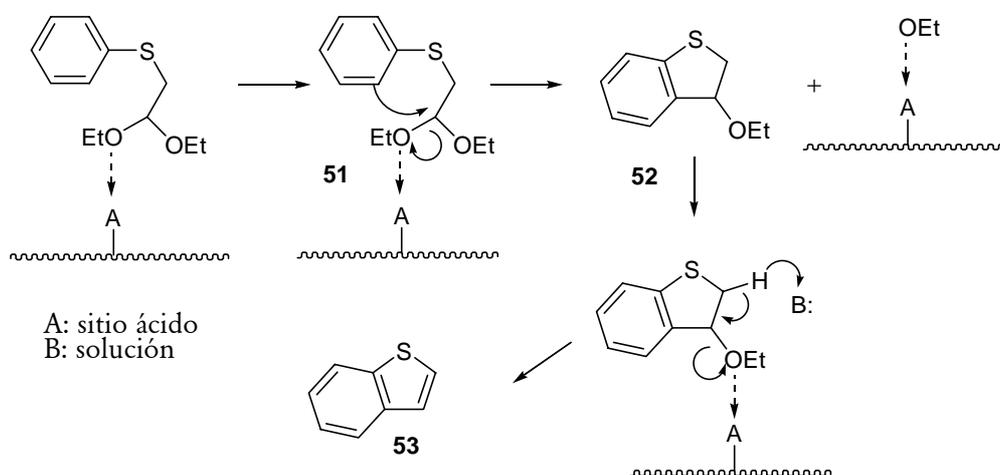


Figura 2.15. Mecanismo de ciclación de tioacetal con ácido de Lewis.

Clark y sus colaboradores²⁷ estudiaron la ciclación de (feniltio)acetaldehído dietilacetálico a 1-benzotiofeno en presencia de K-10 (arcilla montmorillonite) impregnada con $ZnCl_2$ en solución y en fase vapor. Los autores lograron mejorar los rendimientos respecto al uso de PPA sólo en la fase vapor requiriendo una alta relación reactivo/catalizador y condiciones severas (200-300 °C, 30 minutos) para conseguir la ciclación. Murugesan y sus colaboradores²⁹ realizaron la ciclación de (feniltio)acetaldehído dietilacetálico con beta zeolitas con intercambio de ion por Zn^{2+} . El 1-benzotiofeno se obtuvo con rendimientos muy buenos (87-89%) a 90 °C y con una relación de reactivo/catalizador de 2,5. Este catalizador es una alternativa factible, económica y más razonable ecológicamente que el PPA.

En esta tesis se utilizó el método propuesto por Graham y sus colaboradores³⁰ en el que a partir de 3-metoxitiofenol se obtiene por ciclación con eterato de trifluoroborano como catalizador, una mezcla 1:10 de 4-metoxi y 6-metoxi-1-benzotiofeno. Los autores modificaron las condiciones planteadas por Tilak,^{31, 32} utilizando un ácido de Lewis en lugar de un agente

deshidratante como el PPA. La elección del ácido de Lewis se basó en un estudio de síntesis Pomeranz-Fritsch de isoquinolinas (ciclacion) en el que Uff³² y colaboradores utilizaban trifluoroborano como catalizador con buenos resultados. La reacción se llevó a cabo en solución a baja concentración de los reactivos para evitar polimerizaciones y se completó en 30 minutos con rendimientos de moderados a buenos.

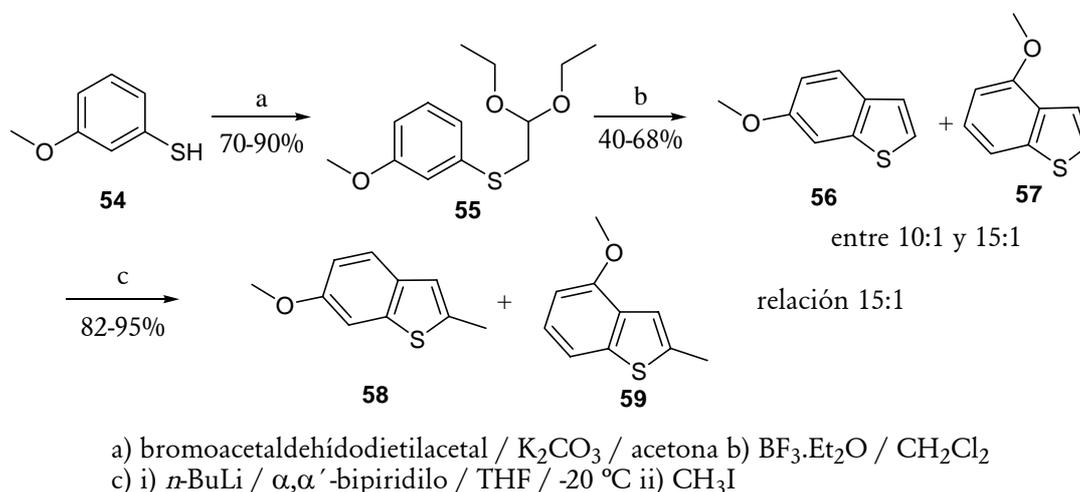
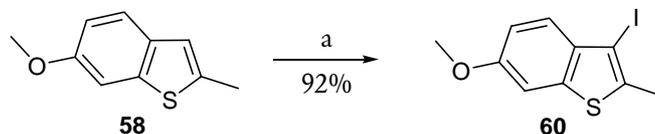


Figura 2.16. Síntesis del 2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno 58.

La ruta sintética que utilizamos se muestra en la figura 2.16 y se obtuvieron 1-benzotiofeno con las posiciones 4 y 6 oxigenadas. El 3-metoxifenotiol fue alquilado con dietilacetal bromoacetaldehído a través de una reacción de sustitución. El producto 2 fue ciclado con eterato de trifluoroborano.³⁰ La relación de la mezcla de 6-metoxi-1-benzotiofeno y 4-metoxi-1-benzotiofeno (56 y 57, respectivamente) obtenida varió entre 10:1 y 15:1. El rendimiento de los dos pasos fue de 36-48%. La ciclación se llevó a cabo a una baja concentración <0,05 M para evitar la formación de polímeros. La mezcla de los productos 56 y 57 resultó difícil de separar ($R_f = 0,31$ para 56 y $R_f = 0,39$ para 57 en hexano) por lo que el paso siguiente se realizó sin separación de los mismos, considerando que los derivados metilados ofrecerían una mejor posibilidad de separación.

La mezcla de 6-metoxi-1-benzotiofeno y 4-metoxi-1-benzotiofeno fue metilada en la posición 2. La formación del carbocatión se realizó con *n*-butil litio a -20 °C en THF con α,α'-bipiridilo como indicador de carbocatión (solución azul). Luego, por adición de ioduro de metilo a -20 °C (solución incolora y precipitado blanco) se obtuvo la mezcla de productos metilados ($R_f = 0,37$ y $0,29$ en hexano/acetato de etilo 98:2) en una relación 15:1 con rendimientos que variaron entre 82-95%. En este paso fue posible una separación de los productos. Uno de ellos, el mayoritario, se podía obtener puro. El minoritario, sin embargo, se obtenía contaminado con el mayoritario y como no era el compuesto de interés se continuó con el 6-metoxi-1-benzotiofeno puro.

El paso siguiente fue la halogenación de la posición 3 del compuesto **58** metoxilado en posición 6. A diferencia del trabajo realizado por Mehl y colaboradores³³ en donde realizan una reacción de bromación, en esta tesis se realizó una iodación (Figura 2.17) por el método anteriormente descrito para el compuesto **40**.



a) $I_2 / H_5IO_6 / AcOH:H_2O:H_2SO_4$ (100:20:3)

Figura 2.17. Iodación del compuesto **58**.

El compuesto **58** fue halogenado por iodación directa con yodo y ácido periódico en condiciones de monoiodación (relación molar 0,5/0,2 respecto del benzotiofeno) en $AcOH/H_2O/H_2SO_4$, obteniéndose el compuesto **60** como un sólido blanco brillante con un rendimiento del 92%. Este compuesto fue sintetizado por primera vez en esta tesis.

Tabla 2.3. Asignación del compuesto **60**.

Asignación	δ (ppm)	APTC	HSQC	HMBC
C-2	136,3	C		2,55
C-3	80,1	C		2,55
C-3a	135,9	C		7,21 /7,01
C-4	125,4	CH	7,53 (d, $J = 8,7$ Hz)	
C-5	114,6	CH	7,01 (dd, $J = 2,3$ y $8,7$ Hz)	7,21
C-6	157,8	C		3,87 /7,53 /7,21
C-7	104,8	CH	7,21 (d, $J = 2,3$ Hz)	7,01
C-7a	139,2	C		7,53
CH ₃ O-	55,7	CH ₃	3,87	
CH ₃	18,6	CH ₃	2,55	

El espectro de RMN-¹³C del compuesto iodado **60** se muestra en la figura 2.18. En la tabla 2.3, se observa la asignación completa de las señales de todos los carbonos correspondientes al compuesto **60**. Mehl y colaboradores informaron el compuesto análogo bromado.³³ Sus datos de RMN están listados. En nuestro caso observamos diferencias que exceden las esperadas para uno de los carbonos cuaternarios correspondiente al C-2 o C-3a o C-7a que los autores listan en 105,8 ppm y en nuestro caso aparece entre 135 y 139 ppm.

El doblete que aparece a 7,21 ppm ($J = 2,3$ Hz) en el espectro de RMN-¹H se atribuyó al H-7 y su correspondiente carbono apareció a 104,8 ppm. El H-5 se asignó al doblete que aparece a 7,01 ppm y el C-5 a 114,6 ppm. Mientras que el H-4 se asignó al doblete que aparece a 7,53 ppm y el C-4 a la señal a 125,4 ppm. El C-3a se atribuyó a la señal que aparece a 135,9

ppm dada su doble correlación a 3 enlaces con los hidrógenos 5 y 7. La señal que aparece a 80,1 ppm se atribuyó al C-3 ya que el desplazamiento químico resultó similar al observado para el compuesto **41** (datos en la parte experimental). Mientras que la señal a 136,3 ppm se atribuyó al C-2. Estas dos últimas señales presentaron una correlación a 3 y 2 enlaces, respectivamente con los hidrógenos metílicos a 2,55 ppm.

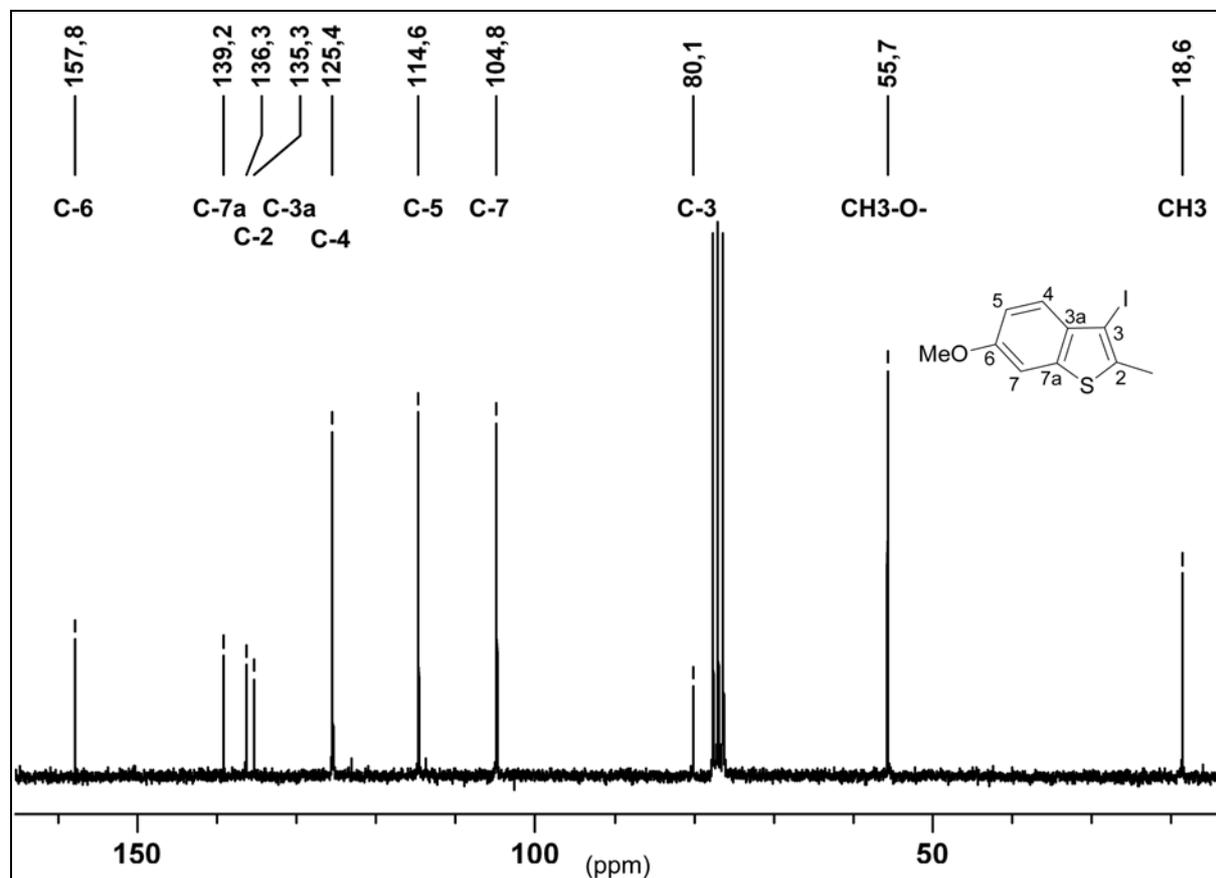
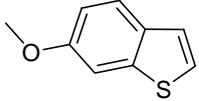
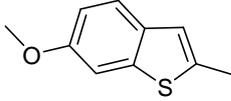
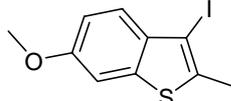


Figura 2.18. Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) del compuesto **60**.

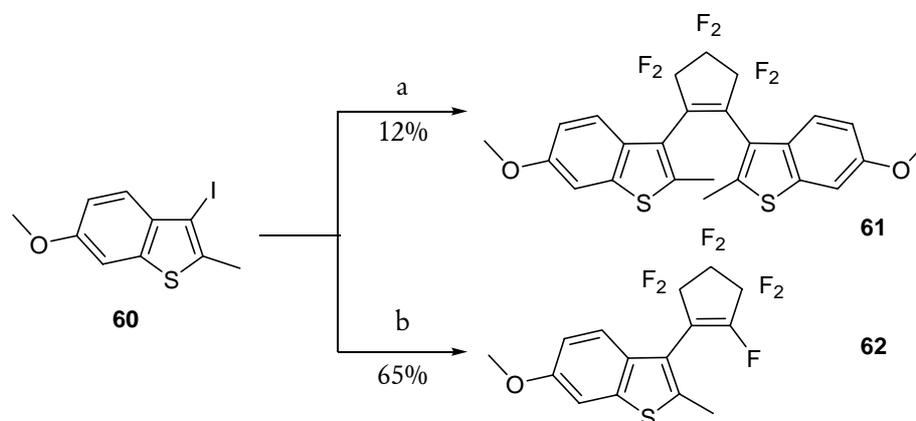
En la tabla 2.4, se han listado los desplazamientos químicos correspondientes a algunos protones y carbonos para los compuestos **56**, **58** y **60**. Es interesante notar que la introducción de un grupo metilo en posición 2 lleva no solo a la desaparición de la señal del hidrógeno correspondiente sino que induce un cambio en el desplazamiento químico (δ) del hidrógeno vecino en posición 3 (-0,39 ppm). Las señales de los H-4, H-5 e H-7 también se desplazan a δ menores pero sus corrimientos no resultan tan importantes (0,09-0,18 ppm). La iodación no conduce a desplazamientos significativos, sólo la desaparición, como era de esperar, de la señal correspondiente a H-3. Las señales de metoxilo y metilo (sección experimental) no muestran un desplazamiento apreciable.

En los espectros de RMN-¹³C se observa un comportamiento similar al de los espectros de RMN-¹H. En la tabla 2.4, se observa los corrimientos correspondientes a C-2 y C-3.

Tabla 2.4. Comparación de señales de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) y RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) entre los compuestos **56**, **58** y **60**.

						
	δ (ppm)	<i>m, J</i> (Hz)	δ (ppm)	<i>m, J</i> (Hz)	δ (ppm)	<i>m, J</i> (Hz)
H-2	7,26	s				
H-3	7,26	s	6,87	s		
H-4	7,70	d, 8,7	7,52	d, 8,7	7,53	d, 8,7
H-5	7,02	dd, 8,7 y 2	6,93	dd, 8,7 y 2,3	7,01	dd, 8,7 y 2,3
H-7	7,36	d, 2	7,24	d, 2,3	7,21	d, 2,3
C-2	123		138,1		136,3	
C-3	123		129,9		80,1	

El tratamiento de **60** con *n*-butil litio en THF a -78 °C seguido de la adición de 0,5 equivalentes de octafluorociclopenteno a la misma temperatura generó el compuesto fotocromático **61** con un rendimiento del 12%. El producto de hemi-sustitución **62** se obtuvo con un rendimiento de 65% a partir de **60** utilizando *n*-butil litio a -78 °C seguido de la adición de 1,5 equivalentes de octafluorociclopenteno (Figura 2.19).



- a) i) *n*-BuLi /THF / -78 °C ii) C₅F₈ (0,5 equiv) / -78 °C
 b) i) *n*-BuLi /THF / -78 °C ii) C₅F₈ (1,5 equiv) / -78 °C

Figura 2.19. Síntesis de compuesto fotocromático simétrico **61** y compuesto hemi-sustituido **62**.

En la figura 2.20 se observa el espectro de RMN-¹H para el compuesto fotocromático **61**. Se encuentra señalados los hidrógenos correspondientes a cada uno de los conformeros, paralelo (p) y antiparalelo (ap). La relación de isómeros resultó conformero paralelo/conformero antiparalelo 36:64. Los valores de desplazamiento químico de los hidrógenos, las asignaciones de los hidrógenos y la relación de isómeros concuerdan con los informados por Frigoli y Mehl.³³

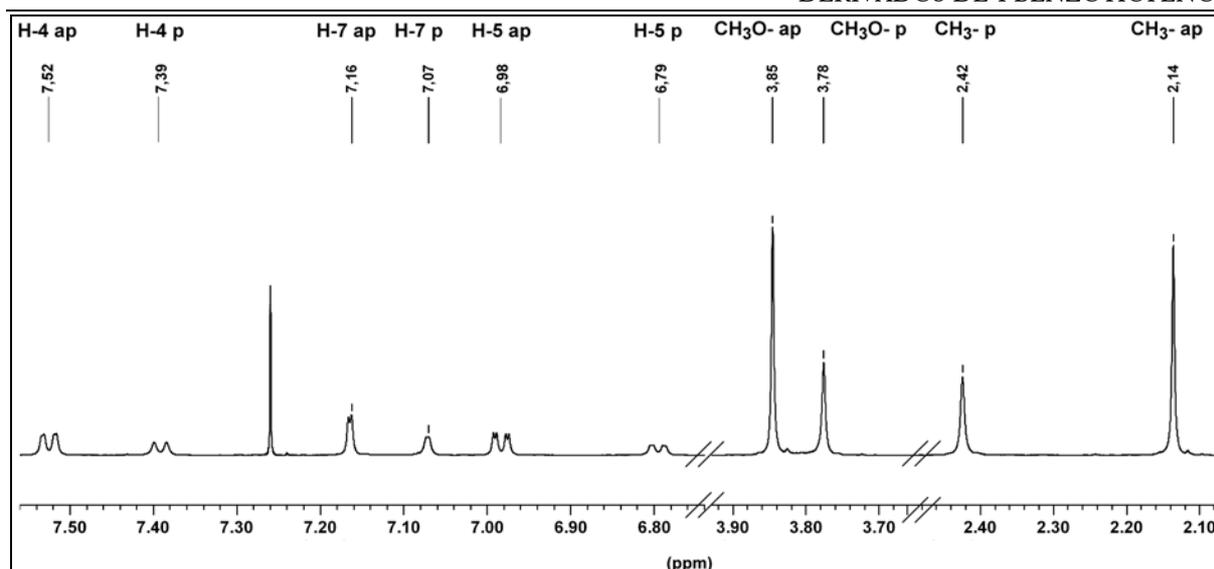


Figura 2.20. Espectro de RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) del compuesto **61**.

Las asignaciones de las señales de los carbonos correspondientes a los conformeros paralelo y antiparalelo del compuesto **61** se muestran en la tabla 2.5. En la figura 2.21 se muestra la región aromática del espectro de RMN-¹³C para el mismo compuesto.

Tabla 2.5. Asignación del compuesto **61**.

Asignación	δ (ppm)	HSQC	HMBC	Asignación	δ (ppm)	HSQC	HMBC
C-6 p	157,3		7,52 / 7,16 / 6,98	C-3 ap	119,0		7,39 / 2,43
C-6 ap	157,2		7,39 / 7,07 / 6,76	C-3p	118,8		7,52 / 2,15
C-2* ap	139,7		7,52 / 2,15	C-5 ap	114,4	6,98	7,16
C-7a* ap	139,6			C-5 p	114,2	6,76	7,07
C-2** p	139,4		7,39 / 2,43	C-7 ap	104,7	7,16	6,98
C-7a** p	139,3			C-7 p	104,5	7,07	6,76
C-3a ap +	132,2		7,16 / 7,07 / 6,98	CH ₃ O ap	55,6	3,84	
C-3a p			/6,76 / 2,43 / 2,15	CH ₃ O p	55,5	3,77	
C-4 ap	122,8	7,52		CH ₃ p	15,1	2,43	
C-4p	122,6	7,39		CH ₃ ap	15,0	2,15	

(*), (**) Estas señales son intercambiables.

Nuevamente, como para el compuesto **42**, las señales aromáticas protónicas que aparecen a campos altos se atribuyeron al conformero paralelo (6,79, 7,07 y 7,39 ppm para los H-5, H-7 y H-4, respectivamente) y la señal alifática que aparece a campos bajos (2,42 ppm) se asignó al metilo unido a C-2. Mientras que para el conformero antiparalelo se asignaron las señales aromáticas a campos bajos (6,98, 7,16 y 7,52 ppm para los H-5, H-7 y H-4, respectivamente) y la señal alifática que aparece a 2,14 ppm al metilo unido a C-2. Los espectros a dos y tres enlaces

permitieron completar la asignación de los carbonos para ambas conformaciones, que no han sido informados por Mehl y Frigoli.

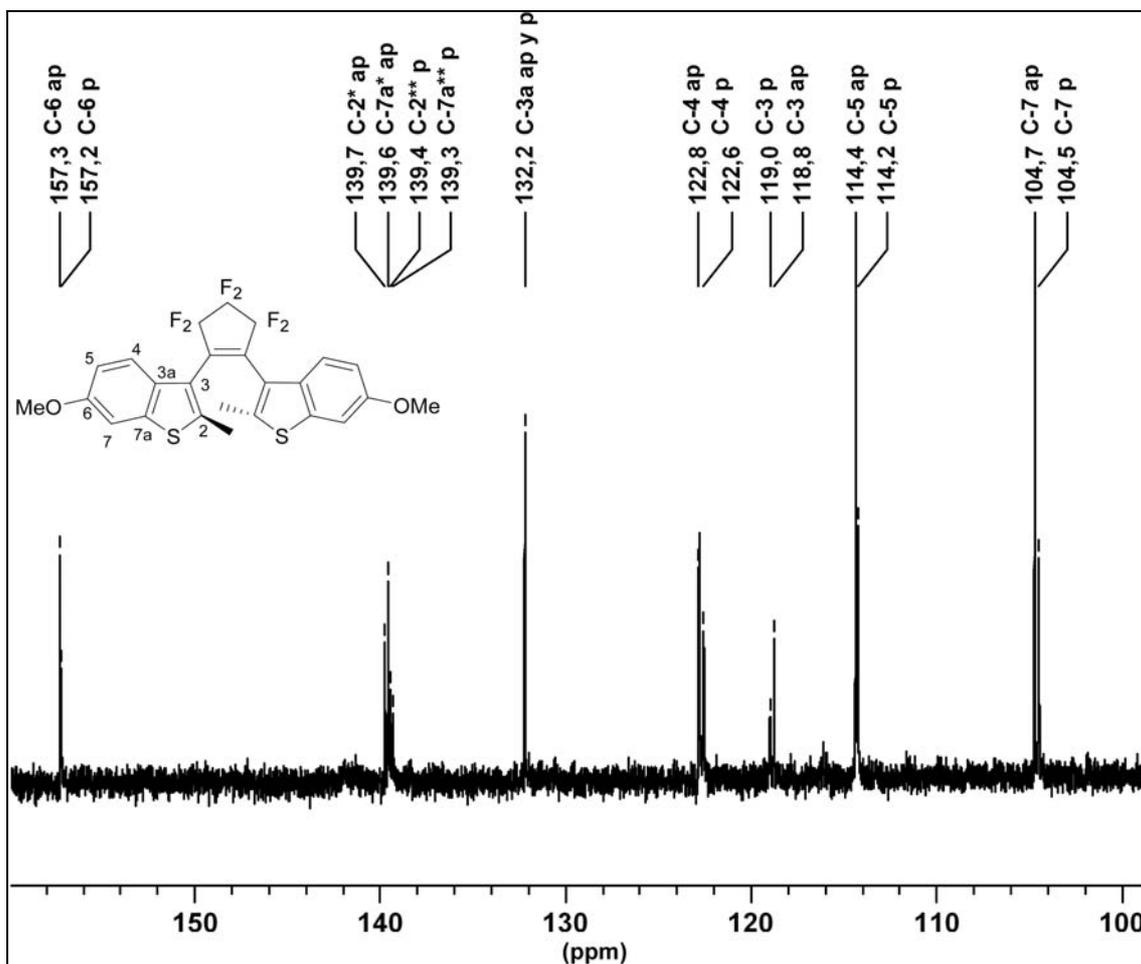


Figura 2.21. Región aromática del espectro de RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) para 61.

Tabla 2.6. Asignación del compuesto 62.

Asignación	δ (ppm)	HSQC	HMBC
C-2	141,2		2,47
C-3	113,9		2,47 / 7,37
C-3a	139,7		7,37
C-4	122,3	7,37	triplete, $J = 2,5$ Hz
C-5	114,8	7,01	7,27
C-6	157,6		7,37 / 7,01 / 7,27 / 3,87
C-7	104,9	7,27	7,01
C-7a	132,0		2,47 / 7,01 / 7,27
CH_3O	55,7	3,87	
CH_3	14,6	2,47	

El compuesto **62** se caracterizó mediante espectrometría de resonancia magnética ^1H , ^{13}C , HSQC y HMBC. La asignación completa del compuesto **62** se muestra en la tabla 2.6.

La señal que aparece a 122,3 ppm en el RMN- ^{13}C se observó como un triplete ($J = 2,5$ Hz), asignada al C-4 (Figura 2.22). En forma similar se observó un triplete a 121,6 ppm ($J = 2,3$ Hz) en el compuesto **45** (ver página 55). Nuestra interpretación supuso que estos tripletes se deben al acoplamiento con los átomos de flúor del ciclopenteno en C-5'. El acoplamiento correspondería un $^5J_{CF}$ favorecido por la geometría y la extensión de la conjugación.

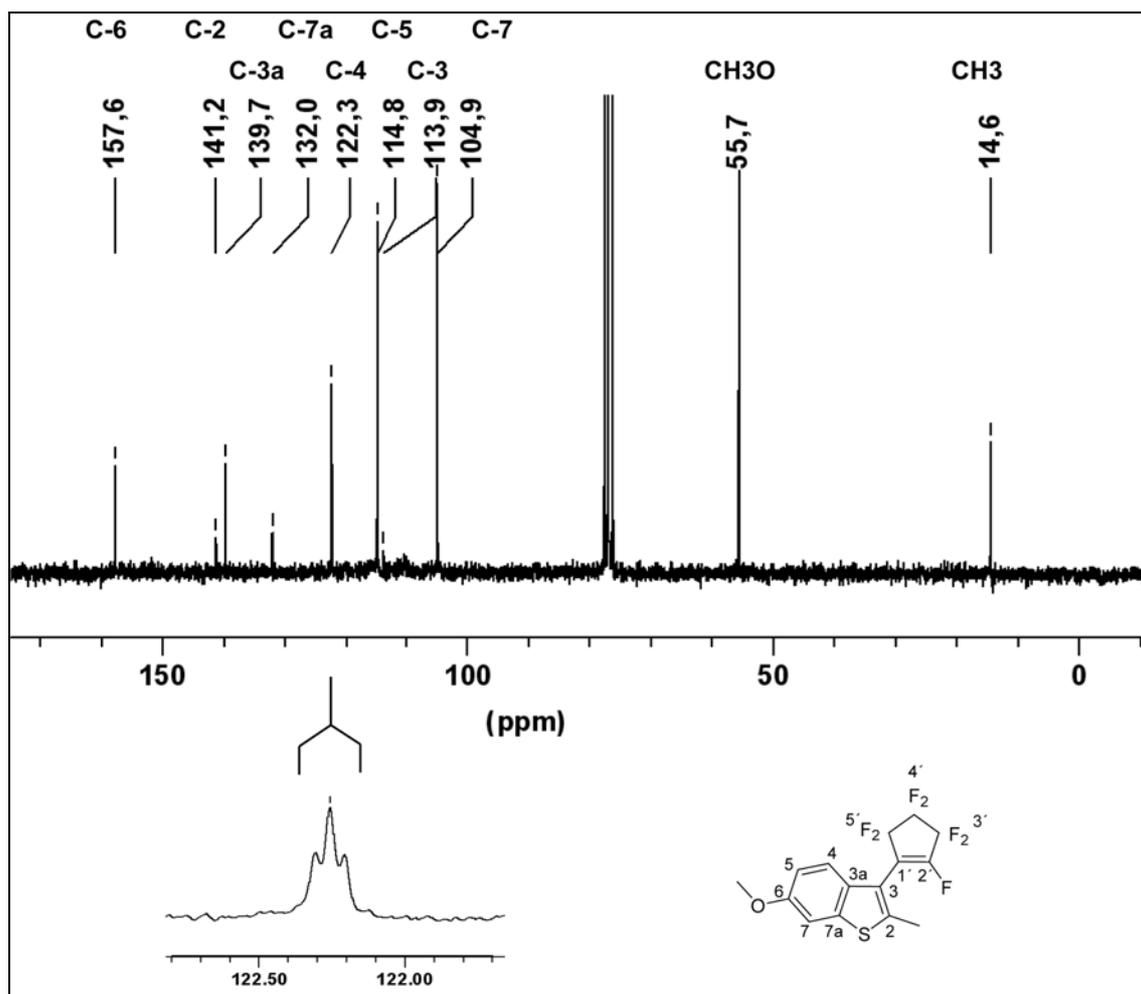


Figura 2.22. Espectro RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **62**. Ampliación de la señal a 122,3 ppm.

Para comprobar nuestra suposición se realizó un espectro RMN- ^{13}C desacoplado de flúor (Figura 2.23, inferior). En el espectro inferior de la figura 2.23 se muestra la señal del C-4 como un doblete acoplado con hidrógeno, lo que comprueba el acoplamiento con flúor observado en el espectro de RMN- ^{13}C desacoplado de hidrógeno (Figura 2.23, superior). Además, en el espectro desacoplado de flúor pueden observarse las señales de todos los carbonos del anillo ciclopenteno, que no se observan en el espectro desacoplado de protón por su acoplamiento con flúor. El C-2', no mostrado en la figura 2.23, aparece a 154,8 ppm.

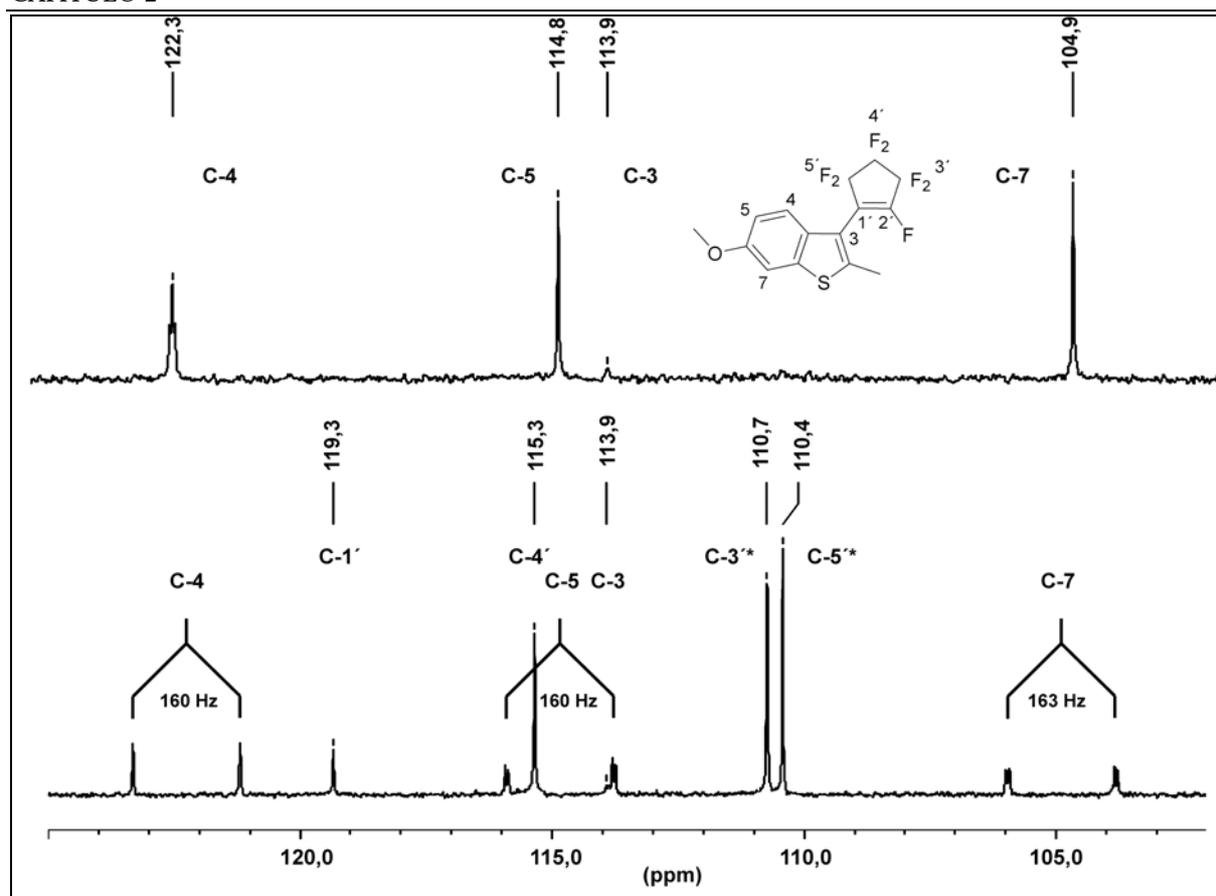
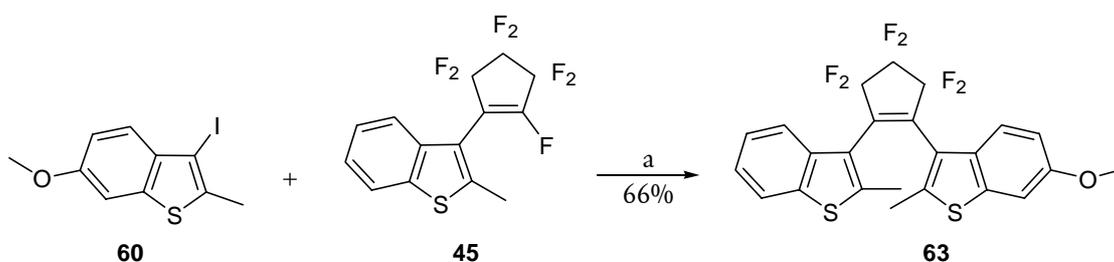


Figura 2.23. Espectro de RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) del compuesto **62**. Superior: Desacoplado de hidrógeno. Inferior: Desacoplado de flúor.

2.2. SÍNTESIS DE DERIVADOS ASIMÉTRICOS DE 1-BENZOTIOFENO

2.2.1. Síntesis de 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno

El compuesto asimétrico **63** se generó mediante la condensación del derivado litiado de **60** con compuesto hemi-sustituido **45** a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ con un rendimiento del 66% (Figura 2.24).



a) i) $n\text{-BuLi}$ / THF / $-78\text{ }^\circ\text{C}$ ii) **45** / $-78\text{ }^\circ\text{C}$

Figura 2.24. Síntesis de compuestos asimétrico **63**.

La purificación por columna cromatográfica del producto de reacción rindió en ccd una fracción fotocromica (rosa al UV) de $R_f = 0,24$ (hexano/AcOEt 98:2). Cuando se realizó el espectro de RMN- ^1H , se observó la presencia de 9 señales metílicas (Figura 2.25, (a)). Se esperaban obtener seis señales correspondientes a los tres metilos de los dos conformeros, paralelo y antiparalelo. En consecuencia, se procedió a re-purificar la fracción por cromatografía líquida de alto rendimiento (CLAR). Para esta separación (Figura 2.26) se utilizó una columna de sílica 60 y una mezcla hexano/AcOEt 98:2 como solvente de desarrollo.

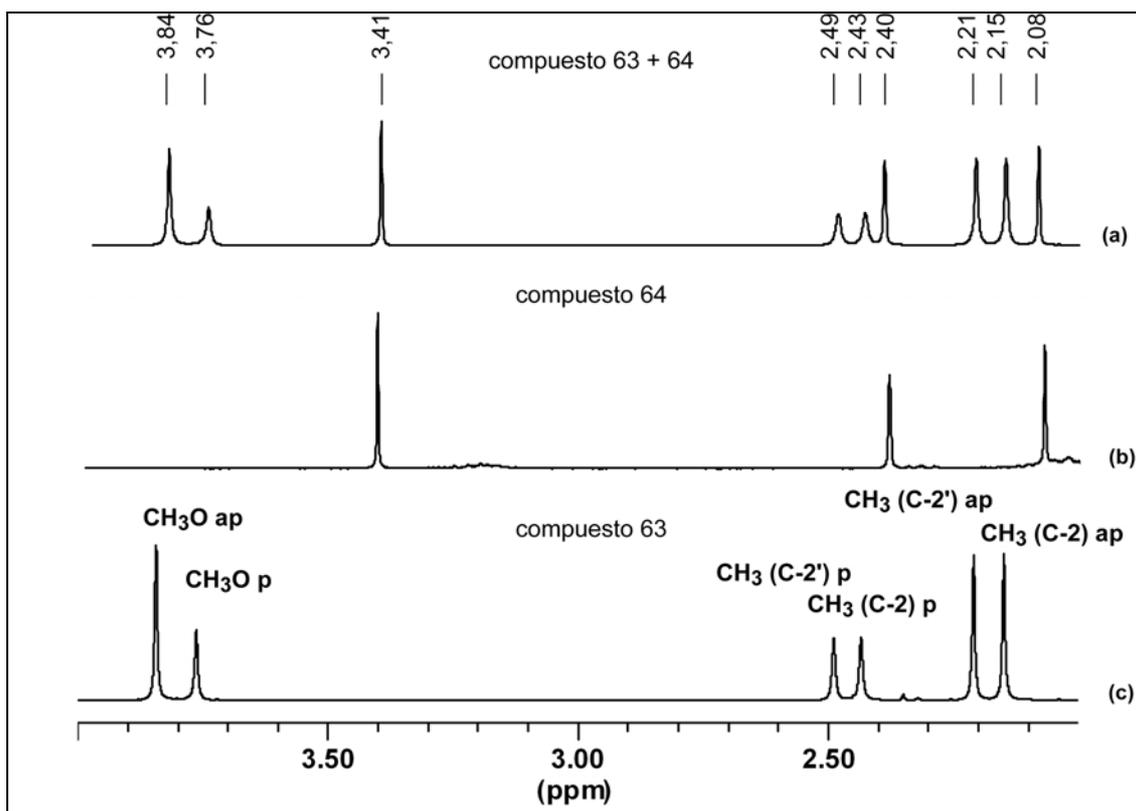


Figura 2.25. Región alifática de los espectros de RMN- ^1H de: (a) compuesto 63 y 64 (300 MHz, CDCl_3) (b) 64 (300 MHz, CDCl_3) y (c) compuesto 63 (600 MHz, CDCl_3).

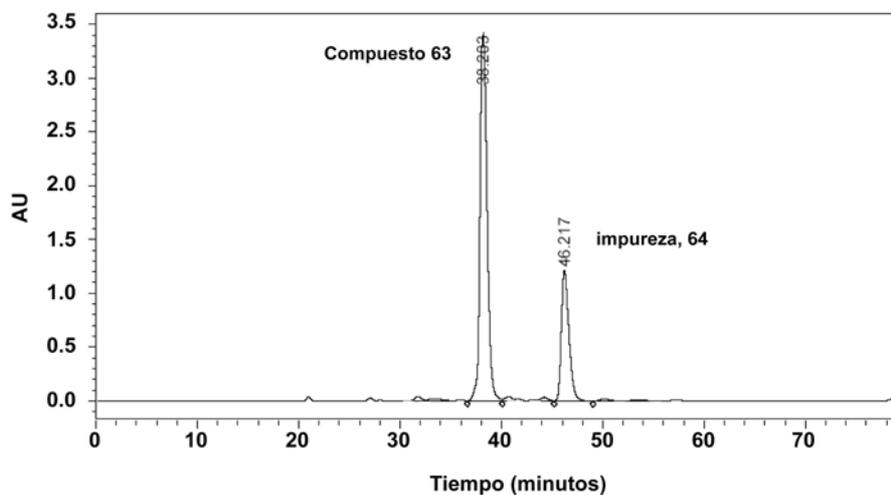


Figura 2.26. Cromatograma de CLAR, en hexano/AcOEt 98:2 monitoreado a 300 nm.

El pico con $t_R = 38,2$ minutos correspondía al compuesto fotocromico **63** dado que por irradiación con luz UV se tornaba de color rosa. Mientras que el pico con $t_R = 46,2$ minutos se asignó al subproducto **64**. La relación de área resultó para los compuestos **63:64** de 70/30 a la longitud de onda de monitoreo de 300 nm. Posteriormente se realizaron los espectros de RMN- ^1H para los compuestos aislados. La figura 2.25 muestra la región alifática de la mezcla (a) y de los compuestos **64** (b) y **63** (c). Mientras que en la figura 2.27 se muestra la región aromática.

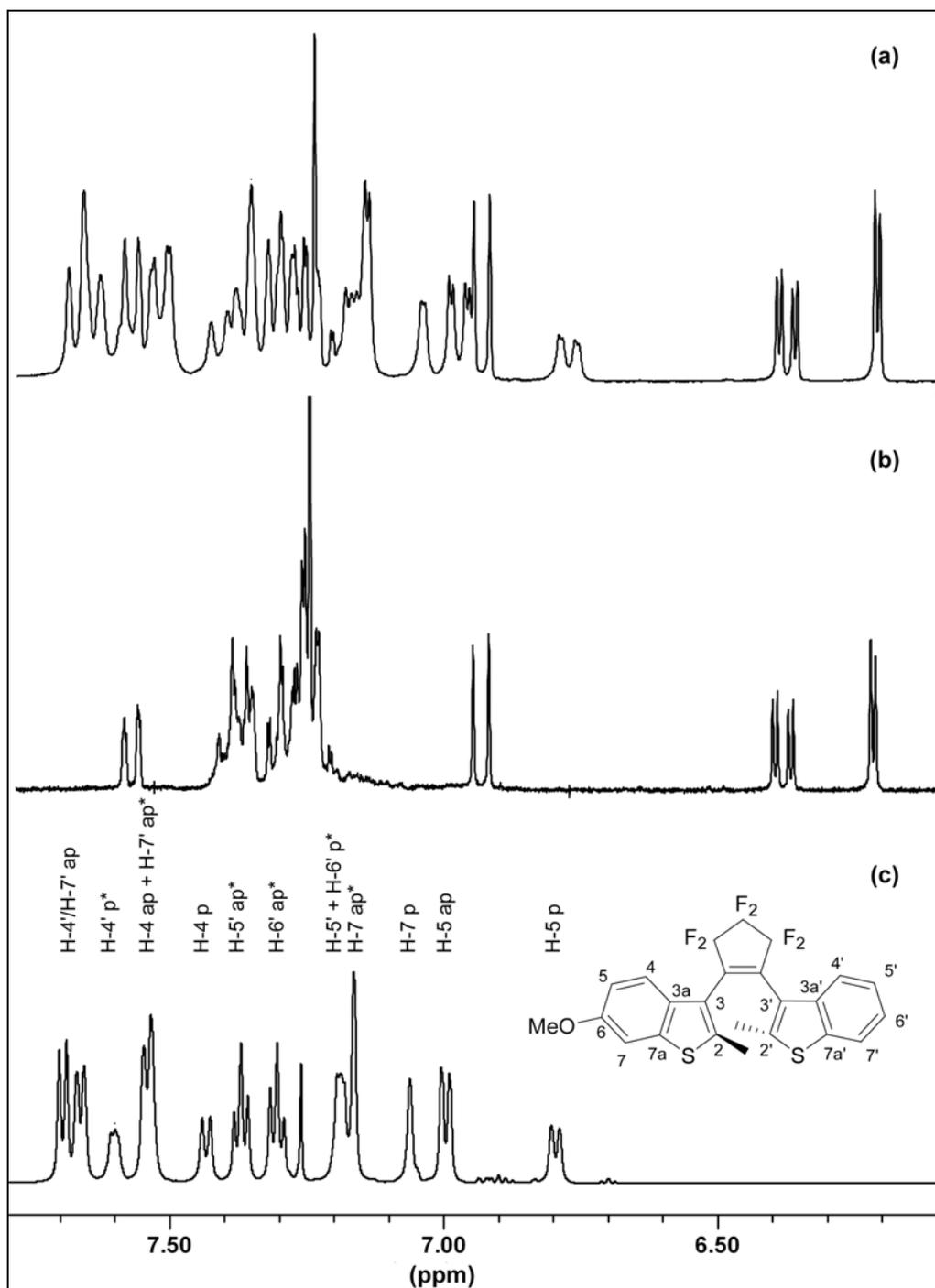


Figura 2.27. Región aromática de espectro de RMN- ^1H : (a) compuesto **63** y **64** (300 MHz, CDCl_3) (b) **64** (300 MHz, CDCl_3) y (c) compuesto **63** (600 MHz, CDCl_3).

En este caso, aún cuando se tuvo un cuidadoso control de la temperatura de reacción, se obtuvo un 30 % del subproducto que se asignó al compuesto **64**. Se propone que el compuesto **64** es el originado por apertura del anillo tiofeno, que se muestra en la figura 2.28, de manera análoga al subproducto **43**.

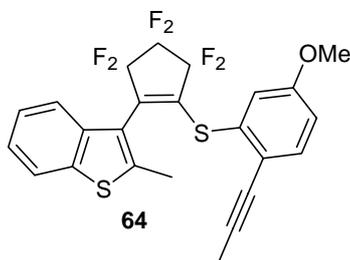


Figura 2.28. Subproducto **64**.

Tabla 2.7. Asignación del RMN-¹³C para el compuesto **63**.

Asignación	δ (ppm)	HSQC	HMBC	Asignación	δ (ppm)	HSQC	HMBC
C-6 ap	157,3		3,84 / 7,52 / 7,46 / 7,00	C-4' ap	122,1	7,69	7,36
C-6 p	157,2		3,76 / 7,44 / 7,07 / 6,79	C-4' p**	122,0	7,52	
C-2' ap	142,6		2,21	C-7' p**	121,8	7,60	7,18
C-2' p	142,2		2,49	C-3' p	119,4		7,52 / 2,49
C-7a ap	139,8		7,52 / 7,16	C-3' ap	119,2		7,66 / 2,21
C-2 ap	139,6		2,15	C-3 p	118,9		7,44 / 2,43
C-7a p	139,4		7,44	C-3 ap	118,7		7,52 / 2,15
C-2 p	139,3		2,43	C-5 ap	114,4	7,00	7,16
C-3a' ap	138,3		7,36 / 7,00 / 7,69 / 2,21	C-5 p	114,2	6,79	7,07
C-7a' ap + C-3a' p	138,1		7,66 / 7,52 / 7,30 / 7,60	C-7 ap	104,7	7,16	7,00
C-7a' p	138,0		7,18	C-7 p	104,4	7,07	6,79
C-3a ap + C-3a p	132,2		7,16 / 7,07 / 7,00 / 6,79	CH ₃ O- ap	55,5	3,84	
C-5' ap	124,6	7,36	7,69	CH ₃ O- p	55,4	3,76	
C-5' p*	124,5	7,18	7,60	CH ₃ (C-2') p	15,3	2,49	
C-6' ap + C-6'p*	124,3	7,30	7,66	CH ₃ (C-2) p	15,2	2,43	
C-4 ap	122,8	7,52		CH ₃ (C-2') ap	15,1	2,21	
C-4 p	122,7	7,44		CH ₃ (C-2) ap	15,0	2,15	
C-7' ap	122,2	7,66	7,30				

(*), (**) Estas señales son intercambiables

El análisis de los espectros de resonancia magnética nuclear ^1H , ^{13}C , HSQC y HMBS para el compuesto **63** permitió la asignación completa de las señales y se muestra en la tabla 2.7.

2.2.2. Estrategia para la síntesis de éster succinimidilo de 1-benzotiofeno

Un objetivo de importancia en este trabajo es obtener compuestos fotocromicos que puedan ser unidos a biomoléculas. En consecuencia se diseñó obtener un compuesto fotocromico reactivo, que pudiera ser unido covalentemente a diversas moléculas (compuestos fluorescentes, biotina, proteínas, ADN, etc). Los ésteres de *N*-hidroxisuccinimida han sido ampliamente utilizados en síntesis orgánica como agentes acilantes (ésteres activos). Especialmente, estos ésteres activos son útiles como intermediarios en la síntesis de péptidos y proteínas vía *N*-acilación. Además, ciertas moléculas importantes biológicamente como antagonistas de receptores y agentes marcadores, han sido químicamente modificados utilizando un éster succinimidilo intermediario. Se pensó, entonces, en disponer de un ácido carboxílico derivatizado como éster succinimidilo.

Además, se desea que el compuesto fotocromico activo extienda su conjugación, lo que genera un corrimiento hacia el rojo en el máximo de absorción del isómero cerrado. Para ello se introduce ya sea un alquino o un anillo aromático, mediante una reacción de acoplamiento cruzada carbono-carbono. La retrosíntesis planteada (Figura 2.29) posee un compuesto intermediario en común, el derivado triflato, que puede reaccionar por variadas reacciones de acoplamiento C-C. Este derivado se obtendría por desprotección de metoxilo y posterior activación del fenol. El fenol, mismo puede reaccionar directamente con, por ejemplo ácido bromoacético, para dar un ácido carboxílico. En un paso posterior se activa el ácido como éster succinimidilo.

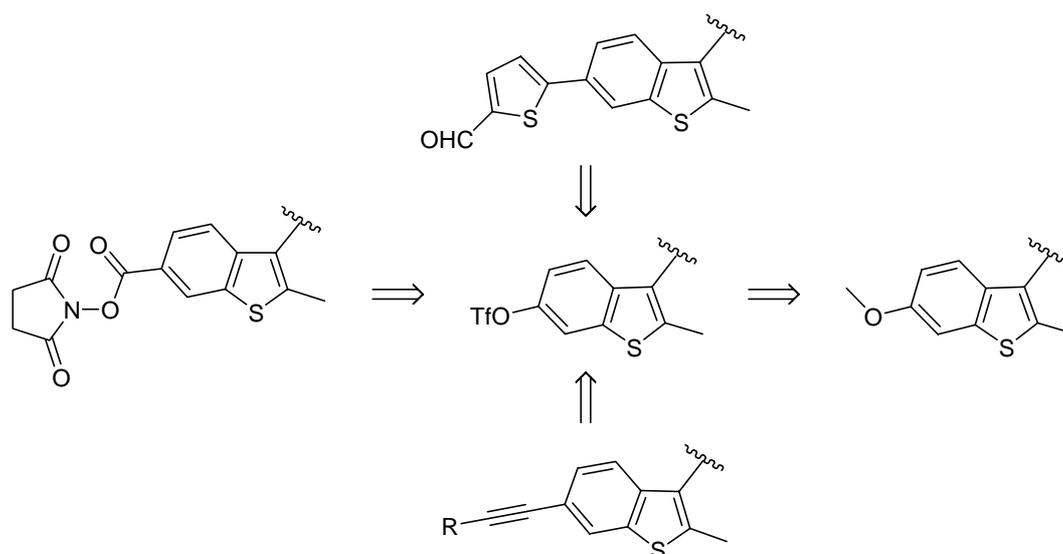


Figura 2.29. Esquema retrosintético de DHAE funcionalizados.

Los triflatos son especialmente útiles en reacciones de acoplamiento C-C, en parte porque pueden generarse fácilmente a partir de fenoles o enolatos. El mayor impacto proviene del descubrimiento de reacciones de acoplamiento cruzado con diferentes compuestos organometálicos las cuales ocurren con alta regioselectividad, en condiciones suaves y toleran la presencia de varios grupos funcionales.^{34, 35}

Wentland y sus colaboradores³⁶ propusieron un proceso tal que el éster N-hidroxisuccinimidilo podía ser generado en un solo paso a partir de materiales de partida disponibles, como ser triflatos o haluros de arilo. Dado que esta reacción no había sido aplicada a derivados de 1-benzotiofeno se realizó la misma con un compuesto modelo partiendo de 2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno. Posteriormente se realizó la activación del compuesto fotocromico (más costoso y difícil de obtener).

El primer paso fue la desprotección del grupo metoxilo con tribromuro de boro en CH_2Cl_2 a $-30\text{ }^\circ\text{C}$ dejando llegar a temperatura ambiente y permaneciendo así por 2 horas, condiciones suaves de reacción.³⁷ El compuesto **58** se hizo reaccionar en las condiciones indicadas produciendo el 2-metil-1-benzotien-6-ol **65** con un rendimiento de 98% (Figura 2.30). La desprotección también puede hacerse con cloruro de trimetilsililo/ioduro de sodio a $82\text{ }^\circ\text{C}$ durante 48 hs.³⁸ Luego se procede a activar el fenol **65** como triflato **66** (Figura 2.30).

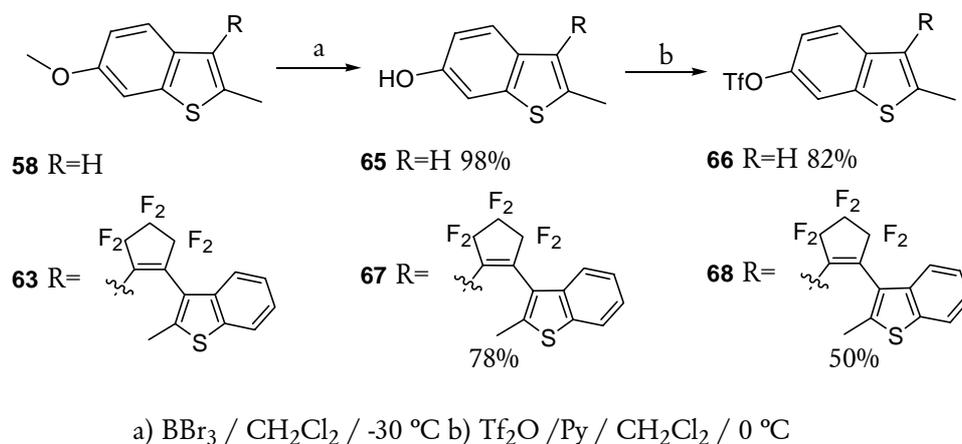
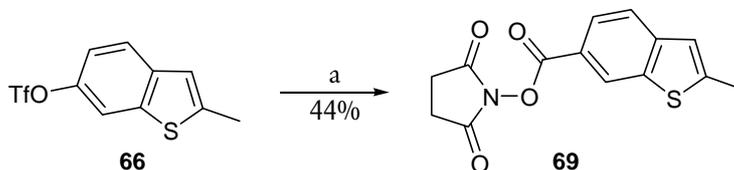


Figura 2.30. Obtención de trifluorometansulfonatos **66** y **68**.

El último paso consistió en la obtención del éster activado. Dentro de las metodologías disponibles para generar ésteres N-hidroxisuccinimido se encuentran: a) reacción de la sal de NHS de sodio, potasio, plata o talio con el cloruro de ácido, b) esterificación del ácido carboxílico con NHS en presencia de diciclohexilcarbodiimida o azodicarboxilato/trifenilfosfina c) reacción de carbonato de bis(N-succinimidilo) con ácidos carboxílicos. La utilidad del método se encuentra limitada a la real disponibilidad del carboxilato requerido. Por lo tanto, Wentland y sus colaboradores³⁶ propusieron un proceso tal que el éster N-hidroxisuccinimidilo se genera en un solo paso a partir de materiales de partida accesibles, como ser triflatos o haluros de arilo. Específicamente, los autores aplicaron la

conocida reacción de carbonilación catalizada por paladio en una novedosa ruta por reacción del triflato (o haluro) de arilo con CO y NHS. Los triflatos y haluros de arilo han sido convertidos a amidas y ésteres de arilo, sin embargo, no se había empleado este proceso para generar ésteres activos.

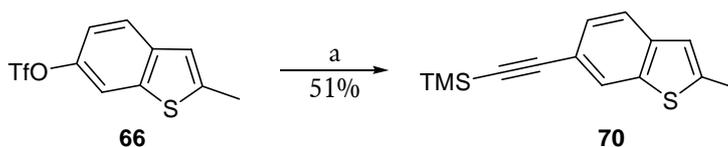


a) Pd(AcO)₂ / Xantphos / NHS / CO / TEA / DMSO / 70 °C

Figura 2.31. Activación modelo de triflato como éster succinimidilo **69**.

El triflato **66** se hizo reaccionar con monóxido de carbono y N-hidroxisuccinimida (anhidra) en las mismas condiciones de literatura con Pd(AcO)₂ como catalizador y Xantphos como ligando, en presencia de TEA. Se obtuvo el compuesto **69** con un rendimiento del 44% (Figura 2.31). Por espectrometría de masa se determinó que se trataba del éster succinimidilo **69** y en el espectro de RMN-¹H se observó la señal correspondiente a los metilenos de anillo pirrolidinona.

Además, el triflato **66** se acopló a TMSA mediante la reacción de acoplamiento cruzada de Sonogashira-Hagihara para la formación de enlace C-C. La reacción se realizó con Pd(II)(PPh₃)₂Cl₂ como catalizador en presencia de TEA y DMF como solvente a 60 °C.³⁹ La reacción se monitoreó por ccd hasta desaparición del triflato **66** y su tiempo de reacción fue de 7 horas obteniéndose el compuesto **70** con un rendimiento del 51 % (Figura 2.32).

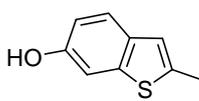
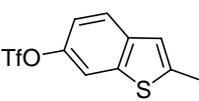
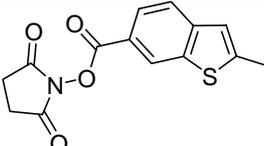
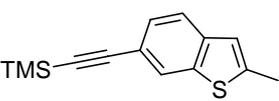
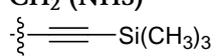


TMSA / TEA / Pd(PPh₃)₂Cl₂ / DMF / 60 °C

Figura 2.32. Reacción de Sonogashira-Hagihara entre el compuesto **66** y TMSA.

En la tabla 2.8 se listan las señales de RMN de los hidrógenos para los compuestos **65**, **66**, **69** y **70**. Las diferencias más significativas se observaron para los hidrógenos del anillo aromático. Como era de esperar la introducción del grupo carbonilo en el éster succinimidilo **69** produce un desplazamiento químico a campos bajos para los hidrógenos en posición 5 y 7 respecto del compuesto **66**.

Tabla 2.8. Desplazamiento químico de benzotiofenos sustituidos en posición 6.

				
H-3	6,86	7,00	7,07	6,95
H-4	7,49	7,67	7,72	7,55
H-5	6,85	7,21	8,02	7,38
H-7	7,19	7,67	8,57	7,87
CH ₃ (C-2)	2,53	2,61	2,64	2,58
OH	4,64	-	-	-
CH ₂ (NHS)	-	-	2,92	-
	-	-	-	0,26

2.2.3. Nueva estrategia para la síntesis de éster succinimidilo fotocromico

El compuesto asimétrico **63** se hizo reaccionar para obtener el triflato **68** correspondiente (Figura 2.31). El rendimiento global para los dos pasos involucrados fue de 40%. Posteriormente, el triflato **68** se hizo reaccionar con N-hidroxisuccinimida y monóxido de carbono con Pd(ACO)₂ como catalizador, Xantphos como ligando en presencia de TEA y con DMSO como solvente y se obtuvo el derivado activado como succinimidil éster **71** en un 12 % y un derivado ácido **72** en un 44 % (Figura 2.33). Cabe aclarar que el derivado ácido es, para nuestro caso tan útil como el éster succinimidilo, ya que posee el grupo funcional COOH fácilmente activable para su acoplamiento con aminas.

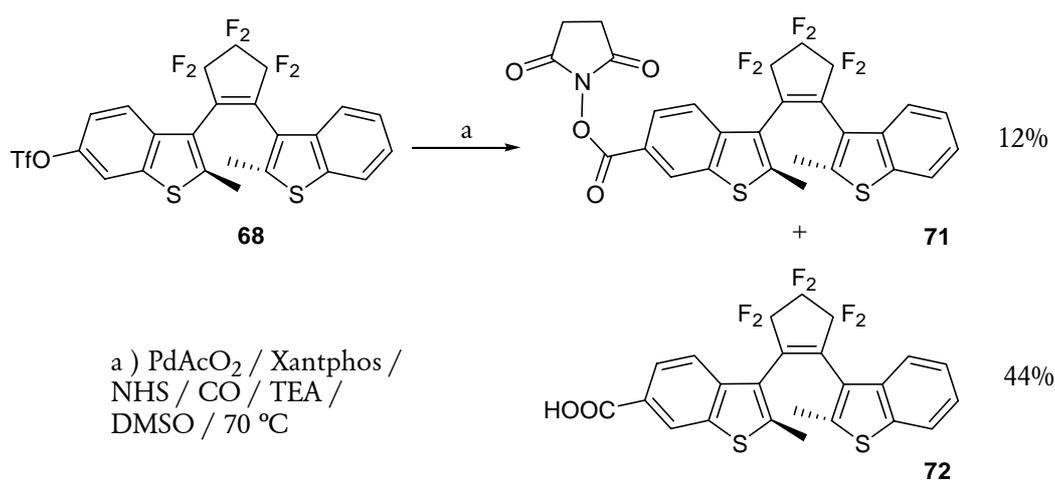


Figura 2.33. Obtención de éster succinimidilo **71** y subproducto **72**.

La identificación por resonancia magnética nuclear de los compuestos **68**, **71** y **72** se realizó por comparación con el fotocromico asimétrico **63** y el éster succinimidilo **69**.

Para obtener un derivado activo para su unión a biomoléculas, se realizó la reacción de acoplamiento del éster succinimidilo **71** con el compuesto **73** que corresponde a una biotina con un espaciador trietilenglicol-diamino. La reacción dio lugar al compuesto **74** con un rendimiento del 79% (Figura 2.34). Este compuesto ha sido utilizado posteriormente para estudiar el proceso de fotocromismo-FRET con un modelo proteico.

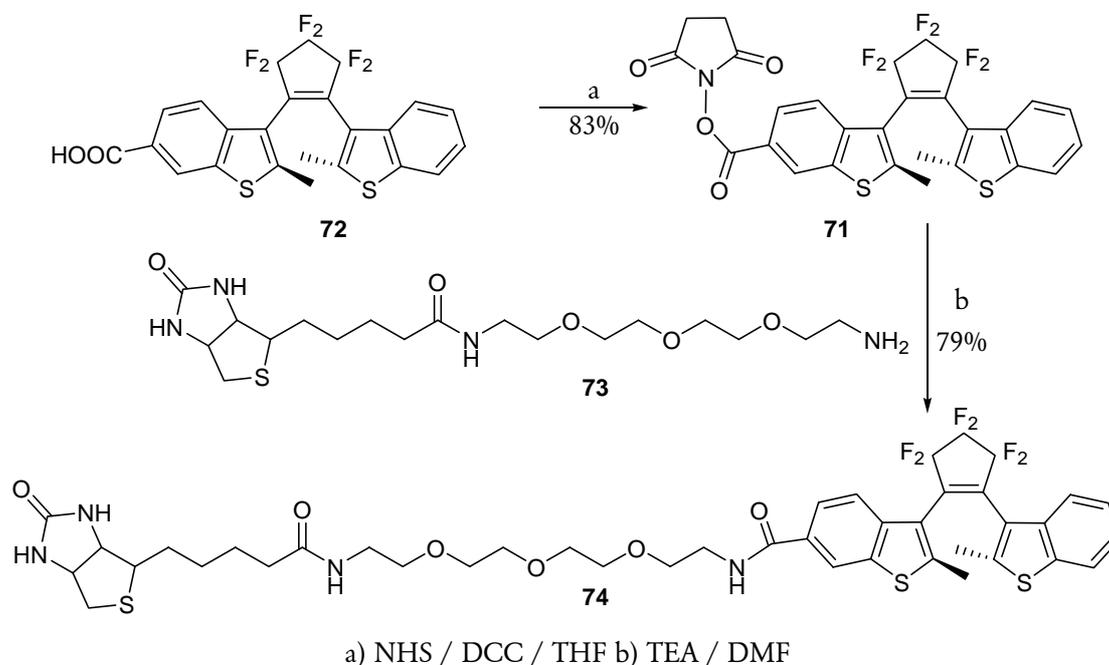


Figura 2.34. Conjugación de DHAE con biotina.

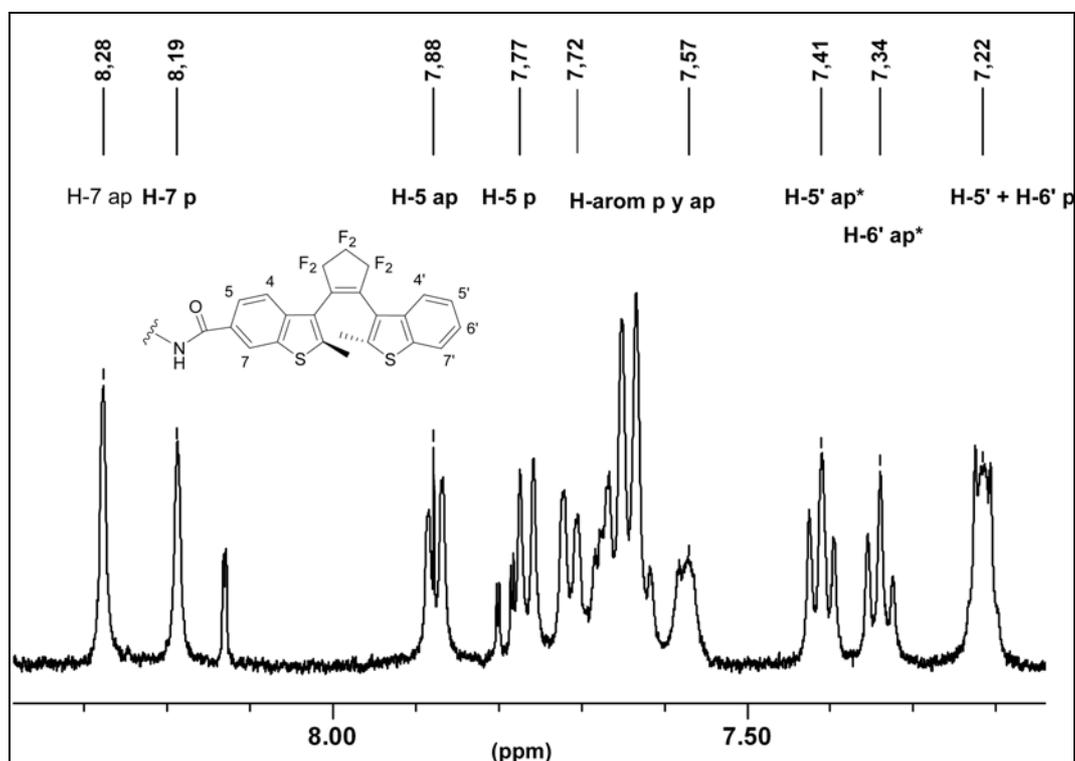


Figura 2.35. Región aromática del espectro de RMN-¹H (500 MHz, MeOD) del compuesto **74**.

En la figura 2.35 puede observarse la asignación de algunos hidrógenos aromáticos para los dos conformeros presentes en el compuesto **74**. La relación de atropoisómeros resultó ser paralelo (p)/ antiparalelo (ap) = 45:55. Se muestra en la figura 2.36, una sección de la región alifática en donde se observaron las señales características de la biotina y los metilos de ambos conformeros.

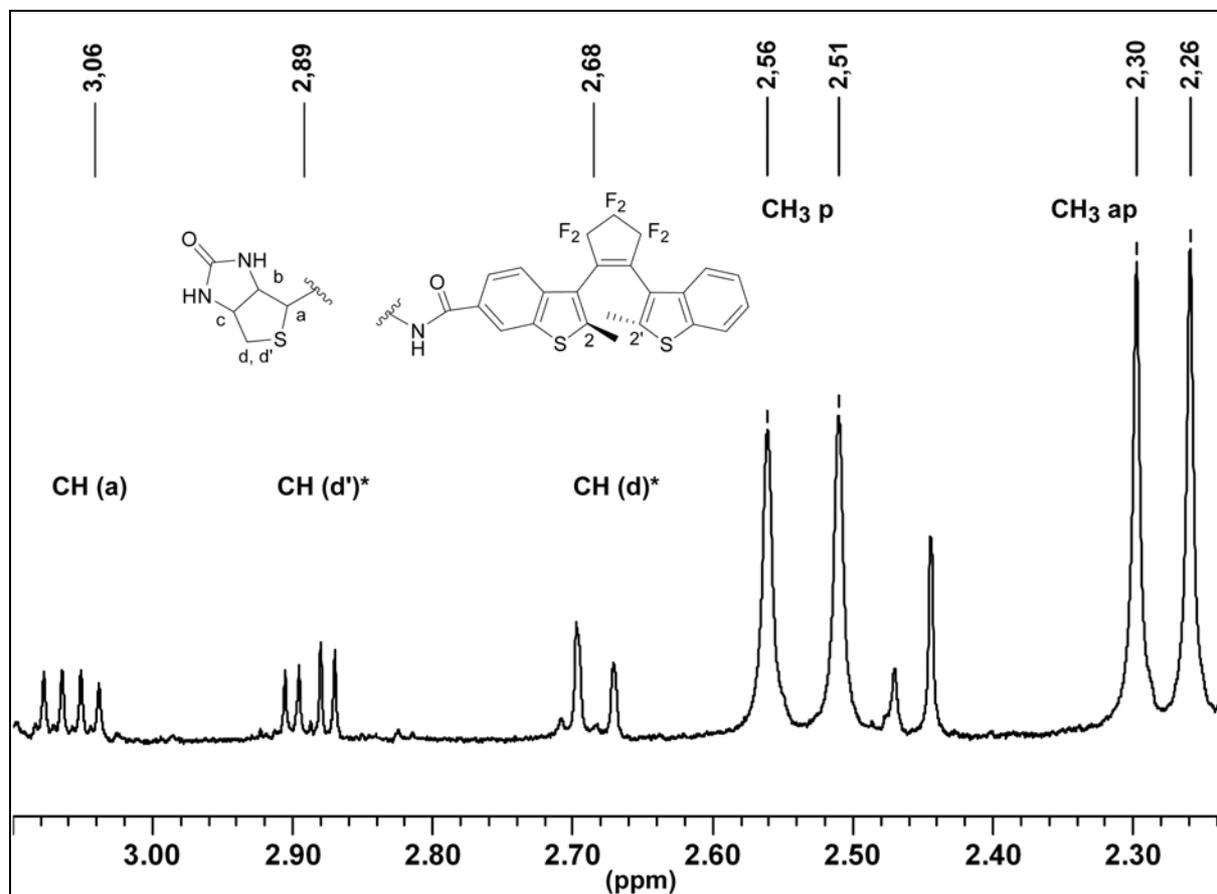


Figura 2.36. Región alifática del espectro de RMN- ^1H (500 MHz, MeOD) del compuesto **74**.

En conclusión, en este capítulo se describió la síntesis de unidades de 1-benzotiofeno adecuadamente sustituidas. Estas unidades se acoplaron a perfluorociclopentano generando derivados hemisustituidos y disustituidos en forma simétrica y asimétrica. Los compuestos resultantes se caracterizaron completamente. Se logró un diheteroarileno asimétrico con un extremo carboxílico activado como éster succinimídico **71** a partir de un derivado triflato en un solo paso de reacción.

2.3. REFERENCIAS

1. Sasson, *The chemistry of halides, pseudo-halides and azides*, Patai and Rappoport, Editors. Wiley. 535 (1995)

2. Roegig and Houben-Weyl, *Methoden der organischen chemie*. 574 (1960)
3. Merkushev, E.B., Advances in the synthesis of iodoaromatic compounds. *Synthesis*, **12**, 923 (1988).
4. Suzuki, H., Nakamura, K., and Goto, R., Direct iodination of polyalkylbenzenes bearing bulky groups. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **39**, 1, 128 (1966).
5. Suzuki, H., Direct iodination of polyalkylbenzenes - iododurene. *Org. Synth.*, **50**, 9, 700 (1988).
6. Suzuki, H. and Tamura, Y., Iodine-periodic acid as a convenient iodinating agent for some polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons. *Nippon Kagaku Zasshi*, **92**, 11, 1021 (1971).
7. Mattern, D.L., Direct aromatic periodination. *J. Org. Chem.*, **49**, 3051 (1984).
8. Dixon, S., Elimination reaction of fluoroolefins with organolithium compounds. *J. Org. Chem.*, **21**, 4, 400 (1956).
9. Hanazawa, M., Sumiya, R., Horikawa, Y., and Irie, M., Thermally irreversible photochromic systems - reversible photocyclization of 1,2-bis(2-methylbenzo[b]thiophen-3-yl)perfluorocycloalkene derivatives. *Chem. Comm.*, **3**, 206 (1992).
10. Uchida, K., Nakayama, Y., and Irie, M., Thermally irreversible photochromic systems - reversible photocyclization of 1,2-bis(benzo[b]thiophen-3-yl)ethene derivatives. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 5, 1311 (1990).
11. Gilchrist, T.L., Ring-opening of 5-membered heteroaromatic anions. *Adv. Heterocycl. Chem.*, **41**, 41 (1987).
12. Dickinson Rp and Iddon, B., Condensed thiophen ring systems .7. Stability of 3-benzo b - thienyl-lithium. *J. Chem. Soc. C*, **20**, 3447 (1971).
13. Dickinson Rp and Iddon, B., Condensed thiophen ring systems .4. Synthesis, reactions, and stability of 2-phenyl-3-benzo[b]thienyl-lithium and related compounds. *J. Chem. Soc. C*, **18**, 2592 (1970).
14. Uchida, K. and Irie, M., A photochromic dithienylethene that turns yellow by uv irradiation. *Chem. Lett.*, **11**, 969 (1995).
15. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of silsesquioxanes having photochromic diarylethene pendant groups. *Macromol. Rapid Comm.*, **18**, 8, 625 (1997).

-
16. Abe, S., Uchida, K., Yamazaki, I., and Irie, M., Fatigue-resistance property of diarylethene 1b films in repeating photochromic reaction. *Langmuir*, **13**, 20, 5504 (1997).
 17. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of polystyrene and poly(alkyl methacrylate)s having photochromic dithienylethene pendant groups. *Polym. J.*, **30**, 12, 985 (1998).
 18. Irie, M., Eriguchi, T., Takada, T., and Uchida, K., Photochromism of diarylethenes having thiophene oligomers as the aryl groups. *Tetrahedron*, **53**, 36, 12263 (1997).
 19. Matsuda, K. and Irie, M., Photochromism of diarylethenes with two nitronyl nitroxides: Photoswitching of an intramolecular magnetic interaction. *Chem. Eur. J.*, **7**, 16, 3466 (2001).
 20. Irie, M., Miyatake, O., Uchida, K., and Eriguchi, T., Photochromic diarylethenes with intralocking arms. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 22, 9894 (1994).
 21. Takeshita, M., Uchida, K., and Irie, M., Novel saccharide tweezers with a diarylethene photoswitch. *Chem. Comm.*, 15, 1807 (1996).
 22. Tilak, B.T., *Proc. Indian Acad. Sci.*, **32A**, 390 (1950).
 23. Rabindran, K. and Tilak, B.D., *Curr. Sci. (India)*, **20**, 205 (1951).
 24. Ple, P.A. and Marnett, L.J., Synthesis of substituted benzo[b]thiophenes by acid-catalyzed cyclization of thiophenylacetals and ketones. *J. Heterocycl. Chem.*, **25**, 4, 1271 (1988).
 25. Clark, P.D., Clarke, K., Ewing, D.F., and Scrowston, R.M., Addition-reactions of benzo b thiophen .1. Self-addition and addition of simple aromatic-hydrocarbons. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 3, 677 (1980).
 26. Takeuchi, K., Kohn, T.J., Sall, D.J., Denney, M.L., McCowan, J.R., Smith, G.F., and Gifford-Moore, D.S., Dibasic benzo[b]thiophene derivatives as a novel class of active site directed thrombin inhibitors: 4. Sar studies on the conformationally restricted c3-side chain of hydroxybenzo[b]thiophenes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 5, 759 (1999).
 27. Clark, P.D., Kirk, A., and Yee, J.G.K., An improved synthesis of benzo b thiophene and its derivatives using modified montmorillonite clay catalysts. *J. Org. Chem.*, **60**, 7, 1936 (1995).
 28. Cheralathan, K.K., Palanichamy, M., and Murugesan, V., Cyclisation of (phenylthio)acetaldehyde diethylacetal in the presence of dealuminated beta zeolites: An unexpected meerwein-ponndorf-verley reduction. *Appl. Catal. A:Gen.*, **263**, 2, 219 (2004).

29. Cheralathan, K.K., Palanichamy, M., and Murugesan, V., Liquid-phase cyclization of (phenylthio)acetaldehyde diethylacetal to benzo b thiophene over zn^{2+} ion-exchanged zeolite bea. *Catal. Lett.*, **86**, 4, 173 (2003).
30. Graham, S.L., Shepard, K.L., Anderson, P.S., Baldwin, J.J., Best, D.B., Christy, M.E., Freedman, M.B., Gautheron, P., Habecker, C.N., Hoffman, J.M., Lyle, P.A., Michelson, S.R., Ponticello, G.S., Robb, C.M., Schwam, H., Smith, A.M., Smith, R.L., Sondey, J.M., Strohmaier, K.M., Sugrue, M.F., and Varga, S.L., Topically active carbonic-anhydrase inhibitors .2. Benzo b thiophenesulfonamide derivatives with ocular hypotensive activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, **32**, 12, 2548 (1989).
31. Tilak, B.D., Carcinogenesis by thiophene isosters of polycyclic hydrocarbons - synthesis of condensed thiophenes. *Tetrahedron*, **9**, 1-2, 76 (1960).
32. Bevis, M.J., Forbes, E.J., Naik, N.N., and Uff, B.C., Synthesis of isoquinolines, indoles and benzthiophen by an improved pomeranz-fritsch reaction, using boron trifluoride in trifluoroacetic anhydride. *Tetrahedron*, **27**, 6, 1253 (1971).
33. Frigoli, M. and Mehl, G.H., Modulation of the absorption, fluorescence, and liquid-crystal properties of functionalised diarylethene derivatives. *Chem. Eur. J.*, **10**, 20, 5243 (2004).
34. Stang, P.J., Hanack, M., and Subramanian, L.R., Perfluoroalkanesulfonic esters - methods of preparation and applications in organic-chemistry. *Synthesis*, **2**, 85 (1982).
35. Ritter, K., Synthetic transformations of vinyl and aryl triflates. *Synthesis*, **8**, 735 (1993).
36. Lou, R.L., VanAlstine, M., Sun, X.F., and Wentland, M.P., Preparation of n-hydroxysuccinimido esters via palladium-catalyzed carbonylation of aryl triflates and halides. *Tetrahedron Lett.*, **44**, 12, 2477 (2003).
37. McOmie, J.F.W., Watts, M.L., and West, D.E., Demethylation of aryl methyl ethers by boron tribromide. *Tetrahedron*, **24**, 5, 2289 (1968).
38. Olah, G.A., Narang, S.C., Gupta, B.G.B., and Malhotra, R., Synthetic methods and reactions .62. Transformations with chlorotrimethylsilane sodium iodide, a convenient in situ iodotrimethylsilane reagent. *J. Org. Chem.*, **44**, 8, 1247 (1979).
39. Chen, Q.Y. and Yang, Z.Y., Palladium-catalyzed reaction of phenyl fluoroalkanesulfonates with alkynes and alkenes. *Tetrahedron Lett.*, **27**, 10, 1171 (1986).

El objetivo en esta parte del proyecto fue obtener diheteroariltenos asimétricos con grupos tiofeno y benzotiofeno uno a cada lado del puente alqueno, de modo de obtener extremos con diferente funcionalización. Este tipo de compuestos fotocromicos presenta estabilidad térmica y son resistentes a la fatiga.

Considerando la variedad de compuestos fotocromicos diheteroariltenos con hexafluorociclopenteno como puente de unión que se informaba en la literatura sólo unas pocas estructuras correspondían a compuestos asimétricos con un grupo tiofeno en un lado del puente y un grupo benzotiofeno al otro.¹⁻⁵

La ruta sintética involucra la obtención de unidades de tiofeno funcionalizados de manera apropiada. Estas unidades de tiofeno se acoplaron de forma convergente con una unidad benzotiofeno a través de un puente de perfluorociclopenteno.

Un requerimiento en la construcción de las unidades de tiofeno es que el anillo tiofeno posea las posiciones 2 y 4 sustituidas, dado que se ha informado que de no estarlo se obtienen productos de descomposición. La reacción de ciclación por irradiación con luz UV cuando la posición 2 no se encuentra sustituida, produce un compuesto coloreado que corresponde al producto de ciclación. Sin embargo, la reacción de apertura del ciclo al irradiar con luz visible no regenera el compuesto de partida, sino que se obtiene un producto cuyo espectro de absorción difiere del isómero abierto.⁶ En el caso en que la posición 4 no se encuentre sustituida, los compuestos fotocromicos poseen baja resistencia a la fatiga. Como se menciona en la introducción, se observa la aparición de un subproducto que también absorbe en la región visible pero no es fotocromico luego de unos cuantos ciclos de irradiación.⁷

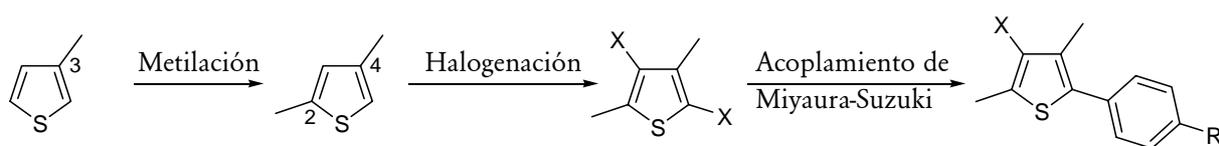


Figura 3.1. Esquema de síntesis de la unidad tiofeno.

En consecuencia, la ruta sintética que se llevó adelante involucró la obtención de la unidad tiofeno dimetilado en posiciones 2 y 4 como primer paso. La halogenación posterior de la misma hizo posible el acoplamiento a derivados de arilo con diversos sustituyentes mediante una reacción acoplamiento cruzado C-C de tipo Suzuki (Figura 3.1).

3.1. ANTECEDENTES DE LA REACCIÓN DE ACOPLAMIENTO DE SUZUKI-MIYAURA⁸

En la reacción de acoplamiento cruzado de tipo Suzuki, un ácido arilborónico se acopla con un halogenuro de arilo mediante complejos de Ni(0), Pd(0) o Fe (0) como catalizadores. Generalmente, estas reacciones de acoplamiento cruzado ocurren en condiciones suaves, el compuesto organoborano es activado con una base adecuada. El paso clave en esta reacción involucra la inserción del Pd(0) en el enlace halógeno-arilo. Esta técnica ha demostrado ser bastante general para un amplio rango de reacciones de formación selectiva de enlace C-C. Los ácidos organoborónicos son reactivos convenientes y generalmente son estables térmicamente e inertes a agua y oxígeno, permitiendo su manipulación sin precauciones especiales. Muchos de los ácidos organoborónicos se encuentran disponibles comercialmente o pueden ser preparados a partir de reactivos organilínicos o de magnesio y trialquilboratos. Un amplio rango de catalizadores de paladio (0) pueden utilizarse en esta reacción. El Pd(PPh₃)₄ es más frecuentemente utilizado pero PdCl₂(PPh₃)₂ y Pd(OAc)₂ con PPh₃ u otros ligandos de fosfina son también muy eficientes. Los catalizadores de Pd(II) son muy estables frente al aire y se reducen al complejo de Pd(0) activo con las fosfinas o los compuestos organometálicos utilizados en la reacción de acoplamiento cruzado. Como base, se utiliza frecuentemente soluciones acuosas de Na₂CO₃ y el DME como solvente. Como material de partida para las reacciones de Suzuki, los compuestos mas utilizados son bromuros, ioduros y triflatos de arilo dada su alta reactividad.

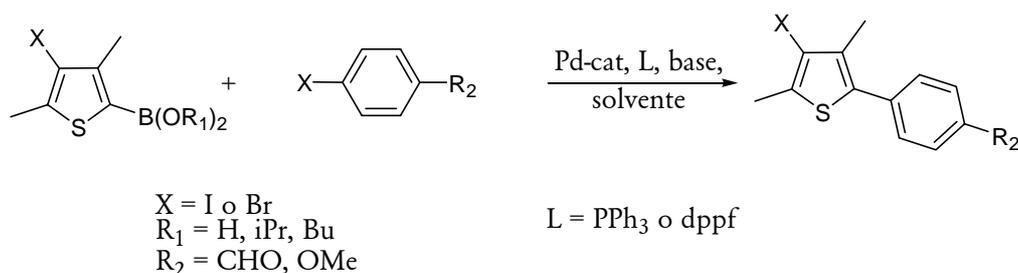
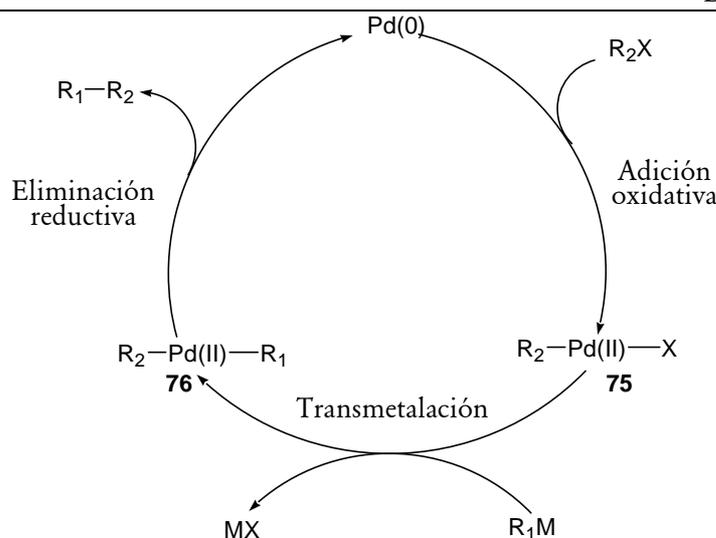


Figura 3.2. Esquema básico de reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura.

Mecanismo de Suzuki-Miyaura:

El ciclo catalítico para las reacciones de acoplamiento cruzado de compuestos organometálicos involucran una secuencia de adición oxidativa-transmetalación-eliminación reductiva como muestra la figura 3.2. Aunque cada paso involucra un proceso más intrincado, que incluye el intercambio de ligandos, no existe duda sobre la presencia de los intermediarios **75** y **76**, los cuales han sido aislados y caracterizados por análisis espectroscópico.^{9, 10}



Suzuki: R_1, R_2 =arilo o heteroarilo, $X = I, TfO, Br$, $M: B(OH)_2$ o $B(OR)_2$

Figura 3.3. Ciclo catalítico general para acoplamiento cruzado.

Los mecanismos de adición oxidativa y eliminación reductiva de la secuencia están bien comprendidos y son presumiblemente los procesos comunes a todas las reacciones de acoplamiento cruzado de organometálicos. Sin embargo, el paso de transmetalación es el menos conocido porque el mecanismo depende fuertemente del compuesto organometálico y de las condiciones de reacción utilizadas para el acoplamiento.

Las reacciones de acoplamiento cruzado para compuestos organoboranos con haluros o triflatos de arilo reaccionan selectivamente en presencia de una base cargada negativamente, tales como carbonato, fosfato, hidróxido o alcóxido de sodio o potasio.¹¹⁻¹⁵ Las bases pueden usarse en solución acuosa o en suspensión en dioxano o DMF.

3.2. SÍNTESIS DE LA UNIDAD TIOFENO FUNCIONALIZADA

3.2.1. Síntesis de unidades de tiofeno, metiladas y iodadas

La sustitución electrofílica de tiofenos metalados es una reacción muy útil. Los tiofenos son metalados fácilmente y selectivamente para dar intermediarios que reaccionan con un amplio rango de electrófilos. Los compuestos tienillitio son los más utilizados. Los tiofenos más sencillos sufren intercambio hidrógeno-litio selectivamente en la posición 2 por reacción con *n*-butillitio en éter etílico o tetrahidrofurano a temperatura ambiente o a reflujo.

El litio puede ser introducido en otras posiciones si se dispone de derivados bromados o iodados por reacción de intercambio metal-halógeno. Los tiofenos litiados en posición 3 son

utilizados para la síntesis de tiofenos sustituidos en la misma posición. Sus reacciones con electrófilos se realizan a bajas temperaturas dada su pobre estabilidad térmica.¹⁶

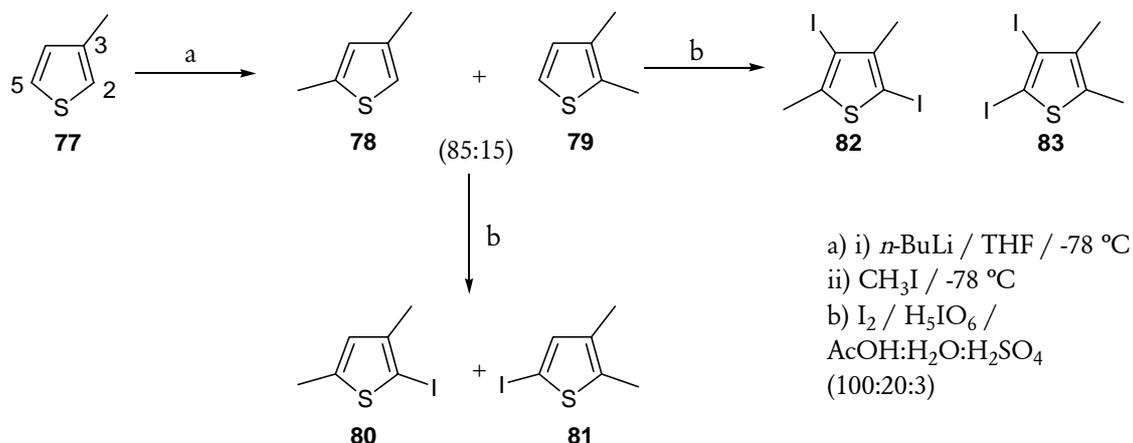


Figura 3.4. Metilación e iodación del compuesto **77**.

En este trabajo, cuando el compuesto 3-metiltiofeno **77** (P.e.: 114 °C) se metiló con *n*-butil litio en éter etílico a -78 °C e ioduro de metilo (Figura 3.4), se obtuvo una mezcla de isómeros dimetilados en las posiciones 2,4 (**78**) y 2,3 (**79**). No fue posible separar esta mezcla por ninguna de las metodologías empleadas. En cromatografía de capa delgada, se observó una sola mancha cuando se realizó la cromatografía en éter de petróleo, siendo el $R_f = 0,6$. Si bien los productos eran líquidos, una destilación fraccionada de los mismos únicamente permitió separarlos del 3-metiltiofeno. Este resultado era esperable ya que la diferencia de temperatura de ebullición de ambos isómeros era menor que 1 °C, (2,3-dimetiltiofeno: 141,6 °C y 2,4-dimetiltiofeno: 140,7 °C).¹⁷ Irie y colaboradores, quienes describieron esta ruta, no mencionan en sus trabajos la formación del isómero 2,3 dimetilado. Sin embargo, Ramanathan y Levine¹⁸ describieron que la carbonilación de 3-metiltiofeno con *n*-butil litio en éter etílico a reflujo durante 2 horas y posterior adición de dióxido de carbono ocurre en posición 2 y 5 en una proporción de 19:68. Estos resultados concuerdan con la mezcla de isómeros dimetilados obtenida en nuestro trabajo.

La proporción de la mezcla de isómeros obtenida luego de la destilación fue determinada por espectroscopía de resonancia magnética nuclear y cromatografía de gas-líquido. En el espectro de RMN (Figura 3.5) pueden distinguirse claramente las señales de los metilos para ambos isómeros ($\delta = 2,47$ y $2,22$ para el isómero 2,4 y $\delta = 2,37$ y $2,16$ para el isómero 2,3). En la figura 3.6 se muestra un cromatograma de la reacción previa a la destilación. Los tiempos de retención correspondientes a los isómeros 2,3 y 2,4 dimetiltiofeno son 5,28 y 5,13 minutos, respectivamente, con una relación de área de 16:84.

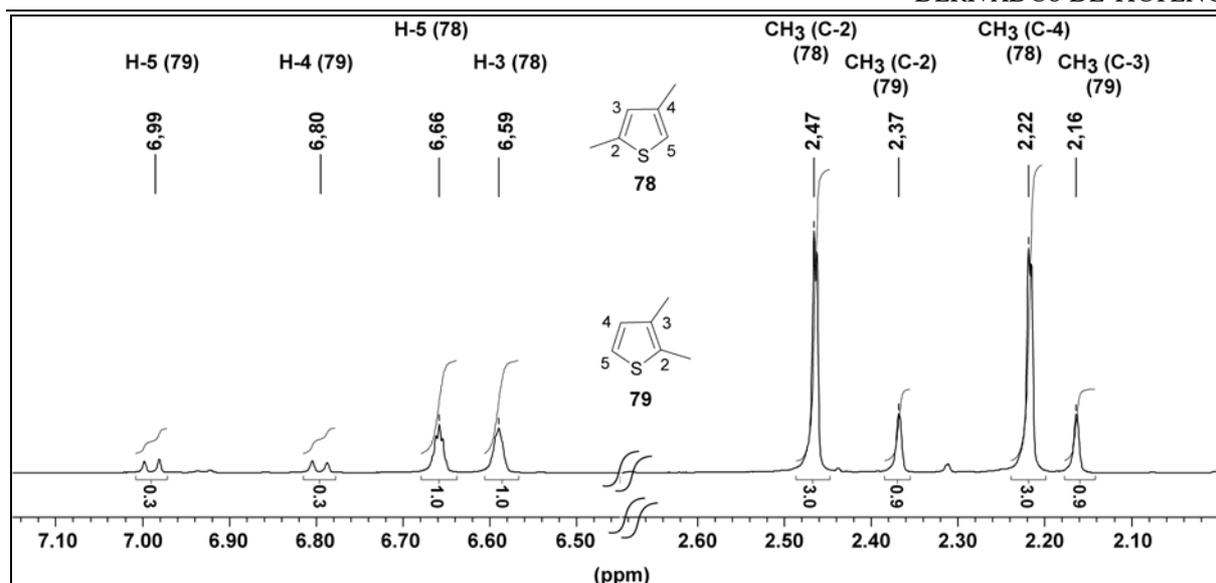


Figura 3.5. Regiones alifáticas y aromáticas del espectro de RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) de la mezcla de isómeros 78 y 79.

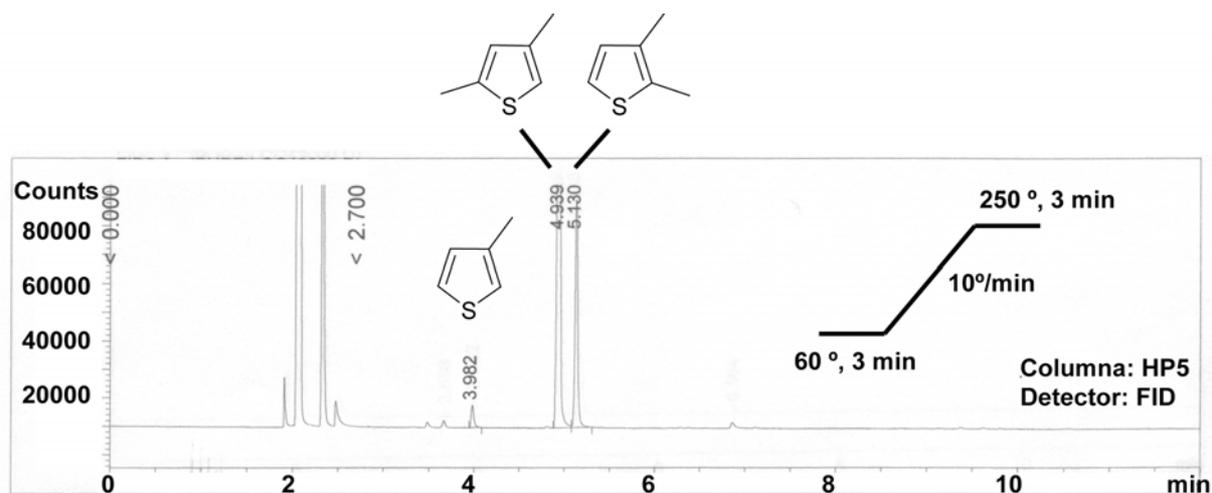


Figura 3.6. Cromatograma correspondiente a la reacción de metilación del compuesto 77.

Se buscaron condiciones para incrementar la relación del isómero 2,4 variando la temperatura de reacción ($-78\text{ }^\circ\text{C}$, $0\text{ }^\circ\text{C}$, t.a.) y también todas estas condiciones en presencia o en ausencia de TMEDA. Sin embargo, estos cambios en las condiciones no fueron útiles para mejorar la relación en favor del isómero 2,4.

Se decidió entonces realizar el paso siguiente, halogenar las dos posiciones libres del dimetiltiofeno, con la esperanza de poder separar en esta etapa los isómeros. Se realizó la bromación con bromo en ácido acético pero la reacción resultó en múltiples productos. Se probó entonces la iodación en las mismas condiciones utilizadas para el benzotiofeno. Para

realizar la iodación se utilizó, como se describió previamente (Capítulo 2), yodo y ácido periódico.

Esta halogenación procedió limpia y suavemente pudiéndose controlar las condiciones para obtener el producto de monoiodación (yodo/ácido periódico/sustrato **78-79**, 0,5:0,2:1), o de diiodación (yodo/ácido periódico/sustrato **78-79**, 1:0,4:1) variando la relación molar de los reactivos.

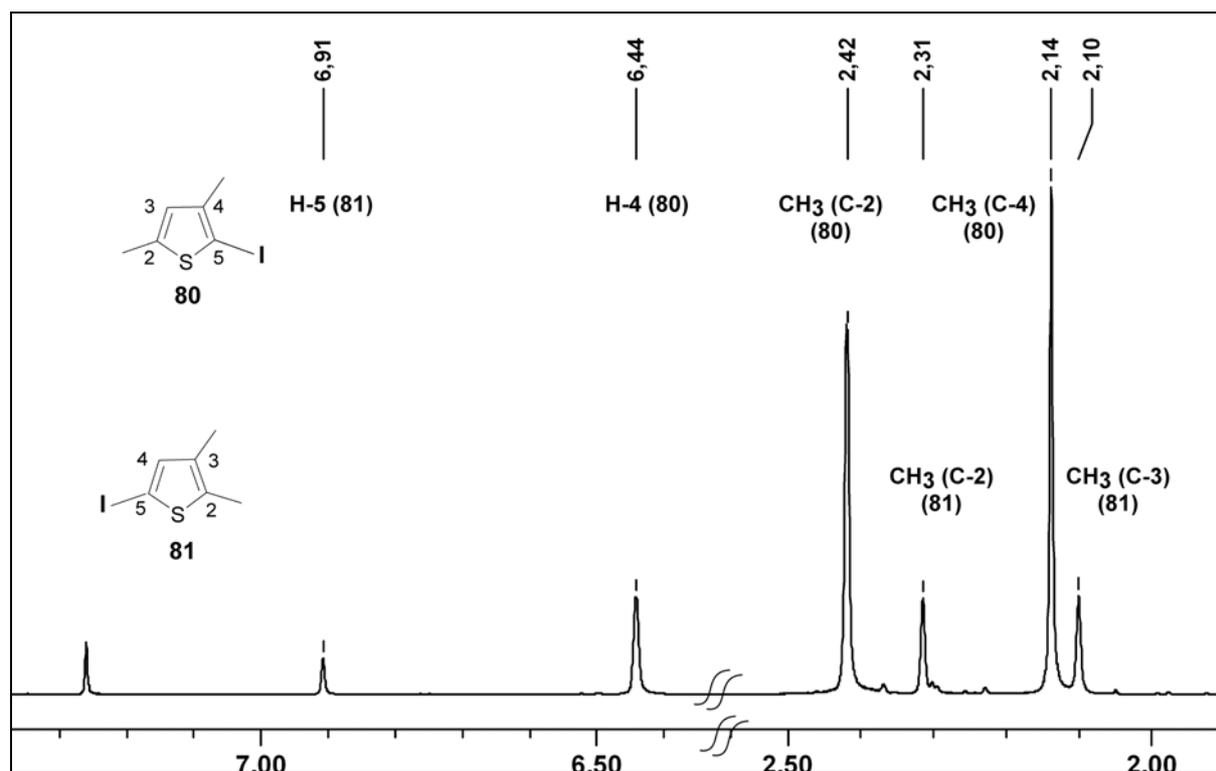


Figura 3.7. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) de la mezcla de productos **80** y **81**.

El espectro de resonancia magnética nuclear protónica de la mezcla de los productos de monoiodación se muestra en la figura 3.7. Las señales alifáticas que aparecen a 2,14 y 2,42 ppm se asignaron a los metilos del compuesto **80** y la señal a 6,44 ppm correspondió al único hidrógeno aromático. Mientras que para el compuesto **81**, las señales metílicas aparecen a 2,10 y 2,31 ppm y la señal aromática a 6,91 ppm. La proporción de los isómeros monoiodados **80/81** se mantuvo similar a los reactivos en 8:2.

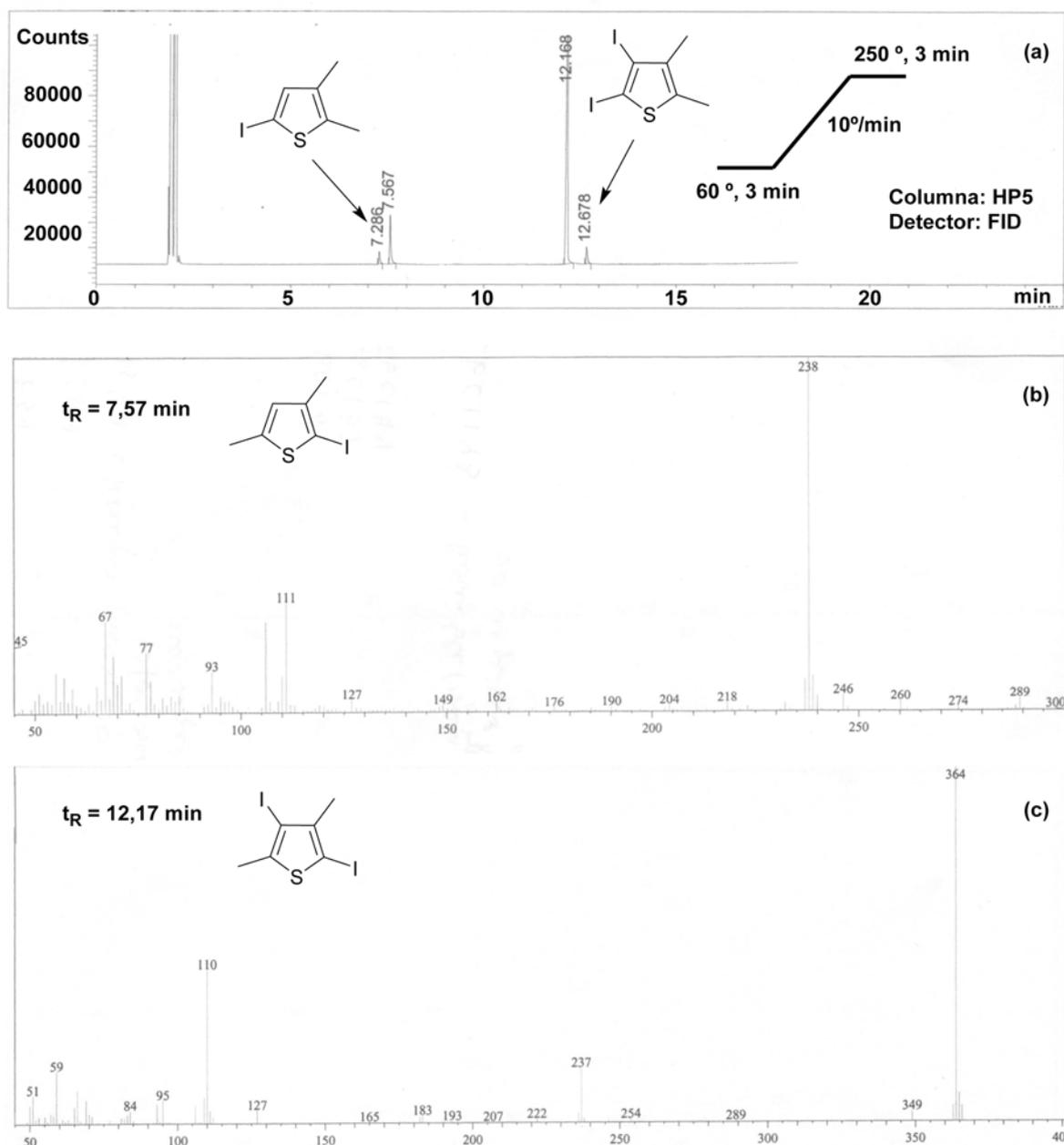


Figura 3.8. (a) Cromatograma de diiodación parcial a las 3 horas de reacción. (b) Espectro de masas para el compuesto **80**, $t_R = 7,57$ minutos. (c) Espectro de masas para el compuesto **82**, a $t_R = 12,17$ minutos.

Tanto los reactivos de partida como los productos de monoiodación y diiodación poseen movilidades muy parecidas en ccd (**82-83**, $R_f = 0,67$ y **78-81** $R_f = 0,61$ en éter de petróleo). En consecuencia, para determinar si la reacción de diiodación se completó se realizó una cromatografía gas líquida. En la figura 3.8.(a) se muestra el control a las 3 horas de reacción. En este cromatograma, cada uno de los picos fue identificado por espectrometría de masa. Los picos a 7,29 y 7,57 minutos muestran un M^+ a $m/z = 238$ correspondiendo a los productos de

moniodación, **80** y **81**. El espectro de masas para el compuesto **80** se muestra en la figura 3.8.(b). Mientras que los picos a 12,17 y 12,68 minutos presentaron un M^+ a $m/z = 364$ que se atribuyó a los productos de diiodación **82** y **83**. En la figura 3.8.(c) se muestra el espectro de masas que se obtuvo para el compuesto **82**.

El cromatograma a las 5 horas de reacción, que se muestra en la figura 3.9, nos indicó la finalización de la misma. Se observan los dos isómeros **83** y **82** en una relación de áreas de 10:90. Luego, se realizó una ccd en hexano y se observaron sólo dos manchas $R_f = 0,44$ y $0,54$ correspondientes a los compuestos **83** y **82**, respectivamente. Realizando una columna cromatográfica en sílica gel 60H y eluyendo con hexano se logró separar ambos compuestos.

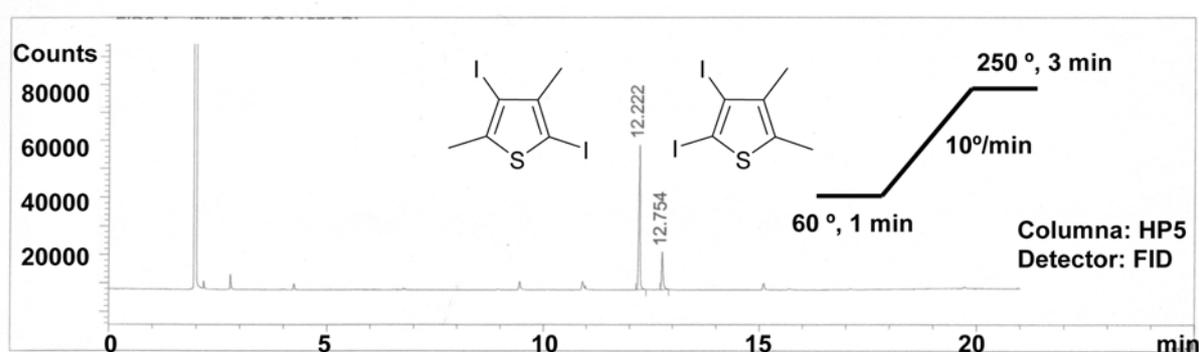
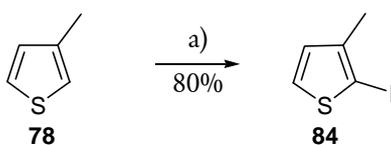


Figura 3.9. Cromatograma correspondiente a los compuesto **82** y **83**.

Con el objetivo de ensayar las mejores condiciones para la reacción de acoplamiento C-C de Suzuki-Miyaura se sintetizó el 2-iodo-3-metilthiopheno. El compuesto **84** se obtuvo con iodo y ácido periódico (en condiciones de moniodación) con un rendimiento del 80% (Figura 3.10).



a) $I_2 / H_5IO_6 / AcOH:H_2O:H_2SO_4 (100:20:3)$

Figura 3.10. Síntesis del compuesto **84**.

La asignación del espectro de RMN- 1H para el compuesto **84** fue sencilla. El espectro mostró una señal a 7,36 ppm como un doblete ($J = 5,4$ Hz) que correspondió al H-5 mientras que la señal a 6,76 ppm (d, $J = 5,4$ Hz) al H-4. Además, los hidrógenos metílicos se observaron a 2,23 ppm. En el espectro de resonancia magnética de carbono se observó como señal distintiva la del C-2 (unido a iodo) a 74,4 ppm.

3.2.2. Obtención de ácidos borónicos y acoplamiento de Suzuki-Miyaura

Para la obtención de los respectivos ácidos borónicos, los compuestos **84** y **82** (Figura 3.11) se trataron en las mismas condiciones informadas en literatura. Primero, se hicieron reaccionar con *n*-butil litio en éter etílico a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante una hora, luego se adicionó el tributilborato manteniéndose a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas, posteriormente se permitió llegar a temperatura ambiente y se dejó reaccionando durante 14 horas.¹⁹ El compuesto **85** se obtuvo en un 49% de rendimiento mientras que el compuesto **86** se obtuvo en un 72 %, ambos como sólidos blancos.

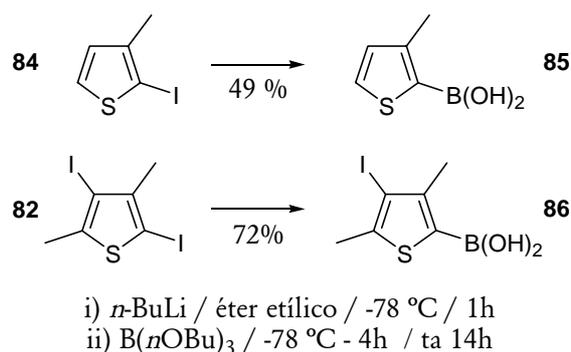


Figura 3.11. Obtención de ácidos borónicos.

En la tabla 3.1 se listan las señales correspondientes a los RMN-¹H de los compuestos **85** y **86**. Nuevamente, la asignación de los espectros de RMN-¹H para ambos compuestos resultó sencilla. La señal alifática que aparece a 2,37 ppm para el compuesto **85** se atribuyó al metilo en C-3. Los dobletes que aparecen a 6,95 y 7,55 ppm se asignaron a los hidrógenos aromáticos de posición 4 y 5, respectivamente. Mientras que el singulete ancho a 7,77 ppm correspondió a los hidrógenos del ácido borónico.

Respecto al compuesto **86**, las señales que aparecen a 2,34 y 2,38 ppm se atribuyeron a los metilos de C-2 y C-4 y el singulete ancho a 7,97 se asignó al ácido.

Tabla 3.1. Señales de RMN-¹H (200 MHz, DMSO) para los ácidos borónicos **85** y **86**.

85	δ	m, <i>J</i>	Área	86	δ	m	Área
-B(OH) ₂	7,77	sa	2H	-B(OH) ₂	7,97	sa	2H
H-5	7,55	d, <i>J</i> = 4,7 Hz	1H	CH ₃	2,38	s	3H
H-4	6,95	d, <i>J</i> = 4,7 Hz	1H	CH ₃	2,34	s	3H
CH ₃	2,37	s	3H				

En el espectro de RMN-¹³C del compuesto **85**, que se muestra en la figura 3.12, se puede observar una señal a 145,5 ppm que se asignó al carbono cuaternario de posición 3. Las señales

a 131,4 y 129,6 ppm corresponden a los carbonos 4 y 5. Estas señales pueden ser intercambiables. Mientras que la señal del carbono 2, directamente unido al átomo de boro, no pudo observarse. Los desplazamientos químicos de los carbonos unidos al átomo de boro no han sido informados en la literatura disponible.

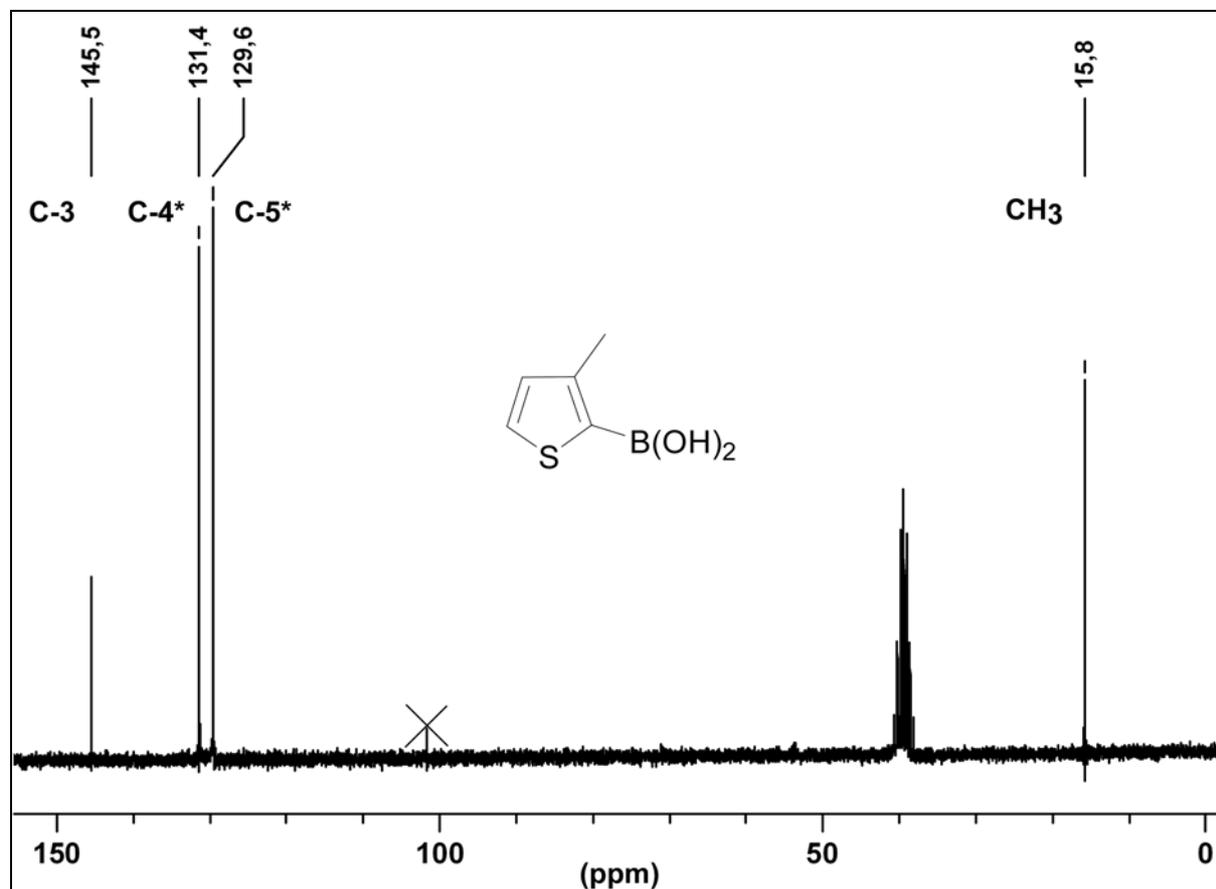
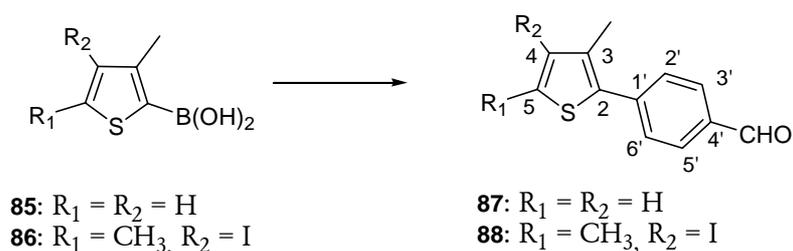


Figura 3.12. Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, DMSO) del compuesto **85**.



Pd(0) o Pd(II) (4%) / 4-bromobenzaldehído (**89**) (1,1 equiv) / Base (2 equiv) /reflujo / 2 horas

Figura 3.13. Acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura

Una vez obtenidos los ácidos borónicos **85** y **86**, se procedió a realizar la reacción de acoplamiento cruzado con 4-bromobenzaldehído variando el catalizador, la base y el solvente (Figura 3.13). El catalizador que se utilizó fue a base de paladio ya sea como Pd(0) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) o

como Pd(II) ($\text{Pd}(\text{AcO})_2/\text{PPh}_3$). La base varió entre Na_2CO_3 y Cs_2CO_3 . Mientras que los solventes empleados fueron THF, *n*-propanol y DME. En la tabla 3.2 se muestran los rendimientos que se obtuvieron en las diferentes condiciones ensayadas.

Tabla 3.2. Acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura entre los compuestos **87** y **88** con (**89**).

Entrada	Compuesto	Catalizador	Base	Solvente	Rto (%)
1	85	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	Na_2CO_3	THF	11
2	85	$\text{Pd}(\text{AcO})_2/\text{PPh}_3$	Na_2CO_3	THF	20
3	85	$\text{Pd}(\text{AcO})_2/\text{PPh}_3$	Na_2CO_3	<i>n</i> -Propanol	28
4	86	$\text{Pd}(\text{AcO})_2/\text{PPh}_3$	Na_2CO_3	THF	-
5	86	$\text{Pd}(\text{AcO})_2/\text{PPh}_3$	Na_2CO_3	DME	4
6	86	$\text{Pd}(\text{AcO})_2/\text{PPh}_3$	CsCO_3	DME	8

Cuando se empleó como catalizador Pd(II) se obtuvieron mejores rendimientos que al utilizar Pd(0) (entradas 1 y 2). Además, mejoró levemente el rendimiento al emplear un solvente de mayor punto de ebullición (entrada 3). En todos los casos en que se utilizó el compuesto **88** (entradas 4-6) los rendimientos resultaron nulos o muy bajos. El compuesto **88** posee un grupo -I, este es descrito en la literatura como un mejor grupo para el acoplamiento que el -Br.⁸ Es posible que los bajos rendimientos se deban a un acoplamiento con el mismo compuesto. Sin embargo, los productos de esta reacción no pudieron caracterizarse adecuadamente como para probar esta afirmación.

Es interesante notar que ambos productos de acoplamiento (**87** y **88**) resultaron fluorescentes. En ccd (en fase normal) poseen igual movilidad que el 4-bromobenzaldehído **89** ($R_f = 0,32$ en hexano/AcOEt 95:5). Se lograron aislar los productos de acoplamiento en fase reversa C18 (MeOH/H₂O 8:2) donde las relaciones de frente resultaron ser 0,49, 0,35 y 0,19 para los compuestos **89**, **87** y **88**, respectivamente.

La asignación de las señales de RMN-¹H correspondientes a los compuestos **87** y **88** se muestran en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Señales de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) correspondientes a los compuestos **87** y **88**.

87	δ	m, J	Área	88	δ	m,	Área
CHO	9,98	sa	1H	CHO	10,01	s	1H
H-3'-H-5'	7,86	d, J = 8,3	2H	H-3'-H-5'	7,89	d, J = 8,5	2H
H2'-H-6'	7,57	d, J = 8,3	2H	H2'-H-6'	7,59	d, J = 8,5	2H
H-5	7,24	d, J = 5,1	1H	CH ₃	2,48	s	3H
H-4	6,91	d, J = 5,1	1H	CH ₃	2,32	s	3H
CH ₃	2,32	s	3H				

Por otra parte, la reacción de acoplamiento con el compuesto **85** resultó mejor aunque también en rendimientos bajos (28%). Para asegurarnos que la reacción de acoplamiento se estaba realizando en condiciones adecuadas, se llevó adelante el acoplamiento con dos ácidos borónicos comerciales, **90** y **92**.

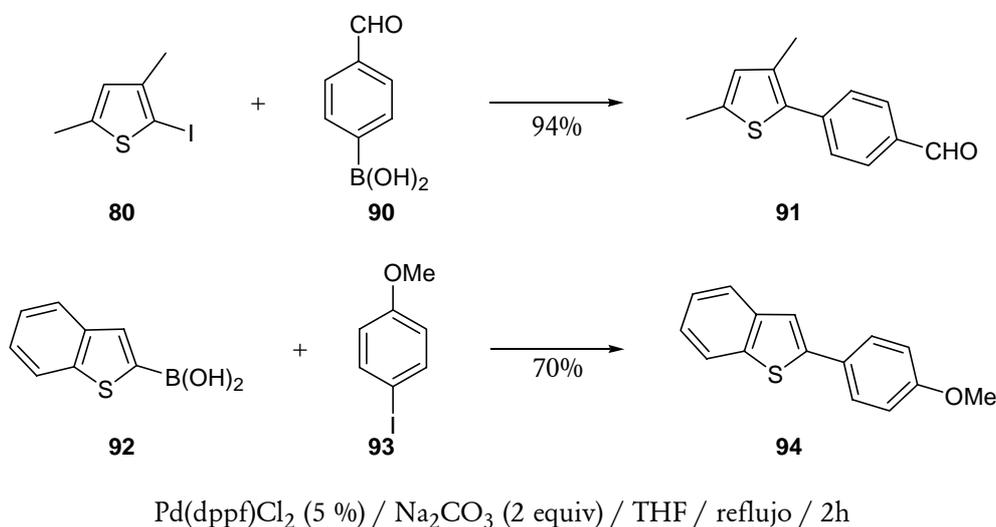


Figura 3.14. Acoplamiento con ácidos borónicos comerciales.

En este caso, los rendimientos fueron de buenos a excelentes (Figura 3.14). Cabe destacar que se utilizó Pd(dppf)Cl_2 como catalizador y como se verá mas adelante este catalizador rindió los mejores resultados. Aún así, consideramos que esta notable diferencia en los rendimientos no se debía únicamente al catalizador sino también posiblemente a estabilidad, y en consecuencia pureza, del ácido borónico utilizado.

El espectro de resonancia magnética del compuesto **91** se muestra en la figura 3.15. Se observaron las señales desprotegidas de los hidrógenos H-3'-H-5' del anillo fenilo a 7,88 ppm y las señales de los hidrógenos H-2'-H-6' aparecieron a 7,59 ppm. Mientras que la señal del hidrógeno 4 del tiofeno apareció a 6,63 ppm.

En la figura 3.16 se muestra el espectro de RMN^1H del compuesto **94**. Se observaron las señales protegidas de los hidrógenos H-3'-H-5' a 6,96 ppm y los hidrógenos H-2'-H-6' aparecieron a 7,65 ppm. Se asignó la señal que aparece a 7,43 ppm al hidrógeno 3 del anillo benzotiofeno.

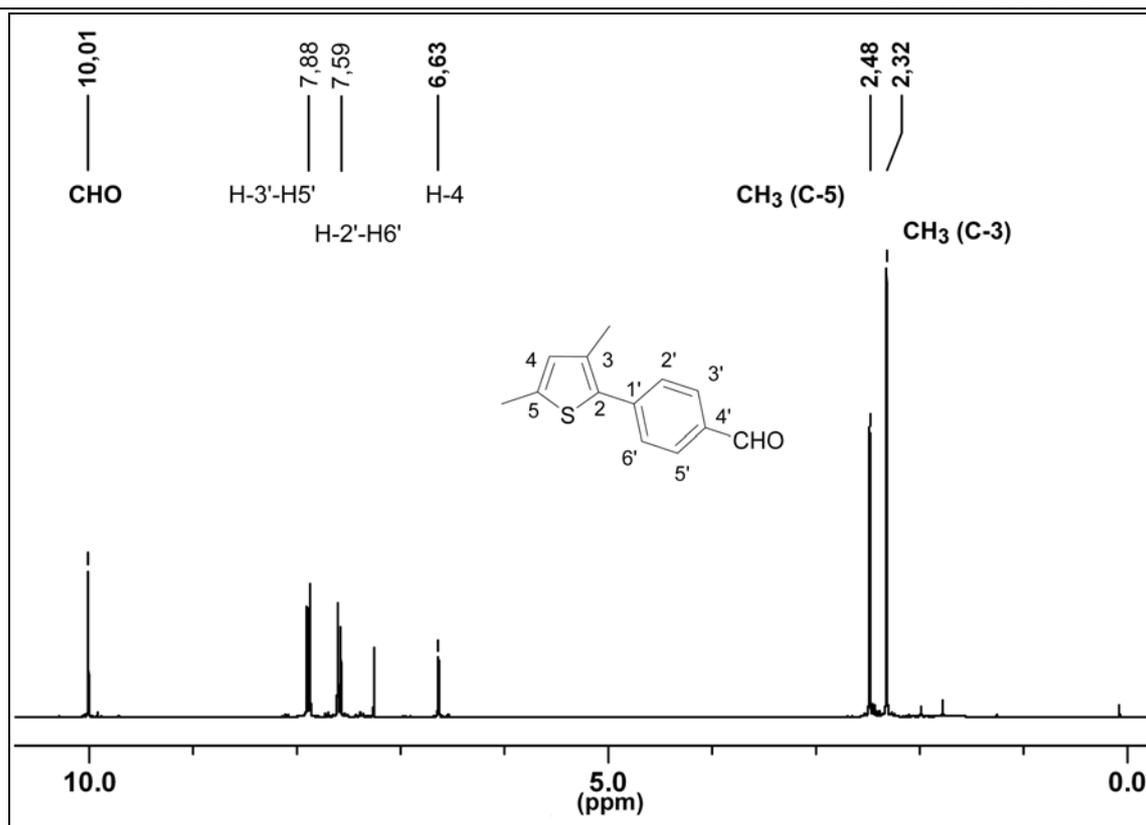


Figura 3.15. Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) del compuesto 91.

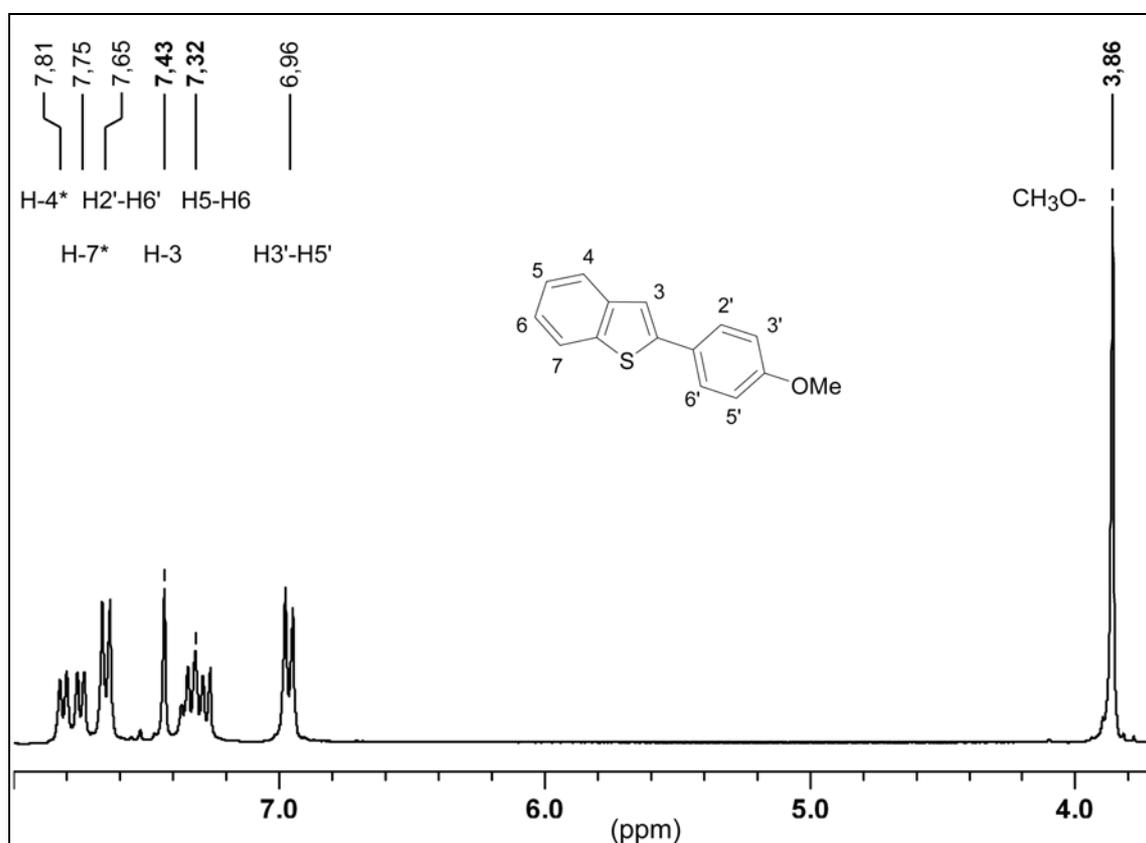
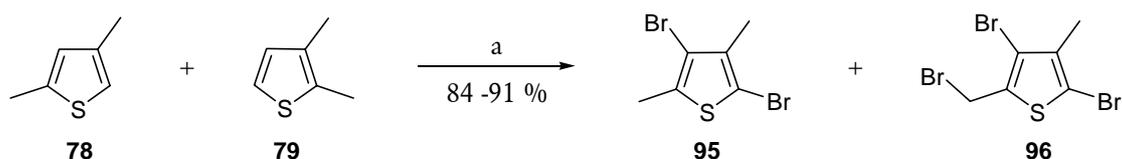


Figura 3.16. Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) del compuesto 94.

Hasta este punto la reacción de acoplamiento presentaba dos dificultades. La primera relacionada con la elección del derivado diiodado, que había sido obtenido en forma suave y limpia pero que luego no permitía obtener productos de acoplamiento. La segunda relacionada con los bajos rendimientos que se obtenían por reacción con ácidos borónicos. Para el primer aspecto se decidió intentar nuevamente la bromación, invirtiendo mayores esfuerzos en la optimización de las condiciones de reacción. Para el segundo aspecto, se consideró realizar el acoplamiento utilizando ésteres borónicos en lugar de ácidos.

3.2.3. Síntesis de unidades de tiofeno bromadas y acoplamiento directo de Suzuki-Miyaura

Como habíamos observado inicialmente, la bromación con bromo en ácido acético daba lugar a reacciones laterales. Cuando esta reacción se repitió a temperatura ambiente se identificó el subproducto **96**. En el espectro de RMN-¹H se observó una señal a 4,60 ppm correspondiente a los hidrógenos metilénicos del compuesto **96**.



a) Br₂ / AcOH o CH₂Cl₂ o THF / 0 °C o 5 °C o t.a.

Figura 3.17. Bromación de dimetilthiofeno.

Luego se intentó variar la temperatura y se realizó la reacción a 5 °C. También, se probó la reacción con CH₂Cl₂ y THF a 0 °C y a t.a. Las mejores condiciones resultaron cuando la reacción se llevó a cabo a baja temperatura (Tabla 3.4)

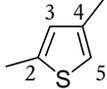
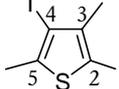
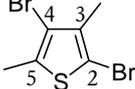
Tabla 3.4. Condiciones de bromación ensayadas.

Entrada	Solvente	Temperatura	Rendimiento
1	-	t.a.	4 % (96%) ²⁰
2	AcOEt	t.a.	50 % (65%) ²¹
3	AcOEt	5 °C	91%
4	CH ₂ Cl ₂	0 °C	88%
5	THF	0 °C	84%

Un detalle importante fue realizar el agregado de la solución de bromo en el solvente correspondiente muy lentamente (entre 30 minutos y 1 hora). Mediante sucesivos controles se

determinó la duración de la reacción. Los controles fueron analizados por cromatografía gas líquido como se describió anteriormente para la iodación. Siempre que la reacción se realizó entre 0-5 °C, la misma se completó a las 4-5 horas de iniciada la adición.

Tabla 3.5 Asignación de las señales protónicas de los metilos y los carbonos para los compuestos **78**, **82** y **95**.

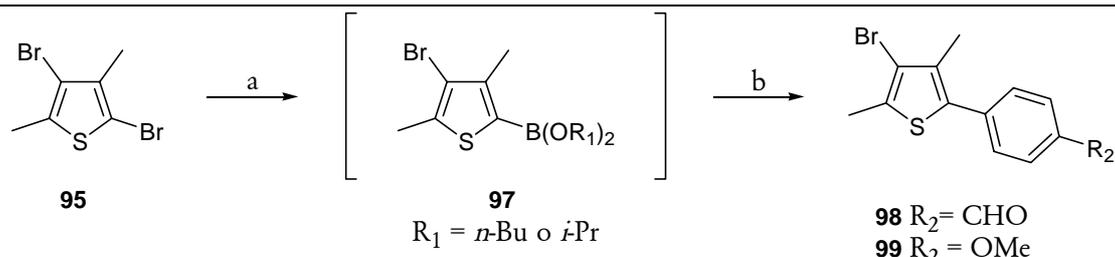
					
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
2,45	CH ₃ (2)	2,41	CH ₃ (5)	2,34	CH ₃ (5)
2,20	CH ₃ (4)	2,29	CH ₃ (3)	2,17	CH ₃ (3)
139,5*	C-2	143,2	C-5	133,9	C-5
127,6	C-3	84,9	C-4	111,3	C-4
137,5*	C-4	143,6	C-3	136,2	C-3
118,1	C-5	68,3	C-2	104,5	C-2

(*) Estas señales son intercambiables.

En la tabla 3.5 se muestran las asignaciones de los espectros de resonancia de hidrógeno y carbono para los compuestos **78**, **92** y **95**. Las señales metílicas no varían apreciablemente entre los tres compuestos. Sin embargo, es interesante notar que los carbonos unidos a halógeno sufren desplazamientos importantes respecto del compuesto sin halogenar, (C-4: -42,7 ppm y C-2: -49,8 ppm para el compuesto **82** y C-4: -16,3 ppm y C-2: -13,6 ppm para el compuesto **95**).

El derivado borado se generó con *n*-butil litio y posterior agregado de B(*i*OPr)₃ o B(*n*OBu)₃. Luego, la solución del compuesto **97** se acopló a 4-bromobenzaldehído (**89**) y 4-iodoanisól (**93**) por dos métodos (Figura 3.18). Método A: se agregó el haluro de arilo a la solución del compuesto **97** que contenía catalizador y base. Método B: la solución del compuesto **97** se agregó al haluro de arilo que contenía catalizador, base y etilenglicol como cosolvente.²²

En la tabla 3.6 pueden observarse los resultados obtenidos para la reacción de acoplamiento del compuesto **95** y un haluro de arilo (**89** o **93**) por el método A y B y variando el catalizador y el borato. En este caso, los catalizadores de paladio utilizados fueron Pd(0)(PPh₃)₄ y Pd(II)(dppf)Cl₂.



a) i) $n\text{-BuLi}$ / THF / $-78\text{ }^\circ\text{C}$ ii) $\text{B}(i\text{OPr})_3$ o $\text{B}(n\text{OBu})_3$ b) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ o $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ / Na_2CO_3 / haluro de arilo / $65\text{ }^\circ\text{C}$

Figura 3.18. Acoplamiento directo

Cuando se generó el derivado borado con $\text{B}(i\text{OPr})_3$ y posteriormente se realizó la reacción de acoplamiento por el método A, entrada 1, utilizando con $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ como catalizador el rendimiento fue del 11%, en 6 horas de reacción. Al aumentar el tiempo de reacción a 19 horas, el rendimiento también aumentó al 36 % (entrada 2). Cuando se utilizó el método B se obtuvo un mejor rendimiento aún con sólo 6 horas de reacción (entrada 3). Los rendimientos hasta aquí obtenidos resultaron comparables con los obtenidas anteriormente para el compuesto **86**. En este punto, se decidió comparar la reacción en las mismas condiciones planteadas en la entrada 3 utilizando como reactivo de partida el compuesto **82**, no obteniéndose producto de acoplamiento (dato no mostrado). Esto nos confirma que el compuesto diiodado no resultaba útil como reactivo de partida para la reacción de acoplamiento deseada. Una alternativa puede ser realizar la reacción de acoplamiento con un tiofeno mono-iodado y posteriormente iodar la posición 4 del tiofeno pero esto conduciría a varios pasos más de reacción con el consecuente tiempo que esto lleva y la disminución de rendimiento final.

Tabla 3.6. Condiciones ensayadas para el acoplamiento de **95** con haluros de arilo.

Entrada	Método	B(OR) ₃	Catalizador	Haluro de arilo	Tiempo (h)	Rto (%)
1	A	$\text{B}(i\text{OPr})_3$	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	89	6	11
2	A	$\text{B}(i\text{OPr})_3$	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	89	19	36
3	B	$\text{B}(i\text{OPr})_3$	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	89	6	23
4	B	$\text{B}(n\text{OBu})_3$	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	89	5	62
5	B	$\text{B}(n\text{OBu})_3$	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	89	5	49
6	A	$\text{B}(i\text{OPr})_3$	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	93	5	45
7	B	$\text{B}(i\text{OPr})_3$	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	93	5	40
8	B	$\text{B}(n\text{OBu})_3$	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	93	5	57

Cuando se utilizó $B(n\text{OBu})_3$ para generar el compuesto borado y luego se realizó la reacción de acoplamiento por el método B (que como discutimos daba lugar a mejores resultados), el rendimiento aumentó al 62% (entrada **4**). Esto se corresponde con una mayor reactividad del trialcoxiborato. Cuando se cambió el catalizador por $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ se observó una disminución en el rendimiento (entrada **5**).

Cuando se realizó la reacción de acoplamiento con 4-iodoanisol como haluro de arilo los rendimientos fueron semejantes ya sea por el método A o el B (entradas **6** y **7**, respectivamente). Y se logró el mejor rendimiento 57%, entrada **8**, cuando se generó el compuesto borado con $B(n\text{OBu})_3$ al igual que cuando se utilizó el 4-bromobenzaldehído.

El compuesto **98** fue analizado por resonancia magnética nuclear. La señal protónica que aparece a 7,92 ppm (2H, d, $J = 8$ Hz) se asignó a los H-3' y 5' del anillo aromático, corrimiento a campos bajos producido por el carbonilo vecino sustituido en posición 4. Mientras que la señal a 7,57 ppm (2H, d, $J = 8$ Hz) se asignó a los H-2' y 6' del anillo aromático. Los metilos que aparecen a 2,45 y 2,31 se asignaron a los correspondientes metilos sustituyentes del tiofeno en posición 2 y 4. Estas asignaciones se corresponden con los desplazamientos ya observados para estos metilos en los compuestos **78**, **82** y **95** (ver tabla 3.5) y a las correlaciones observadas en el espectro HMBC.

Tabla 3.7. Asignación de las señales de RMN- ^{13}C correspondientes al compuesto **98**.

Asignación	δ (ppm)	APTC	HSQC	HMBC
C-2	133,9	C		2,45
C-3	114,4	C		2,31 / 2,45
C-4*	134,2	C		2,31
C-5*	133,1	C		2,31
C-1'	140,6	C		7,92
C-2' y C-6'	129,2	CH	7,57	7,92
C-3' y C-5'	130,0	CH	7,92	7,57/ 10,03
C-4'	134,9	C		10,03 /7,57
C=O	191,6	CH	10,03	7,92
$\text{CH}_3(\text{C-2})$	15,3	CH_3	2,45	
$\text{CH}_3(\text{C-4})$	15,9	CH_3	2,31	

(*) Estas señales son intercambiables

Basados en el análisis de los espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C , HSQC y HMBC se realizaron las siguientes asignaciones: la señal a 191,6 ppm se asignó al C carbonílico con su correspondiente señal de hidrógeno a 10,03 ppm (Tabla 3.7). La señal a 134,9 ppm se

asignó a C-4' del anillo aromático dada su correlación a larga distancia con H aldehídico y los H-2' y 6'. La señal a 140,6 ppm correspondió al C-1' por su correlación a larga distancia con los H-3' y 5'. Mientras que la señal a 114,4 ppm se asignó al C-3 del tiofeno por su correlación con los hidrógenos metílicos en posición 2 y 4 y por su valor de desplazamiento químico que se corresponde a un carbono sustituido con un átomo de bromo (Figuras 3.19 y 3.20).

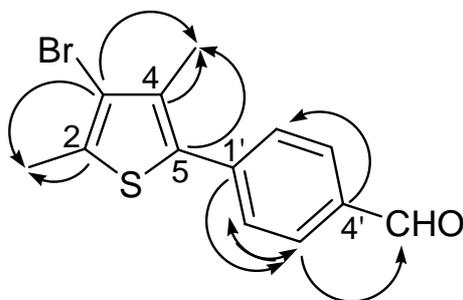


Figura 3.19. Esquema de correlaciones a larga distancia para el compuesto 98.

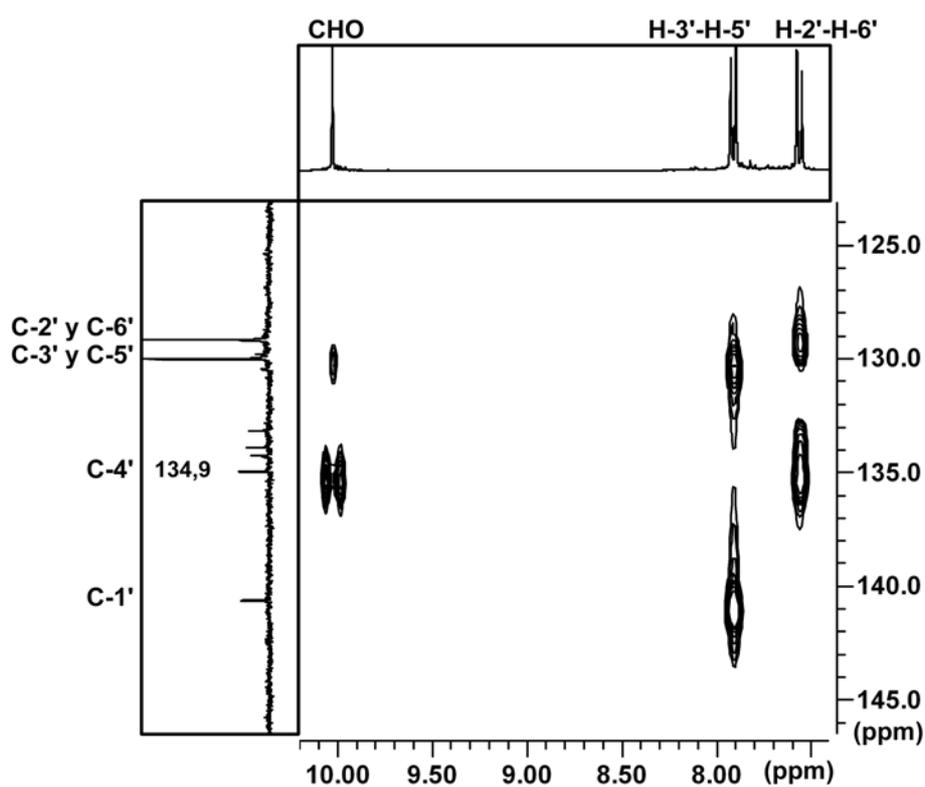


Figura 3.20. Sección del espectro de correlación HMBC para el compuesto 98.

En el caso del compuesto 99, realizando el mismo análisis se observó que la señal protónica que aparece a 6,94 ppm (2H, d, $J = 8$ Hz) se asignó a los H-3' y 5' del anillo aromático, corrimiento a campos altos producido por grupo metoxilo vecino sustituyente en posición 4. Mientras que la señal a 7,32 ppm (2H, d, $J = 8$ Hz) se asignó a los H-2' y 6' del anillo aromático. Los metilos que aparecen a 2,42 y 2,24 se asignaron a los correspondientes

metilos sustituyentes del tiofeno en posición 2 y 4, respectivamente. El metilo CH_3O - se asignó a la señal a 3,84 ppm.

La asignación de los carbonos del compuesto **99** se completó basándonos en los espectros de ^{13}C , APTC, HSQC, HMBC y se muestra en la tabla 3.8. La señal a 113,4 ppm se atribuyó al C-3 del tiofeno dada su doble correlación a 3 enlaces con los hidrógenos metílicos de C-2 y C-4 y porque su valor es similar a los compuestos **95** y **98**. Mientras que la señal a 131,7 ppm se asignó a los C-2 y C-4. La señal que aparece a 134,4 ppm, por su doble correlación a tres enlaces con los hidrógenos metílicos a 2,24 ppm y los hidrógenos aromáticos a 7,32 ppm, se atribuyó al C-5 del tiofeno (Figura 3.22). El C-1' se asignó a la señal que aparece a 126,9 ppm. Mientras el C-4' a la correspondiente a 159,0 ppm dada su correlación a 2 y 3 enlaces con las señales a 3,84, 7,32 y 6,94 ppm (Figura 3.21) y por su valor de desplazamiento químico que nos indica la proximidad a un átomo electronegativo como el oxígeno.

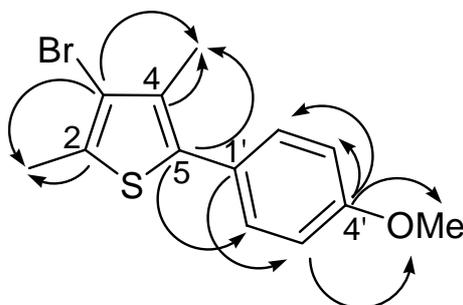


Figura 3.21. Esquema de correlaciones a larga distancia para el compuesto **99**.

Tabla 3.8. Asignación de las señales de RMN- ^{13}C correspondientes al compuesto **99**.

Asignación	δ (ppm)	APTC	HSQC	HMBC
C-2 y C-4	131,7	C		2,24 / 2,42
C-3	113,4	C		2,24 / 2,42
C-5	134,4	C		7,32 / 2,24
C-1'	126,9	C		6,94
C-2' y C-6'	130,2	CH	7,32	
C-3' y C-5'	114,0	CH	6,94	
C-4'	159,0	C		3,84 / 7,32 / 6,94
$\text{CH}_3(\text{C-2})$	15,1	CH_3	2,42	
$\text{CH}_3(\text{C-4})$	15,4	CH_3	2,24	
$\text{CH}_3\text{-O}$	55,3	CH_3	3,84	

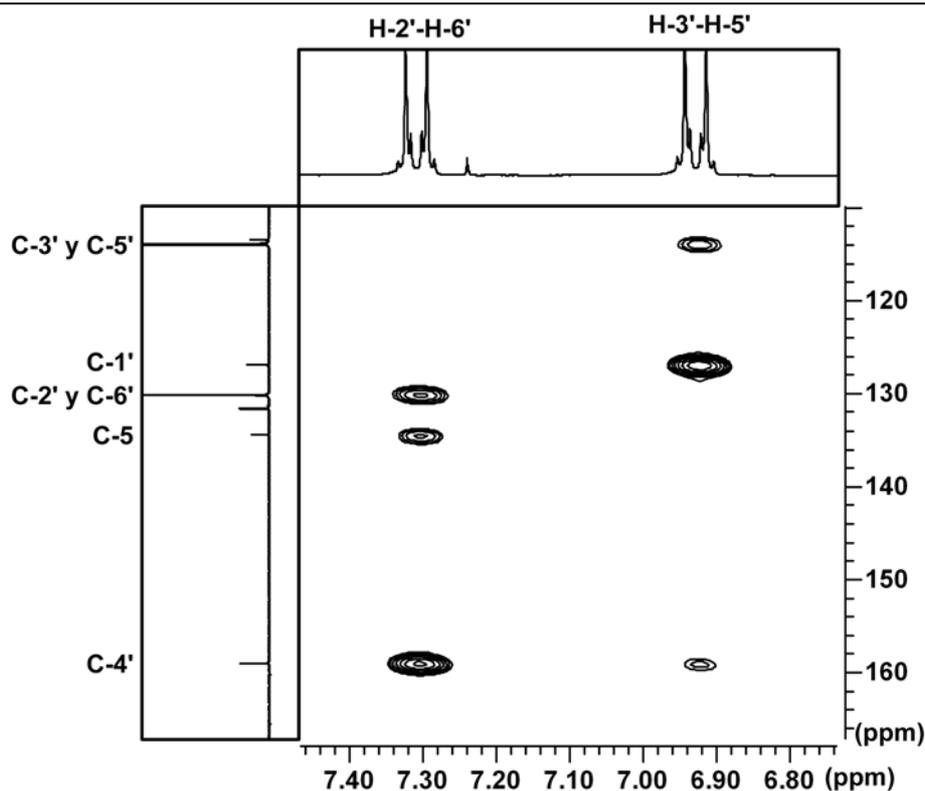


Figura 3.22. Sección del espectro de correlación HMBC para el compuesto **99**.

Por consiguiente, se obtuvieron ambos productos de acoplamiento **98** y **99** con rendimientos moderados. Estos compuestos se utilizaron en el paso siguiente para la construcción de diheteroariletos asimétricos.

3.3. SÍNTESIS DE DIHETEROARILETENOS ASIMÉTRICOS

A partir del derivado litiado de los productos de acoplamiento **98** y **99** se generaron los correspondientes diheteroariletos. Previamente, el aldehído del compuesto **98** se protegió con etilenglicol generándose el acetal **100** (Figura 3.23). Este último se utilizó sin una posterior purificación.

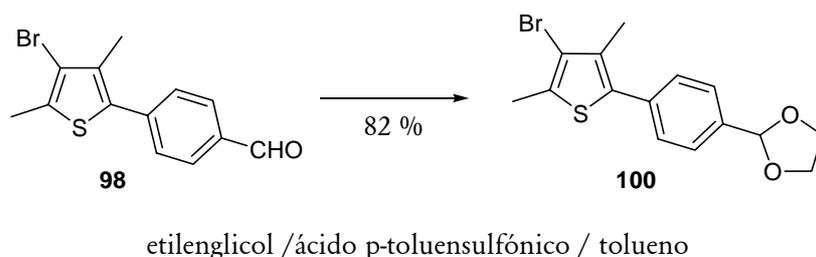
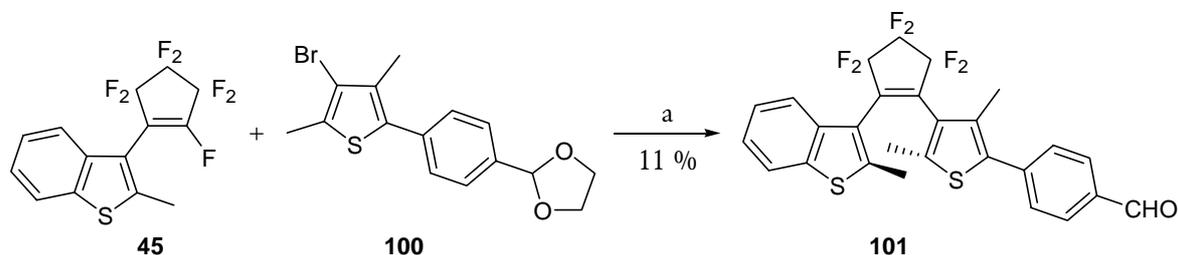


Figura 3.23. Protección el carbonilo del compuesto **100**.

El compuesto fotocromico **101** se obtuvo por reacción del derivado litiado del compuesto **100** con el compuesto hemi-sustituido **45**. El rendimiento de este paso de reacción resultó del 11 % (Figura 3.24).



a) i) n-BuLi / THF / -78 °C ii) **45** / THF / -78 °C 2h → t.a.

Figura 3.24. Obtención del compuesto fotocromico **101**.

El compuesto **101** presentó dos conformeros. En la región alifática del espectro de RMN-¹H, que se muestra la figura 3.25, pueden observarse 6 señales metílicas correspondientes a los dos atropoisómeros. En este caso la proporción de isómeros antiparalelo/paralelo fue de 1:1. Las señales que aparecen a campos bajos en 1,96 y 2,21 ppm se atribuyeron a los metilos de C-2 y C-2'', respectivamente, del atropoisómero antiparalelo. Mientras que la señal a 2,24 ppm se asignó al metilo de C-4 del isómero paralelo porque en esa conformación el metilo se encontraría protegido por el anillo de benzotiofeno. La señal a campos altos en 2,50 ppm se asignó al metilo de C-2'' por su similitud con el diheteroariletano simétrico **42** (Tabla 3.9).

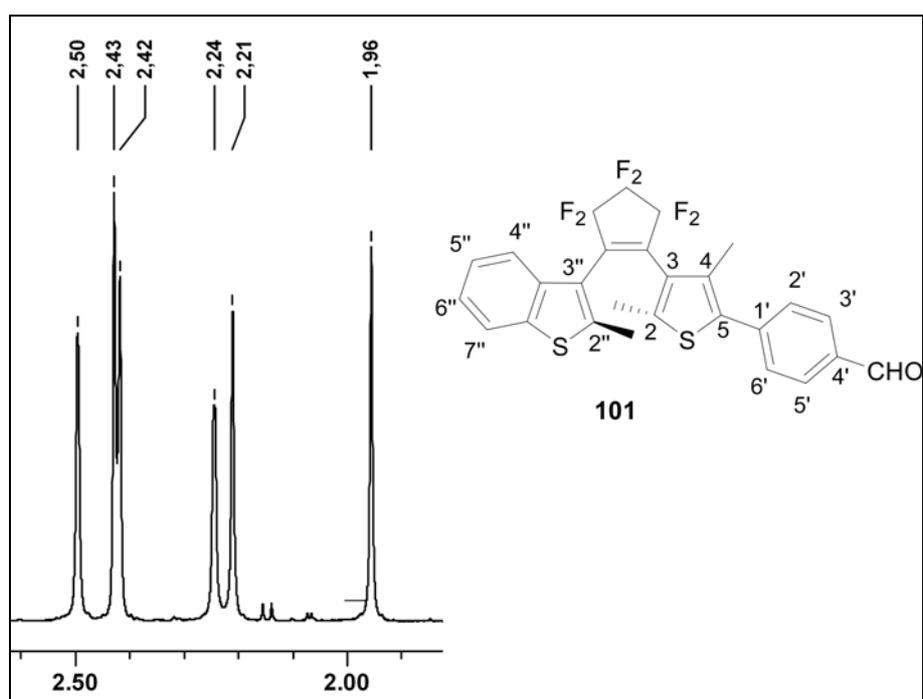


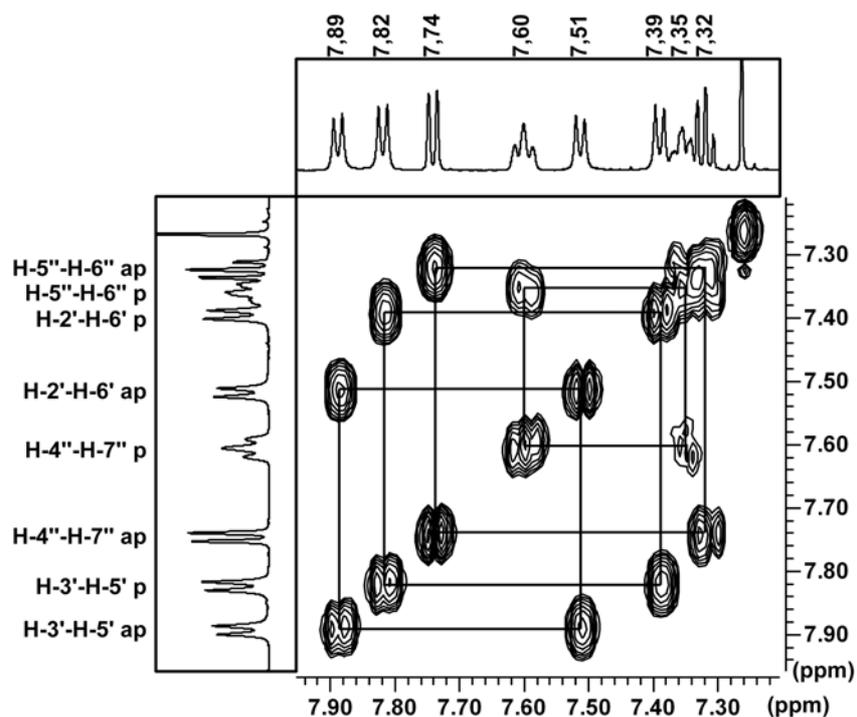
Figura 3.25. Región alifática del espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) del compuesto **101**.

Tabla 3.9. Asignación de las señales protónicas del compuesto **101**.

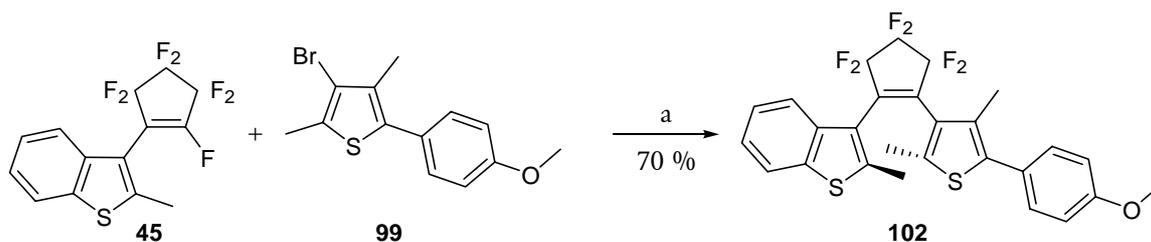
Asignación	δ (ppm)	Área	Multiplicidad	J (Hz)	COSY
CHO ap*	10,02	1	s		
CHO p*	9,97	1	s		
H-3' y H-5' ap	7,89	2	d	8,1	7,51
H-3' y H-5' p	7,82	2	d	8,1	7,39
H-4'' y H-7'' ap	7,74	2	d	7,9	7,32
H-4'' y H-7'' p	7,60	2	2 d	8/8	7,35
H-2' y H-6' ap	7,51	2	d	8,1	7,89
H-2' y H-6' p	7,39	2	d	8,1	7,82
H-5'' y H-6'' p	7,35	2	2 d	7/7	7,60
H-5'' y H-6'' ap	7,32	2	ddd	7,6/7,5/1	7,74
CH ₃ (C-2'') p	2,50	3	s		
CH ₃ (C-4) ap**	2,43	3	s		
CH ₃ (C-2) p**	2,42	3	s		
CH ₃ (C-4) p	2,24	3	s		
CH ₃ (C-2'') ap	2,21	3	s		
CH ₃ (C-2) ap	1,96	3	s		

(*), (**). Estas señales son intercambiables.

En la figura 3.26 se muestra una sección del espectro COSY correspondiente a la parte de las señales aromáticas del compuesto **101**.

**Figura 3.26.** Espectro COSY (300 MHz, CDCl₃) del compuesto **101**.

A partir del derivado litiado del compuesto **99** y el compuesto **45** se obtuvo el compuesto fotocromico asimétrico **102**. Este compuesto ha sido sintetizado por primera vez en esta tesis. Es interesante destacar que la ruta sintética aplicada para la obtención de **101** y **102** ha sido similar y los rendimientos obtenidos hasta el paso previo a su síntesis han resultado comparables. Sin embargo, el rendimiento alcanzado para la obtención del compuesto **102** ha resultado notablemente superior respecto del compuesto **101**. Este hecho se debe posiblemente a que el compuesto **100** se utilizó sin purificación.



a) i) n-BuLi / THF / -78 °C ii) **45** / THF / -78 °C 2h -> t.a.

Figura 3.27. Obtención del compuesto fotocromico **102**.

El extremo metoxilo del diheteroarileno asimétrico **102** puede utilizarse, como se ha planteado en el capítulo 2, para la obtención de un éster succinimídilo que se conjuga con biomoléculas.

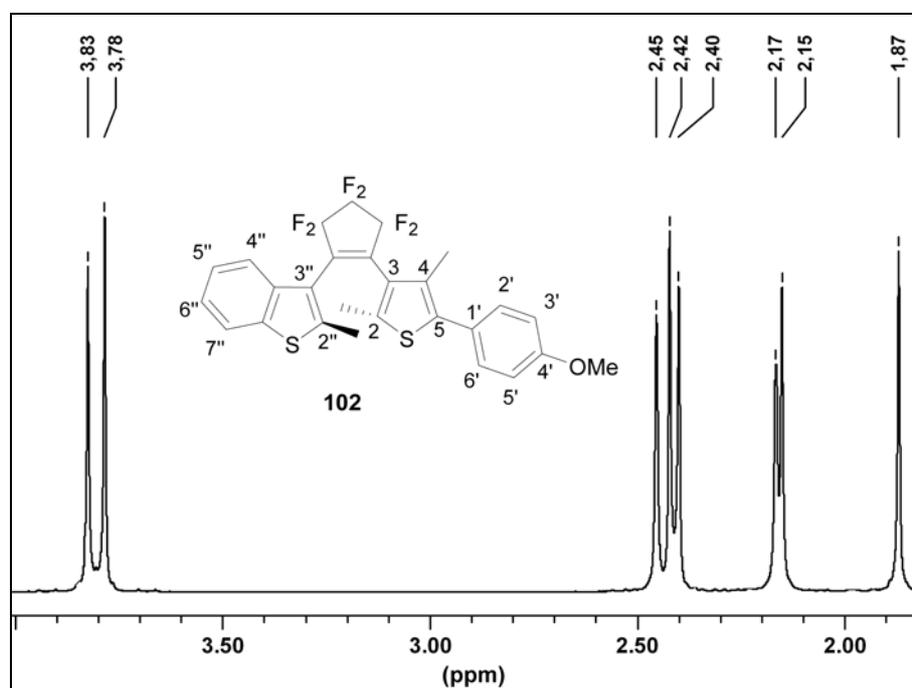


Figura 3.28. Región alifática del espectro de RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) del compuesto **102**.

Nuevamente, el compuesto **102** se presenta como dos conformeros paralelo/antiparalelo en una relación molar de 1:1. En el espectro de RMN-¹H se observan 8 señales alifáticas, dos de ellas corresponden a los metoxilos de ambos conformeros y las otras 6 a los metilos unidos a los anillos de tiofeno y benzotiofeno (Figura 3.28). Para completar las asignaciones de ambas conformaciones, mostradas en la tabla 3.10, se realizó un espectro COSY. La región aromática del mismo se muestra en la figura 3.29. Los hidrógenos 3' y 5' de ambos conformeros se asignaron a las señales que aparecen a 6,84 y 6,91 ppm por correlación se asignaron los H-2' y H-6' a las señales que aparecen a 7,14 y 7,26 ppm, respectivamente. Estos valores en los desplazamientos químicos son consistentes con los obtenidos para el compuesto **99**. Las señales a campos más bajos se atribuyeron a la conformación antiparalela (6,91 y 7,26 ppm). Los hidrógenos aromáticos del anillo benzotiofeno se asignaron a las señales que aparecen entre 7,31 y 7,73 ppm. Los H-4' y H7' del conformero antiparalelo se asignaron a la señal que aparece a campos bajos a 7,73 ppm mientras que los H-4' y H7' del conformero paralelo se atribuyeron a la señal a 7,61 ppm. Basados en el espectro de correlación COSY se asignaron los H-5' y 6' para el conformero paralelo y antiparalelo a las señales que aparecen a 7,34 ppm y 7,31 pmm, respectivamente.

Tabla 3.10. Asignación las señales protónicas del compuesto **102**.

Asignación	δ (ppm)	Área	Multiplicidad	J (Hz)	COSY
H-4'' y H-7'' ap	7,73	2	d	7,8	7,31
H-4'' y H-7'' p	7,61	2	d	7,9	7,34
H-5'' y H-6'' p	7,34	2	m		7,61
H-5'' y H-6'' ap	7,31	2	m		7,73
H-2' y H-6' ap	7,26	2	d	8,4	6,91
H-2' y H-6' p	7,14	2	d	8,5	6,84
H-3' y H-5' ap	6,91	2	d	8,4	7,24
H-3' y H-5' p	6,84	2	d	8,5	7,14
CH ₃ O- ap*	3,83	3	s		
CH ₃ O- p*	3,78	3	s		
CH ₃ (C-2'') p**	2,45	3	s		
CH ₃ (C-4) ap**	2,42	3	s		
CH ₃ (C-2) p**	2,40	3	s		
CH ₃ (C-4) p***	2,17	3	s		
CH ₃ (C-2'') ap***	2,15	3	s		
CH ₃ (C-2) ap	1,87	3	s		

(*), (**), (***) Estas señales son intercambiables.

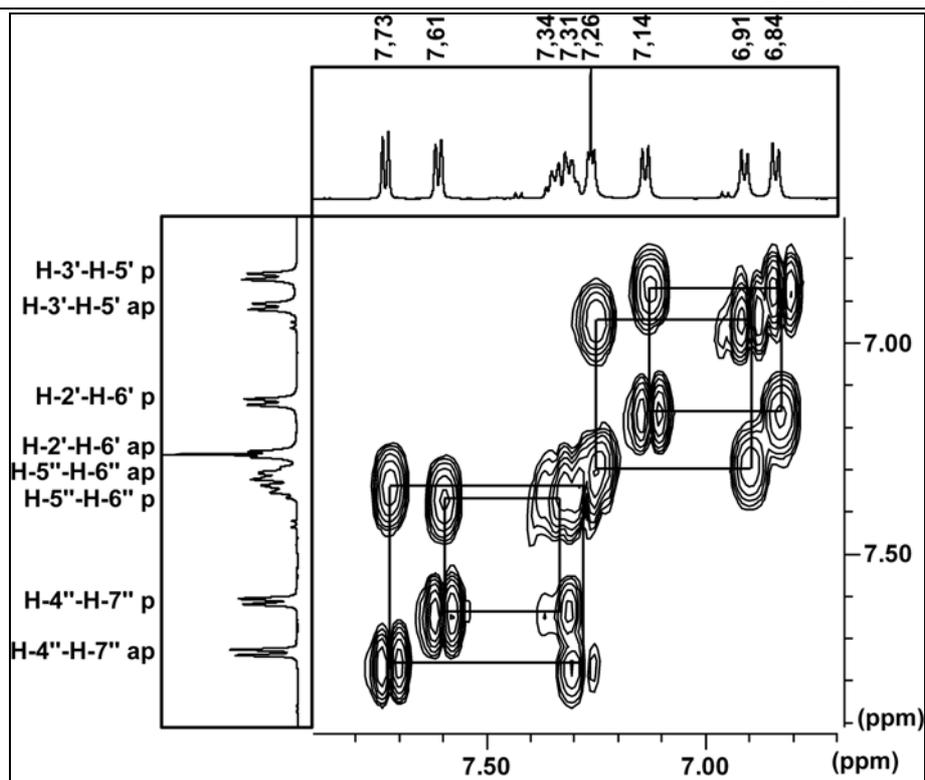
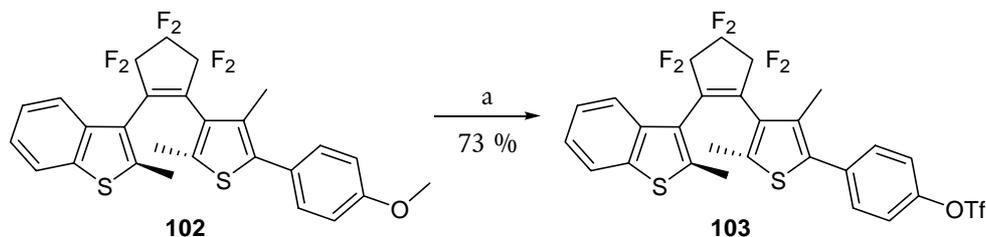


Figura 3.29. Espectro COSY (600 MHz, CDCl_3) del compuesto **102**.

El compuesto **102** fue sometido a desprotección del metiléter²³ y la posterior activación del fenol como el triflato **103** (Figura 3.30). El derivado **103** ha sido preparado para en posteriores acoplamiento C-C y para su activación como éster succinimídilo.



a) i) $\text{BBr}_3 / \text{CH}_2\text{Cl}_2 / -30\text{ }^\circ\text{C}$ (84%) ii) $\text{Tf}_2\text{O} / \text{Py} / \text{CH}_2\text{Cl}_2 / 0\text{ }^\circ\text{C}$ (87%)

Figura 3.30. Obtención de trifluorometansulfonato **103**.

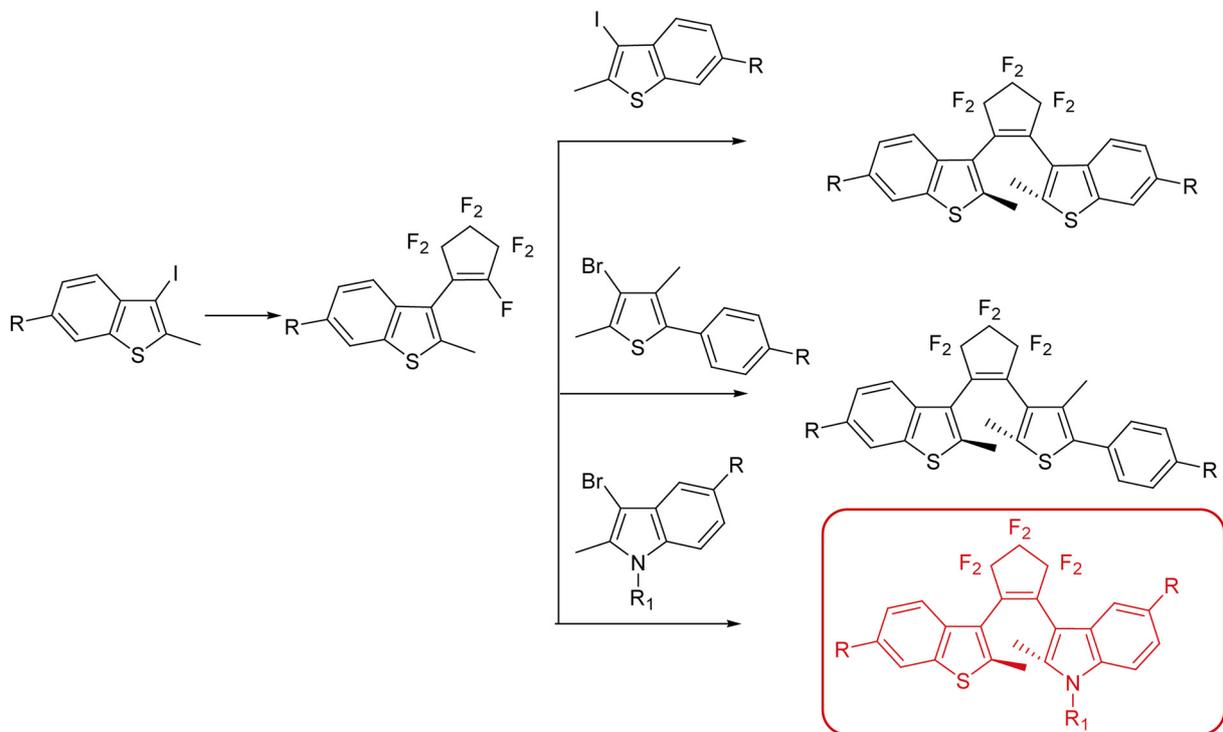
En conclusión, en este capítulo se sintetizaron dos diheteroariltenos asimétricos con diferentes grupos funcionales en el anillo fenilo a partir de adecuadas unidades de tiofeno. Los pasos de síntesis de estas unidades se optimizaron de manera tal de obtener rendimientos buenos. Posteriormente, el acoplamiento con el perfluorociclopenteno hemi-sustituido rindió los diheteroariltenos asimétricos buscados. Ambos compuestos **101** y **102**, resultan útiles para su unión con otras moléculas.

3.4. REFERENCIAS

1. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of silsesquioxanes having photochromic diarylethene pendant groups. *Macromol. Rapid Comm.*, **18**, 8, 625 (1997).
2. Abe, S., Uchida, K., Yamazaki, I., and Irie, M., Fatigue-resistance property of diarylethene lb films in repeating photochromic reaction. *Langmuir*, **13**, 20, 5504 (1997).
3. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of polystyrene and poly(alkyl methacrylate)s having photochromic dithienylethene pendant groups. *Polym. J.*, **30**, 12, 985 (1998).
4. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of silsesquioxanes having photochromic dithienylethene pendant groups. *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 4, 683 (1999).
5. Yamaguchi, T., Nakazumi, H., Uchida, K., and Irie, M., Photochromism of a chiral cyclohexane having two diarylethene chromophores. A large optical rotation change. *Chem. Lett.*, **7**, 653 (1999).
6. Higashiguchi, K., Matsuda, K., Yamada, T., Kawai, T., and Irie, M., Fatigue mechanism of photochromic 1,2-bis(3-thienyl)perfluorocyclopentene. *Chem. Lett.*, **12**, 1358 (2000).
7. Irie, M., Lifka, T., Uchida, K., Kobatake, S., and Shindo, Y., Fatigue resistant properties of photochromic dithienylethenes: By-product formation. *Chem. Comm.*, **8**, 747 (1999).
8. Suzuki, A., *Cross-coupling reactions of organoboron compounds with organic halides*, in *Metal-catalyzed cross-coupling reactions*, F. Diederich and P.J. Stang, Editors. Wiley-VCH, Weinheim. 49 (1998)
9. Miyaura, N. and Suzuki, A., Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. *Chem. Rev.*, **95**, 7, 2457 (1995).
10. Aliprantis, A.O. and Canary, J.W., Observation of catalytic intermediates in the suzuki reaction by electrospray mass-spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 15, 6985 (1994).
11. Miyaura, N., Yamada, K., and Suzuki, A., New stereospecific cross-coupling by the palladium-catalyzed reaction of 1-alkenylboranes with 1-alkenyl or 1-alkynyl halides. *Tetrahedron Lett.*, **36**, 3437 (1979).

-
12. Miyaura, N., Yamada, K., Suginome, H., and Suzuki, A., Novel and convenient method for the stereospecific and regioselective synthesis of conjugated alkenes and alkynes via the palladium-catalyzed cross-coupling reaction of 1-alkenylboranes with bromoalkenes and bromoalkynes. *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 4, 972 (1985).
 13. Suzuki, A., Synthetic studies via the cross-coupling reaction of organoboron derivatives with organic halides. *Pure Appl. Chem.*, **63**, 3, 419 (1991).
 14. Suzuki, A., New synthetic transformations via organoboron compounds. *Pure Appl. Chem.*, **66**, 2, 213 (1994).
 15. Suzuki, A., Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles, 1995-1998. *J. Organomet. Chem.*, **576**, 1-2, 147 (1999).
 16. Gilchrist, T.L., Ring-opening of 5-membered heteroaromatic anions. *Adv. Heterocycl. Chem.*, **41**, 41 (1987).
 17. Lide, D.R., ed. Handbook of chemistry and physics 1999-2000. 80th ed., CRC Press (2000).
 18. Ramanathan, V. and Levine, R., Alkylation and arylation of 2-thienyllithium and reactions of 3-methylthiophene with organometallic compounds. *J. Org. Chem.*, **27**, 5, 1667 (1962).
 19. Gilat, S.L., Kawai, S.H., and Lehn, J.M., Light-triggered molecular devices - photochemical switching of optical and electrochemical properties in molecular wire type diarylethene species. *Chem. Eur. J.*, **1**, 5, 275 (1995).
 20. Takeshita, M. and Tashiro, M., Synthesis of hydrophenaleno 1,9-bc thiophenes and 2-metacyclo 2 (2,4)thiophenophane. *J. Org. Chem.*, **57**, 2, 746 (1992).
 21. Irie, M., Sakemura, K., Okinaka, M., and Uchida, K., Photochromism of dithienylethenes with electron-donating substituents. *J. Org. Chem.*, **60**, 25, 8305 (1995).
 22. Lucas, L.N., van Esch, J., Kellogg, R.M., and Feringa, B.L., A new synthetic route to symmetrical photochromic diarylperfluorocyclopentenes. *Tetrahedron Lett.*, **40**, 9, 1775 (1999).
 23. McOmie, J.F.W., Watts, M.L., and West, D.E., Demethylation of aryl methyl ethers by boron tribromide. *Tetrahedron*, **24**, 5, 2289 (1968).

CAPÍTULO 4



DERIVADOS DE INDOL

Los diheteroariletos que poseen grupos indol o pirrol a ambos lados del puente ciclopenteno (Figura 4.1) producen isómeros cerrados que además de la isomerización provocada por reacción con la luz, dan lugar a una apertura por un mecanismo térmico, o sea, son térmicamente inestables. Cuando se reemplaza uno de los grupos indol o pirrol por un grupo furano, tiofeno o benzotiofeno, el isómero cerrado del diheteroariletos asimétrico se convierte en térmicamente estable.

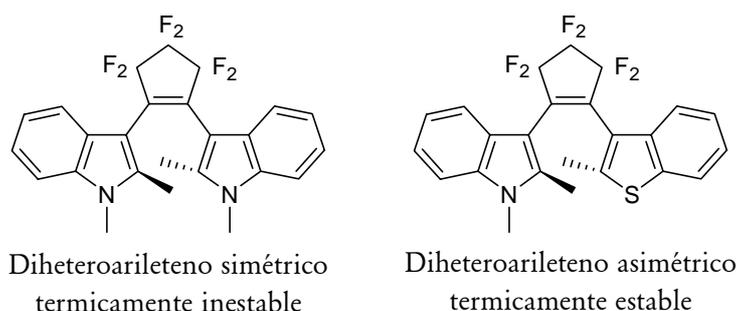


Figura 4.1. DHAE que poseen grupos indol.

Irie y sus colaboradores han publicado la síntesis de dos derivados de hexafluorociclopenteno y cinco derivados de anhídrido maleico de 1-metilindol.¹⁻³ Los compuestos fotocromicos resultantes muestran interesantes propiedades ópticas (sus formas cerradas exhiben corrimientos al rojo respecto a los correspondientes diheteroariletos simétricos con anillos de benzotiofeno) las cuales, en principio, los hacen posibles candidatos como aceptores de transferencia de energía para una variedad de donantes fluorescentes. Es interesante destacar que los derivados de anhídrido maleico y maleimida disminuyen su grado de conversión con el incremento de la polaridad del solvente.^{4, 5} Este hecho limita su utilidad en medios acuosos. Contrariamente, no se ha observado dependencia con la polaridad del solvente para los derivados de hexafluorociclopenteno.

Los derivados indólicos informados hasta el momento de comenzar esta tesis¹ presentan al átomo de nitrógeno metilado. Sin embargo, los derivados indólicos ofrecen la posibilidad de preparar sustituyentes funcionalizados en el átomo de nitrógeno. Dada la acidez del enlace NH, usualmente este es sustituido durante la litiación (paso necesario para la unión al puente ciclopenteno). Por lo tanto, la estrategia elegida para introducir el sustituyente reactivo en el átomo de nitrógeno, utiliza un grupo protector durante las reacciones de preparación del diheteroariletos.

Como ya hemos discutido, en la estrategia sintética que utilizamos, los diheteroariletos se obtienen mediante una reacción nucleofílica de un heteroarillitio sobre octafluorociclopenteno seguida de la eliminación del átomo de flúor.⁶ El derivado indólico que

utilizamos posee la posición 2 metilada mientras que la posición 3 es reactiva frente a la adición nucleofílica vinílica (Figura 4.2). El derivado indólico litiado en posición 3 no puede obtenerse por metalación directa. En consecuencia, encaramos la obtención de las especies heteroarillitio por reacción de intercambio halógeno-litio de los 3-haloindoles *N*-protegidos. Generalmente, la funcionalización del anillo indólico en la posición 3 se logra por sustituciones electrofílicas. Sin embargo, dada la baja estabilidad de los indoles halogenados es necesario utilizar un grupo protector apropiado para alcanzar este objetivo. La protección de los indoles puede realizarse antes o después del paso de halogenación (Figura 4.2). En consecuencia, los requerimientos del grupo protector están dictados por las condiciones de reacción de intercambio halógeno-litio. La síntesis y aplicaciones de los indoles *N*-protegidos esta bien documentada;^{7, 8} alquil, silil, alcoximetil, acil y otros grupos protectores han sido utilizados.

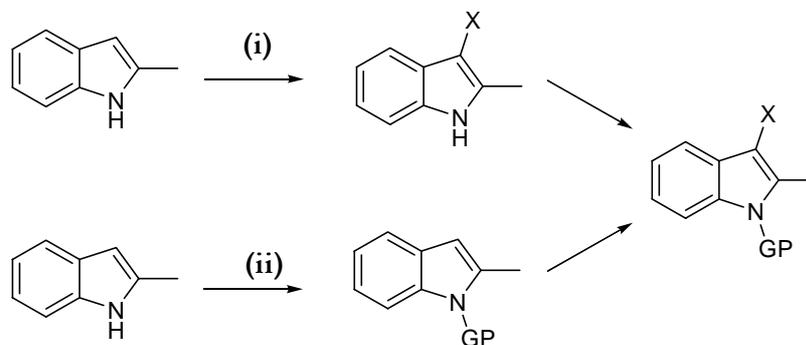


Figura 4.2. Esquemas de obtención de unidad reactiva de indol.

La ruta sintética (i) consiste en halogenación seguida de protección y es aplicada para la incorporación de Boc como grupo protector.

La ruta sintética (ii) es ampliamente utilizada cuando se realiza la incorporación de grupos protectores sililados. Asimismo, Benhida y colaboradores⁹ proponen que el derivado indólico protegido con Boc puede ser iodado con un sistema de reactivos de bis(trifluoroacetoxi)-iodobenceno/iodo con buenos rendimientos.

4.1. SÍNTESIS DE DERIVADOS ASIMÉTRICOS UTILIZANDO BOC COMO GRUPO PROTRECTOR

4.1.1. Síntesis de la unidad indólica

La primera clase de grupos protectores para *N*-indol que fue investigada en esta Tesis fue el *ter*-butoxicarbonilo (boc) (Figura 4.3). En la secuencia sintética (i) (Figura 4.2), el primer paso

es la halogenación del indol en la posición 3. Cuando el átomo de nitrógeno se encuentra protegido, por ejemplo metilado, se deben variar las condiciones de reacción para que la sustitución ocurra. En el caso de encontrarse el átomo de nitrógeno libre se ha propuesto la participación de una especie aniónica con densidad de carga negativa localizada en el nitrógeno del indol en resonancia con la posición 3.¹⁰ De esta forma la posición 3 se encontraría activada para la sustitución electrofílica.

Los reactivos más utilizados en estas sustituciones donde el indol se encuentra libre son ICl en piridina,¹¹ bromo en DMF o iodo y hidróxido de potasio en DMF.¹² Se eligió esta última opción dado que los compuestos iodados son más reactivos frente al intercambio metal-halógeno y la reacción con iodo resulta más sencilla que con ICl. En todos los casos la reacción de sustitución ocurrió con rendimientos de buenos a excelentes. El producto halogenado es inestable por lo que debe protegerse inmediatamente.

Los derivados indólicos protegidos con Boc pueden obtenerse mediante diversos reactivos. Por un lado, Fowler y Levy han generado el anión correspondiente con una base fuerte (hidruro de sodio) y el posterior tratamiento con *ter*-butilazidoformiato.¹³ Mientras que Dhanak y Reese⁸ utilizaron 3 equivalentes de hidruro de sodio y un leve exceso de fenil *ter*-butil carbonato en THF a temperatura ambiente con rendimientos satisfactorios (67-91%). Por otra parte, se ha encontrado que el grupo protector puede ser incorporado en condiciones más suaves con di-*ter*-butildicarbonato (Boc₂O), trietilamina como base y en presencia de un poderoso catalizador acilante como dimetilaminopiridina en acetonitrilo o cloruro de metileno con muy buenos rendimientos.¹⁴

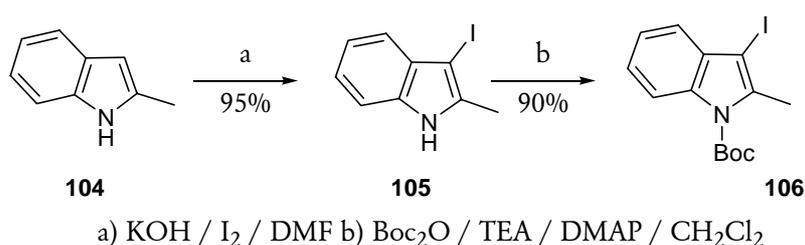


Figura 4.3. Síntesis de compuesto **106**.

En este trabajo, el 3-iodoindol **105** se obtuvo por iodación del indol **104**¹² con iodo, hidróxido de potasio en DMF a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, el N del núcleo indólico del compuesto **105** fue protegido con di-*ter*-butildicarbonato (Boc₂O), trietilamina y dimetilaminopiridina en cloruro de metileno a temperatura ambiente durante 30 minutos para dar **106** con un rendimiento total de los dos pasos del 86% (Figura 4.3).

El compuesto **106** es un nuevo derivado indólico. Este compuesto ha sido caracterizado por microanálisis y por espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C , APTC, HSQC y HMBC.

En el espectro de RMN- ^1H (Figura 4.4) se observa como señal característica un singulete que integra para 9H correspondientes a los hidrógenos metílicos del grupo protector. El hidrógeno en posición 7 (H-7) aparece a 8,06 ppm por encontrarse en la zona de desprotección del carbonilo del Boc.

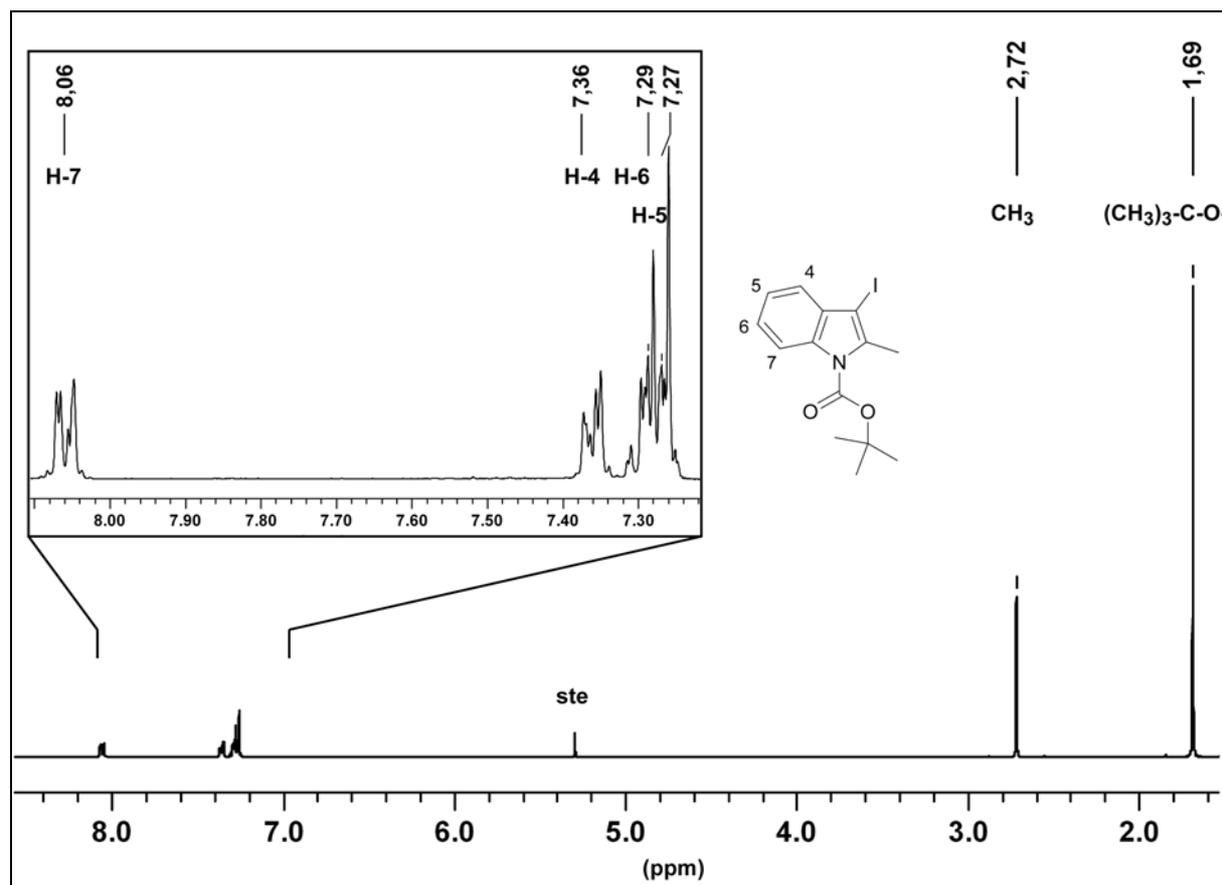


Figura 4.4. Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **106**.

En el espectro de RMN- ^{13}C (Figura 4.5) se observan 3 señales características correspondientes al grupo protector a (i) 28,2 ppm (carbono metílico de *ter*-butilo), (ii) 84,3 ppm (carbono cuaternario de *ter*-butilo) y (iii) 149,8 ppm (carbono carbonílico de *t*-Boc). Además, se observa una señal a 71,4 ppm que se asignó al C-3 unido al átomo de iodo. La asignación de los hidrógenos y carbonos se realizó con los espectros bidimensionales ya mencionados y se muestra en la tabla 4.1. Las correlaciones típicas de anillos aromáticos a dos y tres enlaces obtenidas del espectro HMBC permitieron asignar las señales de los anillos. Por ejemplo, la señal de 8,06 ppm (H-7) mostró correlación a dos y tres enlaces con las señales

correspondientes a C-6 y C-3a respectivamente (Tabla 4.1). La señal a 138,2 ppm fue asignada al C-2 dada su correlación a dos enlaces con los hidrógenos metílicos. Mientras que el C-3a se asignó a la señal a 131,2 ppm por su doble correlación a larga distancia con H-5 y H-7. De la misma manera la señal a 136,0 ppm se asignó al C-7a por su correlación con los H-4 y H-6. De esta forma se completó la asignación de las señales correspondientes al compuesto **106**.

Tabla 4.1. Asignación del compuesto **106**.

Asignación	δ (ppm)	APTC	HSCC	HMBC
C=O	149,8	C		
C-2	138,2	C		2,72
C-7a	136,0	C		7,36 / 7,29
C-3a	131,2	C		8,06 / 7,27
C-5	124,5	CH	7,27	7,36
C-6	123,2	CH	7,29	8,06
C-4	120,9	CH	7,36	7,29
C-7	115,4	CH	8,06	7,27
(CH ₃) ₃ C-O-	84,34	C		1,69
C-3	71,4	C		2,72 / 7,36
(CH ₃) ₃ C-O-	28,2	CH ₃	1,69	
CH ₃ -	17,9	CH ₃	2,72	

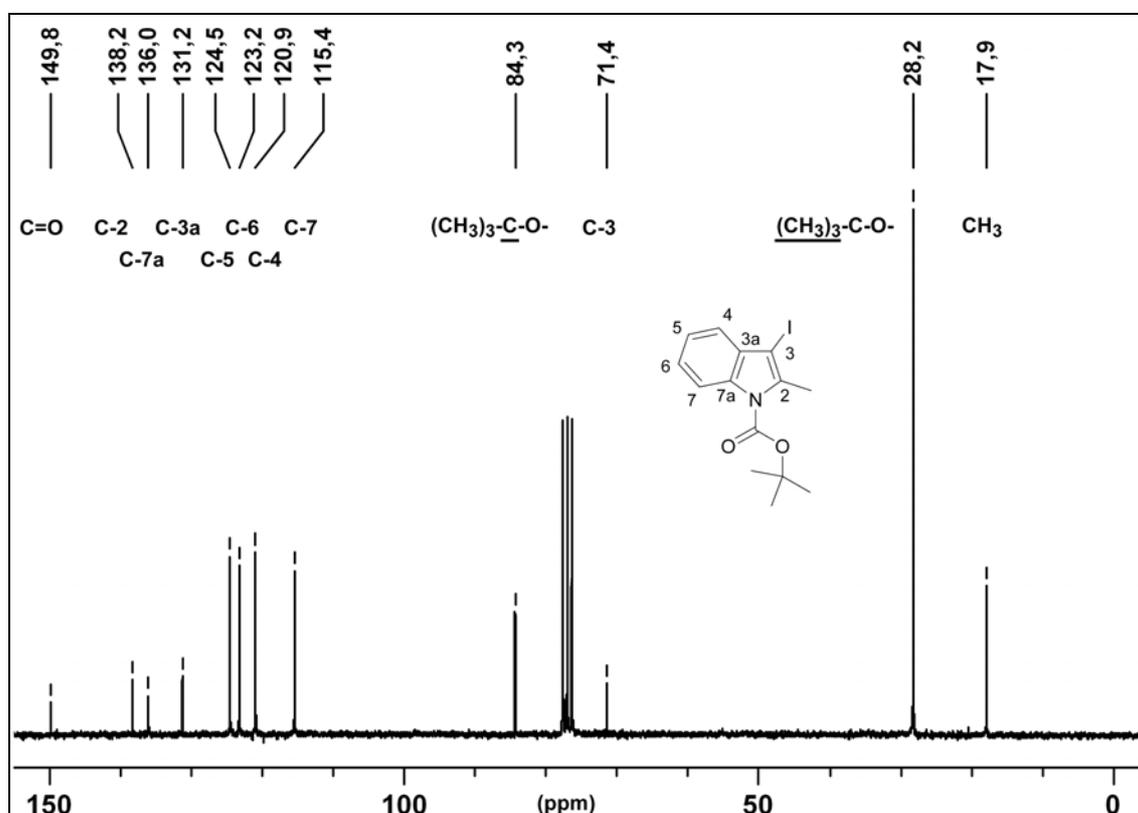


Figura 4.5. Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) del compuesto **106**.

4.1.2. Síntesis de compuesto fotocromico asimétrico

El paso siguiente fue el ataque nucleofílico a la unidad puente perfluorociclopenteno. Irie y colaboradores informan la formación del carbanión de 1,2-dimetilindol a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. En nuestro caso, hemos trabajado con un indol inicial diferente al informado en literatura y debimos generar el carbanión a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ dado que a mas baja temperatura no obteníamos el intermediario deseado. En nuestro laboratorio, recientemente, María Etchehon ha trabajado con el 1,2-dimetilindol informado en la literatura. En este caso sólo fue posible generar el carbanión correspondiente trabajando a temperatura ambiente.

El compuesto **106** (Figura 4.6) fue litiado con *n*-butil litio (1 equiv) en THF a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Posteriormente el compuesto **45** fue tratado con el litio-indol a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ para dar el compuesto **107**. Sin embargo, la reacción procedió lentamente y sólo un 29% del compuesto deseado (**107**) fue aislado recuperándose un 50% del iodoindol de partida **106**.

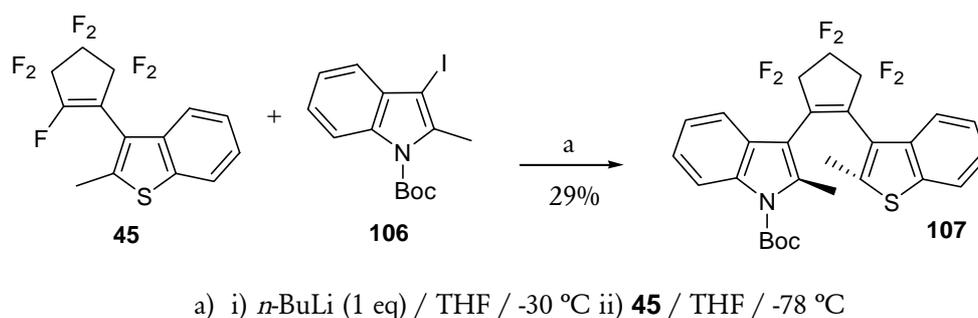


Figura 4.6. Síntesis de compuesto fotocromico asimétrico **107**.

Dado que se recuperaba el compuesto **106** sin reaccionar, se intentó optimizar las condiciones de reacción para la litiación y posterior sustitución electrofílica a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ variándose la relación molar de agente litiante (*n*-butil litio) y de un electrófilo modelo (CH_3I) respecto del derivado indólico (Figura 4.7). Los mejores rendimientos, 65 y 80%, se obtuvieron cuando se utilizaron 2 equivalentes de *n*-butil litio y 1 y 3 equivalentes de CH_3I respectivamente (Tabla 4.2). En estos casos la reacción del compuesto **106** fue completa.

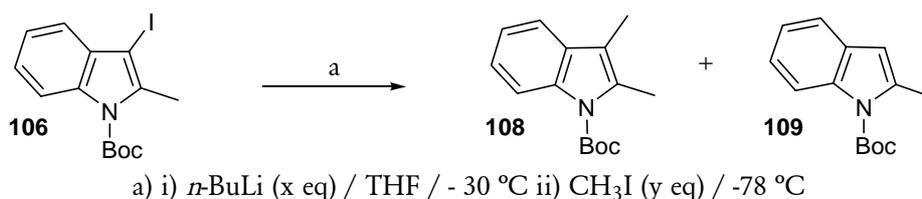


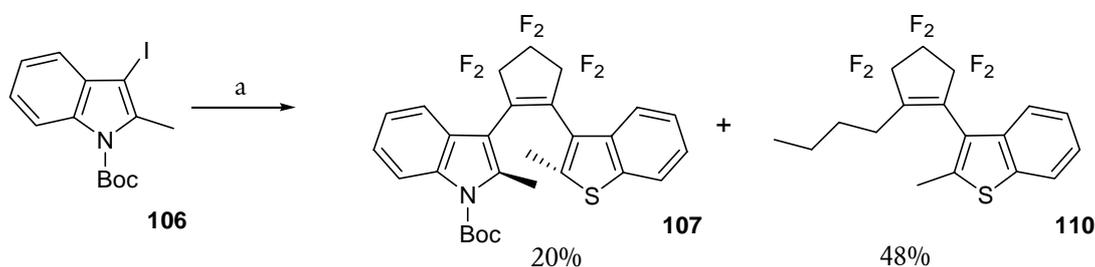
Figura 4.7. Condiciones de metalación.

Tabla 4.2.

equivalentes de <i>n</i> -BuLi	equivalentes de CH ₃ I	106 (recuperado)	108	109
1	1	50% (47%)	-	50% (47%)
2	1	-	75% (65%)	25% (22%)
2	3	-	85% (80%)	15% (13%)

Entre paréntesis se muestran los rendimientos después de la purificación.

Sin embargo, cuando se utilizaron 2 equivalentes de *n*-butil litio para la obtención del compuesto fotocromico no se logró mejorar el rendimiento del producto deseado, este fue de un 20%. Además, se generó un producto secundario **110** no deseado por reacción del exceso de *n*-butillitio con el compuesto **45** con un rendimiento del 48% (respecto del compuesto **45**).



a) i) *n*-BuLi (2,2 eq) / THF / -30 °C ii) **45** / THF / -78 °C

Figura 4.8. Síntesis de compuesto asimétrico **107** y subproducto **110**.

El espectro de RMN-¹H del compuesto **107** (Figura 4.9a) adquirido a 25 °C muestra señales anchas. Además, en la región alifática solo se observó una señal metílica. Se decidió realizar el mismo espectro pero a 50 °C (Figura 4.9b). En este caso las señales presentaban un ancho de línea menor y mejor resolución. Se observaron dos señales metílicas a 2,31 y 2,35 ppm correspondientes a los metilos unidos a los anillos aromáticos (indol y benzotiofeno). Es interesante notar que las señales de los metilos se encuentran protegidas respecto del indol y benzotiofeno de partida (Tabla 4.3). Además, a diferencia de lo observado para los compuestos fotocromicos asimétricos de benzotiofeno y tiofeno, solo se observaron dos señales metílicas. Este comportamiento puede deberse a dos motivos a) la velocidad de interconversión entre un atropoisómero y el otro es más rápida que el tiempo de adquisición b) existe una sola conformación o una conformación promedio que es similar a la conformación antiparalela.

Tabla 4.3. Comparación de la señal metílica de C-2.

	106	108	109	111	41	42		45
						p	ap	
CH ₃ (C-2)	2,72	2,53	2,60	2,55	2,60	2,49	2,22	2,53

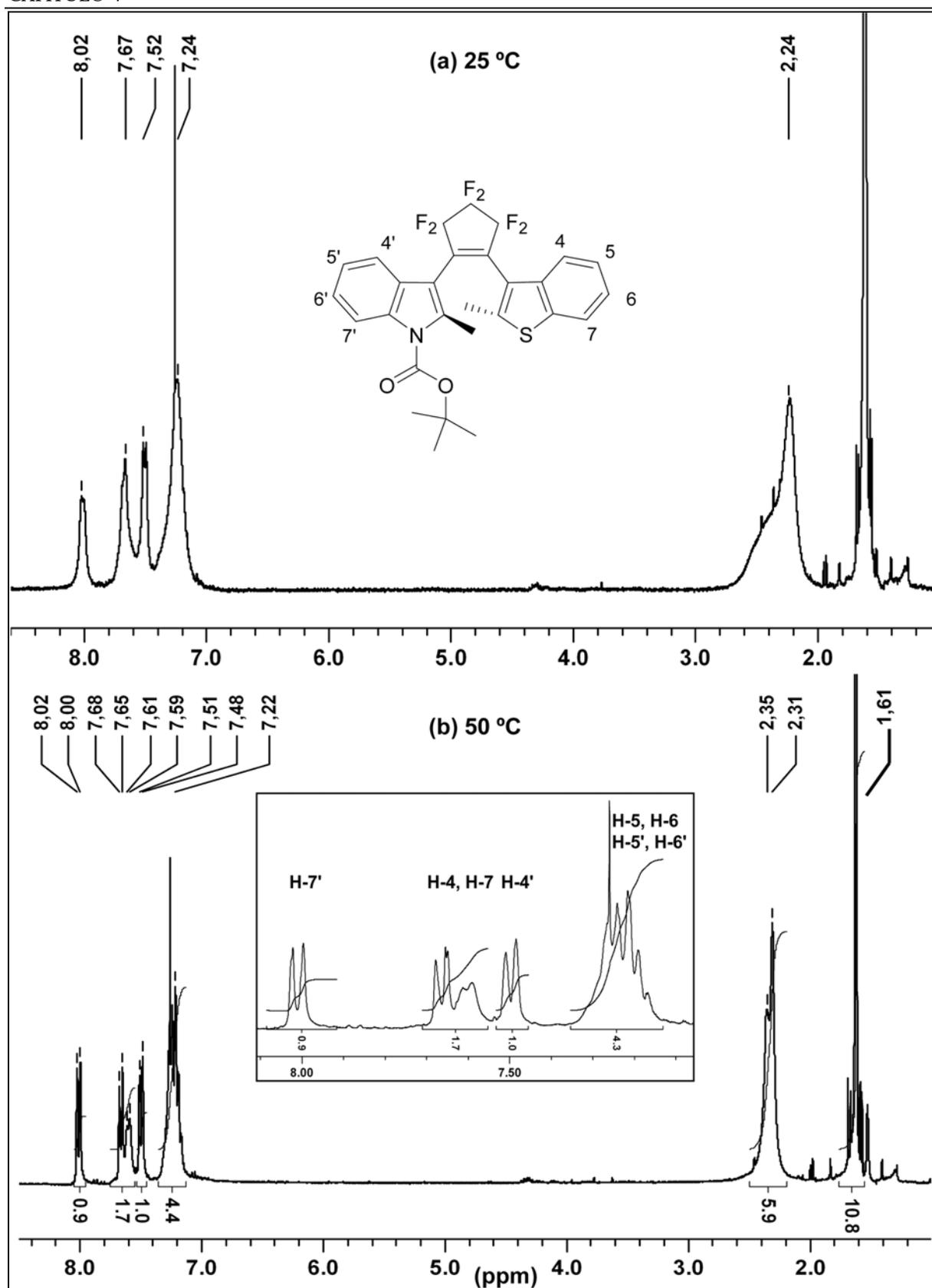


Figura 4.9. Espectros de RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) del compuesto 107:

(a) 25 °C y (b) 50 °C.

Los datos de los espectros de RMN-¹³C y bidimensionales HSQC y HMBC del compuesto **107** presentan superposiciones que no permitieron realizar una completa asignación de los carbonos. Sin embargo, es interesante notar que en el espectro de RMN-¹³C se observa una señal a 118,9 ppm que aparece como un triplete ($J = 3$ Hz). A pesar de no poder asignarla fehacientemente, puede atribuirse a uno de los carbonos de posición 4, dado que es el mismo tipo de señal que se observó para los compuestos hemi-sustituídos **45**, **62** y **111** (*vide infra*). En todos los compuestos fotocromáticos simétricos y asimétricos presentados en los capítulos 2 y 3 se observaron dos conformaciones, paralela y antiparalela. Cuando se analizaron los espectros de RMN-¹³C que contenían ambos atropoisómeros ninguna de las señales apareció como un triplete. Los siguientes hechos: a) poder distinguir como un triplete en el compuesto **107** la señal a 118,9 ppm, b) que no aparecen las señales correspondientes a los dos isómeros y c) el desplazamiento a campos altos de las señales metílicas (como ocurre con la conformación antiparalela de los compuestos de los capítulos 2 y 3) indicaría que el compuesto **107** presenta una conformación promedio similar a la antiparalela.

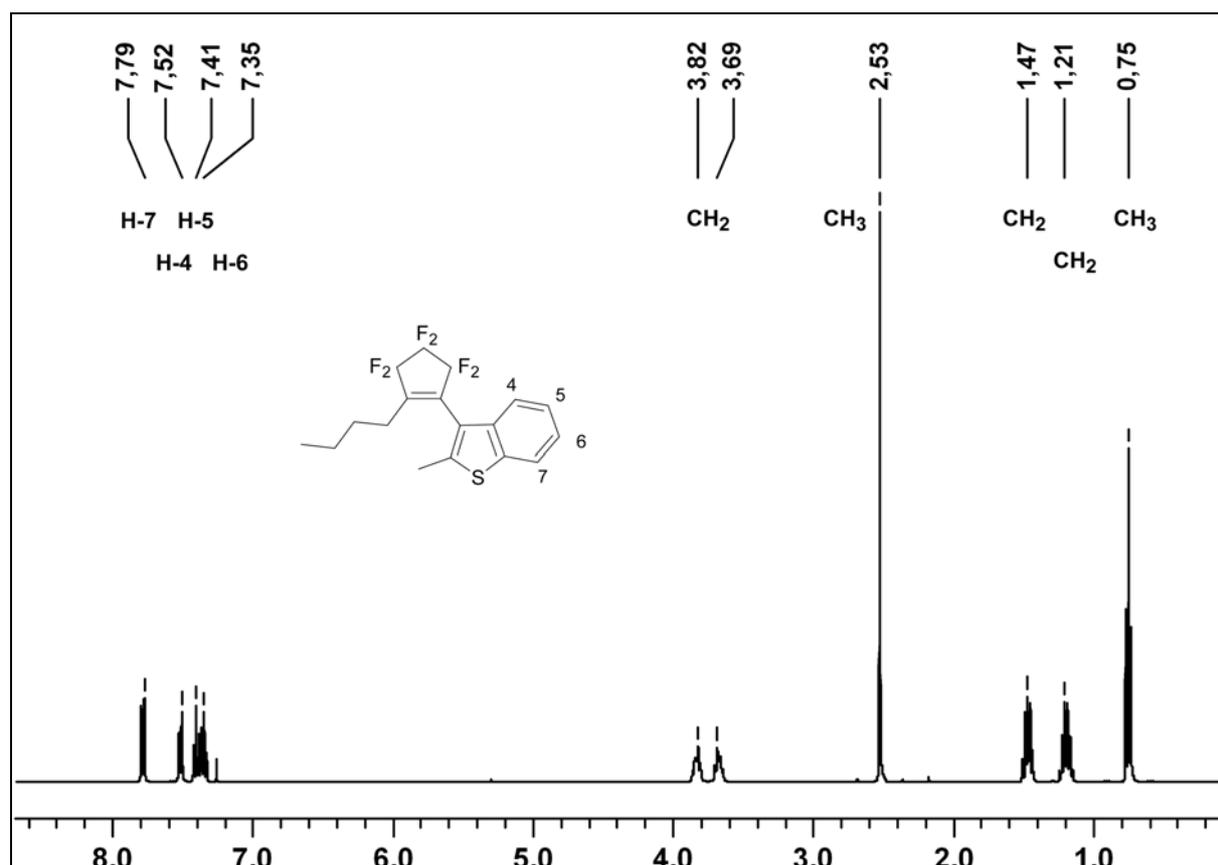


Figura 4.10. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del subproducto **110**.

En el espectro de RMN-¹H para el compuesto **110** se observaron los hidrógenos de la cadena lineal alquílica correspondientes a la sustitución vinílica del carbanión butilo que se

encontraba en exceso (Figura 4.10). Las señales correspondientes a la cadena alquílica se distinguen claramente en la región alifática que también muestra el metilo unido al anillo aromático a 2,53 ppm. Las señales aromáticas fueron asignadas basándonos en la comparación con los espectros obtenidos para el anillo aromático.

La obtención del derivado **111** es la base de una buena estrategia para la síntesis de compuestos asimétricos. La reacción del 3-litioindol con exceso de octafluorociclopenteno produjo el compuesto **111** con un rendimiento del 42% (Figura 4.11). Este compuesto puede utilizarse para el acoplamiento con un derivado litiado de benzotiofeno en un paso posterior.

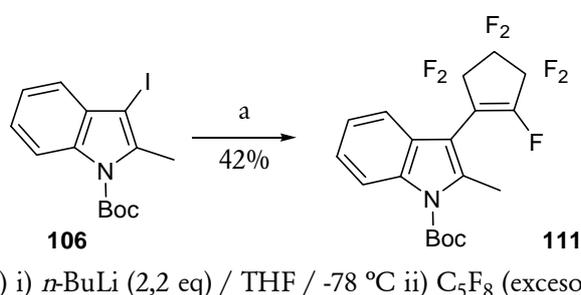


Figura 4.11. Síntesis del compuesto hemi-sustituido **111**.

El compuesto **111** se identificó mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear. Nuevamente, en el espectro de RMN-¹³C se observan las señales características del grupo protector a 28,2, 85,1 y 149,9 ppm. Cabe destacar el desplazamiento del C-3 (+43,3 ppm, respecto del compuesto **106**) al sustituir el átomo de iodo por el perfluorociclopenteno. Además, la señal del C-4 que aparece en 118,7 ppm (como en los compuestos hemi-sustituidos **45** y **62**) se ve como un triplete con un $^5J_{FC} = 3$ Hz (Tabla 4.4 y Figura 4.12).

Tabla 4.4. Señales características de los espectros RMN-¹³C de los compuestos **106**, 1-boc-2-metilindol y **111**.

Asignación	Compuesto 106	1-boc-2-metilindol ⁸	Compuesto 111
C-3	71,4	108,0	114,7
C-4	120,3	no asignado	118,7 (t, $^5J_{CF} = 3$ Hz)
(CH ₃) ₃ -C-O-	28,2	28,3	28,2
(CH ₃) ₃ -C-O-	84,3	83,6	85,1
C=O	149,8	150,7	149,9

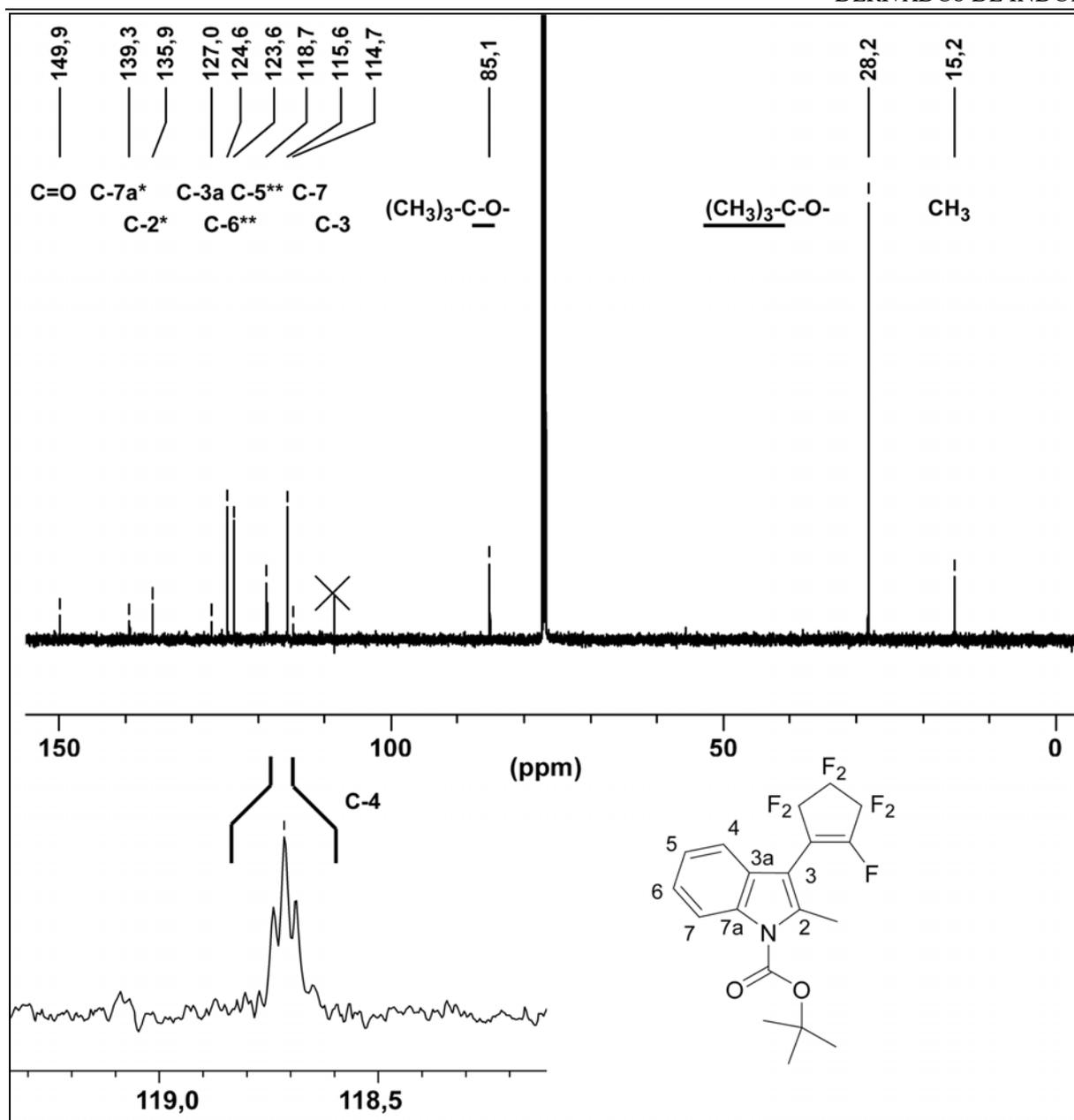


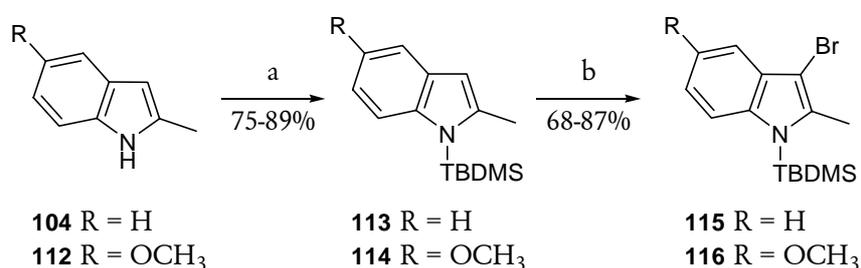
Figura 4.12. Espectro RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto 111.

Si bien se obtuvieron los compuestos deseados, los rendimientos obtenidos cuando se utilizó Boc como grupo protector fueron bajos. Esto nos llevó a intentar la obtención de estos compuestos con otro grupo protector.

4.2. SÍNTESIS DE DERIVADOS ASIMÉTRICOS UTILIZANDO TBDMS COMO GRUPO PROTECTOR

4.2.1. Síntesis de la unidad indólica

El grupo protector *ter*-butildimetilsililo (TBSMS) se aplicó como una estrategia de protección alternativa (Figura 4.13), utilizándose la ruta (ii) (Figura 4.2). Los derivados de 2-metilindol **104** y **112** fueron desprotonados con hidruro de sodio y protegidos con cloruro de *ter*-butildimetilsililo generando los compuestos **113** y **114** con rendimientos de 89 y 75%, respectivamente. La bromación se llevó a cabo con *N*-bromosuccinimida a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ para dar **115** y **116** con rendimientos del 68 y 87%, respectivamente.¹⁵ Inmediatamente, se realizó una cromatografía en columna (sílica flash, ciclohexano) de la mezcla de reacción para separar el producto deseado de trazas de 3-bromo-2-metilindol contaminante (de menor R_f), el cual da lugar a una rápida descomposición.



a) i) NaH / THF ii) TBDMSCl b) NBS / THF / $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$

Figura 4.13. Síntesis de derivados indólicos protegidos con TBDMS.

Tabla 4.5. Señales de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) y ¹³C (50 MHz, CDCl₃) para los compuestos **113**, **114**, 3-bromo-1-TBDMS-indol, **115** y **116**.

Asignación	Compuesto 113	Compuesto 114	3-bromo-1- TBDMS indol ¹⁵	Compuesto 115	Compuesto 116
(CH ₃) ₂ -Si-	0,67	0,69	0,6	0,64	0,65
(CH ₃) ₃ -C-Si	0,97	1	0,92	0,95	0,97
CH ₃ -	2,49	2,53	-	2,46	2,49
CH ₃ -O-	-	-	-	3,83	3,88
H-3	6,34	-	7,17	6,23	-
(CH ₃) ₂ -Si-	-0,5	-0,3	-4,3	-0,6	-0,4
(CH ₃) ₃ -C-Si	26,8	26,7	26,0	26,8	26,7
(CH ₃) ₃ -C-Si	20,6	20,5	19,1	20,6	20,4
CH ₃ -	17,5	15,5	-	17,5	15,5
CH ₃ -O-	-	-	-	55,7	55,7
C-3	106,1	95,9	93,7	106,6	95,5

En la tabla 4.5 se listan las señales de protón y carbono características para los cuatro indoles protegidos y bromados sintetizados y el compuesto 3-bromo-1-*t*-butildimetilsililindol.

En los espectros de RMN-¹H realizados para los compuestos indólicos protegidos con TBDMS- pueden observarse dos singuletes que integran para 6H ((CH₃)₂-Si-) y 9H ((CH₃)₃-C-Si) y presentan desplazamientos químicos en el rango de 0,64-0,69 y 0,95-1 ppm, respectivamente. La señal que aparece a 6,34 ppm correspondiente al H-3 para el compuesto **113**, como era de esperar, desaparece al bromarse esa posición en el compuesto **114**. De igual manera, la señal que aparece a 6,23 ppm para el compuesto **115**, desaparece en el compuesto **116**. Además, el metilo en carbono de posición 2 se observó alrededor de 2,5 ppm para los cuatro compuestos sintetizados. Mientras que para los compuestos **115** y **116** se observa la señal de los hidrógenos del metoxilo a 3,83 y 3,88 ppm, respectivamente.

En la figura 4.14 se muestra el espectro RMN-¹H del compuesto **114**. Además de las señales anteriormente mencionadas, en el espectro se observan claramente tres señales aromáticas que corresponden a los H-4, H-6 y H-7. El doblete ($J = 9$ Hz) que aparece a 7,37 ppm se asignó al hidrógeno en posición 7. El doblete que aparece a 6,95 ppm ($J = 2,4$ Hz) y el doblete a 6,70 ppm ($J = 9$ y 2,4 Hz), se asignaron a los hidrógenos de posición 4 y 6, respectivamente. Estas señales se observaron a campos más altos ya que los hidrógenos se encuentran protegidos por el metoxilo de posición 5.

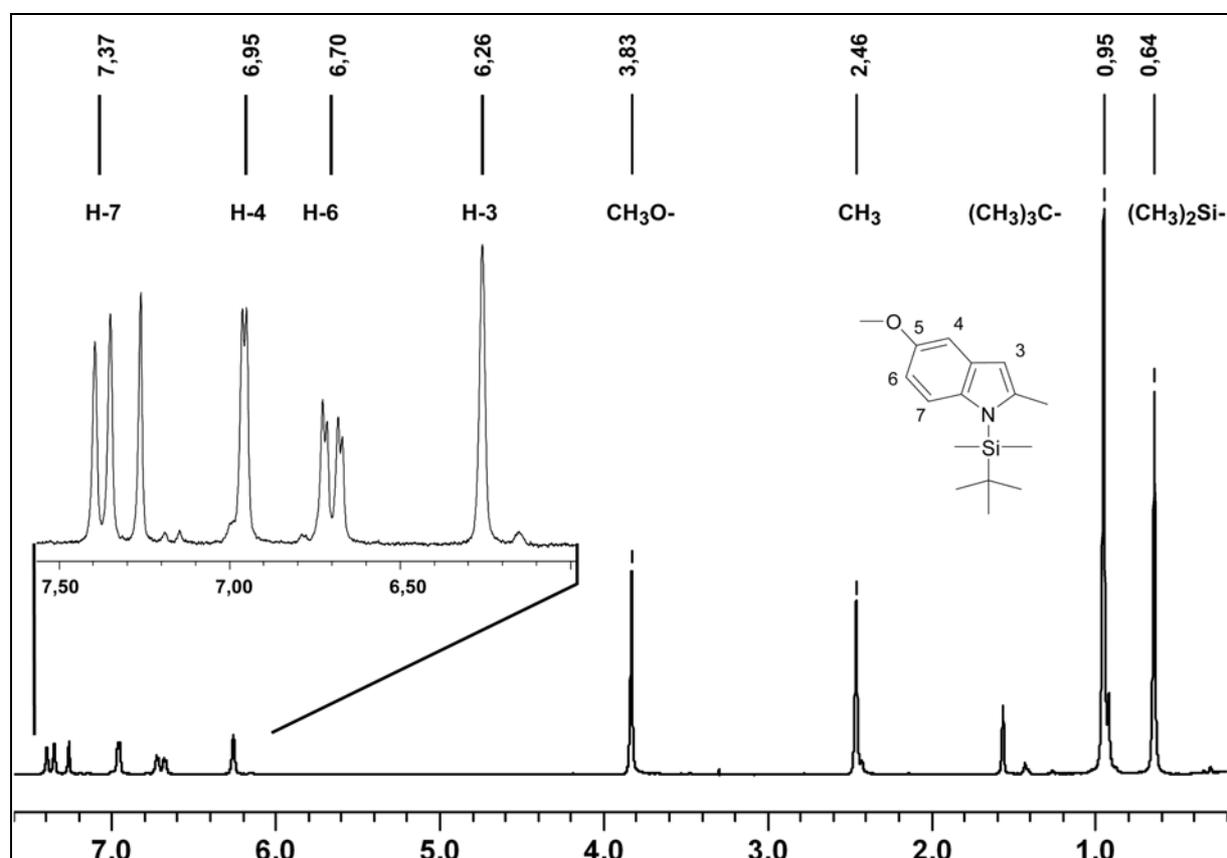


Figura 4.14. Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) del compuesto **114**.

En los espectros de RMN- ^{13}C se observan tres señales características para el grupo protector: (i) entre $-0,3$ y $-0,6$ (carbonos metílicos unidos a silicio), (ii) alrededor de 20 ppm (carbono cuaternario de *t*-butilo) y (iii) alrededor de 26 ppm (carbonos metílicos de *t*-butilo). Además, la señal correspondiente al H-3 que se observa en los compuestos **113** y **114** desaparece al bromarse esa posición en los compuestos **115** y **116**. Nuevamente, la señal en C-3 se ve desplazada a campos altos al sustituirse el hidrógeno por halógeno, en este caso por bromo. La señal correspondiente al metilo unido al carbono 2 del indol aparece en $17,5$ ppm, Para los compuestos sin halogenar, **113** y **114**. Mientras que para los compuestos halogenados, **114** y **116**, esa señal aparece a $15,5$ ppm. Finalmente para los compuestos que poseen el grupo metoxilo en posición 5 del indol el carbono aparece a $55,7$ ppm.

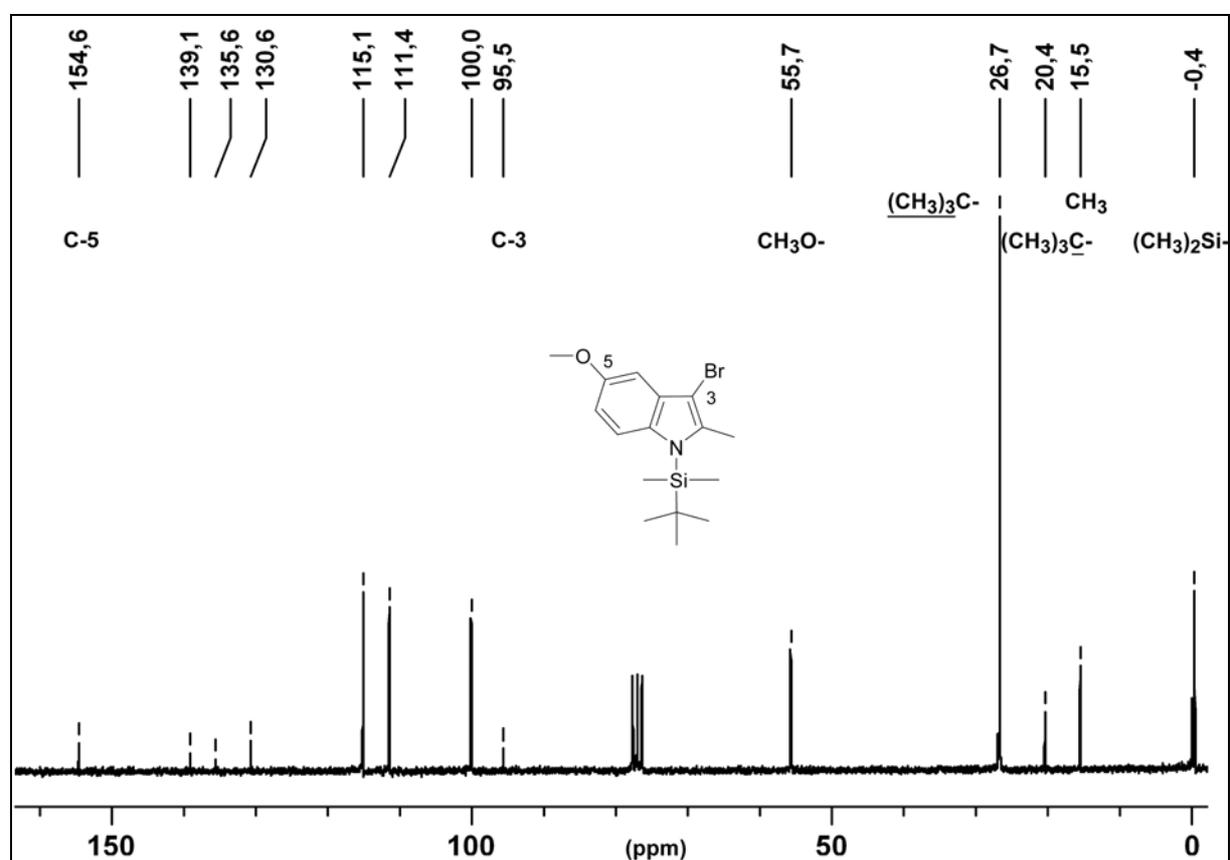


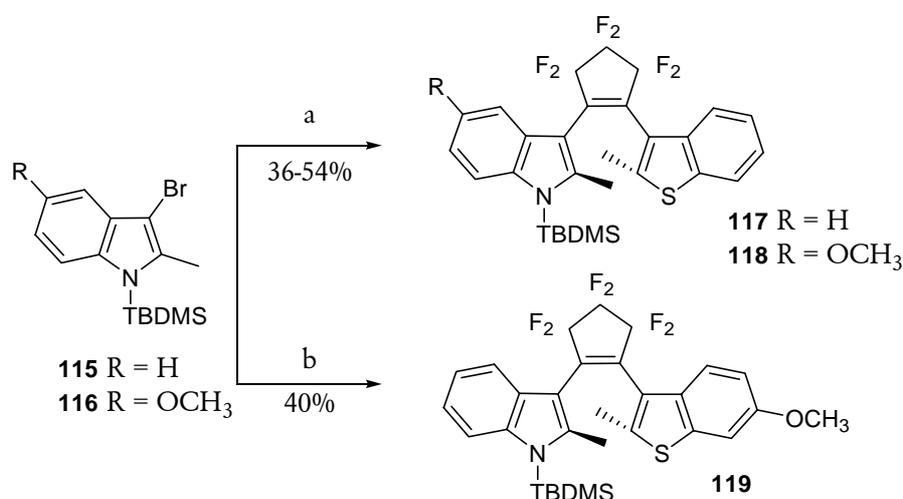
Figura 4.15. Espectro RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) del compuesto **116**.

En el espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **116** (Figura 4.15), se han indicado las señales mencionadas anteriormente.

Los desplazamientos para el compuesto **112** coinciden con los de literatura.⁸ Mientras que los compuestos **114**, **115** y **116** han sido sintetizados por primera vez en esta tesis. Dada la poca estabilidad de los compuestos bromados estos se hicieron reaccionar inmediatamente.

4.2.2. Síntesis de compuestos fotocromicos asimétricos

La obtención del compuesto fotocromico asimétrico por reacción del derivado indólico litiado con un perfluorociclopenteno hemi-sustituido es el siguiente paso. La litiación de los compuestos **115** y **116** con *n*-butil litio a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y posterior reacción con **45** o **62** (sólo **115**) produjo los diheteroariltenos deseados **117-119** con rendimientos aceptables 36-54% (Figura 4.16) considerando los rendimientos típicos que se obtienen para esta reacción. El compuesto **119** contiene las funcionalidades fenólicas (OH) e indólica (NH) ortogonalmente protegidas para posteriores derivatizaciones.



a) i) *n*-BuLi / THF / $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ii) **45** b) i) *n*-BuLi / THF / $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ii) **62**

Figura 4.16. Síntesis de compuestos asimétricos **117**, **118** y **119**.

En el espectro de RMN- ^1H del compuesto **117** (Figura 4.17) pueden observarse la señal correspondientes a los metilos unidos a silicio del grupo protector a 0,60 ppm, mientras que los metilos del *t*-butilo aparecen desplazados a campos mas altos respecto del indol de partida ($-0,45$ ppm). También se observaron, como para el compuesto **107**, señales anchas y las señales que aparecen a 2,30 y 1,98 ppm que se pueden asignar a los metilos heteroarómáticos (indol y benzotiofeno). Nuevamente, se observaron un solo grupo de señales como se observó para el compuesto **107**.

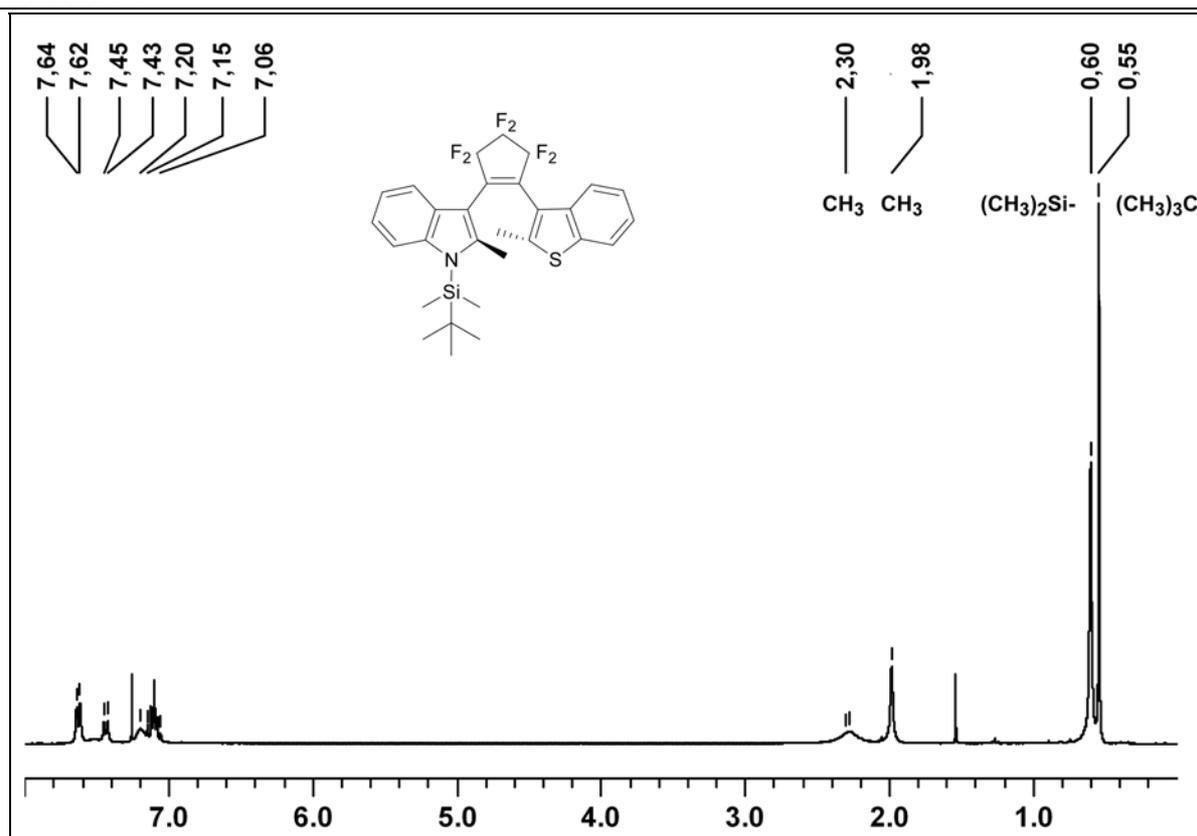


Figura 4.17. Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) del compuesto 117.

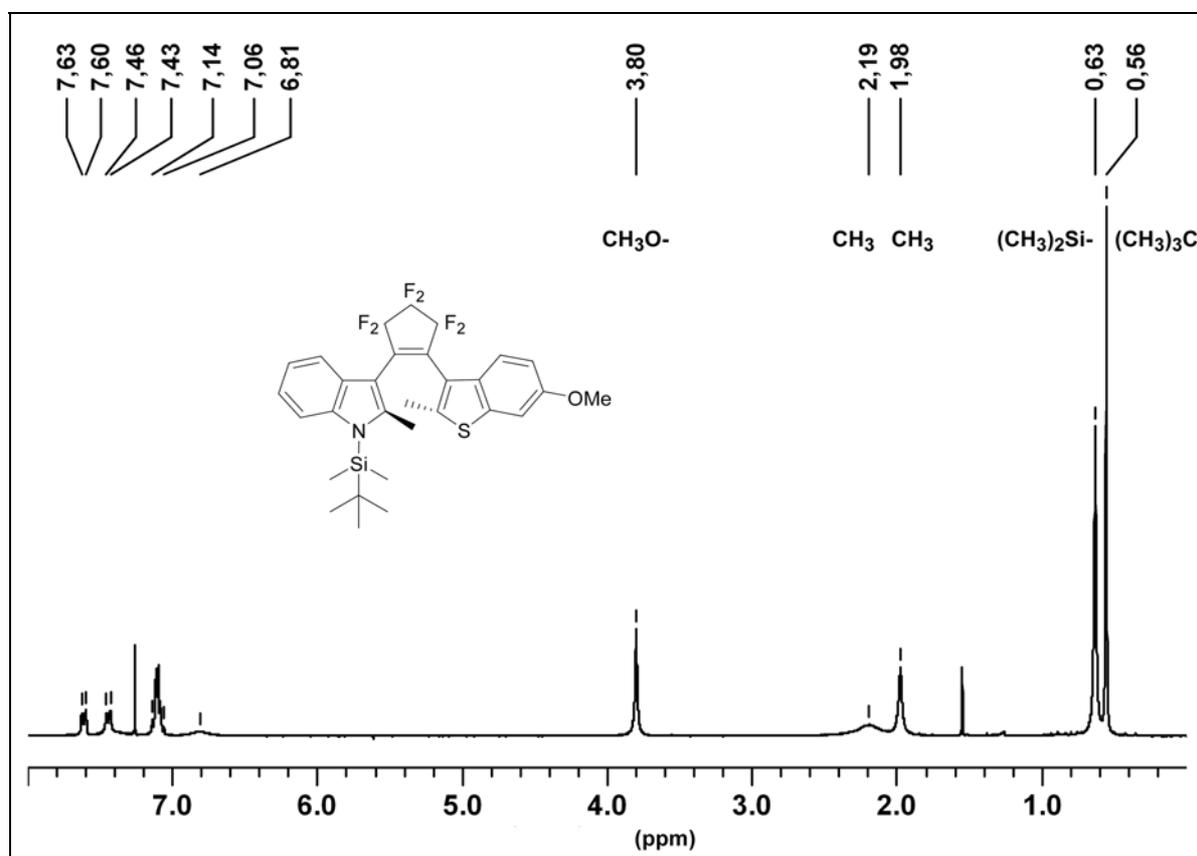


Figura 4.18. Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) del compuesto 119.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónicos para los compuestos **119** y **118** se muestran en las figuras 4.18 y 4.19, respectivamente. Para estos dos compuestos se observó, de igual manera que para el compuesto **117**, señales anchas y un desplazamiento a campos altos para la señal de los metilos del grupo protector alrededor de 0,55 ppm (Tabla 4.6).

Tabla 4.6. Comparación de las señales protónicas para los compuestos **117**, **118** y **119**.

Asignación	117	119	118
	7,63	7,62	7,64
Hidrógenos aromáticos	7,44	7,44	7,30
	7,20	7,14-7,06	7,22
	7,15-7,06	6,81	7,01
			6,71
CH ₃ -O-		3,80	3,76
CH ₃ -	2,30	2,19	2,24
CH ₃ -	1,98	1,98	1,98
(CH ₃) ₂ -Si-	0,60	0,63	0,61
(CH ₃) ₃ -C-Si	0,55	0,56	0,53

Nuevamente, para los compuestos **118** y **119** se realizaron los espectros de RMN-¹³C con una buena resolución y se pudo observar un triplete a 119,0 ppm ($J = 4,4$ Hz) para ambos compuestos.

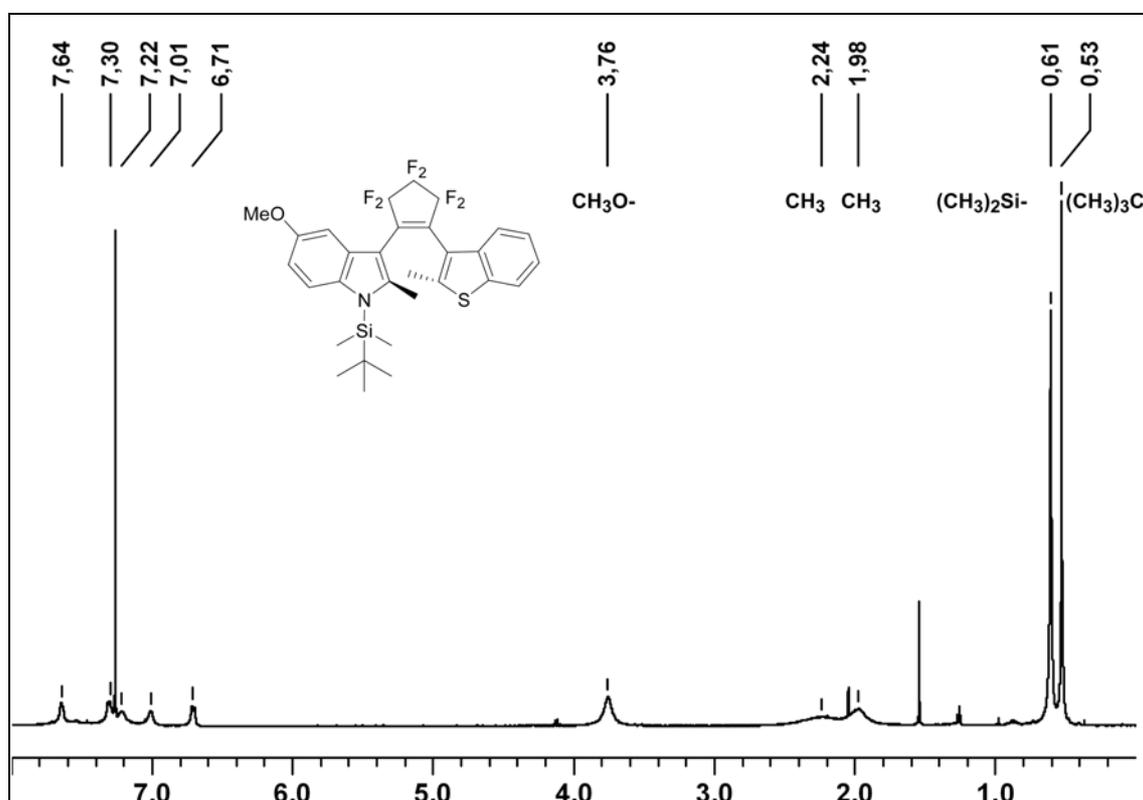
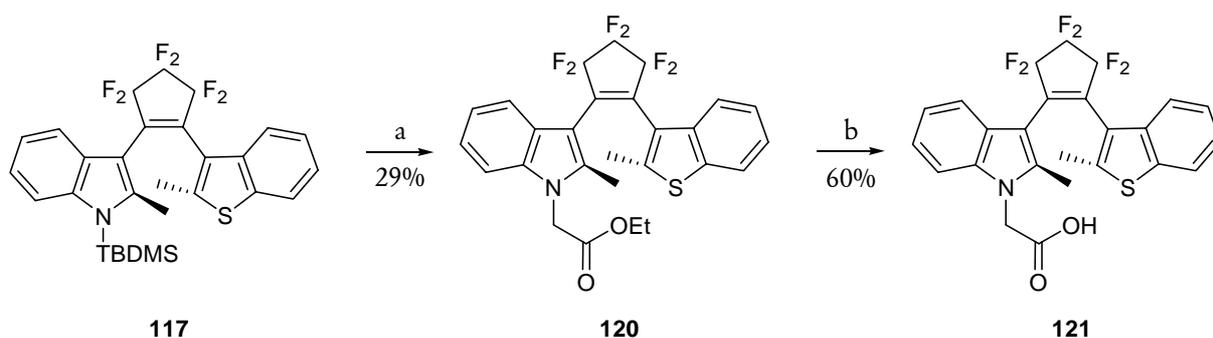


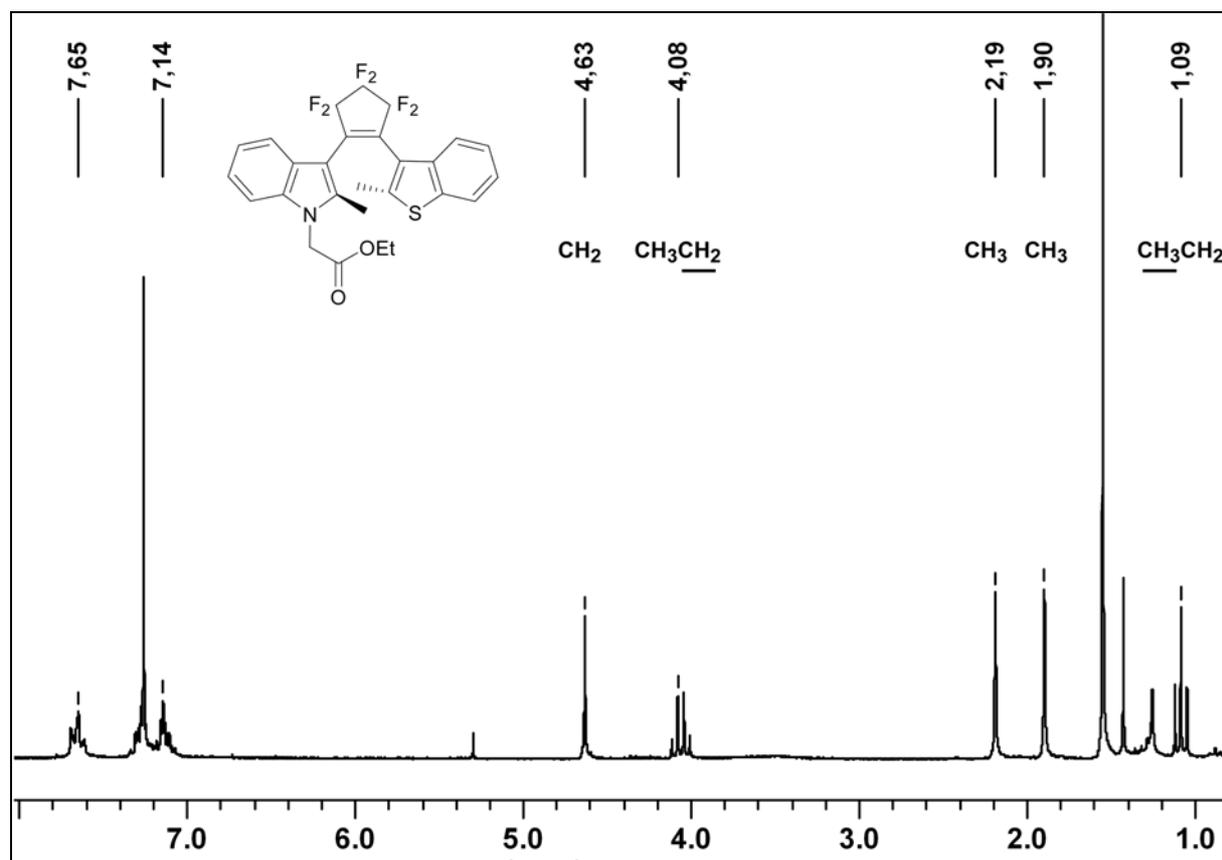
Figura 4.19. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **118**.

La desprotección del nitrógeno indólico se realizó en condiciones suaves con fluoruro de tetrabutilamonio (Figura 4.20). Inmediatamente se procedió a la reacción con hidruro de sodio seguida de bromoacetato de etilo en DMF que dio lugar al compuesto **120** con un rendimiento total de los dos pasos del 29%. La hidrólisis del compuesto **120** rindió el producto final **121** con un rendimiento del 60%.^{16, 17} El compuesto **121** contiene un grupo carboxílico el cual puede ser posteriormente activado para dar compuestos conjugados con grupos amino.



a) i) TBAF (1M) / THF ii) NaH / Etilbromoacetato / THF b) NaOH / THF

Figura 4.20. Obtención del compuesto **121**.



En el espectro de RMN-¹H del compuesto **120**, mostrado en la figura 4.21, se observó un singlete a 4,63 ppm que se atribuyó a los hidrógenos metilénicos. Las señales que aparecen a 2,19 y 1,90 ppm se asignaron a los metilos unidos a carbono 2 de los anillos aromáticos. Nuevamente, se observa para este compuesto las señales que sugieren la conformación promedio similar a la antiparalela, ya mencionada.

Los hidrógenos metilénicos en el espectro de resonancia magnética nuclear protónica del compuesto **121** aparecen a 4,65 ppm. Mientras que los metilos unidos a los anillos aromáticos se observaron a 2,18 y 1,88 ppm. En la figura 4.22 se muestra el espectro de masas para el compuesto **121**.

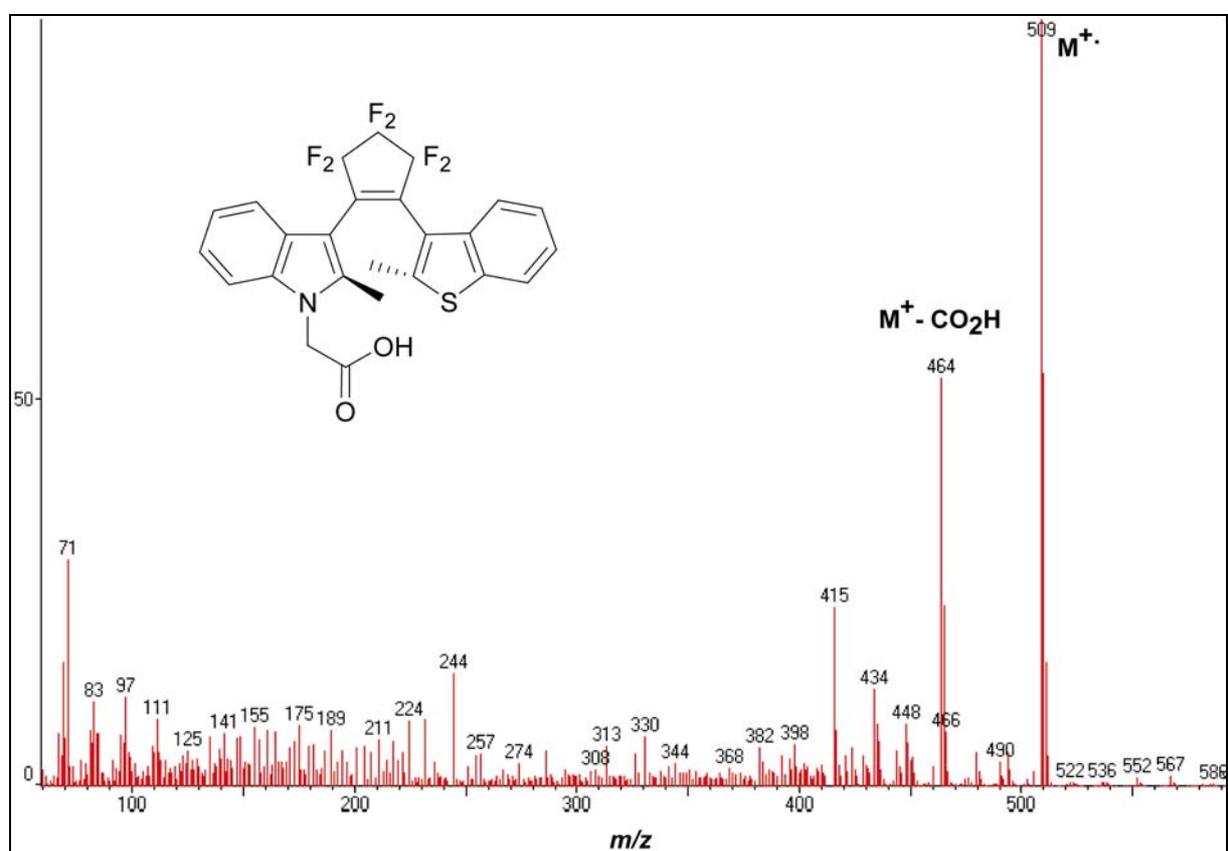


Figura 4.22. Espectro de masas del compuesto **121**.

En este capítulo se describió la síntesis de unidades indol protegidas con dos grupos diferentes. Estas unidades se acoplaron a perfluorociclopenteno hemi-sustituido con benzotiofeno resultando en diheteroariletos asimétricos. Cuando se utilizó TBDMS como grupo protector, se obtuvieron mejores rendimientos que cuando la protección se realizó con Boc.

4.3. REFERENCIAS

1. Irie, M., Miyatake, O., Sumiya, R., Hanazawa, M., Horikawa, Y., and Uchida, K., Photochromism of diarylethenes with intralocking arms. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **246**, 155 (1994).
2. Irie, M., Photochromic diarylethenes for optical-data storage media. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **227**, 263 (1993).
3. Yagi, K. and Irie, M., Fluorescence property of photochromic diarylethenes with indole groups. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 8, 1625 (2003).
4. Irie, M. and Sayo, K., Solvent effects on the photochromic reactions of diarylethene derivatives. *J. Phys. Chem.*, **96**, 19, 7671 (1992).
5. Yamaguchi, T., Uchida, K., and Irie, M., Asymmetric photocyclization of diarylethene derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 26, 6066 (1997).
6. Hanazawa, M., Sumiya, R., Horikawa, Y., and Irie, M., Thermally irreversible photochromic systems - reversible photocyclization of 1,2-bis(2-methylbenzo b thiophen-3-yl)perfluorocycloalkene derivatives. *Chem. Comm.*, 3, 206 (1992).
7. Greene, T.W. and Wuts, P.G.M., *Protective groups in organic synthesis*. Vol. Third Edition. Wiley-Interscience (1999).
8. Dhanak, D. and Reese, C.B., Studies in the protection of pyrrole and indole-derivatives. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 12, 2181 (1986).
9. Benhida, R., Blanchard, P., and Fourrey, J.L., A mild and effective iodination method using iodine in the presence of bis-(trifluoroacetoxy)iodobenzene. *Tetrahedron Lett.*, **39**, 38, 6849 (1998).
10. Bocchi, V. and Palla, G., High-yield selective bromination and iodination of indoles in n,n-dimethylformamide. *Synthesis*, 12, 1096 (1982).
11. Kelly, T.A., McNeil, D.W., Rose, J.M., David, E., Shih, C.K., and Grob, P.M., Novel non-nucleoside inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase .6. 2-indol-3-yl- and 2-azaindol-3-yl-dipyridodiazepinones. *J. Med. Chem.*, **40**, 15, 2430 (1997).

-
12. Witulski, B., Buschmann, N., and Bergstrasser, U., Hydroboration and suzuki-miyaura coupling reactions with the electronically modulated variant of an ynamine: The synthesis of (e)-beta-arylenamides. *Tetrahedron*, **56**, 43, 8473 (2000).
13. Hasan, I., Marinelli, E.R., Lin, L.C.C., Fowler, F.W., and Levy, A.B., Synthesis and reactions of n-protected 2-lithiated pyrroles and indoles - the tert-butoxycarbonyl substituent as a protecting group. *J. Org. Chem.*, **46**, 1, 157 (1981).
14. Grehn, L. and Ragnarsson, U., A convenient method for the preparation of 1-(tert-butyloxycarbonyl)pyrroles. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **23**, 4, 296 (1984).
15. Amat, M., Hadida, S., Sathyanarayana, S., and Bosch, J., Preparation and reactions of 1-(tert-butyldimethylsilyl)-3-lithioindole, regioselective synthesis of 3-substituted indoles. *J. Org. Chem.*, **59**, 1, 10 (1994).
16. Cross, P.E., Dickinson, R.P., Parry, M.J., and Randall, M.J., Selective thromboxane synthetase inhibitors .3. 1h-imidazol-1-yl-substituted benzo b furan, benzo b thiophene, and indole-2-carboxylic and indole-3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.*, **29**, 9, 1637 (1986).
17. Bell, M.R., Dambra, T.E., Kumar, V., Eissenstat, M.A., Herrmann, J.L., Wetzal, J.R., Rosi, D., Pillion, R.E., Daum, S.J., Hlasta, D.J., Kullnig, R.K., Ackerman, J.H., Haubrich, D.R., Luttinger, D.A., Baizman, E.R., Miller, M.S., and Ward, S.J., Antinociceptive (aminoalkyl)indoles. *J. Med. Chem.*, **34**, 3, 1099 (1991).

CAPÍTULO 5



UV \updownarrow Vis



ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ESPECTROSCÓPICAS

Como hemos discutido en la introducción, los diheteroariletos son compuestos fotocromicos que son objeto de reacciones pericíclicas (electrociclación). La reacción inversa se produce también por absorción de luz, generalmente de otra longitud de onda (fotocromismo de tipo P).

Al irradiar el diheteroariletos (isómero abierto, A) con luz UV se produce el cierre del anillo, dando lugar al isómero cerrado coloreado (B). Este isómero cerrado es térmicamente estable. Al irradiar el sistema con luz visible retorna a la forma abierta (Figura 5.1).

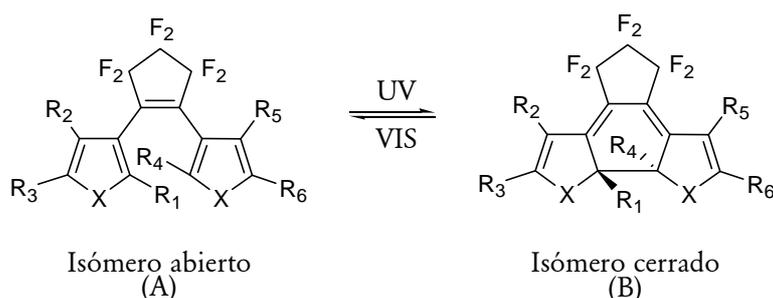


Figura 5.1. Fotoisomerización del diheteroariletos.

La irradiación del isómero abierto (A) se realiza con luz UV, por ejemplo a 300 nm, convirtiéndose en el isómero cerrado (B) (Figura 1.11). En una etapa inicial sólo A absorbe ya que es la única forma presente. Sin embargo, a medida que se continúa irradiando se obtiene el isómero B, que también absorbe luz a 300 nm. Por lo tanto, se produce la reacción inversa regenerándose A aunque con una eficacia menor. Esto hace que el sistema llegue, finalmente, a un estado fotoestacionario (PSS). En el estado fotoestacionario ambos isómeros están presentes en concentraciones relativas que dependen de la longitud de onda de irradiación.

Los compuestos de la figura 5.2 fueron caracterizados estudiando los espectros de absorción y los coeficientes de absorción molar para ambos isómeros y los rendimientos cuánticos para las reacciones de ciclación y cicloversión y el grado de conversión a diferentes longitudes de onda. Es necesario determinar las características espectroscópicas de los compuestos ya que a partir de ellas se podrán seleccionar los compuestos para las diferentes aplicaciones.

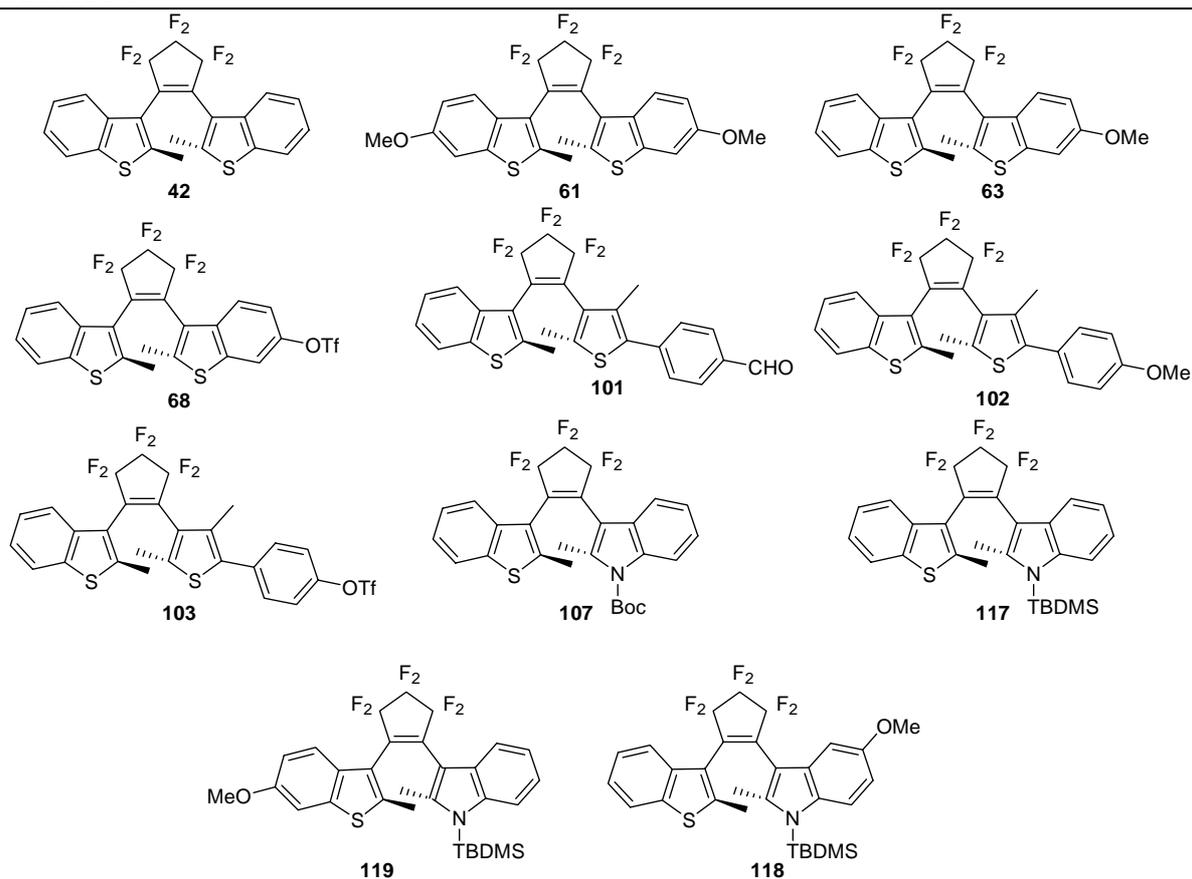


Figura 5.2. Compuestos fotocromicos.

5.1. DETERMINACIÓN DE LOS COEFICIENTES DE ABSORCIÓN MOLAR

5.1.1. Isómero abierto

La absorbancia Abs' a una dada longitud de onda, λ , esta definida como:

$$Abs' = \varepsilon'lc \quad (5.1)$$

donde ε' es el coeficiente de absorción molar ($M^{-1}cm^{-1}$), l es el paso óptico (cm) y c es la concentración de la muestra (M). De aquí en adelante, nos referiremos a la longitud de onda de irradiación con un prima (λ').

La determinación de los coeficientes de absorción molar para los compuestos sintetizados se realizó mediante una curva de calibración. Se prepararon soluciones en hexano de distinta concentración para cada uno de los compuestos. Se graficó la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción de cada compuesto en función de la concentración (Ejemplo: Figura 5.3). Se tuvo en cuenta que la absorbancia no fuese mayor a 1. El paso óptico fue, en

todos los casos, de 1 cm. A partir de la pendiente de la recta se calcularon los valores de ϵ . Los coeficientes de absorción molar de los isómeros abiertos se encuentran en la tabla 5.1.

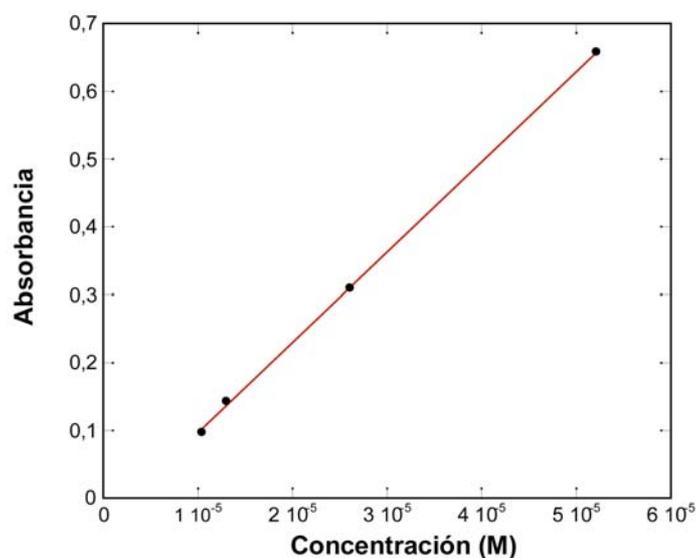


Figura 5.3. Curva de calibración para el compuesto 101.

Tabla 5.1. Longitud de onda de máxima y mínima absorción y coeficientes de absorción molar para los isómeros abiertos (a).

Compuesto	λ_{\max} , nm; (ϵ , $M^{-1}cm^{-1}$)	λ_{\min} , nm; (ϵ , $M^{-1}cm^{-1}$)
42	259 (14000), 300 (6000)	280 (5000), 295 (5400)
61	265 (23200), 304 (4500)	300 (4300)
63	262 (13500), 298 (4200)	295 (3900)
68	261 (13200), 289 (6600), 300 (6500)	284 (5900), 295 (5400)
101	260 (13300), 300 (12000)	
102	269 (19000)	
103	268 (20500), 289(15500)	
107	257 (20000), 292 (9900)	287 (9200)
117	261 (17200), 331 (5000)	315 (4950)
118	271 (14800), 300 (9800), 338 (4900)	295 (9500)
119	270 (20000), 304 (5350), 333 (5500)	300 (5200), 311 (5000)

En la forma abierta todos los compuestos presentaban un máximo de absorción entre 257-271 nm. Los compuestos derivados de benzotiofeno exhibían un segundo máximo en la región de 290-310 nm (Figura 5.4). Es interesante notar que la incorporación de un grupo metoxilo no modifica el coeficiente de absorción molar (comparar 42 y 63). Sin embargo, el ϵ del compuesto simétrico 61 (con metoxilos en posición 6) aumentó al doble.

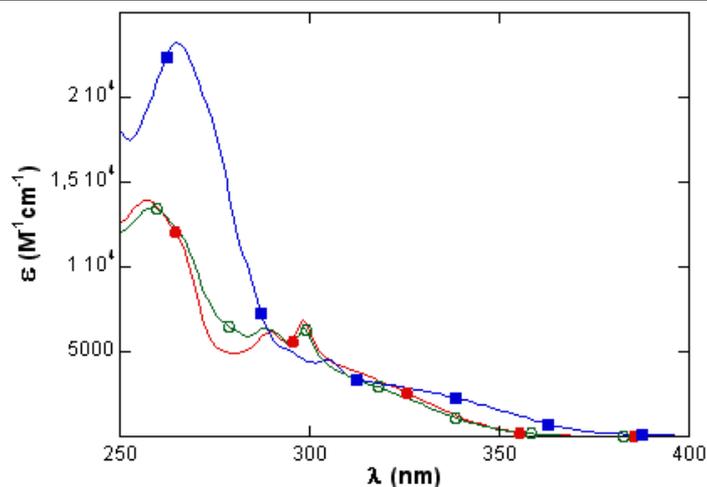


Figura 5.4. Espectros de absorción en hexano para el isómero abierto de los derivados de benzotiofeno **42** (rojo -●-), **61** (azul -■-) y **68** (verde -○-).

Los espectros de absorción y los ϵ de los compuestos **102** y **103**, metoxilo y triflato, resultaron similares. Cabe destacar que el derivado **101** (aldehído) presentaba únicamente una banda intensa a 320 nm (Figura 5.5).

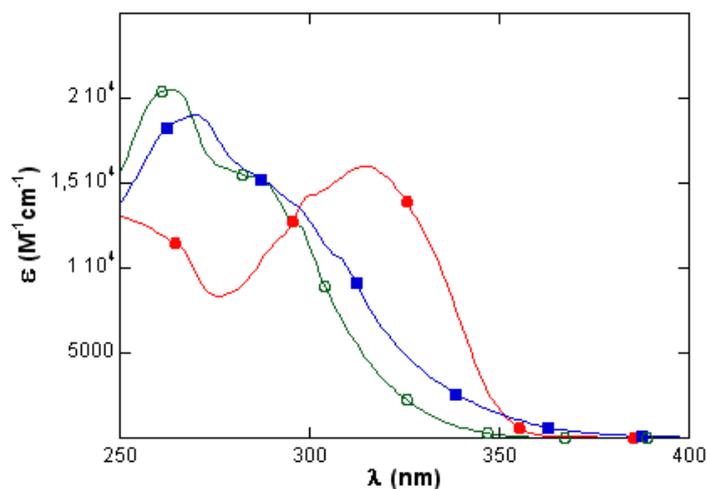


Figura 5.5. Espectros de absorción en hexano para el isómero abierto de los derivados de tiofeno **101** (rojo -●-), **102** (azul -■-) y **103** (verde -○-).

Es interesante notar que los compuestos derivados de indol que poseen como grupo protector el TBDMS, **117**, **118** y **119** mostraban un segundo máximo de absorción en la región entre 330-350 nm (Figura 5.6). Mientras que el compuesto **107**, con el grupo protector Boc mostró un hombro alrededor de 320 nm.

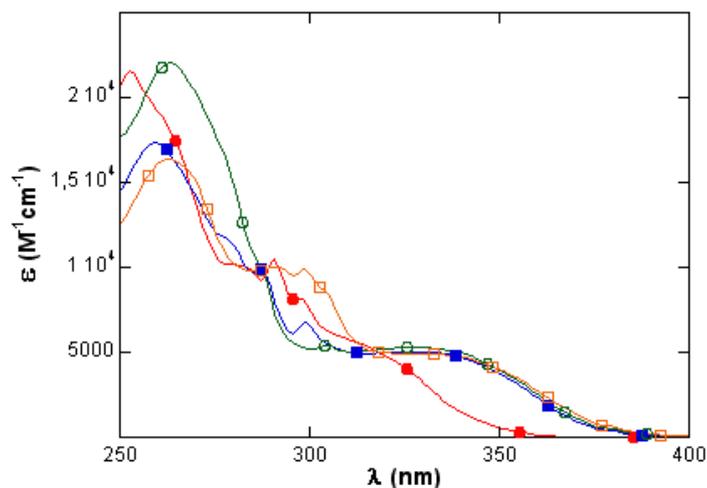


Figura 5.6. Espectros de absorción en hexano para el isómero abierto de los derivados de indol **107** (rojo -●-), **117** (azul -■-), **119** (verde -○-) y **118** (naranja -□-).

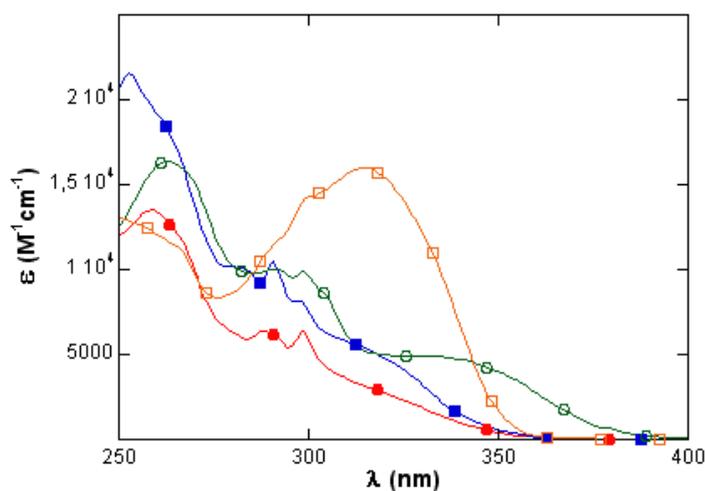


Figura 5.7. Comparación de los espectros de absorción en hexano para los isómeros abiertos de los compuestos **68** (rojo -●-), **107** (azul -■-), **118** (verde -○-) y **101** (naranja -□-).

Se compararon los espectros de absorción de los compuestos **68**, **107**, **118** y **101**, cada uno representa a un diheteroarileno asimétrico, ya sea con benzotiofeno, tiofeno o indol (Figura 5.7).

Todos los diheteroariltenos sintetizados presentaban reacciones fotocromáticas reversibles en hexano al exponerse a luz UV de longitud de onda 300, 320 o 340 nm. Los derivados indólicos **107**, **117**, **119** y **118**, además, fotoisomerizaban al irradiarlos con luz de longitud de onda 360 y 380 nm. Mientras que el derivado de tiofeno **101**, también fotoisomerizó con luz de 360 nm.

5.1.2. Isómero cerrado

En el capítulo 2, hemos descrito la purificación del compuesto **63** utilizando cromatografía de alta resolución (CLAR). Esto se realizó para todos los compuestos fotocromáticos sintetizados en los capítulos 2, 3 y 4. Se ha informado en la literatura que los isómeros abiertos y cerrados pueden separarse con muy buena resolución en fase normal con hexano o una mezcla de hexano/AcOEt (98:2 a 9:1) como solventes de desarrollo.¹ Procedimos a preparar soluciones en hexano de los isómeros abiertos puros. Estas soluciones fueron irradiadas con luz de 340 nm generándose el isómero cerrado. Luego la solución irradiada se separó en CLAR equipado con un detector de arreglo de diodos. En la figura 5.8 se muestra un cromatograma bidimensional del compuesto **68**. En el eje x se graficó el tiempo en minutos y puede observarse la separación de ambos isómeros. A partir del eje y , donde se graficó la longitud de onda en nm, pudo determinarse que el isómero con $t_R = 27$ minutos es el cerrado dada su absorción en la región visible. Mientras que el compuesto con $t_R = 54$ minutos se atribuyó al isómero abierto. De esta manera, se extrajeron los espectros de los isómeros cerrados aislados para todos los compuestos sintetizados.

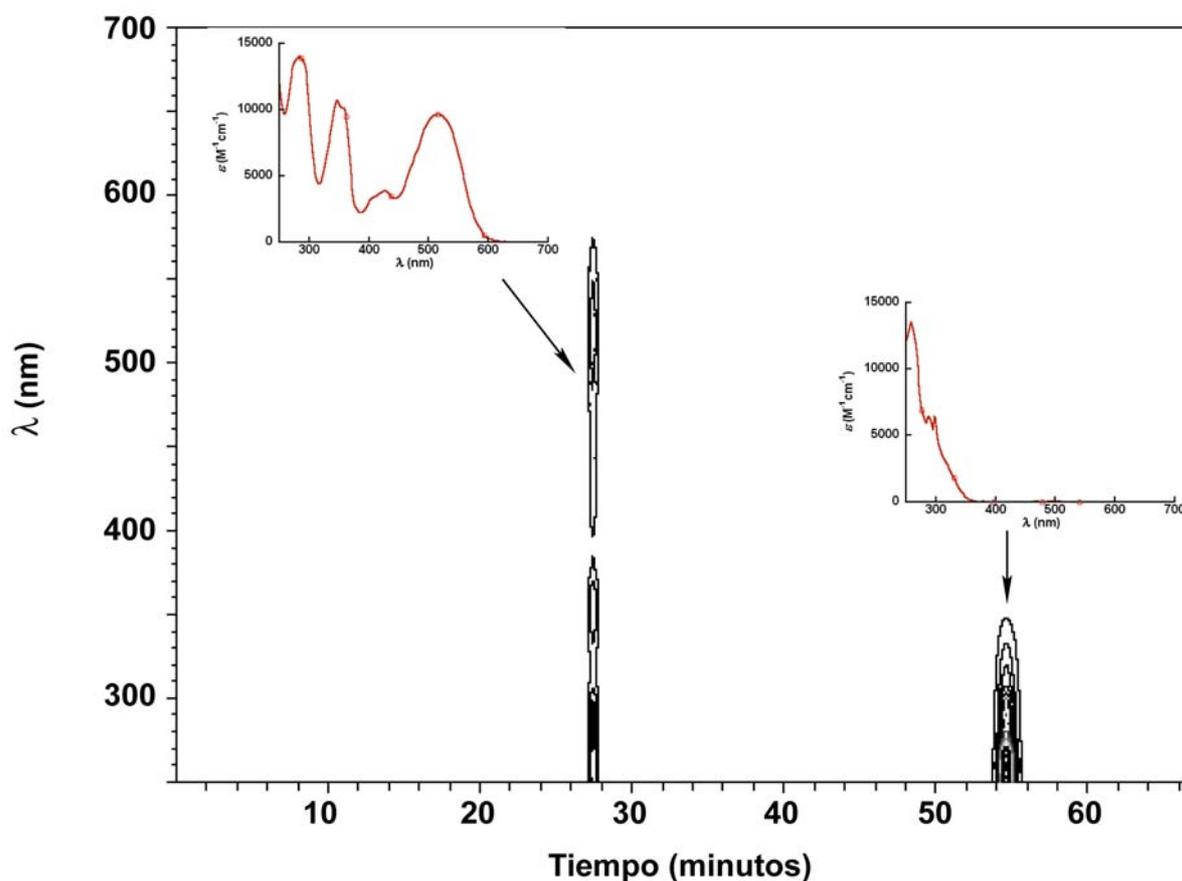


Figura 5.8. Cromatograma bidimensional del compuesto **68**, solvente de desarrollo hexano.

En las especies que son interconvertibles puede observarse la presencia de puntos isobésticos. Un punto isobéstico se da a la longitud de onda de un espectro de absorción en las que el ϵ de las dos especies es igual. Si se realizan los espectros de absorción de un isómero abierto y luego esta solución se irradia con luz UV hasta llegar al estado fotoestacionario, se puede extraer de la superposición de los espectros de absorción los puntos isobésticos correspondientes.

La tabla 5.2 muestra los puntos isobésticos de todos los compuestos fotocromicos. Algunos compuestos presentan dos puntos isobésticos, otros compuestos uno sólo.

Tabla 5.2. Puntos isobésticos.

Compuesto	Isobéstico (nm)	Compuesto	Isobéstico (nm)
42	306, 318	103	269
61	281	107	299, 316
63	279	117	313, 321
68	267	118	311, 332
101	307, 346	119	281
102	304		

Una vez que disponemos de los espectros correspondientes a los isómeros cerrados y teniendo en cuenta que en el punto isobéstico el coeficiente de absorción molar es igual para ambos isómeros calculamos el coeficiente de absorción molar (ϵ) para cada uno de los isómeros cerrados (Tabla 5.3).

Al irradiar con luz UV se observó que el color cambió de incoloro a naranja (para el compuesto **107**), a rosa (para los compuestos **42**, **61**, **63** y **68**), a púrpura (para los compuestos **117**, **119**, **101**, **102** y **103**) y a azul (para el compuesto **118**). En la tabla 5.3 se resumen los máximos de absorción y sus correspondientes ϵ para los isómeros cerrados.

En la figura 5.9 se muestra para el compuesto **103** la conversión (α_{PPS}) alcanzada al irradiar con luz UV de 300 nm (izquierda), se observó la aparición de un máximo de absorción en 536 nm. Cuando el mismo compuesto se irradió con luz verde (>520 nm) se produjo la desaparición de ese máximo.

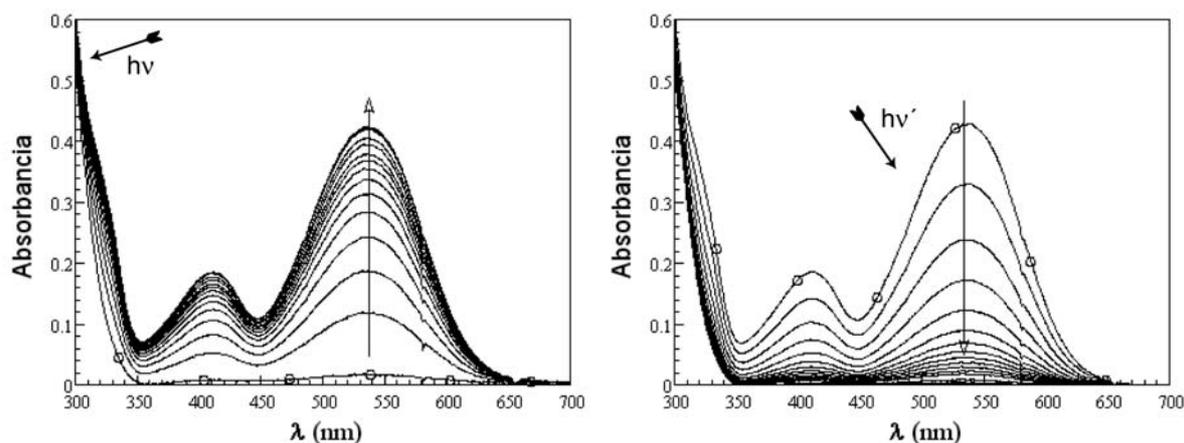


Figura 5.9. Espectros de conversión para el compuesto **103** irradiando con luz a 300 nm (izquierda) y con luz de >520 nm (derecha).

Se ha publicado que el grupo metoxilo afecta el máximo de absorción y los valores de los coeficientes de absorción molar, dependiendo cual sea la posición del anillo de benzotiofeno en que se encuentra.² Un grupo metoxilo no ejerce un cambio apreciable en el máximo de absorción y muestra un incremento en ϵ (comparar pares de compuestos **42** - **61** y **117** - **119**, Tabla 5.3) (Figuras 5.10 y 5.12) cuando se encuentra en posición 6 del anillo heteroaromático. Un compuesto isómero en posición 5 al compuesto **61** presenta un máximo de absorción en 569 nm y su ϵ es de 11.300 ($M^{-1}cm^{-1}$).² En el compuesto **118**, que se sintetizó en el trabajo de Tesis, se observa que la introducción de un grupo metoxilo en posición 5 del indol introduce un desplazamiento del máximo de absorción de 40 nm y disminuye el ϵ a 9600 $M^{-1}cm^{-1}$.

Tabla 5.3. Longitud de onda de máxima absorción y coeficientes de absorción molar para los isómeros cerrados (**b**).

Compuesto	λ_{max} , nm; (ϵ , $M^{-1}cm^{-1}$)
42	262 (28200), 350 (10700), 518 (9100)
61	302 (21000), 358 (17000), 515 (19700)
63	300 (9900), 360 (8700), 517 (9900)
68	284 (14000), 347 (10700), 517 (9600)
101	284 (21300), 412 (5000), 546 (11500)
102	223 (13000), 410 (4400), 546 (11500)
103	287 (19800), 412 (5100), 536 (11700)
107	268 (16600), 338 (8200), 431 (7600), 511 (9500)
117	278 (19000), 300 (12000), 416 (4400), 560 (14600)
118	353 (7200), 428 (2600), 600 (9200)
119	300 (16400), 358 (12400), 412 (5700), 558 (15600)

Además, para el compuesto asimétrico **63** con sólo un metoxilo en posición 6, el valor del ϵ se mantuvo invariante respecto al compuesto **42** (sin metoxilo). Pero la incorporación de metoxilo en ambos anillos, aumentó el ϵ al doble, de igual manera que lo descrito para el isómero abierto (Figura 5.10).

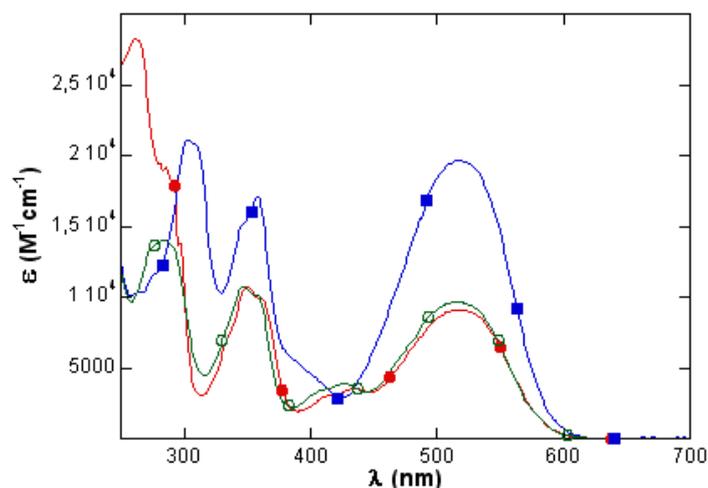


Figura 5.10. Espectros de absorción en hexano para el isómero cerrado de los derivados de benzotiofeno **42** (rojo -●-), **61** (azul -■-) y **68** (verde -○-).

El máximo de absorción para los isómeros cerrados de los derivados de tiofeno se desplazaron al rojo en alrededor de 30 nm (Figura 5.11). Como se describió en la introducción, esto se debe a la incorporación de un grupo fenilo al anillo de tiofeno.

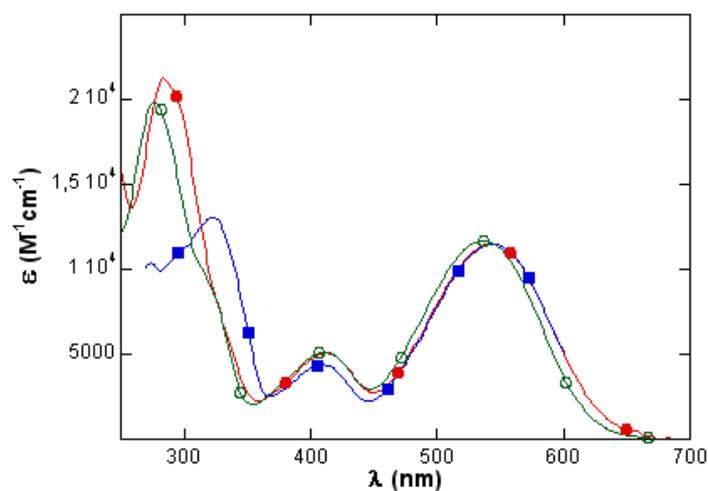


Figura 5.11. Espectros de absorción en hexano para el isómero cerrado de los derivados de tiofeno **101** (rojo -●-), **102** (azul -■-) y **103** (verde -○-).

El efecto de los grupos sustituyentes sobre el átomo de nitrógeno fue evaluado comparando las propiedades ópticas de los derivados Boc, TBDMS y CH_3 .³ El isómero cerrado muestra un máximo de absorción alrededor de 550 nm para los derivados con sustituyentes TBDMS (**117** y **119**) y CH_3 . Por otro lado el máximo de absorción de encuentra desplazado a 511 nm para el derivado con sustituyente Boc (**107**) (Figura 5.12).

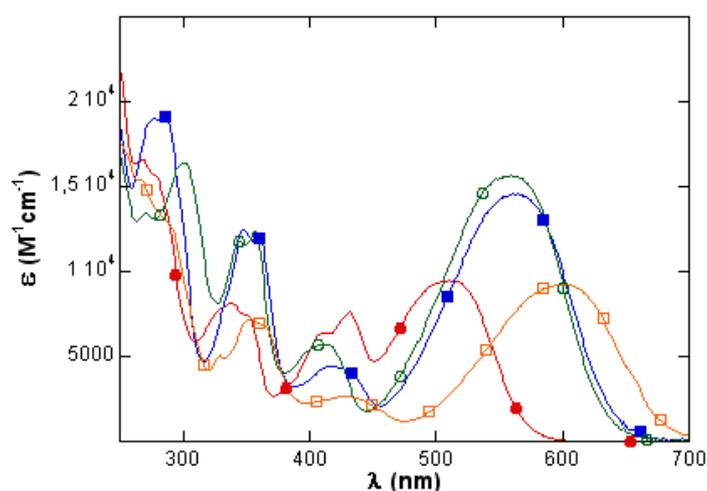


Figura 5.12. Espectros de absorción en hexano para el isómero cerrado de los derivados de indol **107** (rojo -●-), **117** (azul -■-), **119** (verde -○-) y **118** (naranja -□-).

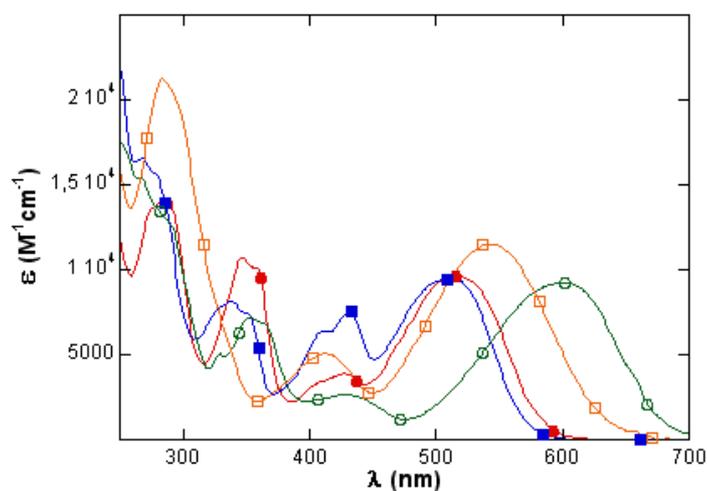


Figura 5.13. Comparación de los espectros de absorción en hexano para los isómeros cerrados de los compuestos **68** (rojo -●-), **107** (azul -■-), **119** (verde -○-) y **101** (naranja -□-).

En la figura 5.13 se observa que el máximo de absorción de los isómeros cerrados para los compuestos sintetizados varió desde 511 nm para el compuesto **107** (azul -■-) hasta 600 nm

para el compuesto **119** (verde -○-). Además, se obtuvieron compuestos con máximos de absorción intermedio, 517 nm para **68** (rojo -●-) y 546 nm para **101** (naranja -□-).

5.2. DETERMINACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS CUÁNTICOS Y EL GRADO DE CONVERSIÓN

El rendimiento cuántico se determina como la relación entre moles de reactivo transformado y moles de fotones absorbidos por el reactivo durante el tiempo de medición. Sólo aquellos fotones que ocasionan la reacción, luego de que son absorbidos por el reactivo, son los que inician el paso primario.

$$\Phi = \frac{\text{cantidad de reactivo consumido o producto formado}}{\text{cantidad de fotones absorbidos}} \quad (5.2)$$

5.2.1. Rendimientos cuánticos^{4, 5}

Los rendimientos cuánticos de la tabla 5.4 en hexano fueron calculados a partir de las curvas de conversión de la figura 5.14 y 5.15 para cada uno de los compuestos en hexano. La irradiación con luz UV se realizó con un filtro pasabandas centrado en 300 nm (Corion, FWHM = 10 nm) y en el visible con un filtro de corte de 520 nm. La potencia total de la luz de irradiación se calculó utilizando el compuesto **42** como actinómero ($\Phi_{AB}^{313} = 0,35$ y $\Phi_{BA}^{>520} = 0,35$, en hexano).⁶ Para el cálculo de las eficiencias cuánticas supusimos que el sistema no posee procesos térmicos, que el isómero abierto no absorbe a $\lambda > 520$ nm y que la absorción del isómero cerrado es despreciable a 300 nm. Esto permite considerar los procesos de ciclación y cicloversión en forma independiente, y ambos pertenecientes al esquema cinético para sistemas de 2 especies, un proceso fotoquímico y ninguno térmico. La ecuación cinética para la reacción de ciclación en estas condiciones es la siguiente:

$$-\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = I_0^{300nm} \frac{(1 - 10^{-Abs^{300nm}})}{Abs^{300nm}} (\Phi_{AB} \epsilon_A^{300nm} [A]_0 - (\Phi_{AB} \epsilon_A^{300nm} + \Phi_{BA} \epsilon_B^{300nm}) [B]) \quad (5.3)$$

Durante irradiaciones de larga duración, el sistema alcanza un estado fotoestacionario (PSS) donde $d[B]/dt = 0$, esto conduce a la constante de conversión en el estado estacionario:

$$\alpha_{PSS} = [B]_{PSS} / [A]_0 = \frac{\Phi_{AB} \epsilon_A^{300nm}}{\Phi_{AB} \epsilon_A^{300nm} + \Phi_{BA} \epsilon_B^{300nm}} \quad (5.4)$$

reemplazando la relación en el estado fotoestacionario (5.4) en (5.3), integrando entre el tiempo inicial (0) y el estado fotoestacionario (PSS) y si $Abs' < 0,2$, entonces:

$$\ln\left(\frac{Abs_{PSS} - Abs_0}{Abs_{PSS} - Abs(t)}\right) = 2,303 I_0^{300nm} \Phi_{AB} \varepsilon_A^{300nm} \frac{[A]_0}{[B]_{PSS}} t \quad (5.5)$$

donde $[A]_0$ es la concentración del isómero abierto (concentración inicial), Φ_{AB} es el rendimiento cuántico de ciclación a 300 nm, I_0 es el flujo de fotones incidente a 300 nm (en $M.s^{-1}$), ε_A es el coeficiente de absorción del isómero abierto a 300 nm y l , el paso óptico. Los rendimientos cuánticos de ciclación se calcularon ajustando los valores de las curvas de conversión correspondientes (Figura 5.14, izquierda) a la ecuación (5.5) lo que nos dio el gráfico de la figura 5.14 (derecha). La pendiente de la curva es proporcional al rendimiento cuántico.

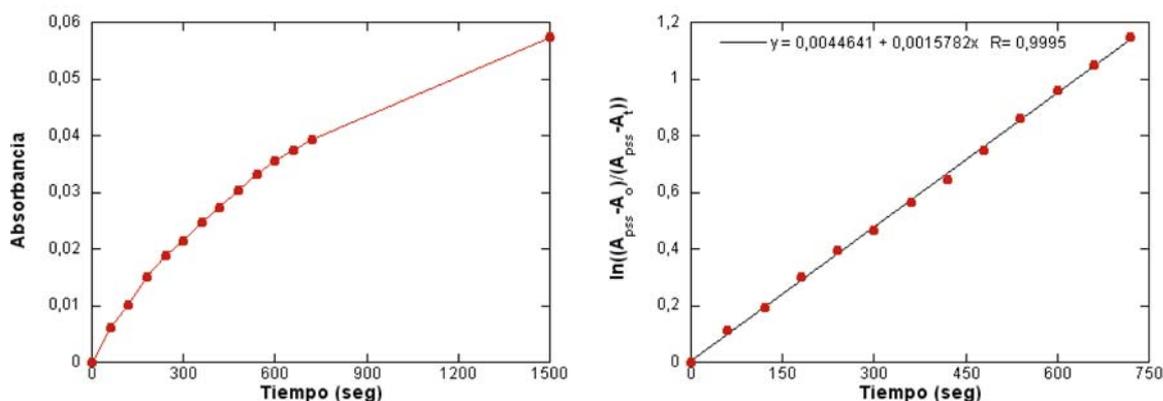


Figura 5.14. Absorción a 520 nm del compuesto **68** en hexano en función del tiempo de irradiación con luz UV (izquierda), ajuste de la ecuación 5.5 (derecha).

Para la reacción de cicloversión, debido a que sólo el isómero cerrado absorbe en el visible, la ecuación (5.3) se simplifica quedando la siguiente expresión:

$$-\frac{d[B]}{dt} = \frac{d[A]}{dt} = \Phi_{BA} I_0^{520nm} (1 - 10^{-A^{520nm}}) \cong 2,303 \Phi_{BA} I_0^{520nm} \varepsilon_B^{520nm} l [B] \quad (5.6)$$

donde Φ_{BA} es el rendimiento cuántico de cicloversión a 520 nm, I_0 es el flujo fotónico a 520 nm (en $M.s^{-1}$), y ε_B es el coeficiente de absorción molar del isómero cerrado a 520 nm. Los rendimientos cuánticos de cicloversión se calcularon ajustando los valores de las curvas de conversión correspondientes (Figura 5.15, izquierda) a la ecuación (5.6). Integrando la ecuación (5.6) entre el tiempo inicial (0) y un tiempo (t)

$$\ln\left(\frac{Abs'(0)}{Abs'(t)}\right) = 2,303I_0^{520nm}l\varepsilon_B^{520nm}\Phi_{BA}t \quad (5.7)$$

El gráfico de la ecuación (5.7) se muestra en la figura 5.15 (derecha), de la pendiente de la curva se obtiene el rendimiento cuántico de cicloversión.

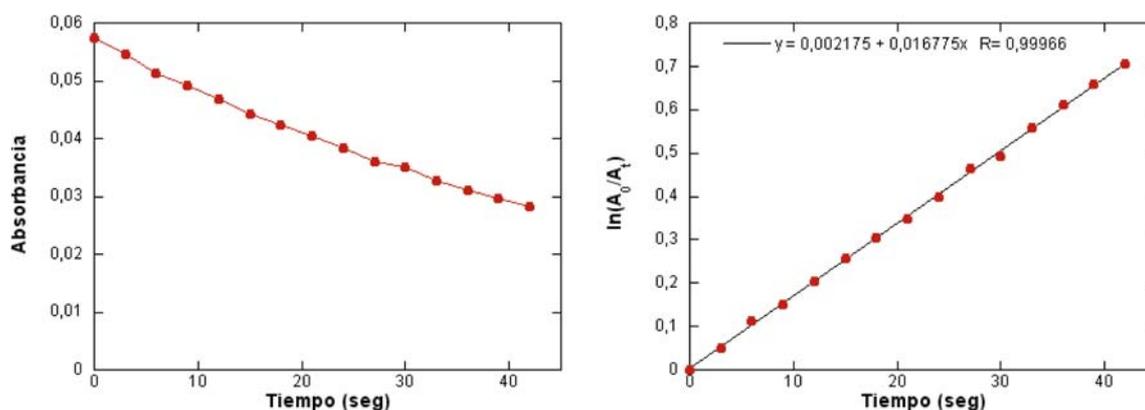


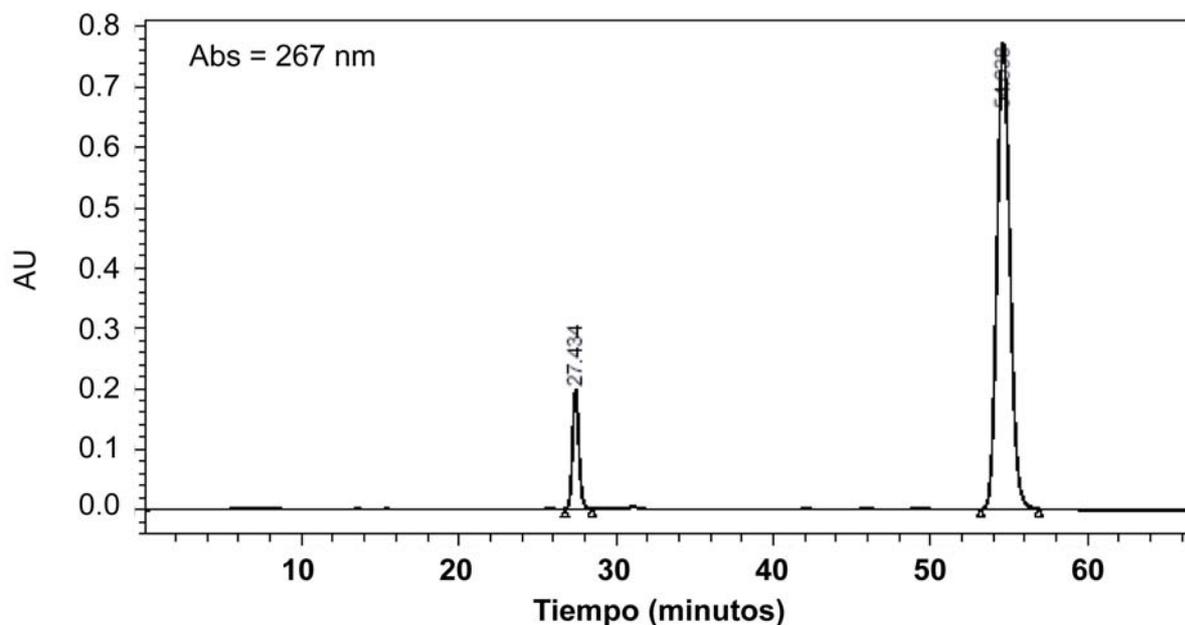
Figura 5.15. Absorción a 520 nm del compuesto **68** en hexano en función del tiempo de irradiación con luz visible (izquierda) y ajuste de la ecuación 5.7 (gráfico derecho).

5.2.2. Grado de conversión

Es importante estudiar cual es el rango de longitudes de onda de irradiación que permitan la ciclación de los compuestos sintetizados. Además, se debe determinar como un aspecto paralelo el grado de conversión generado a cada longitud de onda. El grado de conversión a una dada longitud de onda de irradiación está definido por la ecuación (5.4). Además, se puede calcular sabiendo la concentración final de isómero cerrado que se obtiene al irradiar a una dada longitud de onda.

Otra forma de determinar el grado de conversión es por CLAR. La metodología a seguir se describe para uno de los compuestos fotocromicos. Se irradió una solución del compuesto **68** a 340 nm hasta alcanzar el estado fotoestacionario. Luego se separaron los isómeros por CLAR en una columna semipreparativa de sílica con hexano como solvente de desarrollo. La corrida cromatográfica, que se muestra en la figura 5.16, fue monitoreada a 267 nm (punto isobéptico). El porcentaje de isómero cerrado aislado indica la cantidad de isómero cerrado que se obtiene en el estado fotoestacionario (Ecuación (5.8)).

$$Conversión = \alpha_{PSS} = \frac{[B]_{PSS}}{[A]_0} = \frac{Área_{Isómero\ Cerrado}}{Área_{Total}} \quad (5.8)$$



Columna: Kromasil 100 Sil 5 μ m
 Solvente de desarrollo: hexano
 Flujo: 2 ml/min

	RT	Area	% Area	Height
1	27.434	5451877	10.93	195675
2	54.638	44433750	89.07	771219

Isómero cerrado
 Isómero abierto

Figura 5.16. Cromatograma para el compuesto **68** luego de irradiación a 340 nm.

El grado de conversión alcanzado en el estado estacionario por irradiación a la correspondiente longitud de onda (UV) y los rendimientos cuánticos de ciclación y cicloversión se muestran en la tabla 5.4.

Tabla 5.4. Rendimientos cuánticos de ciclación con luz a 300 nm, conversión de ciclación y rendimientos cuánticos de cicloversión con luz > 520 nm.

Compuesto	Φ_{AB}	α_{PS} (λ_{irr} , nm)	Φ_{BA}
42	0,35	0,35 (300), 0,40 (320), 0,07 (340)	0,35
61	0,22	0,20 (300), 0,22 (320), 0,16 (340)	0,17
68	0,26	0,44 (300), 0,40 (320), 0,13 (340)	0,25
101	0,50	0,82 (300) 0,91 (320) 0,95 (340), 0,31 (360)	0,07
103	0,30	0,79 (300), 0,60 (320), 0,09 (340)	0,08
107	0,39	0,86 (300), 0,71 (320), 0,33 (340), 0,10 (360), 0,07 (380)	0,20
117	0,31	0,35(300), 0,44 (320), 0,36 (340), 0,18 (360), 0,13 (380)	0,27
118	0,50	0,74 (300), 0,76(320), 0,70 (340), 0,38 (360), 0,23 (380)	0,25
119	0,44	0,32(300), 0,39 (320), 0,38 (340), 0,22 (360), 0,18 (380)	0,31

Los valores de rendimientos cuánticos de ciclación y cicloversión resultaron consistentes con los informados en literatura.^{2, 3, 7} Cabe recordar que los derivados de tiofeno se

presentaron como dos confórmers en igual relación molar (1:1). El rendimiento cuántico de ciclación para el compuesto **101** coincide con el máximo posible ($\Phi_{AB} = 0,50$). Mientras que la reacción de cicloversión mostró ser de muy bajo rendimiento ($\Phi_{BA} = 0,07$).

Es interesante notar que los derivados de indol presentaron rendimientos cuánticos de ciclación y cicloversión elevados. Mientras que los derivados de benzotiofeno mostraron rendimientos cuánticos moderados pero similares para ambas reacciones.

Los diheteroariltenos derivados de benzotiofeno e indol resultarían ser útiles para modulación de señales (por ejemplo FRET) ya que los rendimientos cuánticos de ciclación y cicloversión son similares y de valor moderado. Mientras que los derivados de tiofeno, donde el rendimiento cuántico de cicloversión es bajo, son útiles para aplicaciones en memoria óptica.

Los isómeros abiertos de los derivados indólicos pueden ser fotoconvertidos en sus correspondientes isómeros cerrados entre 300-380 nm. Esto es interesante ya que pueden utilizarse fuentes de irradiación cercanas al visible.

5.3. DERIVADOS FOTOCRÓMICOS COMO ACEPTORES PARA PC-FRET

La modulación de las propiedades de emisión de un donante fluorescente por pc-FRET está basado en las diferencias en las propiedades de absorción del aceptor en sus diferentes isómeros fotocromicos (abierto y cerrado). El espectro de absorción expresado como coeficiente de absorción molar versus longitud de onda es uno de los parámetros necesarios para el cálculo de la integral de superposición (J). Los compuestos fotocromicos fueron evaluados como aceptores modulables. La figura 5.17 muestra el espectro de absorción correspondiente a isómero abierto y cerrado del compuesto **103** y la región de emisión de Lucifer Yellow (LY). Únicamente el isómero cerrado del compuesto **103** muestra una superposición efectiva entre su absorción y la emisión del donante (LY). La distancia crítica de Förster (R_0), donde la eficiencia $E = 0,5$ puede calcularse a partir de la superposición espectral (J). Las ecuaciones que describen estos parámetros y que se utilizaron para los cálculos se encuentran descriptas en la introducción (páginas 27, ecuaciones 1.5 y 1.6).

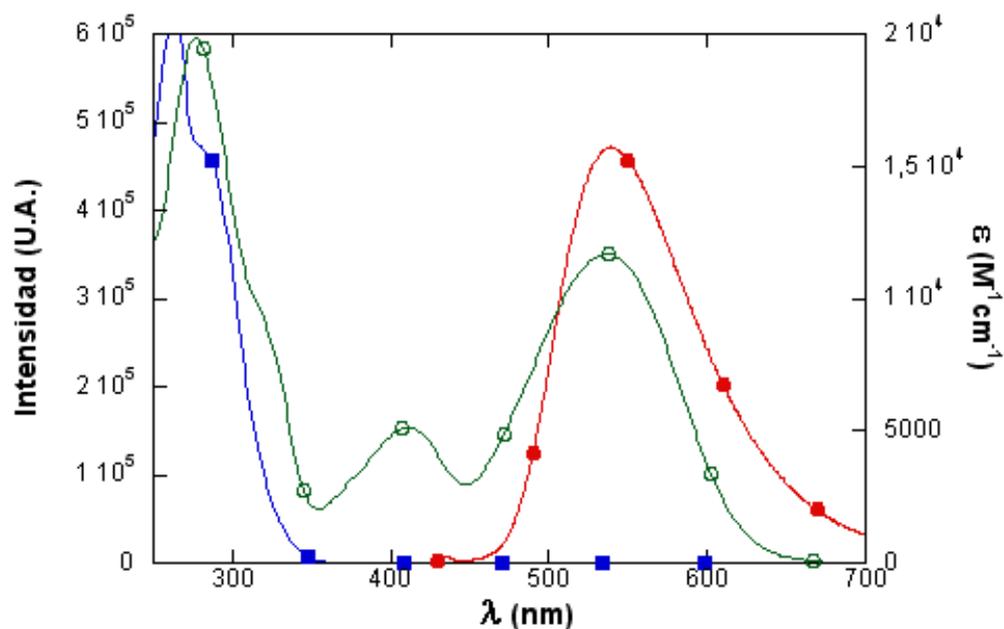


Figura 5.17. Superposición espectral de los isómeros abierto y cerrado de **103** y LY. Coeficientes de absorción molar del isómero abierto (azul -■-) y cerrado (verde -○-) de **103** corresponden al eje derecho mientras que la emisión de LY (rojo -●-) al eje izquierdo.

Tabla 5.5. Integral de superposición (J) y distancia de Förster (R_0) para los pares donante-aceptor fotocromico en su forma abierta (A) y cerrada (B).

Aceptor	Donante	J (cm ⁶ , A)	R_0 (Å, A)	J (cm ⁶ , B)	R_0 (Å, B)
42	LY	1,72 e-19	4	4,06 e-14	34
61	LY	8,8e-16	19	9 e-14	39
63	LY	1,7 e-16	14	4,3 e-14	35
68	LY	2 e-14	20	4,5 e-14	35
101	LY	1,12 e-15	19	7,4 e-14	38
101	Rojo Nilo	1.3 e-15	23	6.2 e-14	45
102	LY	3,5 e-16	15	7 e-14	37
107	LY	3,00 e-16	15	5,12 e-14	35.6
117	LY	2,88e-17	10	9,82e-14	40
118	LY	1,09 e-16	13	6,13 e-14	36
118	SulfoRodamina	1,94 e-16	18	1,06 e-13	51
118	Rojo Nilo	1,82 e-16	17	9,06 e-14	48
119	LY	1,88 e-16	14	9,63 e-14	40

La integral de superposición (J) y la distancia crítica de Förster (R_0) fueron calculadas para los pares compuestos por un donante modelo, LY y un aceptor fotocromico, compuestos que se muestran en la tabla 5.5 en su forma abierta y cerrada. Adicionalmente, el compuesto **118** con

un desplazamiento adicional hacia el rojo fue apareado con donantes como SulfoRodamina 101 y Rojo Nilo. En todos los casos, una diferencia de dos órdenes de magnitud entre la integral de superposición de la forma abierta y cerrada demostraron que la forma cerrada resultó un aceptor adecuado en contraste con lo observado para la forma abierta. Los valores derivados de R_o fueron de 34-51 Å para el isómero cerrado y disminuyeron a 4-23 Å para el isómero abierto.

En este capítulo se determinaron los coeficientes de absorción molar de los isómeros abiertos y cerrados de los diheteroariltenos sintetizados, así como los rendimientos cuánticos de ciclación y cicloversión y el grado de conversión a distintas longitudes de onda. Asimismo se determinaron las distancias críticas de Förster para una serie de pares donante-aceptor fotocromico. Se estableció que las formas cerradas son más eficientes como aceptores del proceso de FRET. Los parámetros determinados en este capítulo son de utilidad para la validación de la metodología de pc-FRET

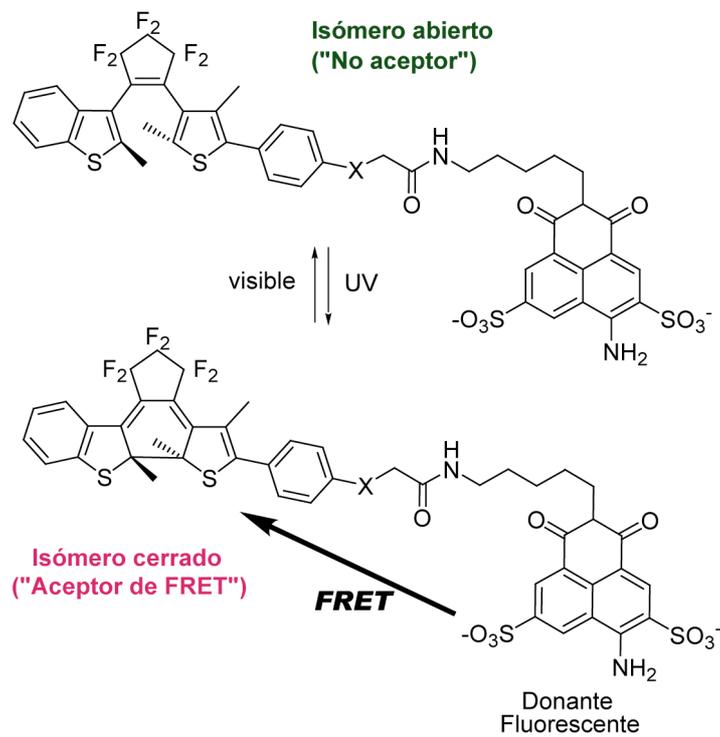
5.4. REFERENCIAS

1. Yamaguchi, T., Uchida, K., and Irie, M., Asymmetric photocyclization of diarylethene derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 26, 6066 (1997).
2. Frigoli, M. and Mehl, G.H., Modulation of the absorption, fluorescence, and liquid-crystal properties of functionalised diarylethene derivatives. *Chem. Eur. J.*, **10**, 20, 5243 (2004).
3. Yagi, K. and Irie, M., Fluorescence property of photochromic diarylethenes with indole groups. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 8, 1625 (2003).
4. Deniel, M.H., Lavabre, D., and Micheau, J.C., *Photokinetics under continuous irradiation*, in *Organic photochromic and thermochromic compounds - volumen 2: Main photochromic families*, J.C. Crano and R.J. Guglielmetti, Editors. Plenum Press, New York. 167 (1999)
5. Nakashima, H. and Irie, M., Synthesis of silsesquioxanes having photochromic dithienylethene pendant groups. *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 4, 683 (1999).

6. Uchida, K., Tsuchida, E., Aoi, Y., Nakamura, S., and Irie, M., Substitution effect on the coloration quantum yield of a photochromic bisbenzothienylethene. *Chemistry Letters*, 1, 63 (1999).

7. Irie, M., Sakemura, K., Okinaka, M., and Uchida, K., Photochromism of dithienylethenes with electron-donating substituents. *J. Org. Chem.*, **60**, 25, 8305 (1995).

CAPÍTULO 6



FOTOCROMISMO-TRANSFERENCIA DE ENERGÍA (PC-FRET)

6.1. DISEÑO MOLECULAR, SÍNTESIS Y PROPIEDADES ESPECTRALES

6.1.1. Diseño molecular y síntesis

Para evaluar el proceso de transferencia de energía con aceptores fotocromicos en un modelo de distancias definidas se prepararon compuestos constituidos por un donante fluorescente unido covalentemente a un aceptor fotocromico. Los primeros diheteroariltenos utilizados al inicio de esta tesis provinieron del laboratorio del Dr. Masahiro Irie (compuestos **122** y **124**, Figura 6.1). El donante y aceptor fotocromico para FRET fueron seleccionados de acuerdo a la consideración de sus propiedades espectroscópicas. Un requerimiento clave es que sólo uno de los isómeros del aceptor fotocromico posea una región de absorción que se superponga con la región de emisión del donante. La conversión entre los isómeros abierto y cerrado del aceptor permite que la emisión fluorescente (grado de quenching o apagamiento) del donante pueda ser modulada reversiblemente.

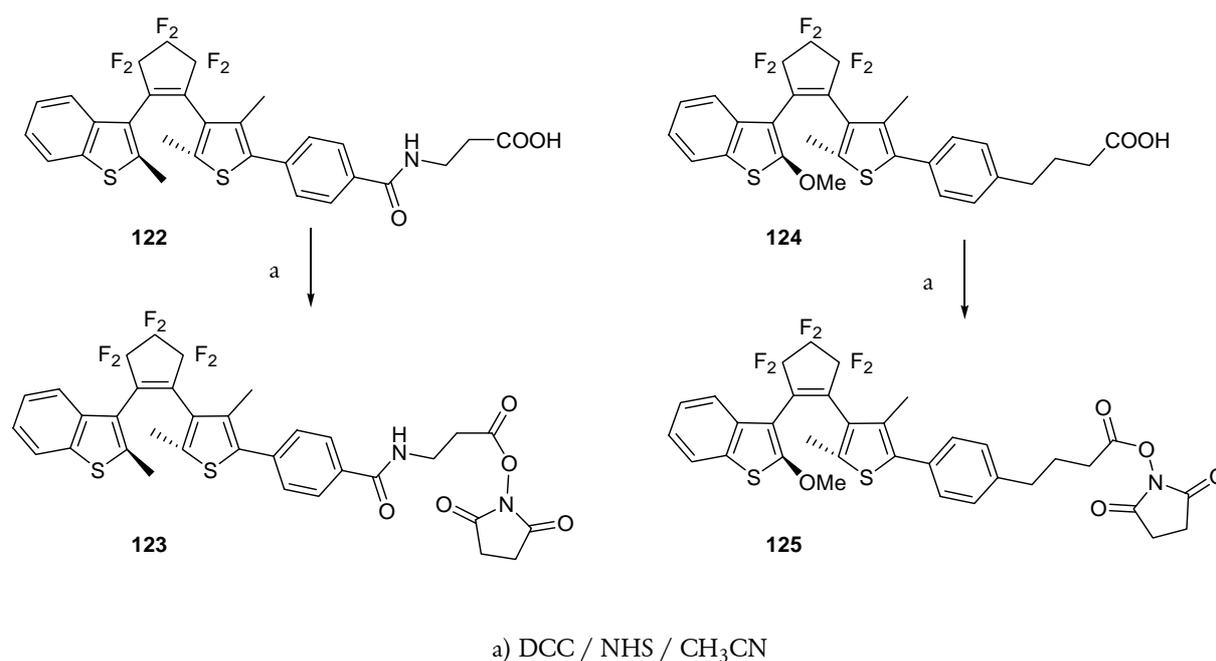


Figura 6.1. Activación de los compuestos **122** y **124** como ésteres succinimidilo.

El ácido carboxílico de los compuestos **122** y **124** se activó con diciclohexilcarbodiimida y *N*-hidroxisuccinimida para dar el éster succinimidilo correspondiente (Figura 6.1). Por reacción con el compuesto **126** (Figura 6.2) en MeCN en presencia de trietilamina se obtuvieron los compuestos modelo **127** y **128** (Figura 6.3 y 6.5). De esta manera el donante fluorescente, **126** se unió covalentemente a los compuestos fotocromicos **122** y **124**.

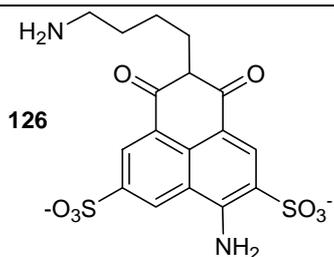


Figura 6.2. Compuesto fluorescente, Lucifer Yellow.

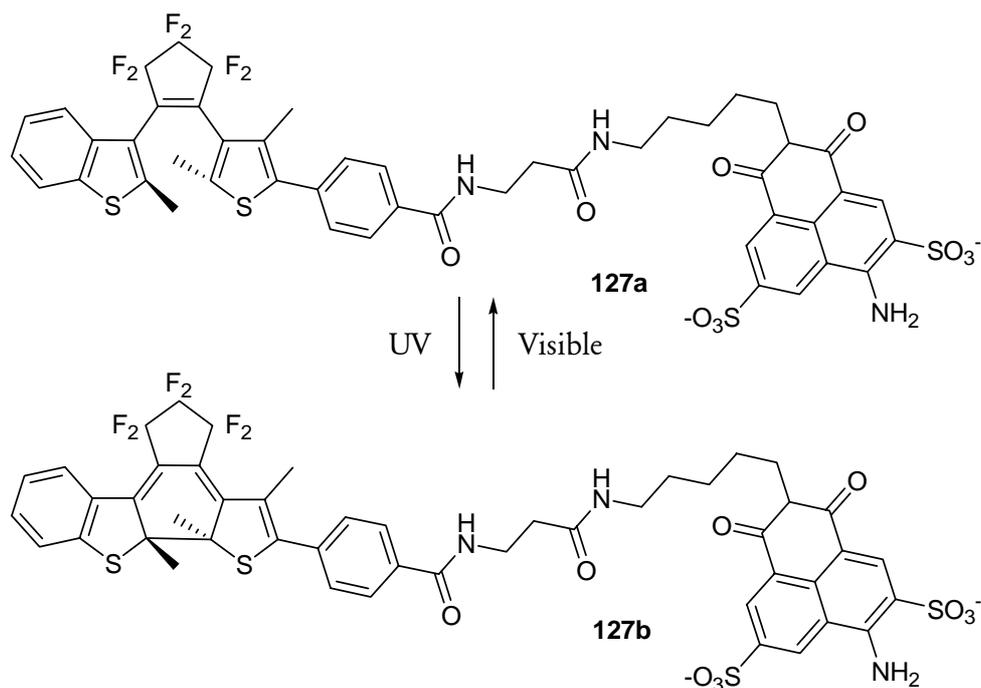


Figura 6.3. Fotoisomerización del compuesto modelo 127.

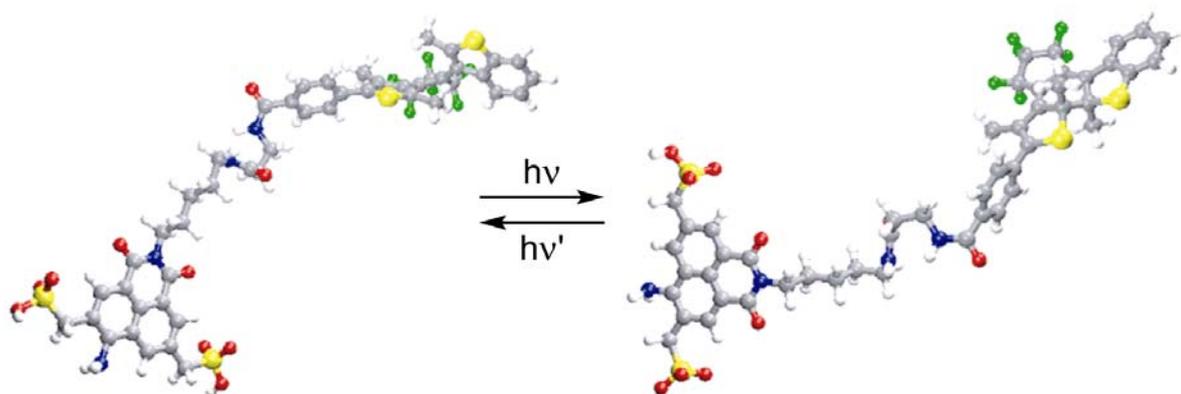


Figura 6.4. Estructuras minimizadas del compuesto 127 en sus isómeros abierto y cerrado.

Para ambos compuestos modelo se realizó una minimización de las estructuras utilizando mecánica molecular (paquete Amber 4.1) con el objeto de obtener una estimación de las distancias máximas posibles entre donante y aceptor. Las estructuras obtenidas para 127 se

muestran en la figura 6.4. Dada la flexibilidad conformacional de la cadena alifática, se espera tener una familia de estructuras. En nuestro trabajo estábamos interesados en estimar la distancia máxima posible entre el donante y el aceptor para calcular rangos posibles para valores de eficiencia de FRET. La conformación que resultó de la minimización disponía a la cadena en conformación zig-zag extendida y era entonces consistente con nuestro requerimiento.

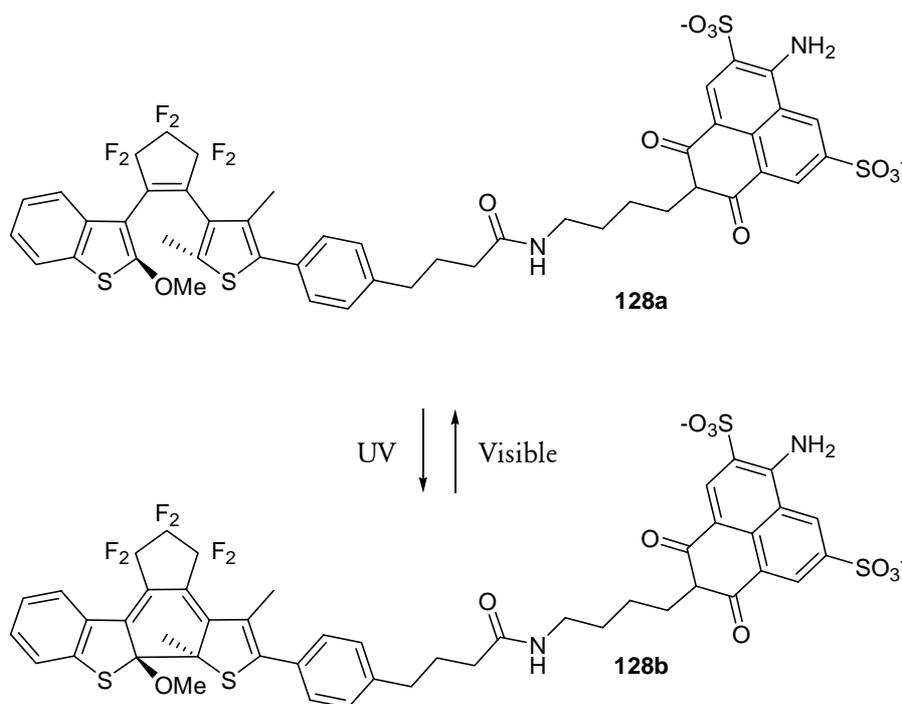


Figura 6.5. Fotoisomerización el compuesto modelo 128.

6.1.2. Propiedades espectrales

Los espectros de absorción de ambos isómeros, abierto y cerrado, para los compuestos 127 y 128 se muestran en la figura 6.6 a y b, respectivamente. Mientras que los espectros de absorción de ambos isómeros para 122 y 124 se muestran en la figura 6.7 b y c. Las bandas de absorción de los isómeros cerrados de 122b y 124b en el visible están a 546 nm (ϵ 12.000 M⁻¹cm⁻¹) y 569 nm (ϵ 11.000 M⁻¹cm⁻¹) respectivamente. Los isómeros abierto y cerrado de 122 poseen puntos isobésticos en 248, 274 y 312 nm y los correspondientes isómeros de 124 en 233 y 290 nm.

El compuesto 126 fue seleccionado como donante debido que su región de emisión (Figura 6.7a) posee una buena superposición con la absorción del isómero cerrado y es casi nula

con el isómero abierto tanto para **122** como **124**. Un aspecto adicional es que posee un máximo de excitación donde ambos isómeros del diheteroarileno exhiben mínima absorción.

Los compuestos modelo **127** y **128** fueron diseñados con un espaciador alifático entre el donante fluorescente y el aceptor fotocromico de manera tal de minimizar las interacciones entre ellos. El análisis de los espectros de absorción permitió confirmar que las propiedades de absorción del donante no son perturbadas por la conversión del aceptor y que el aceptor no es afectado por el donante. Para esto se determinaron los espectros diferencia entre cada correspondiente isómero abierto y el estado fotoestacionario de los compuestos **122**, **127**, **124** y **128**. Se observaron que en todos los casos la ciclación del aceptor no afecta al espectro. (Figura 6.6). Los espectros están desplazados en el eje y para su mejor comparación.

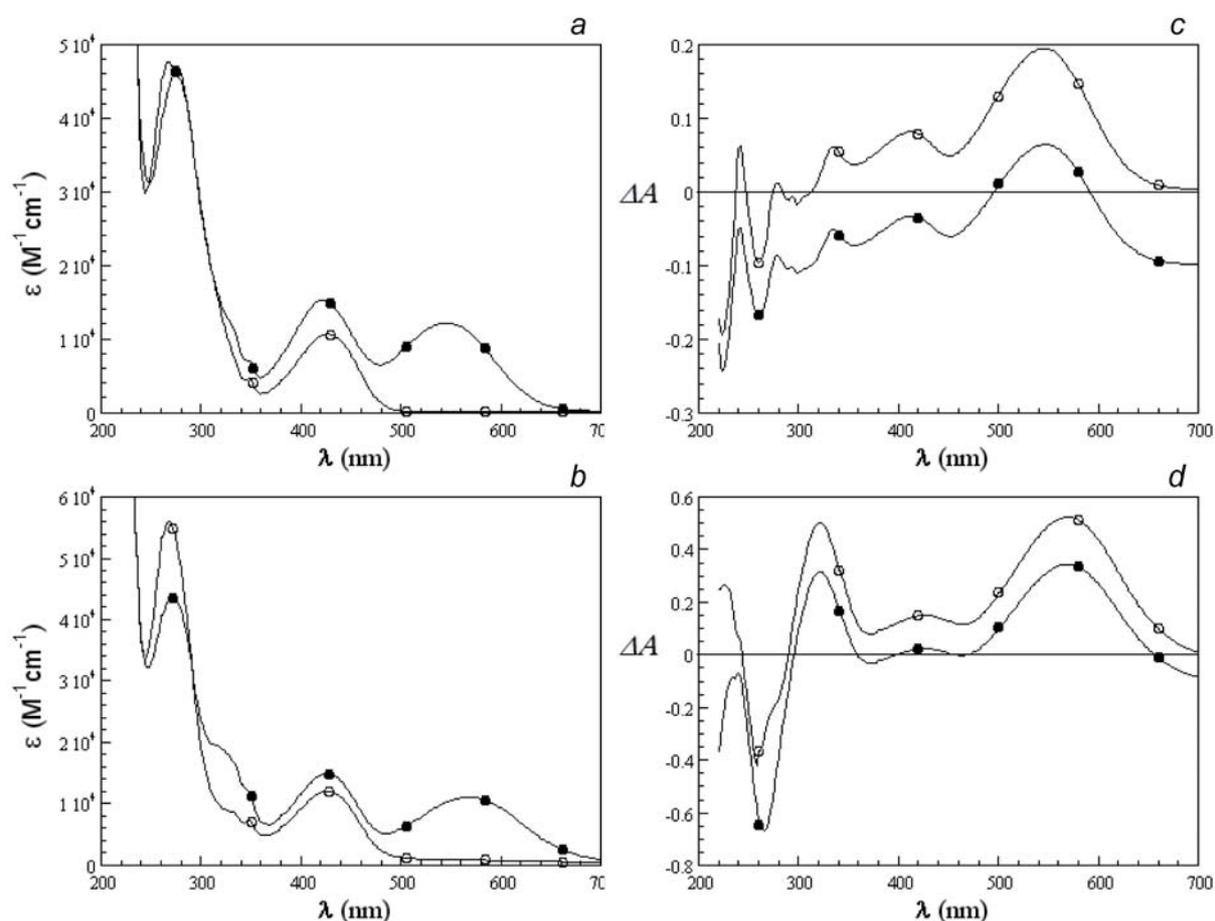


Figura 6.6. (a) Espectro de absorción de **127a** (-○-) y **127b** (-●-), (b) Espectro de absorción de **128a** (-○-) y **128b** (-●-), (c) Espectros de absorción diferencia entre el estado estacionario alcanzado por irradiación a 366 nm y el isómero abierto para **122** (-○-) y para **127** (-●-), (d) Espectros de absorción diferencia entre el estado estacionario alcanzado por irradiación a 366 nm y el isómero abierto para **124** (-○-) y para **128** (-●-)

Tabla 6.1. Longitudes de onda de máximos de absorción y coeficientes de absorción molar para los compuestos **122** y **124**, isómeros abierto y cerrado y puntos isobésticos.

122 (λ , nm (ϵ , $M^{-1}cm^{-1}$))			124 (λ , nm (ϵ , $M^{-1}cm^{-1}$))		
abierto	Isobéstico	cerrado	abierto	Isobéstico	Cerrado
266 (18000)	248 (15400)	294 (20000)	264 (25000)	233 (26000)	314 (16000)
298 (20000)	274 (11000)	413 (5000)		290 (14900)	424 (4000)
	312 (14700)	546 (12000)			548 (11000)

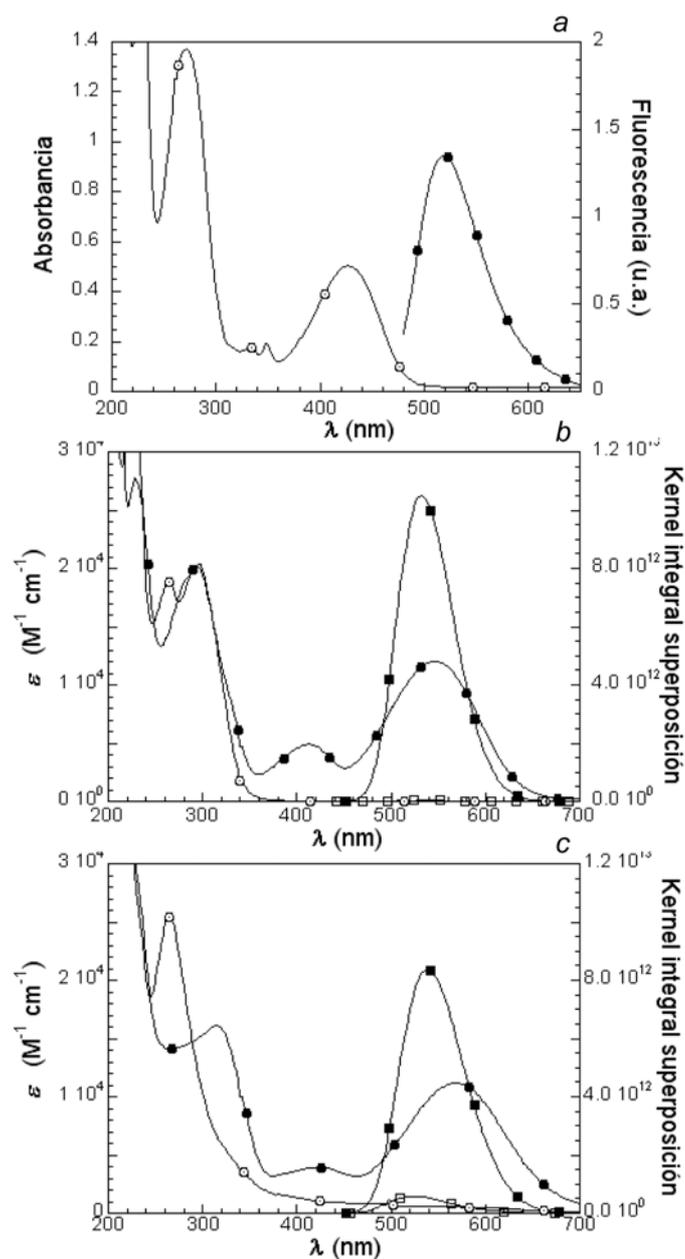


Figura 6.7. Propiedades espectrales para los estados *off*(-) y *on*(+) para los isómero abierto y cerrado de **122** y **124**, respectivamente en pcFRET.

En la figura 6.7 se muestran las propiedades espectrales de los compuestos **126**, **122** y **124**. Los espectros de absorción (-○-) y emisión (-●-) del donante **126** se muestran en la figura 6.7 (a); La excitación de la fluorescencia se realizó a 430 nm. Los espectros de absorción de los isómeros abierto (-○-) y cerrado (-●-) del compuesto **122** se muestran en la figura 6.7 (b). En la misma figura se observa la integral de superposición (J) para el isómero abierto (-□-) y cerrado (-■-) del compuesto **122**. Los espectros de absorción de los isómeros abierto (-○-) y cerrado (-●-) del compuesto **124** se graficaron en la figura 6.7 (c). En la misma figura se observa la integral de superposición (J) para el isómero abierto (-□-) y cerrado (-■-).

Se aplicó la ecuación (6.10) (ver página 164) a los espectros de las figuras 6.7 b y c, considerando los coeficientes de absorción de la forma cerrada (+): **122b**, $\epsilon_{\text{cm}}^{546} = 12000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; y **124b**, $\epsilon_{\text{cm}}^{568} = 11000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. En el estado inicial (-), la superposición espectral entre el espectro de emisión del donante y el espectro de absorción de la forma abierta del diheteroarileno es despreciable. Al irradiar con luz UV (320-380 nm) se genera la forma cerrada (+), la cual posee una buena superposición del espectro de absorción con el espectro de emisión del donante, con lo cual se activa FRET. Posteriormente la exposición a luz verde (500-580 nm) conduce a la reversión de la forma cerrada a la forma abierta, apagando el proceso de FRET “off”. Aplicando la ecuación (6.12) a los espectros de los paneles b y c, se derivaron las siguientes relaciones para **122** y **124**, en las cuales los puntos isobéuticos de referencia seleccionados fueron 312 nm (**122**) y 290 nm (**124**).

122	$\alpha_{\text{PSS}} = -0,0048 + 1,219 A_{\text{PSS}}^{546} / A_{\text{PSS}}^{312}$	$\epsilon_{-}^{546} = 39$	$\epsilon_{-+}^{312} = 14700$	$\epsilon_{+}^{546} = 12000$
127	$\alpha_{\text{PSS}} = -0,007 + 1,528 A_{\text{PSS}}^{548} / A_{\text{PSS}}^{312}$	$\epsilon_{-}^{546} = 39$	$\epsilon_{-+}^{312} = 14700$	$\epsilon_{+}^{546} = 12000$
		$\epsilon_{\text{d}}^{290} = 18400$	$\epsilon_{\text{d}}^{312} = 3700$	$\epsilon_{\text{d}}^{546} = 51$
124	$\alpha_{\text{PSS}} = -0,029 + 1,390 A_{\text{PSS}}^{568} / A_{\text{PSS}}^{290}$	$\epsilon_{-}^{568} = 310$	$\epsilon_{-+}^{290} = 14900$	$\epsilon_{+}^{568} = 11000$
124	$\alpha_{\text{PSS}} = -0,033 + 3,116 A_{\text{PSS}}^{558} / A_{\text{PSS}}^{290}$	$\epsilon_{-}^{568} = 310$	$\epsilon_{-+}^{290} = 14900$	$\epsilon_{+}^{568} = 11000$
		$\epsilon_{\text{d}}^{290} = 18400$	$\epsilon_{\text{d}}^{558} = 40$	

(todos los ϵ en unidades de $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

La distancia crítica de transferencia calculada (R_o) para los isómeros cerrados **127** y **128** fue de 38 Å y 35 Å, respectivamente. Los correspondientes valores para los isómeros abiertos fueron de 9 Å y 12 Å (Tabla 6.2). De acuerdo con la energía de minimización calculada por Sybyl (paquete AMBER 4.1), la distancia máxima r_{DA} entre el átomo central del compuesto **126** y el del aceptor fue de ~20 Å para **127** y 22 Å para **128**. Cabe destacar que dada la flexibilidad

de la cadena alifática la molécula puede adoptar una gran variedad de conformaciones. Asimismo, puede predecirse la eficiencia de FRET (E_+) de 0,98 para **127** y 0,94 para **128** (isómeros cerrados), suponiendo r_{DA} constante (Ecuación 1.10 y (6.18)). En el caso de los isómeros abiertos, la correspondiente eficiencia de FRET (E) fue muy baja, 0,008 y 0,02, respectivamente.

Tabla 6.2.

	R_0 (a) (Å)	E (a)	R_0 (b) (Å)	E_+ (b)	r_{DA} (Å)
127	9	0,008	38	0,98	20
128	12	0,02	35	0,94	22

6.2. FORMALISMO CUANTITATIVO PARA EL ESTADO FOTOESTACIONARIO Y FOTOCINÉTICA

El estado de equilibrio y los procesos cinéticos que caracterizan al sistema están representados en la figura 6.8 y por el siguiente conjunto de ecuaciones:



$$k_{-+} = (k_{ex}^{DA_-} + k_{ex}^D E_-) Q_{-+} \quad k_{+-} = (k_{ex}^{DA_+} + k_{ex}^D E_+) Q_{+-} \quad (6.2)$$

$$Q_{-+} = [1 + k_d^{DA_-} / k_{a \rightarrow b}]^{-1} \quad Q_{+-} = [1 + k_d^{DA_+} / k_{b \rightarrow a}]^{-1} \quad (6.3)$$

$$E_- = [1 + k_d^{DA_-} / k_{FRET}^{DA_-}]^{-1} \quad E_+ = [1 + k_d^{DA_+} / k_{FRET}^{DA_+}]^{-1} \quad (6.4)$$

en el cual DA_- y DA_+ significan el par donante con el aceptor en la forma abierta **a** (-) o cerrada **b** (+), respectivamente. Las constantes de velocidad que determinan la cinética del sistema son para la excitación ($k_{ex}^{DA_-}$, $k_{ex}^{DA_+}$, k_{ex}^D ; ver Figura 6.6 para definiciones de otros términos en las ecuaciones (6.3) y (6.4)). En el esquema mostrado en la figura 6.8, las reacciones de ciclación y ciclareversión del compuesto fotocromático están descritas en la región central. Los caminos externos representan la intervención del donante vía reacciones de excitación y transferencia de energía. El símbolo (-) se relaciona con el estado en el que FRET entre el donante y el aceptor es bajo o insignificante y (+) al estado con muy alto FRET. En este sistema el estado (-) corresponde al aceptor en su forma abierta **a** y el estado (+) en su forma cerrada **b** (Figura 6.8). En las condiciones de estado fotoestacionario, la conversión entre las formas (-) y (+) puede representarse como una reacción de primer orden aparente, designadas en el esquema

por las flechas orientadas verticalmente. La función de la luz como reactivo en el UV y visible se denomina por hc/λ_i ($i = 1, UV, i = 2, visible$).

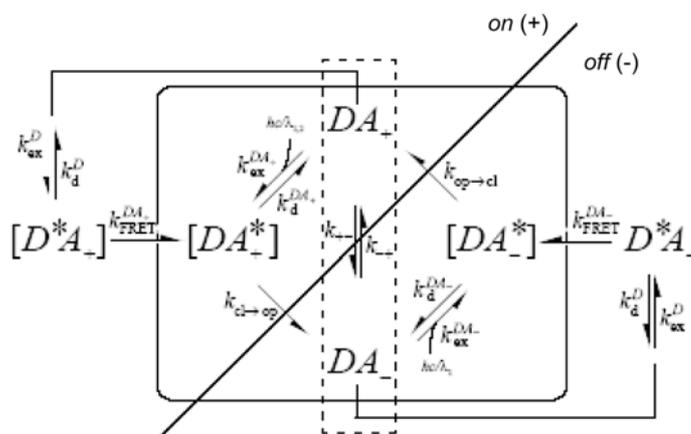


Figura 6.8. Esquema fotofísico incorporado al par donante-aceptor FRET (pcFRET).

En este sistema, la reacción térmica reversa $(-) \rightarrow (+)$ es despreciable. Como consecuencia, los estados encendido (en inglés “on”) y apagado (en inglés “off”) son estables en ausencia de luz.

El proceso reversible de conversión fotocromática del aceptor en pcFRET da origen a un sistema con dos estados fotofísicos. La señal de FRET refleja la distribución de equilibrio entre el isómero abierto del grupo diheteroarileno que no absorbe en el visible y el isómero cerrado que absorbe en el visible. Así, con respecto al fenómeno de FRET, el isómero abierto corresponde al estado totalmente apagado (-) y el isómero cerrado al estado totalmente encendido (+). Los factores, que determinan el equilibrio, son la irradiancia y la distribución espectral de la luz de fotoconversión. Tres dominios espectrales están activos: (i) UV cercano: ambos isómeros, abierto y cerrado, del aceptor absorben; (ii) dominio visible I: donante absorbe (preferentemente); (iii) dominio visible II: isómero cerrado del aceptor absorbe. El sistema opera como un ciclo entre un estado predominantemente apagado y un estado predominantemente encendido, el término “predominantemente” implica un grado arbitrario de conversión α ubicado entre las dos condiciones extremas (totalmente abierto, totalmente cerrado). El encendido y apagado (activación/desactivación) se logra alternando la exposición a luz en el UV cercano y en el dominio visible II. En términos cuantitativos:

$$\text{estado off (bajo FRET):} \quad rds_{off} = (1 - \alpha_{off})(1 - E_-) + \alpha_{off}(1 - E_+) \quad (6.5)$$

$$\text{estado on (alto FRET):} \quad rds_{on} = (1 - \alpha_{on})(1 - E_-) + \alpha_{on}(1 - E_+) \quad (6.6)$$

$$\text{apagamiento}_{off \rightarrow on} = 1 - \frac{rds_{on}}{rds_{off}} = \frac{\alpha_{on} - \alpha_{off}}{\left(\frac{1 - E_-}{E_+ - E_-}\right) - \alpha_{off}} \quad (6.7)$$

donde rds es la señal relativa del donante (emisión normalizada del donante en ausencia de FRET); α es la fracción de población el isómero cerrado, isómero adecuado para FRET (+) en el estado particular on y off del sistema alcanzado bajo las condiciones dadas; $\text{apagamiento}_{off \rightarrow on}$ es la fracción de apagamiento observada como el sistema pasa del estado off al on; E_- y E_+ son las eficiencias de FRET en el isómero abierto inadecuado para FRET (-), y en el isómero cerrado adecuado para FRET (+), respectivamente. El mayor rango dinámico se alcanza para $E_- \rightarrow 0$; en esta condición

$$\text{apagamiento}_{off \rightarrow on} = \frac{(\alpha_{on} - \alpha_{off})E_+}{1 - \alpha_{off}E_+} \quad (6.8)$$

obteniendo el valor de E , para $\alpha_{off} = 0$ y $\alpha_{on} = 1$. La correspondiente expresión para el cambio de absorbancia a cualquier longitud de onda dada es

$$\Delta Abs_{off \rightarrow on} = (\alpha_{on} - \alpha_{off})(\varepsilon_+ - \varepsilon_-)cl \quad (6.9)$$

donde ε y ε_+ son los coeficientes de absorción molar para el isómero abierto y cerrado, respectivamente, c es la concentración de aceptor total y l es el paso óptico.

Los isómeros abiertos y cerrados de diheteroariletos muestran puntos isobásticos bien definidos. De esta manera, uno puede construir las siguientes expresiones útiles (ecuaciones (6.10) a (6.13)) que relacionan a α_{pss} con la absorbancia relativa (absorbancia a cualquier longitud de onda dividida por aquella en el punto isobástico) y las constantes espectrales de los dos isómeros. La ecuación (6.10) (o (6.9)) es útil para derivar el isómero cerrado del espectro a partir de los datos experimentales en el estado fotoestacionario para una mezcla de poblaciones de especies, utilizando un dado (pero posiblemente no calibrado) espectro del isómero abierto y α_{pss} determinado en paralelo por mediciones de RMN o fluorescencia. El espectro relativo generado de esta manera puede ser interpretado absoluto por aplicación de un solo valor conocido de coeficiente de absorción molar de uno de los isómeros (Figura 6.6 y 6.7). Con esta información, la ecuación (6.12) permite el cálculo de α_{pss} a partir de los datos de

absorbancia del estado fotoestacionario alcanzado en cualquier condición particular de irradiación.

Las ecuaciones (6.11) y (6.13) se aplican a las moléculas combinadas (donante + aceptor, ej. **127** y **128**); se supuso (y confirmó) que la contribución de donante era invariable durante la fotoconversión del aceptor fotocromico. Las relaciones de absorbancia en la ecuación (6.11) involucrando al donante (subscrito d) son calculadas ajustando la curva del espectro de la mezcla de compuesto (ejemplo, **127** y **128**, isómero abierto) a la suma pesada de los espectros individuales del donante y el aceptor fotocromico (isómero abierto). La calibración absoluta del espectro puede ser luego lograda usando el coeficiente de absorción molar para cualquier donante u aceptor, aquel que sea el mejor conocido en las condiciones experimentales.

$$\frac{\varepsilon_+^\lambda}{\varepsilon_{-,+}^{isos}} = \left(\frac{A_+^\lambda}{A_{-,+}^{isos}} \right) = \left(\frac{A_-^\lambda}{A_{-,+}^{isos}} \right) + \frac{1}{\alpha_{PSS}} \left[\left(\frac{A_{PSS}^\lambda}{A_{PSS}^{isos}} \right) - \left(\frac{A_-^\lambda}{A_{-,+}^{isos}} \right) \right] \quad (6.10)$$

$$\frac{\varepsilon_+^\lambda}{\varepsilon_{-,+}^{isos}} = \left(\frac{A_+^\lambda}{A_{-,+}^{isos}} \right) = \left(\frac{A_-^\lambda}{A_{-,+}^{isos}} \right) + \frac{1}{\alpha_{PSS}} \left[\left(\frac{A_{PSS}^\lambda}{A_{PSS}^{isos}} \right) \left(1 + \frac{A_d^{isos}}{A_{-,+}^{isos}} \right) - \left(\frac{A_-^\lambda + A_d^\lambda}{A_{-,+}^{isos}} \right) \right] \quad (6.11)$$

$$\alpha_{PSS} = - \left(\frac{\varepsilon_-^\lambda}{\varepsilon_+^\lambda + \varepsilon_-^\lambda} \right) + \left(\frac{\varepsilon_{-,+}^{isos}}{\varepsilon_+^\lambda + \varepsilon_-^\lambda} \right) \left(\frac{A_{PSS}^\lambda}{A_{PSS}^{isos}} \right) \quad (6.12)$$

$$\alpha_{PSS} = - \left(\frac{\varepsilon_-^\lambda + \varepsilon_d^\lambda}{\varepsilon_+^\lambda + \varepsilon_-^\lambda} \right) + \left(\frac{\varepsilon_{-,+}^{isos} + \varepsilon_d^{isos}}{\varepsilon_+^\lambda + \varepsilon_-^\lambda} \right) \left(\frac{A_{PSS}^\lambda}{A_{PSS}^{isos}} \right) \quad (6.13)$$

Las relaciones parametrizadas (Ecuaciones (6.12) y (6.13)) para **122**, **124**, **127** y **128** están dadas en las figuras 6.6 y 6.7.

Como hemos visto, generalmente, un diheteroariletano con un anillo heterocíclico de 5 miembros muestra dos conformaciones en solución, que difieren en que los dos anillos están en simetría espejo (conformación paralela) o en simetría C_2 (conformación antiparalela). La fotociclación ocurre sólo a partir de la conformación antiparalela. La relación de conformeros es típicamente 1:1. De esta manera, en la mayoría de los casos, el máximo valor del rendimiento cuántico fotoquímico para la reacción de abierto→cerrado esta limitado a 0,5.¹

La cinéticas de equilibrio desde un estado fotoestacionario inicial arbitrario (α_0) a un nuevo estado fotoestacionario (α_{PSS}) dirigido por la exposición a la luz de una dada longitud de onda, irradiancia y duración es monoexponencial (Ecuación (6.14)). La constante de velocidad

de equilibración (k_{eq}) esta dada por la suma aparente de constantes de velocidad de primer orden definiendo la transición total y la constante de equilibrio (K_{PSS}) por su razón,

$$\alpha(t) = \alpha_{PSS} + (\alpha_0 - \alpha_{PSS}) e^{-k_{eq}t} \quad (6.14)$$

$$k_{eq} = k_{-+} + k_{+-} \quad K_{PSS} = [\text{isómero cerrado}]/[\text{isómero abierto}] = k_{-+}/k_{+-} \quad (6.15)$$

$$\alpha_{PSS} = \alpha(t = \infty) = \frac{k_{-+}}{k_{-+} + k_{+-}} = \frac{K_{PSS}}{1 + K_{PSS}} \quad \alpha_0 = \alpha(t = 0) \quad (6.16)$$

$$Q_{-+} = \left(\frac{k_{eq}}{k_{ex}^{DA_*} + k_{ex}^D E_-} \right) \alpha_{PSS} \quad Q_{+-} = \left(\frac{k_{eq}}{k_{ex}^{DA_*} + k_{ex}^D E_+} \right) (1 - \alpha_{PSS}) \quad (6.17)$$

El donante puede también contribuir a la interconversión dependiendo del grado en el cual es excitado y conducir FRET al isómero cerrado (reacción probable, i.e. $E_+ \approx 1$) durante la fotoconversión reversa [cicloversión, (+) \rightarrow (-)] o al isómero abierto (improbable reacción dado $E_- \approx 0$) durante la reacción ciclación (-) \rightarrow (+) (Ecuaciones (6.2) y (6.17)). Así, la población de las especies (+) aumenta monótonicamente con $k_{ex}^{DA_-}$ pero decrece con $k_{ex}^{DA_+}$ y k_{ex}^D vía los dos caminos paralelos $(DA_+ \rightarrow DA_+^* \rightarrow DA_-)$ y $(DA_+ \rightarrow D^*A_+ \xrightarrow{\text{FRET}} DA_+^* \rightarrow DA_-)$, respectivamente. Una vez establecidas las condiciones requeridas para alcanzar el estado fotoestacionario en reacciones cíclicas (α_{off} y α_{on}), la excitación del donante en su pico de absorción se mantiene a bajos niveles desde que su rol es servir como un sensor no perturbable del sistema sobre repetidas mediciones. La fotodegradación (photobleaching) y el fotocromismo inducido del donante son indeseables. Sin embargo, en la reacción de fotoconversión de ciclación inducida en el UV cercano, generalmente la absorción del donante es apreciable, produciendo una inevitable contribución de inducción de FRET a la reacción reversa y su correspondiente disminución en α_{PSS} . Así, las expresiones completas para k_{+-} y Q_{+-} deben ser consideradas en el análisis cuantitativos de los datos fotoestacionarios y fotocinéticos.

6.3. ANÁLISIS DEL MODELO DONANTE-ACEPTOR

6.3.1. Análisis del grado de conversión fotocromica mediante cinética de absorción y RMN-¹H

La eficiencia de conversión fotocromica para **122**, **127**, **124** y **128** se determinó en metanol. La cinética de fotoconversión para **122** forma inicial **a** (-) irradiando a 366 nm (-□; 0,3 mW; 2 mWcm⁻²) se muestra en la figura 6.9 (derecha), con intervalos de 5 minutos entre cada espectro. Se observaron la aparición de dos nuevas bandas a 412 nm y 548 nm y se alcanzó el máximo de absorción en 50 minutos (estado fotoestacionario, -●-). En el diagrama inserto se graficó A_{548} en función del tiempo (-□-). El compuesto **127** posee el mismo comportamiento. Esto confirma que la unión de **122** y **126** no afecta el proceso de fotoconversión. El isómero fotogenerado de anillo cerrado es estable a temperatura ambiente en la oscuridad, por al menos 120 horas.

En la figura 6.9 (derecha), se muestra la dependencia con el tiempo del espectro de absorción durante la cicloreversión. El compuesto **122** se expuso a luz verde $\lambda > 520$ nm (-●-; 4 mW; 27 mWcm⁻²), los espectros fueron adquiridos cada 10 seg. Después de 50 seg, se observa la desaparición completa de la banda a 548 nm y se recupera la banda a 266 nm con su intensidad original (-□-). En el diagrama inserto se graficó A_{548} en función del tiempo (-□-). La igualdad del espectro inicial y final del isómero abierto confirma la conversión completa y la ausencia de degradación.

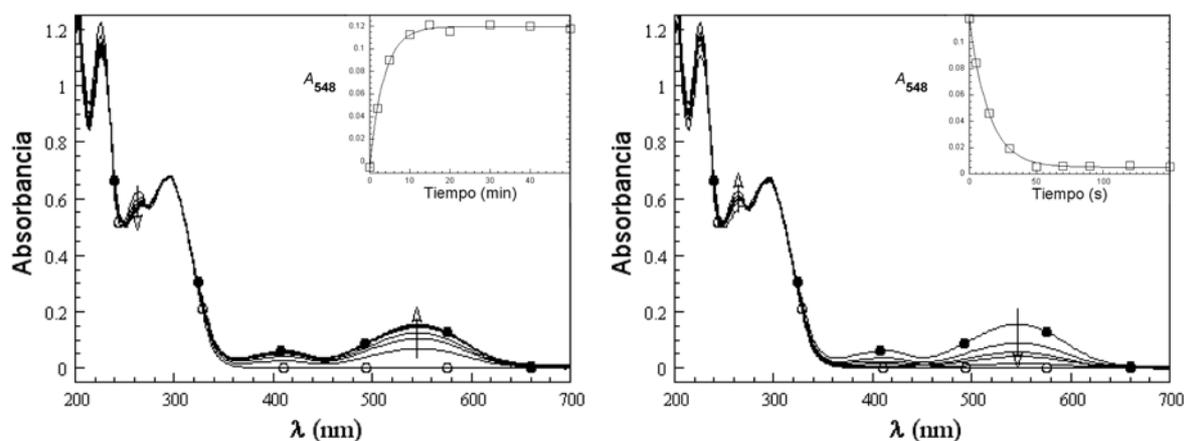


Figura 6.9. Monitoreo espectroscópico resuelto en el tiempo para las reacciones fotocromicas de ciclación (izquierda) y reversión (derecha) entre los isómeros abierto y cerrado para **122**.

La luz induce la conversión entre el isómero cerrado y el abierto inicial (-) de **124** por irradiación a 340 nm (-○-; 16 mW; 107 mWcm⁻²), como se observa en la figura 6.10 (izquierda). Los espectros fueron adquiridos cada 5 segundos. El estado fotoestacionario (-●-) ($\alpha_{ps} = 0,99$) fue alcanzado luego de 40 segundos en una nueva banda a 558 nm. En el diagrama inserto se graficó al A_{558} en función del tiempo.

La cicloreversión al isómero inicial abierto (Figura 6.10, derecha) se logró con luz visible ($\lambda > 520$ nm; \bullet -; 40mW; 80 mWcm⁻²). Los espectros se adquirieron cada 10 segundos. Luego de 220 segundos, el espectro del isómero abierto inicial (-) fue recuperado (-○-). En el diagrama inserto se graficó al A_{558} en función del tiempo.

Las curvas sólidas en los diagramas insertos corresponden a los ajustes monoexponenciales de acuerdo al formalismo fotocinético. Los análisis de estas y otras reacciones son dados en las tablas 6.4.

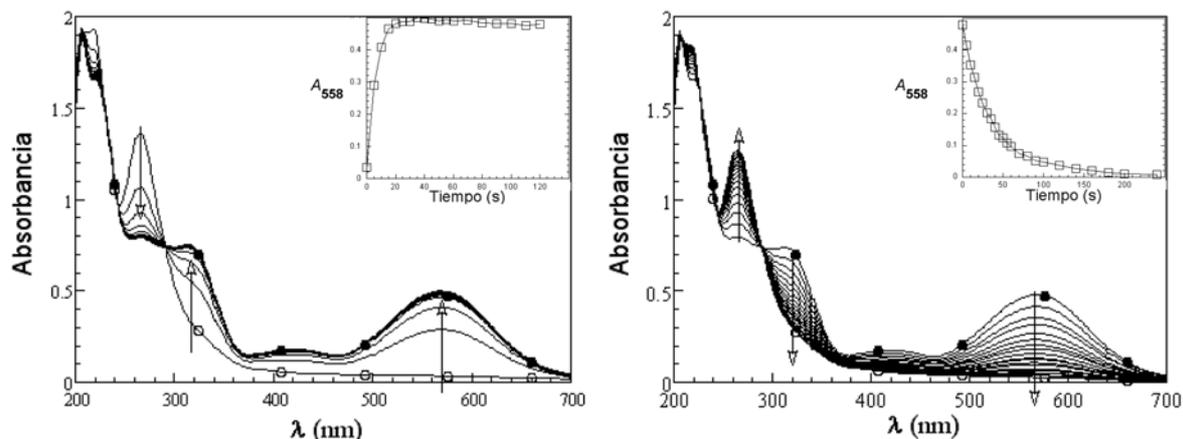


Figura 6.10. Monitoreo espectroscópico resuelto en el tiempo para las reacciones fotocromicas de ciclación (izquierda) y reversión (derecha) entre los isómeros abierto y cerrado para **124**.

La reacción de cicloreversión de **122**, **124**, **127** y **128** inducida por irradiación a > 520 nm fue monitoreada continuamente por absorción a la longitud de onda correspondiente al máximo para el isómero cerrado en la región visible. La constante cinética de equilibrio fue ajustada por una monoexponencial y se obtuvieron valores para (k_{eq}^{-1}) de 5-30 s.

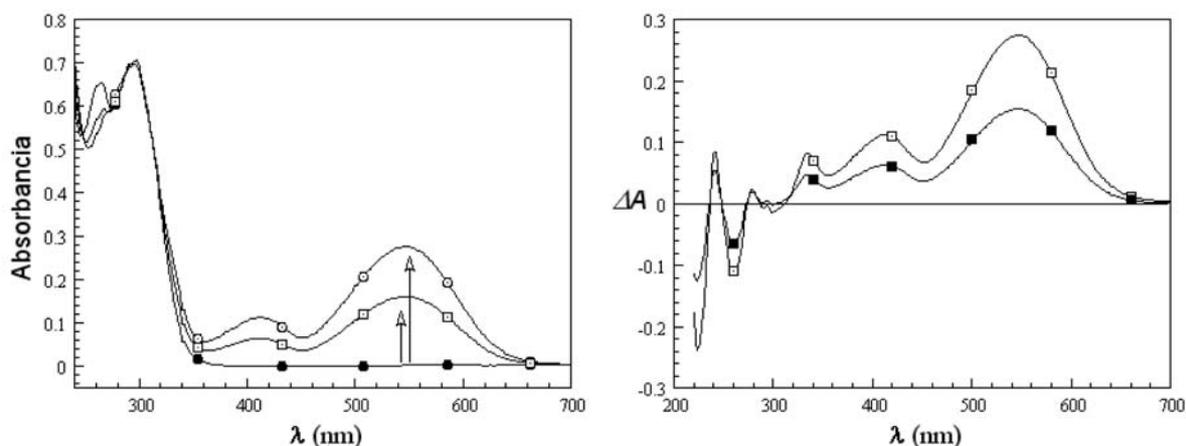


Figura 6.11. (izquierda) Espectro de absorción de **122** inicial (\bullet -) y en estado fotoestacionario alcanzado por irradiación a 313 (\square -) y 366 nm (\circ -). (derecha) Espectros de absorción diferencia de **122** inicial y en el estado fotoestacionario alcanzado a 313 (\blacksquare -) y 366 nm (\square -).

El compuesto **122** también fue convertido por irradiación a 313 nm. Los espectros para los estados fotoestacionario de **122** y **124** alcanzados por irradiación a 313 y 366 nm fueron indistinguibles, excepto por factores de escala (Figura 6.11 para **122**). Sin embargo, se observa un significativo incremento para la eficiencia de conversión (α_{pss}) de 0,33 a 0,65 cuando se cambia la longitud de onda de irradiación de 366 a 313 nm.

El grado de conversión en estas reacciones se estableció por espectroscopia de RMN- ^1H antes y después de irradiación con luz UV en el estado fotoestacionario. Se evaluaron la integración de los grupos metilo alifáticos y señales aromáticas seleccionadas de los espectros de **127** y **128** antes y después de la fotoconversión, determinando así el grado de conversión para **128**, ($\alpha_{\text{pss}} = 0,85$).

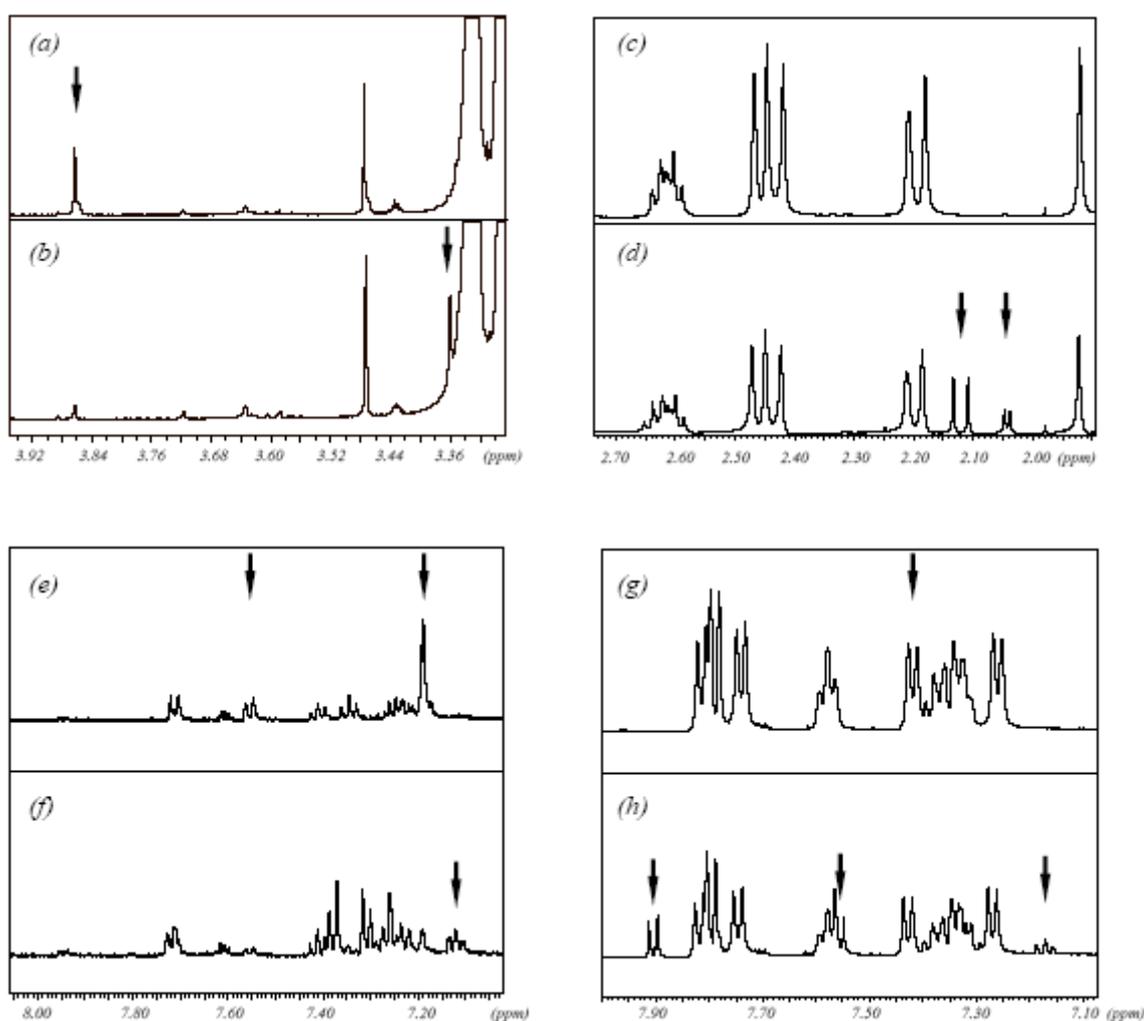


Figura 6.12. Espectros de RMN- ^1H para **122** y **128** en el isómero abierto y el estado fotoestacionario para las regiones alifáticas y aromáticas. (a, e) Isómero abierto **122**. (b, f) en el estado fotoestacionario. (c, g) Isómero abierto **128** y estado fotoestacionario (d, h).

En la figura 6.12c se observan 6 singuletes correspondientes a los grupos metilo. El análisis de su integración permitió determinar la relación entre las dos conformaciones paralela y antiparalela para **122a**. La integración de los grupos metilo indicó que hay igual población de ambas conformaciones. Luego de irradiar con luz UV y alcanzar el estado fotoestacionario se observó una disminución en la integración de las señales de todos los grupos metilos correspondientes al isómero abierto. Un nuevo grupo de 4 singuletes aparecen entre 2,15 y 2,00 ppm y fueron asignados a los metilos del isómero cerrado (Figura 6.12 c y d). La integración de las señales indica un 33 % de conversión al isómero cerrado.

Se utilizó la integración de las correspondientes resonancias para el isómero abierto y el estado fotoestacionario para calcular el grado de conversión, que resultó ser de 0,34 para **122** y 0,85 para **128**.

Los valores de α_{pss} derivados de las mediciones de RMN permitieron la deconvolución de los espectros de absorción de los compuestos puros abiertos y cerrados de acuerdo a la ecuación (6.11). Los resultados de estos cálculos, usando los datos de los estados fotoestacionarios inducidos a 313 y 366 nm, fueron los mismos dentro del error experimental. Las eficiencias de fotoconversión están resumidas en la tabla 6.4.

Tabla 6.3.

Compuesto	λ_{irr} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	ϵ_+ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	ϵ_{LY} ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
122	366	410	3200	
	340	1800	5000	
	548	40	12100	
127	366	410	3200	2600
	340	1800	5000	2900
	548	90	12100	
124	340	4000	10500	
	558	310	11000	
128	340	4000	10500	2900
	358	350	11000	

Se calcularon los espectros de absorción de la forma cerrada utilizando el grado de conversión determinado por RMN.²⁻⁶ Las integraciones de las resonancias correspondientes al isómero cerrado fueron comparadas con las correspondientes señales del isómero abierto para determinar la contribución de cada especie. Los valores de conversión estuvieron de acuerdo con el grado de apagamiento de la fluorescencia, esto es indicativo de la eficiencia de FRET cercana al 100% esperada para el sistema (**127**) con R_0 de 38 \AA y un máximo de distancia

donante-aceptor de 20 Å (Ecuación (6.18)). La misma situación se aplica a **128**, con R_0 de ~35 Å y un máximo de distancia donante-aceptor de 22 Å.

$$E = \left[1 + (r_{DA}/R_0)^6 \right]^{-1} \quad (6.18)$$

Tabla 6.4.

Compuesto	Irrad (mWcm ⁻²)	λ_{irr} (nm)	k_{ex-}^{λ} (s ⁻¹)	k_{ex+}^{λ} (s ⁻¹)	k_{eq} (s ⁻¹)	α_{PS} (abs)	Q_{-+}	Q_{+-}	α_{PS} (RMN)
122	2	366	0,002	0,018	0,002	0,38	0,31	0,065	0,34
		110	0,49	1,36	0,16	0,92	0,31	0,025	
		27	0,004	1,34	0,069			0,05	
127	3,7	366	0,004	0,033	0,005	0,28	0,31	0,05	0,33
		110	0,52	1,45	0,2	0,76	0,29	0,029	
		27	0,01	1,35	0,0069			0,05	
124	110	340	1,17	3,1	0,2	0,97	0,17	0,002	
	80	558	0,11	3,8	0,03			0,008	
128	110	340	1,1	2,9	0,21	0,89	0,17	0,006	0,85
	80	358	0,12	3,8	0,036			0,009	

6.3.2. Eficiencias de FRET para el isómero abierto y el estado fotoestacionario para los compuestos **127** y **128**

Las diferencias espectrales determinadas para **122** y **127** y para **124** y **128** demostraron la falta de interacciones significativas en el estado fundamental entre el donante **126** y los aceptores diheteroarileno.

Los cambios obtenidos para los espectros de absorción en el estado fotoestacionario luego de irradiar la muestra a 313 y 366 nm fueron acompañados por cambios en las señales de fluorescencia. Los espectros de emisión de fluorescencia de **127** y **128** fueron adquiridos para el estado inicial (isómero abierto) y el estado fotoestacionario alcanzado luego de la irradiación a 313 y 366 nm. **127** fue apagado en un 33 % luego de la irradiación a 366 nm y 65 % luego de la irradiación a 313 nm (Figura 6.13). El apagamiento de **128** luego de la exposición a 320 nm fue de 84 %. Para la conversión de **127**, se calculó un valor de $E \approx 1$ para el isómero cerrado del diheteroetenileno. De manera similar, α_{ps} fue de 0,85 para **128** con una $E \approx 1$ para el isómero cerrado. Una irradiación de 60 segundos con luz visible condujo a una completa recuperación de la señal de fluorescencia inicial ($E \approx 0$).

La irradiación de **122** a 313 nm alcanzó una mayor (aunque más lenta debido a la irradiancia) conversión al isómero cerrado del diheteroarileno que cuando se expuso a 366 nm. El aumento en la fotogeneración del isómero cerrado resultó, en consecuencia, en un incremento del apagamiento de la fluorescencia desde 33 a 65%.

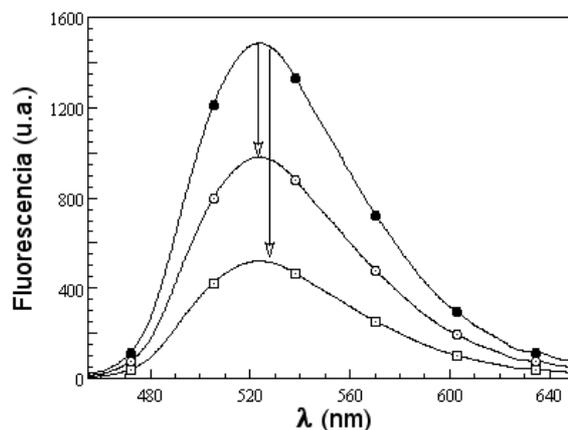


Figura 6.13. Espectro de fluorescencia diferencial para el compuesto **127** inicial (-●-) y en el estado fotoestacionario alcanzado por irradiación a 313 (-○-) and 366 nm (-□-).

El análisis de los tiempos de vida de fluorescencia del donante determinados por el método de fase y modulación fueron llevados a cabo en el estado inicial (isómero abierto del diheteroetenileno aceptor) y el estado fotoestacionado generado por irradiación a 366 nm. En ambos casos, una sola componente satisfizo para el análisis de los datos ($\chi^2 < 1,2$ y residuos simétricos) Los tiempos de vida de fluorescencia de **127** y **128** en el estado inicial (isómero abierto) fueron de $10,2 \pm 0,4$ y $9,5 \pm 0,6$ ns, respectivamente, sin cambios significativos cuando fueron convertidos al isómero cerrado (a 366 para **127** y 340 nm para **128**) y luego de la regeneración del isómero abierto original.

6.3.3. Absorción y fluorescencia del donante para ciclos de modulación del aceptor

Se determinaron los espectros de absorción y fluorescencia para el isómero inicial abierto luego de varios ciclos de irradiación con luz UV y luz visible, los mismos se muestran en las figuras 6.14 y 6.15. El cambio cíclico de la absorción del aceptor (Figura 6.14) y el concomitante cambio de la intensidad del donante fluorescente y por lo tanto la eficiencia de FRET (Figura 6.15) inducidas por la irradiación UV-Visible fueron repetidas 40 veces para **127** (Figuras 6.14a,b y Figuras 6.15a,b) y 25 veces para **128** (Figuras 6.14c,d y Figuras 6.15c,d). Las señales de absorción y fluorescencia correspondientes al isómero inicial abierto y al estado fotoestacionario permanecieron estables durante estas reacciones.

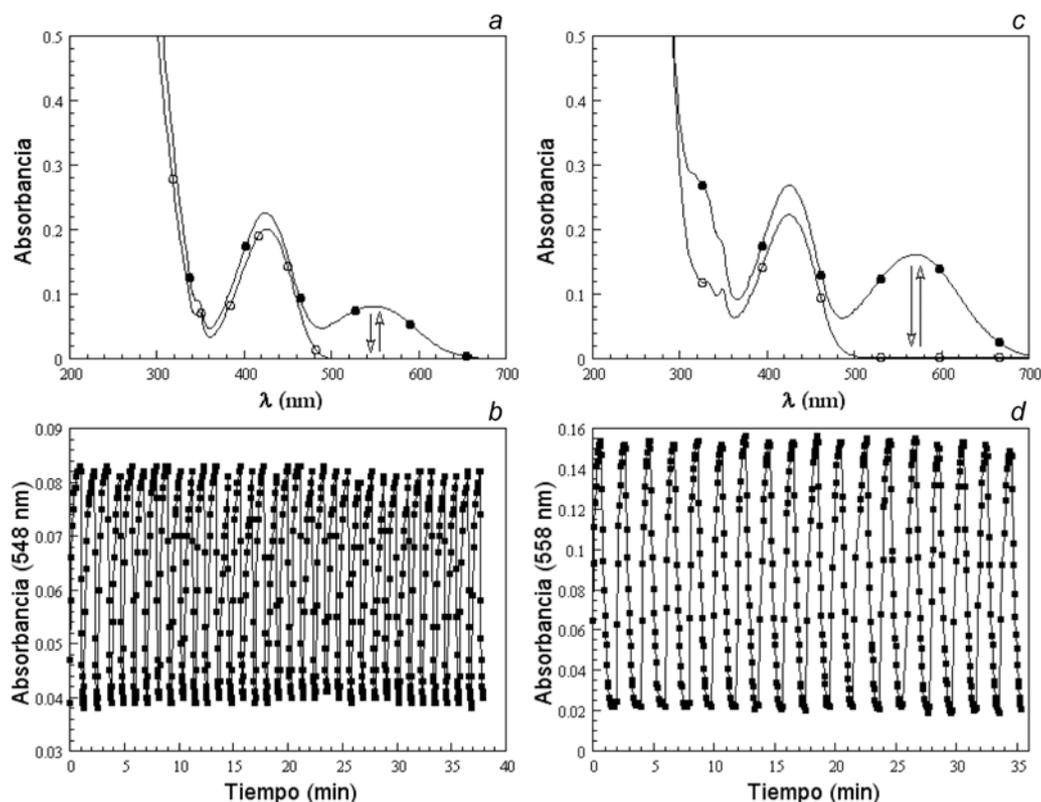


Figura 6.14. Ciclos de fotoisomerización de absorción de encendido y apagado (inicial-UV-VIS) para **127** y **128**.

Los espectros de absorción del isómero abierto (estado inicial) y estado fotoestacionario se muestran en la figura 6.14a para **127** y en la figura 6.14c para **128**. Se graficó la absorbancia a 548 nm (**127**, figura 6.14b) y a 558 nm (**128**, Figura 6.15d) en función del tiempo durante sucesivos ciclos de fotoisomerización (ciclación/cicloreversión) iniciados a partir del isómero abierto. La fotoconversión se realizó por irradiación a 320 nm o 520 nm.

El espectro de emisión (excitación a 430 nm) para el estado inicial y el estado fotoestacionario de **127** se muestra en la figura 6.15a. Mientras que para el compuesto **128**, los espectros de emisión para los estados inicial y fotoestacionario se muestran en la figura 6.15c. Las señales de emisión del compuesto fluorescente a 520 nm para el isómero abierto inicial y para el estado estacionario fueron determinadas para un número de ciclos. Los ciclos de fotoisomerización se iniciaron a partir del isómero abierto del diheteroariletano **127** (b) y **128** (d). La fotoconversión se logró por irradiación a 320 nm para la ciclación y 520 nm para la cicloreversión.

De este modo, el proceso de FRET puede ser activado y desactivado reversiblemente por un encendido y apagado del isómero cerrada del diheteroariletano, como se demostró en los cambios sincronizados en la absorbancia del isómero cerrado y la intensidad de fluorescencia

del donante inducido por ciclos de irradiación UV-vis. Bajo la fotogeneración del isómero cerrado del diheteroarileno, se observó una consecuente reducción en la intensidad de fluorescencia del donante con E alternando de 0 a 1 para los compuestos modelo **127** y **128**, reflejando los cambios en la distancia crítica de transferencia R_0 . El isómero fotogenerado cerrado fue estable a temperatura ambiente en la oscuridad, como se evidenció por las señales de absorción y fluorescencia, por >120 h. Se utilizaron condiciones apropiadas de medición (concentraciones que dieron lugar a absorbancia < 0,1) para excluir efectos de filtro interno. La concentración de las muestras usada fue baja, tal que la absorbancia a la longitud de onda crítica fue < 0,05. Además, la emisión de la fluorescencia del compuesto **126** se mantuvo invariante al ser expuesta a las mismas condiciones experimentales. Las posiciones máximas de absorción (430 nm) y fluorescencia (530 nm) para **126** antes y después de la conjugación fueron invariables.

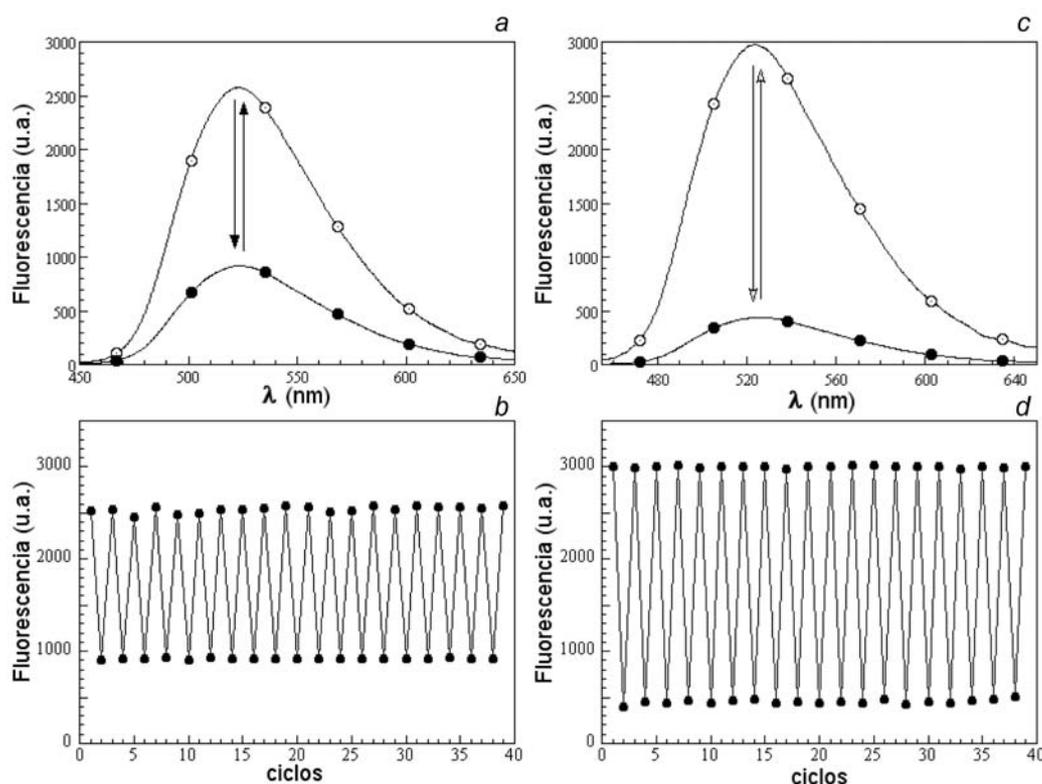


Figura 6.15. Ciclos de encendido y apagado de la fluorescencia (inicial-UV-VIS) mediante fotoisomerización de **127** y **128**.

Los experimentos que involucraron ciclos de cierre y apertura de anillo demostraron que el proceso de FRET puede ser encendido y apagado reversiblemente. Realizamos 40 ciclos para **127** y 25 ciclos para **128** sin aparente fatiga (Figuras 14 y 15). El número de ciclos de activación-desactivación de FRET que puede ser logrado por irradiación cíclica con luz UV y

visible es de central importancia, tal que este parámetro determina la factibilidad para llevar a cabo determinaciones continuas en sistemas dinámicos, por ejemplo, células vivas.

6.3.4. Cálculo de parámetros fotocinéticos

Los parámetros fotocinéticos correspondientes a las reacciones de ciclación inducidas por irradiación con luz UV y la reacción reversa de apertura del anillo inducida con luz visible fueron derivados de la evolución de las señales de absorción como función del tiempo de irradiación (Figuras 6.8, 6.9 y 6.10). El estado inicial de la reacción de ciclación (ida, cierre) y el estado final de la reacción reversa (vuelta, apertura) eran la configuración abierta del aceptor [$\alpha_0 = \alpha_{\text{off}} = 0$]. Las reacciones de cierre conducen al estado fotoestacionario α_{ps} que es siempre <1 , debido a una absorción finita del estado cerrado (y del donante en **127** y **128**) en el UV cercano. Los correspondientes cambios de absorción y fluorescencia durante tales reacciones están dados por las ecuaciones (6.8) y (6.9); así, para $E \approx 0$ y $E_+ \approx 1$ (en nuestro sistema), el apagamiento fraccional durante esa reacción reversa debería haber sido igual a α_{on} .

De acuerdo con el formalismo presentado (Ecuaciones (6.14)-(6.17)), se observaron procesos monoexponenciales fueron observados en todos los casos fue observado en las reacciones de ciclación. Los parámetros derivados de esos datos usando las ecuaciones (6.2)-(6.4) y (6.14)-(6.17), k_{-} , k_{+} , α_{pss} , Q_{-} y Q_{+} están dados en la tabla 6.4. Los dos compuestos diheteroariletanos aislados (**122**, **124**) se diferencian en importantes aspectos: (i) Q_{+} fue mayor para **122** (0,31 vs 0,17); ambos valores fueron $<0,5$, de acuerdo con los datos reportados para la mayoría de los diheteroariletanos de estructura similar.⁷ (ii) Q_{+} fue también mayor para **122** (0,01-0,06 vs $<0,01$). (iii) en idénticas condiciones de irradiación para la reacción de ciclación (340 nm), **124** consiguió un mayor α_{pss} y a una mayor constante de velocidad que **122**; estas diferencias pueden atribuirse a una mayor absorción de **124** en la región del UV cercano (Ecuación (6.16)). De acuerdo con el formalismo (Figura 6.8 y ecuaciones (6.2)-(6.4) y (6.14)-(6.17)), la conjugación con el donante no conlleva una reducción en Q_{+} pero α_{pss} disminuye a causa de la contribución mediada por el donante de RET a la reacción reversa de apertura (~ 17 y ~ 8 % para **122**→**127** y **124**→**128**, respectivamente). Existe una buena concordancia entre los valores de α_{pss} obtenidos por mediciones de absorción y RMN.

El esquema fotocinético muestra en teoría y en la práctica un simple comportamiento monoexponencial, a partir del cual las constantes de velocidad y los rendimientos cuánticos para las reacciones fotocromáticas de ciclación y cicloversión pueden derivarse. El formalismo permitió la separación de la reacción de fotoconversión del proceso de FRET. Los rendimientos

cuánticos para las reacciones de ciclación y reversa fueron iguales para **122** y **127** así como para **124** y **128**, dentro del error experimental (Tabla 6.4). Se concluye que el grupo donante en los compuestos modelo no está afectado por las propiedades inherentes de las reacciones de fotoconversión y que los leves cambios observados en las constantes de equilibrio en el donante conjugado fueron consecuencia de las diferencias en las combinadas secciones cruzadas (cross-sections) de absorción. Sin embargo, la conversión al isómero cerrado fue más eficiente para **122** y **124** que para **127** y **128**. El aumento en la cicloreversión producido por el aumento de población en el estado excitado debido a FRET dio lugar a un incremento del isómero abierto en el estado fotoestacionario inferior al 20%. De acuerdo con el esquema de la figura 6.5, el proceso de FRET contribuye a la reacción reversa vía un segundo camino paralelo conduciendo al diheteroarileno al estado excitado de la forma cerrada. Los valores de Q_{\pm} calculados a partir de los datos obtenidos por irradiación a 366 y 340 nm fueron los mismos, aunque a longitudes de onda <340 nm, se observó una distintiva tendencia hacia una baja eficiencia de conversión. Bajo todas las condiciones calculadas, los valores de Q_{\pm} fueron <0,5, esto está de acuerdo con la existencia de los dos conformeros para el isómero abierto, donde sólo uno de ellos puede dar lugar a la ciclación.

Generalmente, el apagamiento del donante empleado en el proceso de FRET está reflejado en el correspondiente cambio fraccional (reducción) de su tiempo de vida de fluorescencia. Se han observado dos especies en el estado fotoestacionario posterior a la irradiación con luz UV cercana, por ejemplo, a 366 nm. Una de esas especies corresponde a la población de donante **126** unido al isómero cerrado del diheteroarileno, este último actúa como un eficiente aceptor de energía y de esta manera el apagamiento del donante es virtualmente completo. La otra fracción representa a **126** unido al isómero abierto del diheteroarileno, que está caracterizado por una $E_{\pm} \approx 0$ y de esta manera es incapaz de generar un significativo efecto de FRET. Este caso puede ser visualizado, considerando los resultados obtenidos en las determinaciones de tiempo de vida, con una expresión para el decaimiento de dos especies excitadas por un pulso de luz:

$$F(t) = F_0 \left[(1 - \alpha_{PSS}) e^{-t/\tau_{D-}} + \alpha_{PSS} e^{-t/\tau_{D+}} \right] \quad (6.19)$$

donde F_0 es la señal inicial de fluorescencia del donante y $\tau_{D+} = \tau_{D-}(1-E_{+})/(1-E_{-})$. Para el límite $E_{+} \approx 1$, los cálculos para ambos **127** y **128** unidos al isómero cerrado del diheteroarileno, τ_{D+} debería ser demasiado corto para ser detectado en el modo frecuencia, sin hacer caso del valor de α_{PSS} . Esto es, el decaimiento de la fluorescencia debería ser dominada

por τ_D . El apagamiento de la fluorescencia del donante en estado estacionario F_D luego de la fotogeneración del isómero cerrado debería haber sido $\alpha_{\text{pss}}E_+$ (Ecuación (6.8)). A partir de mediciones de RMN, se determinó que $\alpha_{\text{pss}}(366 \text{ nm}) = 0,33$ para 122 y 0,85 para 124 estos valores representaron exactamente el grado de apagamiento de la fluorescencia (33 y 85 %, respectivamente) permitiendo la determinación de la eficiencia de FRET para el isómero cerrado de diheteroarileno.

Como conclusión, los experimentos con compuestos modelo permitieron validar el método. Se postuló un esquema fotocinético y se realizó una caracterización detallada de los procesos involucrados.

6.4. REFERENCIAS

1. Irie, M., Sakemura, K., Okinaka, M., and Uchida, K., Photochromism of dithienylethenes with electron-donating substituents. *J. Org. Chem.*, **60**, 25, 8305 (1995).
2. Norsten, T.B. and Branda, N.R., Photoregulation of fluorescence in a porphyrinic dithienylethene photochrome. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 8, 1784 (2001).
3. Osuka, A., Fujikane, D., Shinmori, H., Kobatake, S., and Irie, M., Synthesis and photoisomerization of dithienylethene-bridged diporphyrins. *J. Org. Chem.*, **66**, 11, 3913 (2001).
4. Gauglitz, G. and Scheerer, E., Method for the determination of absorption-coefficients, reaction-rate constants and thermodynamic data in the system a(h- ν)reversible-arrow(over-delta)b. *J. Photochem. Photobiol., A*, **71**, 3, 205 (1993).
5. Rau, H., Greiner, G., Gauglitz, G., and Meier, H., Photochemical quantum yields in the a (+h- ν)reversible b (+h- ν , δ) system when only the spectrum of a is known. *J. Phys. Chem.*, **94**, 17, 6523 (1990).
6. Wilkinson, F., Hobbly, J., and Naftaly, M., Photochromism of spiro-naphthoxazines - molar absorption-coefficients and quantum efficiencies. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **88**, 11, 1511 (1992).
7. Irie, M., Diarylethenes for memories and switches. *Chem. Rev.*, **100**, 5, 1685 (2000).

EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 7

PARTE EXPERIMENTAL

7.1. GENERALIDADES

Uso de solventes anhidros y reactivos sensibles a la humedad: los solventes utilizados fueron de calidad “para análisis” o superior, y se purificaron según métodos descritos en bibliografía.¹ En todos los casos las reacciones con solventes o reactivos sensibles a la humedad se llevaron a cabo con material de vidrio previamente flameado y bajo atmósfera de nitrógeno o argón.

Cromatografía en placa delgada: se utilizaron cromatofolios de sílica gel F₂₅₄ de 0,20 mm de espesor, sobre soporte de aluminio y cromatofolios de sílica RPC18 F_{254S} sobre soporte de aluminio (Merck). Los sistemas de solventes empleados (técnica ascendente) se indican en cada caso. El revelado se realizó con luz UV o por inmersión en una solución de 0,04 M de (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, 3mM de Ce(SO₄)₂ en H₂SO₄-H₂O (9:1) y posterior calentamiento o cinamaldehído en H₂SO₄-Etanol (revelador específico para biotina) o ninhidrina en etanol (revelador específico para grupos amino).

Cromatografía en columna: se utilizó sílica gel 60 de malla 230-400 llamada “flash” o sílica 60H (Merck). Los solventes de elución se indican en cada caso.

Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR): se utilizó un equipo de análisis CLAR sobre un sistema Waters con detector de arreglo de diodos y una columna de sílica MZ-Semipreparativa Kromasil 100 Sil 5 µm (25 cm longitud, 10 mm diámetro interno).

Cromatografía Gas Líquido (CGL): Hewlett Pacard 5890 serie II Plus Gas Chromatograph. Columna: HP5 (entrecruzada 5% fenil metilsiloxano) longitud 30 m; diámetro interno: 0,32 mm; espesor del film: 0,25 µm. Detector: FID. Método A: 60 °C durante 3 minutos, rampa a 10 °C/minutos hasta 250 °C, 250 °C durante 3 minutos. Método B: 100 °C durante 3 minutos, rampa a 10 °C/minutos hasta 250 °C, 250 °C durante 10 minutos.

Puntos de fusión: se determinaron con un aparato de Fisher-Jones y no están corregidos.

Resonancia magnética nuclear: los espectros de RMN se adquirieron con espectrómetros Bruker AC-200 (Departamento de Química Orgánica, FCEyN, UBA, a 200 MHz para ¹H y 50 MHz para ¹³C), Bruker AM-500 (LANAIS RMN-500, CONICET, a 500 MHz para ¹H, 125 MHz para ¹³C), Bruker 400 MHz (Instituto Max Planck de Bioquímica-Física de Göttingen para 400 MHz para ¹H), Mercury 300 MHz (Universidad de Göttingen a 300 MHz para ¹H y

75 MHz para ^{13}C), INOVA 500 MHz (Universidad de Göttingen a 500 MHz para ^1H y 125 MHz para ^{13}C), INOVA 600 MHz (Universidad de Göttingen a 600 MHz para ^1H y 150 MHz para ^{13}C). Se utilizaron solventes deuterados que se indican en cada caso. Los desplazamientos químicos (δ) se indican en partes por millón (ppm) respecto de la señal de tetrametilsilo (TMS) o el solvente deuterado. Los patrones de acoplamiento se consideraron de primer orden, y las constantes se expresaron en Hz. Las señales se describen como *s* (singulete), *d* (doblete), *t* (tripleto), *q* (cuarteto), *dd* (doble doblete), *ddd* (doble doble doblete), *sa* (singulete ancho), y *m* (multiplete).

La asignación de los espectros de RMN se realizó, cuando fue posible, mediante comparación con datos publicados para compuestos estructuralmente relacionados. En otros casos fue necesario el empleo de técnicas mono y bidimensionales: APTC, HSQC, HMBC, COSY. En los compuestos correspondientes, los átomos de carbono del perfluorociclopenteno no pueden observarse debido a la baja intensidad y extensa partición de las señales.

Espectrometría de masa: se utilizaron técnicas de ionización de impacto electrónico (IE) y por bombardeo de átomos rápidos (FAB). IES (ionización por electrospray) y EMAR (espectrometría de masa de alta resolución) fueron determinados en un APEX IV 7 Tesla-Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance (FTICR)- Mass spectrometer (Bruker) o un TSQ 7000 Triple-Stage-Quadrupol-Instrument (Finnigan) con Electrospray-Ionisation.

Espectroscopía UV: se utilizaron los siguientes espectrofotómetros UV/Vis: Kontron UVIKON 920 doble haz con 1 nm de resolución y UVIKON 943 doble haz con 1 nm de resolución.

Análisis elemental: se determinó con un analizador Leco CHN2000 con unidad quemadora MICRO U/D (Heraeus).

Espectroscopía de fluorescencia: los espectros de fluorescencia fueron medidos con un espectrofluorómetro SLM 8000S (SLM Instruments Inc. Urbana IL. U.S.A.) y un espectrofluorómetro Perkin Elmer LS50B. Los espectros de emisión fueron corregidos.

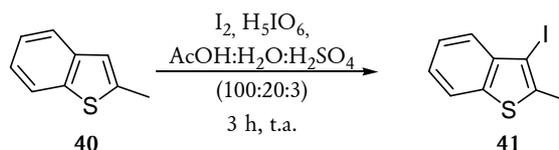
Cristalografía de rayos X: realizada con un Bruker generador cataling-anode y un detector in-house SMART6000 CCD a una temperatura de 133(2) K con una resolución de 2,4 Å usando radiación αCuK en la Universidad de Göttingen.

7.2 SÍNTESIS DE COMPUESTOS

Las secciones siguientes describen la preparación de los compuestos sintetizados, y de todos los intermediarios. Se incluye, además, la caracterización de compuestos secundarios.

7.2.1 SÍNTESIS DE DERIVADOS DE 1-BENZOTIOFENO (CAPÍTULO 2)

3-iodo-2-metil-1-benzotiofeno (41).



Se suspendieron **2-metil-1-benzotiofeno (40)** (5 g, 33,8 mmol), H_5IO_6 (1,54 g, 6,8 mmol), I_2 (4,2 g, 16,9 mmol) en una mezcla de $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (50:10:1,5, 123 ml). La suspensión se agitó enérgicamente durante 3 horas. Luego se volcó sobre una solución acuosa de NaHSO_3 (5%) y se neutralizó con una solución acuosa de NaOH (3 M). Se obtuvo un precipitado amarillo que se filtró y recristalizó de $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (9:1), obteniéndose **3-iodo-2-metil-1-benzotiofeno (41)** como un sólido blanco (8,74 g, 31,9 mmol, 95%).

$R_f = 0,55$ (hexano).

P.f.: 48-49 °C.

CGL. Método B: $t_R = 12,78$ minutos, 2-metil-1-benzotiofeno $t_R = 7,85$ minutos.

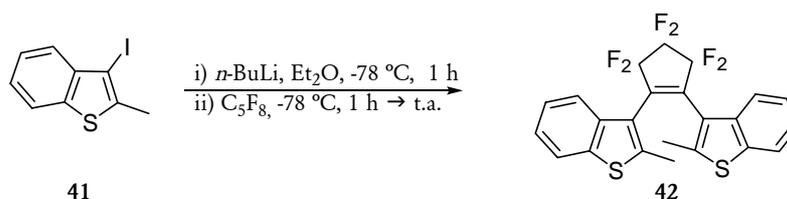
RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3): 7,71 (H-7, 1H, *d*, $J = 7,9$) 7,66 (H-4, 1H, *d*, $J = 8,0$), 7,41 (H-5, 1H, *t*, $J = 7,5$ y 7,5), 7,32 (H-6, 1H, *t*, $J = 7,5$ y 7,5), 2,60 (CH_3 , 3H, *s*).

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 141,3 (C-3a, C), 139,2 (C-2, C), 138,2 (C-7a, C), 125,1 (C-5, CH), 124,9 (C-4, CH), 124,8 (C-6, CH), 122,0 (C-7, CH), 81,0 (C-3, C), 18,8 (CH_3 , CH_3).

EM (IES): m/z (int.rel.): 274 [M^+] (100); 147 (70).

Análisis elemental. $\text{C}_9\text{H}_7\text{IS}$. Calculado: C 39,43; H 2,57. Encontrado: C 39,22; H 2,35.

3,3'-(3,3,4,4,5,5-hexafluorociclopent-1-en-1,2-diil)bis(2-metil-1-benzotiofeno) (42).



Una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 13 ml, 20,8 mmol) se agregó a una solución de **3-iodo-2-metil-1-benzotiofeno (41)** (5 mg, 18,2 mmol) en éter etílico (anhidro, 160 ml) a -78 °C y bajo atmósfera de argón. Se agitó durante 1 hora. Se observó un precipitado

blanco. Posteriormente se agregó perfluorociclopenteno (1,2 ml, 9,1 mmol). La solución se tornó amarilla. Luego de una hora a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se dejó llegar a temperatura ambiente. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 100 ml). Se extrajo con éter etílico (2 x 50 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó en columna de sílica flash en hexano, rindiendo **3,3'-(3,3,4,4,5,5-hexafluorociclopent-1-en-1,2-diil)bis(2-metil-1-benzotiofeno)² (42)** como un sólido blanco (2,1 g, 4,5 mmol, 49 %).

$R_f = 0,30$ (hexano), 0,45 (Hexano/AcOEt 98:2). Revela como una mancha rosa al UV.

P.f.: 162-163 $^{\circ}\text{C}$.

CGL. Método B: $t_R = 21,87$ minutos.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3): 7,68 (H-4 y H-7 ap, 4H, *dd*, $J = 7,5$ y 7,8) 7,61-7,55 (H-4 y H-7 2H p, m), 7,38 (H-5* ap, 2H, *ddd*, $J = 8,2$, 7,0 y 1), 7,30 (H-6* ap, 2H, *ddd*, $J = 7,5$, 7,5 y 1), 7,20-7,17 (H-5 y H-6 p, 2H, *dd*, $J = 6,0$ y 6,0), 2,49 (CH_3 p, 3H, *s*), 2,22 (CH_3 ap, 6H, *s*). Confórmero paralelo/confórmero antiparalelo 33:67. (*) Estas señales son intercambiables.

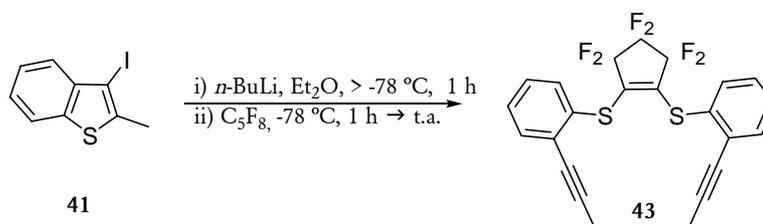
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl_3): 142,6 (C-2 ap, C), 141,1 (C-2 p, C), 138,3 (C-3a*ap, C), 138,2 (C7a* ap + C-3a** p, C), 138,0 (C-7a** p, C), 124,6 (C-5*** ap, CH), 124,4 (C-5 y C-6 p, CH), 124,3 (C-6*** ap, CH), 122,1 (C-4 y C-7 ap, CH), 121,8 (C-4 y C-7 p, CH), 119,4 (C-3 p, C), 119,1 (C-3 ap, C), 15,2 (CH_3 p, CH₃), 15,1 (CH_3 ap, CH₃). (*), (**) y (***) Estas señales son intercambiables.

EM (IES): m/z (int.rel.): 468 [M^+] (40); 294 (80); 147 (100).

EMAR: $\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{S}_2$ Calculado: 468,0441. Encontrado: 468,0441.

Análisis elemental. Calculado: C 58,97; H 3,01. Encontrado: C 59,21; H 2,86.

1,1'-(3,3,4,4,5,5-hexafluorociclopent-1-en-1,2-diil)disulfanediil]bis(2-prop-1-in-1-ilbenceno (43).



$R_f = 0,11$ (hexano).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3): 7,42 (H-, 1H, *dd*, $J = 7,5$ y 1,6), 7,33 (H-, 1H, *dd*, $J = 7,5$ y 1,6), 7,28 (H-, 1H, *ddd*, $J = 7,5$, 7,5 y 1,7), 7,22 (H-, 1H, *ddd*, $J = 7,5$, 7,5 y 1,7), 2,10 (CH_3 , CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 132,9 (CH), 132,9 (CH), 129,3 (C), 128,9 (CH), 128,0 (CH), 127,9 (C), 93,6 (C), 4,6 (CH₃).

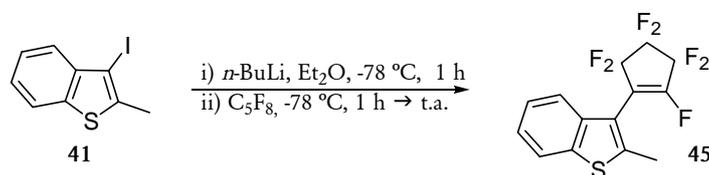
EM (IES): m/z (int.rel.): 468 [M⁺] (100); 453 (44), 448 (43), 420 (38), 419 (25), 318 (61); 147 (40).

EMAR: C₂₃H₁₄F₆S₂ Calculado: 468,0441. Encontrado: 468,0441.

Cristalografía de Rayos-X: Temperatura: 133 (2) °K. Sistema cristalino monoclinico, P 2(1)/n.

Dimensiones de la celda unidad: a = 11,0032 (9) Å α = 90 °.
 b = 13,8025 (10) Å β = 107,885 (6) °.
 c = 14,7136 (10) Å γ = 90 °.
 Volumen : 2126,6 (3) Å³.

3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-en-1-il)-2-metil-1-benzotiofeno (45).



Una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 12,5 ml, 20,1 mmol) se agregó a una solución de **3-iodo-2-metil-1-benzotiofeno (41)** (5 mg, 18,2 mmol) en éter etílico (anhidro, 300 ml) a -78 °C y bajo atmósfera de argón. Se agitó durante 1 hora. Se observó un precipitado blanco. Posteriormente se agregó octafluorociclopenteno (1,6 ml, 27 mmol). La solución se tornó amarilla-anaranjada. Luego de una hora a -78 °C, se dejó llegar a temperatura ambiente. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 200 ml). Se extrajo con éter etílico (2 x 50 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano, rindiendo **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-en-1-il)-2-metil-1-benzotiofeno (45)** un sólido blanco (4,54 g, 13,4 mmol 73 %).

R_f = 0,61 (hexano).

P.f.: 67-68 °C.

CGL. Método B: t_R = 9,94 minutos.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,80 (H-7, 1H, *dd*, J = 7,0 y 2,0), 7,49 (H-4, 1H, *d*, J = 7,8), 7,40 (H-5, 1H, *m*), 7,36 (H-6, 1H, *m*), 2,53 (CH₃, 3H, *s*).

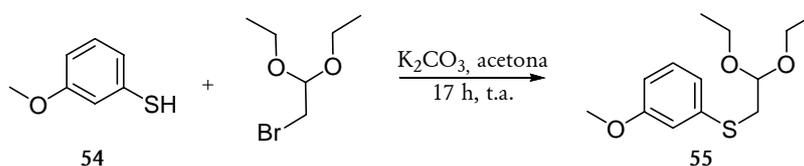
RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 144,1 (C-2, C), 138,2 (C-3a y C-7a, C), 125,1 (C-5, CH), 124,8 (C-6, CH), 122,2 (C-7, CH), 121,6 (C-4, CH, *t*, J = 2,3), 114,3 (C-3, C), 14,6 (CH₃, CH₃).

EM (IES): m/z (int.rel.): 340 [M⁺] (100); 147 (75), 69 (33).

EMAR: Calculado 340,0157. Encontrado: 340,0157.

Análisis elemental. C₁₄H₇F₇S. Calculado: C 49,42; H 2,07. Encontrado: C 49,31; H 1,85.

1-(2,2-dietoxietilsulfanil)-3-metoxibenceno (55).



Se agregó gota a gota bromoacetaldehídidietilacetal (5,3 ml, 35 mmol) a una mezcla de 3-metoxifenotiol (54) (4 ml, 31 mmol) y K₂CO₃ (5 g, 36 mmol) en acetona (35 ml), a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 16 horas. Posteriormente la suspensión se filtró y se lavó el sólido con acetona. El filtrado y los lavados se juntaron y concentraron al vacío. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con éter etílico. El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa de KOH (0.5 M), H₂O y una solución acuosa saturada de NaCl. Se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. Se obtuvo 1-(2,2-dietoxietilsulfanil)-3-metoxibenceno³ (55) como un aceite amarillo oscuro (5,6 g, 21,8 mmol, 70 %), que se utilizó en el siguiente paso sin purificación.

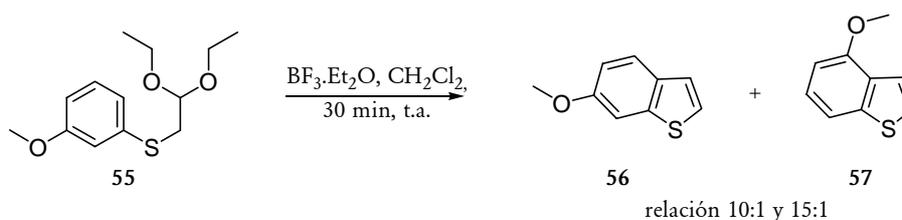
$R_f = 0,17$ (Hexano/AcOEt 98:2).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,17 (H-5, 1H, *dd*, $J = 8$ y 8), 6,90-6,96 (H-2 y H-6*, 2H, *m*), 6,70 (H-4*, 1H, *dd*, $J = 2,4$ y 8) 4,64 (CH₂-CH(OCH₂CH₃)₂, 1H, *t*, $J = 5,5$), 3,77 (-OCH₃, 3H, *s*), 3,50-3,70 (-CH(OCH₂CH₃)₂, 4H, *m*), 3,13 (S-CH₂-CH, 2H, *d*, $J = 5,5$), 1,19 (-CH(OCH₂CH₃)₂, 6H, *t*). (*) Estas señales son intercambiables.

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 159,8 (C-3, C), 137,8 (C-1, C), 129,6 (C-5, CH), 121,1 (C-6, CH), 114,4 (C-4*, CH), 111,7 (C-2*, CH), 101,6 (CH₂-CH(OCH₂CH₃)₂, CH), 62,1 (-CH(OCH₂CH₃)₂, CH₂), 55,2 (OCH₃, CH₃), 37,2 (S-CH₂-CH, CH₂), 15,2 (-CH(OCH₂CH₃)₂, CH₃).

EM (IES): m/z (int.rel.): 256 [M⁺] (12); 165 (20); 103 (100); 75 (52); 47 (44).

4-y 6-metoxi-1-benzotiofeno (57 y 56).



Se agregó gota a gota una solución de 1-(2,2-dietoxietilsulfanil)-3-metoxibenceno (55) (5,6 g, 21,8 mmol) en CH₂Cl₂, a una solución de BF₃.Et₂O (3 ml, 28,3 mmol) en CH₂Cl₂ (440

$R_f = 0,29$ (Hexano/AcOEt 98:2).

P.f.: 24-25 °C.

2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (58): RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,52 (H-4, 1H, *d*, *J* = 8,7), 7,24 (H-7, 1H, *d*, *J* = 2,3), 6,93 (H-5, 1H, *dd*, *J* = 8,7 y 2,3), 6,87 (H-3, 1H, *s*), 3,86 (CH₃O-, 3H, *s*), 2,54 (CH₃, 3H, *s*).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 156,6 (C-6, C), 140,9 (C-3a, C), 138,0 (C-2, C), 134,3 (C-7a, C), 123,0 (C-4, CH), 120,9 (C-3, CH), 113,7 (C-5, CH), 104,8 (C-7, CH), 55,5 (CH₃O-, CH₃), 15,9 (CH₃, CH₃).

EMAR: Calculado: 178,0452. Encontrado: 178,0452.

EM (IES): *m/z* (int.rel.): 178 [M⁺] (100); 163 (82); 135 (16); 134 (11); 91 (12).

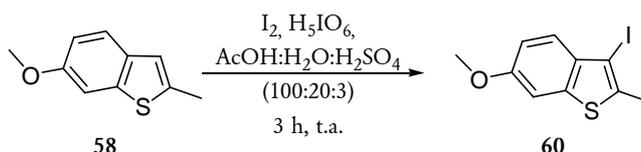
Análisis elemental. C₁₀H₁₀OS Calculado: C, 67,38; H, 5,65. Encontrado: C, 67,45; H, 5,53.

$R_f = 0,37$ (Hexano/AcOEt 98:2).

2-metil-4-metoxi-1-benzotiofeno (59): RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,34 (H-7, 1H, *d*, *J* = 8,0), 7,19 (H-6, 1H, *dd*, *J* = 8,0 y 7,9), 7,14 (H-3, 1H, *s*), 6,71 (H-5, 1H, *d*, *J* = 7,9), 3,93 (CH₃O-, 3H, *s*), 2,58 (CH₃, 3H, *s*).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 154,0 (C-4, C), 141,0 (C-7a, C), 139,1 (C-2, C), 130,8 (C-3a, C), 124,2 (C-6, CH), 118,1 (C-3, CH), 114,4 (C-7, CH), 103,9 (C-5, CH), 55,2 (CH₃O-, CH₃), 16,0 (CH₃, CH₃).

3-iodo-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (60).



Se suspendieron **2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (58)** (2 g, 11,2 mmol), H₅IO₆ (0,51 g, 2,2 mmol), I₂ (1,28 g, 5,1 mmol) en una mezcla de AcOH/H₂O/H₂SO₄ (100:20:3, 105 ml). La suspensión se agitó enérgicamente durante 3 horas. Luego se volcó sobre una solución acuosa de Na₂SO₃ (5%). Se obtuvo un precipitado beige que se filtra. El sólido se recrystalizó de MeOH/H₂O (9:1), obteniéndose **3-iodo-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (60)** como un sólido blanco, (3,12 g, 10,3 mmol, 92 %).

$R_f = 0,34$ (Hexano/AcOEt 98:2).

P.f.: 69-70 °C.

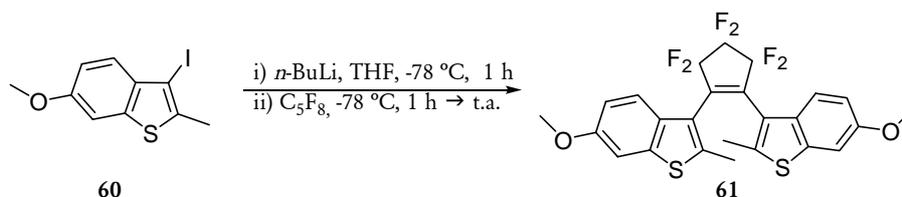
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,52 (H-4, 1H, *d*, *J* = 8,7), 7,21 (H-7, 1H, *d*, *J* = 2,34), 7,01 (H-5, 1H, *dd*, *J* = 8,7 y 2,3), 3,87 (CH₃O-, 3H, *s*), 2,55 (CH₃, 3H, *s*).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 157,8 (C-6, C), 139,2 (C-7a, C), 136,3 (C-2, C), 135,3 (C-3a, C), 125,4 (C-4, CH), 114,6 (C-5, CH), 104,82 (C-7, CH), 80,1 (C-3, C), 55,7 (CH₃O-, CH₃), 18,6 (CH₃, CH₃).

EM (IES): m/z (int.rel.): 304 [M⁺] (100); 289 (52); 178 (53); 163 (51); 134 (30).

Análisis elemental. C₁₀H₉IOS Calculado: C: 39,49; H: 2,98. Encontrado: C: 39,71, H: 3,20.

3,3'-(3,3,4,4,5,5-hexafluorociclopent-1-en-1,2-diil)bis(6-metoxi-2-metil-1-benzotiofeno) (61).



Una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 0,45 ml, 0,72 mmol) se agregó a una solución de **3-iodo-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (60)** (200 mg, 0,66 mmol) en THF (anhidro, 2 ml) a -78 °C y bajo atmósfera de argón. Se agitó durante 1 hora. Se observó un precipitado blanco. Posteriormente se agregó perfluorociclopenteno (C₅F₈, 0,04 ml, 0,33 mmol). La solución se tornó marrón-rojiza. Luego de una hora a -78 °C, se dejó llegar a temperatura ambiente. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 3 ml). Se extrajo con acetato de etilo (4 x 3 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó en columna de sílica flash en hexano, obteniéndose **3,3'-(3,3,4,4,5,5-hexafluorociclopent-1-en-1,2-diil)bis(6-metoxi-2-metil-1-benzotiofeno)⁴ (61)** como un sólido blanco (40 mg, 0,08 mmol, 12 %).

R_f = 0,13 (Hexano/AcOEt 98:2). Revela rosa con luz UV.

P.f.: 189-190 °C

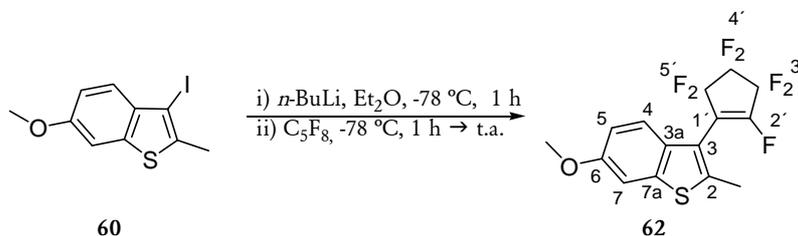
RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃): 7,52 (H-4 ap, 1,28H, *d*, *J* = 8,9), 7,39 (H-4 p, 0,72H, *d*, *J* = 8,9), 7,16 (H-7 ap, 1,28H, *d*, *J* = 2,2), 7,07 (H-7 p, 0,72H, *d*, *J* = 2,0), 6,98 (H-5 ap, 1,28H, *dd*, *J* = 8,9 y 2,2), 6,79 (H-5 p, 0,72H, *dd*, *J* = 8,9 y 2,0), 3,84 (CH₃O- ap, 3,84H, *s*), 3,77 (CH₃O- p, 2,16H, *s*), 2,42 (CH₃ p, 2,16H, *s*), 2,13 (CH₃ p, 3,84H, *s*). Confórmero paralelo (p)/confórmero antiparalelo (ap) = 36:64.

RMN-¹³C (150 MHz, CDCl₃): 157,3 (C-6 ap, C), 157,2 (C-6 p, C), 139,7 (C-2* ap, C) 139,6 (C-7a* ap, C), 139,4 (C-2** p, C) 139,3 (C-7a** p, C), 132,2 (C-3a p + C-3a ap, C), 122,8 (C-4 ap, CH), 122,6 (C-4 p, CH), 119,0 (C-3 p, C), 118,8 (C-3 ap, C), 114,4 (C-5 ap, CH), 114,2 (C-5 p, CH), 104,7 (C-7 ap, CH), 104,5 (C-7 p, CH), 55,6 (CH₃O- ap, CH₃), 55,5 (CH₃O- p, CH₃), 15,1 (CH₃ p, CH₃), 15,0 (CH₃ ap, CH₃). (*) y (**) Estas señales son intercambiables.

EM (IES): m/z (int.rel.): 528 [M^+] (100); 480 (30). Otro espectro da 528 [M^+] (100); 498 (15).

EMAR: $C_{25}H_{18}F_6O_2S_2$ Calculado: 528,0652, Encontrado: 528,0652.

3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-en-1-il)-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (62).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 3,9 ml, 6,3 mmol) a una solución de **3-iodo-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (60)** (1,74 g, 5,7 mmol) en éter etílico (anhidro, 60 ml) a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y bajo atmósfera de argón. La suspensión blanca obtenida se agitó durante 1 hora. Posteriormente se agregó con jeringa octafluorociclopenteno (1,1 ml, 8,6 mmol). El precipitado se disolvió durante el agregado y la solución se tornó naranja. Luego de una hora a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se dejó llegar a temperatura ambiente. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 30 ml). Se extrajo con éter etílico (2 x 20 ml). La fase orgánica se lavó con H_2O y una solución acuosa saturada en NaCl, se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó en columna de sílica flash en hexano, obteniéndose **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-en-1-il)-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno⁴ (62)** un líquido transparente (1,37 g, 3,7 mmol, 65 %) que cristaliza en la heladera.

$R_f = 0,57$ (Hexano/AcOEt 98:2), $R_f = 0,44$ (hexano).

P.f.: $38\text{--}39\text{ }^{\circ}\text{C}$.

RMN- ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): 7,37 (H-4, 1H, *d*, $J = 8,9$), 7,26 (H-7, 1H, *d*, $J = 2$), 7,01 (H-5, 1H, *dd*, $J = 8,9$ y $2,4$), 3,87 (CH_3O- , 3H, *s*), 2,47 (CH_3 , 3H, *s*).

RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): 157,6 (C-6, C), 141,2 (C-2, C), 139,7 (C-7a, C), 132,0 (C-3a, C), 122,3 (C-4, CH, *t*, $J = 2,5$), 114,8 (C-5, CH), 113,8 (C-3, C), 104,9 (C-7, C), 55,7 (CH_3O- , CH_3), 14,6 (CH_3 , CH_3).

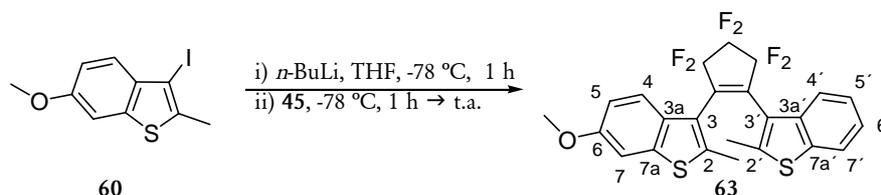
RMN- ^{13}C desacoplado de F (50 MHz, $CDCl_3$): 157,6 (C-6, C), 154,8 (C-2', CF) 141,2 (C-2, C), 139,7 (C-7a, C), 132,0 (C-3a, C), 122,3 (C-4, CH, *d*, $J = 160$), 119,3, (C-1' C), 115,4 (C-3', CF_2), 114,8 (C-5, CH, *d*, $J = 160$), 113,8 (C-3, C), 110,7 (C-4'*, CF_2), 110,4 (C-2'*, CF_2), 104,9 (C-7, C, *d*, $J = 160$), 55,7 (CH_3O- , CH_3 , *q*, $J = 144$), 14,6 (CH_3 , CH_3 , *q*, $J = 130$).

EM (IES): m/z (int.rel.): 370 [M^+] (100); 355 (34); 304 (56); 289 (20); 178 (16); 134 (18).

EMAR: Calculado: 370,0262. Encontrado: 370,0262.

Análisis elemental. $C_{15}H_9F_7OS$. Calculado: C 48,65; H 2,45. Encontrado C 48,66; H 2,26.

3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (63).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 0,3 ml, 0,49 mmol) a una solución de **3-iodo-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (60)** (150 mg, 0,49 mmol) en THF (anhidro, 2 ml) a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y bajo atmósfera de argón. La solución se agitó durante 1 hora. Posteriormente se agregó una solución de **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (45)** (140 mg, 0,41 mmol) en THF (anhidro, 1ml). Luego de una hora a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se dejó llegar a temperatura ambiente. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 20 ml). Se extrajo con AcOEt (3 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó en columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (63)** como un sólido blanco-amarillo (70 mg, 0,14 mmol, 34 %).

$R_f = 0,24$ (Hexano/AcOEt 98:2), con luz UV revela rosa.

RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3): 7,69 (H-4' ap, 1,28H, *d*, $J = 8,0$), 7,66 (H-7' ap, 1,28H, *d*, $J = 7,8$), 7,60 (H-4' * p, 0,72H, *m*), 7,52 (H-4 ap + H-7' * p, 2H, *m*), 7,44 (H-4 p, 0,72H, *d*, $J = 8,8$), 7,36 (H-5' ap, 1,28H, *dd*, $J = 7,4$ y $8,0$), 7,30 (H-6' ap, 1,28H, *dd*, $J = 7,4$ y $7,8$), 7,18 (H-5' p + H-6' p, 1,44H, *m*), 7,16 (H-7 ap, 1,28H, *s*), 7,07 (H-7 p, 0,72H, *s*), 7,00 (H-5 ap, 1,28H, *d*, $J = 8,8$), 6,79 (H-5 p, 0,72H, *d*, $J = 8,7$), 3,84 ($\text{CH}_3\text{O-}$ ap, 3,84H, *s*), 3,77 ($\text{CH}_3\text{O-}$ p, 2,16H, *s*), 2,49 ($\text{CH}_3(2')$ p, 2,16H, *s*), 2,43 ($\text{CH}_3(2)$ p, 2,16H, *s*), 2,21 ($\text{CH}_3(2')$ ap, 3,84H, *s*), 2,15 ($\text{CH}_3(2)$ ap, 3,84H, *s*). Confórmero paralelo (p)/confórmero antiparalelo (ap)= 36:64. (*) Estas señales son intercambiables.

RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3): 157,3 (C-6 ap, C), 157,2 (C-6 p, C), 142,6 (C-2' ap, C), 142,2 (C-2' p, C), 139,8 (C-7a ap, C) 139,6 (C-2 ap, C), 139,4 (C-7a p, C) 139,3 (C-2 p, C), 138,3 (C-3a' ap, C), 138,1 (C-7a' ap + C-3a' p, C), 138,1 (C-7a' p, C), 132,2 (C-3a ap + C-3a p, C), 124,6 (C-5' ap, CH), 124,5 (C-5' * p, CH), 124,3 (C-6 ap + C-6' * p, CH), 122,8 (C-4 ap, CH), 122,6 (C-4 p, CH), 122,2 (C-7' ap, CH), 122,1 (C-4' ap, CH), 122,0 (C-4' ** p, CH), 121,8 (C-7' ** p, C), 119,4 (C-3' p, C), 119,2 (C-3' ap, C), 118,9 (C-3 p, C), 118,7 (C-3 ap, C), 114,4 (C-5 ap, CH), 114,2 (C-5 p, CH), 104,7 (C-7 ap, CH), 104,4 (C-7 p, CH), 55,6 ($\text{CH}_3\text{O-}$ ap, CH₃), 55,5 ($\text{CH}_3\text{O-}$

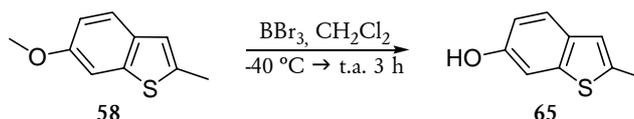
p, CH₃), 15,3 (CH₃(2') p, CH₃), 15,2 (CH₃(2) p, CH₃), 15,1 (CH₃(2') ap, CH₃), 15,0 (CH₃(2) ap, CH₃). (*) y (**). Estas señales son intercambiables.

EM (IES): m/z (int.rel.): 498 [M⁺] (60); 483 (24); 94 (100).

EMAR: C₂₄H₁₆F₆OS₂ Calculado: 498,0547 Encontrado: 498,0547.

Análisis elemental. Calculado: C 57,82, H 3,24 Encontrado: C 57,98, H 3,01.

2-metil-1-benzotien-6-ol (65).



Se adicionó BBr₃ (0,3 ml, 3,1 mmol) a una solución de **2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (58)** (0,5 mg, 2,8 mmol) en CH₂Cl₂ (15 ml) bajo atmósfera de nitrógeno en baño a -40 °C. Se dejó llegar a temperatura ambiente. Luego de 3 h se adicionó cuidadosamente gota a gota EtOH (3 ml) y posteriormente H₂O (5 ml). Se extrajo la fase orgánica, se secó con Na₂SO₄, se filtró y evaporó al vacío. Se purificó con columna flash de sílica con ciclohexano/AcOEt 8:2. Se obtuvieron 0,45 g (2,7 mmol) de **2-metil-1-benzotien-6-ol (65)** (98%).

R_f = 0,22 (Ciclohexano/AcOEt 9:1).

P.f.: 113-114 °C.

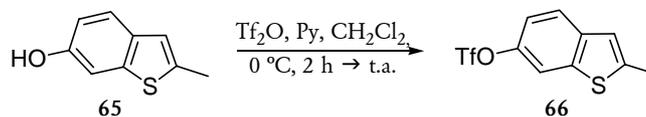
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,49 (H-4, 1H, *d*, *J* = 8,6), 7,19 (H-7, 1H, *d*, *J* = 2,3), 6,86 (H-3, 1H, *s*), 6,84 (H-5, 1H, *d*, *J* = 8,6 y 2,3), 4,64 (OH, 1H, *s*), 2,53 (CH₃, 3H, *s*).

EM (IES): m/z (int.rel.): 164 [M⁺] (90); 163 (100).

EMAR: C₉H₈OS. [M-H] Calculado: 163,02231 Encontrado: 163,02232.

Análisis elemental. Calculado: C 65,82, H 4,91 Encontrado: C 65,27, H 4,65.

Trifluorometansulfonato de 2-metil-1-benzotien-6-ilo (66).



Se adicionó anhídrido trifluorometansulfónico (0,82 g, 2,9 mmol) a una solución de **2-metil-1-benzotien-6-ol (65)** (0,4 g, 2,4 mmol) y piridina (0,2 ml, 2,7 mmol) en CH₂Cl₂ (6 ml), bajo atmósfera de nitrógeno a 0 °C. Luego de 2 horas se dejó llegar a temperatura ambiente y se agregó una solución acuosa de HCl (1N, 2 ml). Se extrajo la fase orgánica, se secó con Na₂SO₄, se filtró y evaporó al vacío. El producto crudo fue purificado en columna de sílica flash con ciclohexano, rindiendo **trifluorometansulfonato de 2-metil-1-benzotien-6-ilo (66)** (0,59 mg, 2 mmol, 82 %).

$R_f = 0,51$ (Ciclohexano/AcOEt 9:1).

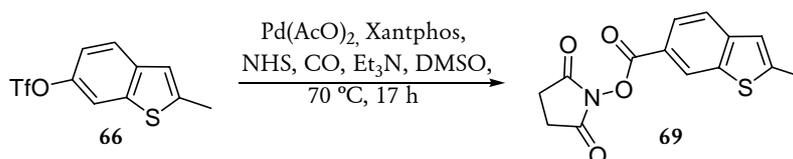
P.f.: 26-27 °C.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): 7,67 (H-4, 1H, *d*, *J* = 8,7), 7,67 (H-7, 1H, *d*, *J* = 2,3), 7,21 (H-5, 1H, *d*, *J* = 8,7 y 2,3), 7,00 (H-3, 1H, *s*), 2,61 (CH₃, 3H, *s*).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 145,8 (C-6, C), 143,8 (C-2, C), 140,3 (C-3a, C), 140,1 (C-7a, C), 123,5 (C-4, CH), 121,0 (C-3, CH), 117,7 (C-5, CH), 114,8 (C-7, CH), 16,2 (CH₃, CH₃).

Análisis elemental. C₁₀H₇F₃O₃S₂ Calculado: C 40,54, H 2,38 Encontrado: C 40,86, H 2,44.

1-[[2-metil-1-benzotien-6-il]carbonil]oxi}pirrolidin-2,5-diona (69).

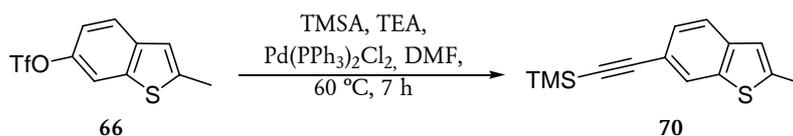


Se agregó TEA (0,25 ml, 1,8 mmol) a una mezcla de **trifluorometansulfonato de 2-metil-1-benzotien-6-ilo 66** (300 mg, 1,1 mmol), Pd(AcO)₂ (12 mg, 0,05 mmol), Xantphos (3 mg, 0,005 mmol) y NHS (170 mg, 0,15 mmol) en DMSO (3 ml), bajo atmósfera de argón. TEA y DMSO fueron previamente desgasificados con tres ciclos de freeze-pump-thaw y la NHS se secó durante 24 horas al vacío con P₂O₅. La solución se purgó con monóxido de carbono durante 15 minutos y se agitó con un globo de CO a 70 °C por 17 horas. Luego se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se diluyó con AcOEt 5 ml y se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (5 ml) y H₂O (5 ml). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó para dar el producto crudo. Se purificó en columna de sílica con hexano/acetona 8:2, obteniéndose **1-[[2-metil-1-benzotien-6-il]carbonil]oxi}pirrolidin-2,5-diona (69)** como un sólido blanco (160 mg, 0,58 mmol, 55%).

$R_f = 0,2$ (Ciclohexano/AcOEt 7:3).

RMN-¹H (300 MHz, MeOD/DMSO): 8,72 (H-7, 1H, *s*), 7,97 (H-5, 1H, *d*, *J* = 8,5), 7,91 (H-4, 1H, *d*, *J* = 8,5), 7,31 (H-3, 1H, *s*), 2,92 (dos CH₂, 4H, *s*), 2,59 (CH₃, 3H, *s*).

6-(trimetilsilil-1-in-1-il)-2-metil-1-benzotiofeno (70).



Se agregó Pd(PPh₃)₂Cl₂ (48 mg, 0,07 mmol) a una mezcla de **trifluorometansulfonato de 2-metil-1-benzotien-6-ilo 66** (450 mg, 1,52 mmol), TEA (1,2 ml) en DMF (6 ml) a 60 °C bajo atmósfera de argón. Luego de 10 minutos se adicionó TMSA (0,27 ml, 1,92 mmol), se dejó la

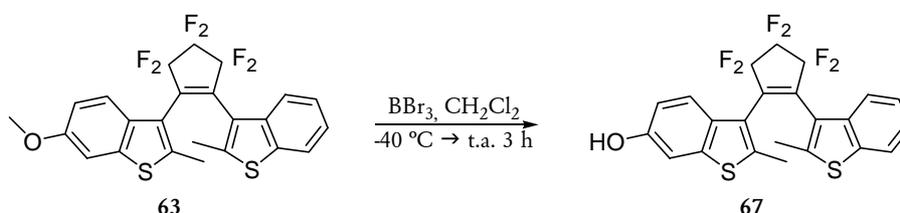
mezcla durante 7 horas. Se agregó con éter etílico (20 ml) y se extrajo con una solución acuosa de ácido cítrico (0,1 M, 2 x 25 ml). Se lavó la solución orgánica con H₂O, una solución acuosa saturada de NaCl (10 ml), se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de sílica flash en hexano, obteniéndose **6-(trimetilsilil-1-in-1-il)-2-metil-1-benzotiofeno (70)** como un sólido blanco (190 mg, 0,85 mmol, 51%).

$R_f = 0,48$ (hexano).

P.f.: 44-45 °C

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): 7,87 (H-7, 1H, s), 7,55 (H-4, 1H, d, $J = 8,2$), 7,38 (H-5, 1H, dd, $J = 8,2$ y 1), 6,95 (H-3, 1H, s), 2,58 (CH₃, 3H, s), 0,26 ((CH₃)₃Si-, 9H, s).

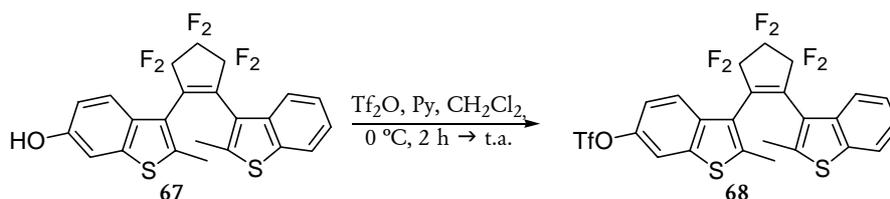
3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1-benzotien-6-ol (67).



Se adicionó BBr₃ (0,045 ml, 0,48 mmol) a una solución de **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-enil]-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (63)** (216 mg, 0,43 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml) bajo atmósfera de nitrógeno en baño a -40 °C. Luego de 3 horas se dejó llegar a temperatura ambiente. Se adicionó cuidadosamente gota a gota EtOH (1 ml) y posteriormente H₂O (2 ml). Se extrajo la fase orgánica, se secó con Na₂SO₄, se filtró y evaporó al vacío. Se purificó con columna flash de sílica con ciclohexano/AcOEt 8:2, se obtuvieron 170 mg (0,34 mmol, 79%) de **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1-benzotien-6-ol (67)**.

$R_f = 0,34$ (Ciclohexano/AcOEt 8:2).

Trifluorometansulfonato de 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1-benzotien-6-ilo (68).



Se adicionó TiF_2O (120mg, 0,42 mmol) a una solución de **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1-benzotien-6-ol (67)** (179 mg, 0,35 mmol) y piridina (0,03 ml, 0,39 mmol) en CH_2Cl_2 (3 ml), bajo atmósfera de nitrógeno a 0 °C. Luego de 2 horas se dejó llegar a temperatura ambiente y se agregó una solución acuosa de HCl (1N, 0,5 ml). Se extrajo la fase orgánica, se secó con Na_2SO_4 , se filtró y evaporó al vacío. El producto crudo fue purificado en columna de sílica flash con ciclohexano rindiendo **trifluorometansulfonato de 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1-benzotien-6-ilo (68)** como un sólido blanco (110 mg, 0,18 mmol, 51 %).

$R_f = 0,33$ (Ciclohexano/AcOEt 98:2).

P.f.: 120-121 °C.

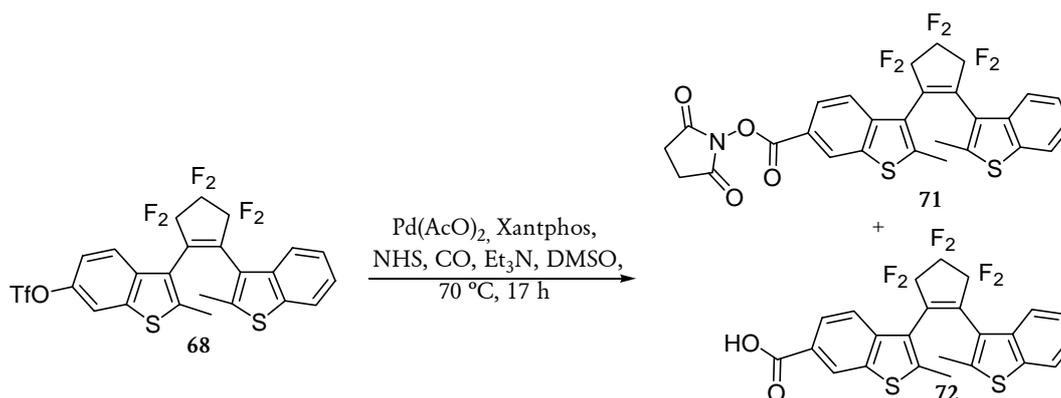
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3): 7,71 (1,23H, d, $J = 7,4$), 7,69 (1,23H, dd, $J = 8,9$ y 1,8), 7,54-7,65 (4,77H, m), 7,47 (0,77H, d, $J = 7,7$), 7,28-7,40 (3,69H, m), 7,15-7,23 (1,54H, m), 7,09 (0,77H, dd, $J = 8,9$ y 2,2 Hz), 2,50 (2,32H, s), 2,48 (2,32H, s), 2,23 (3,69H, s), 2,19 (3,69H, s); confórmero paralelo (p)/ confórmero antiparalelo (ap) = 39:61.

EM (IES): m/z (int.rel.): 616 [M^+] (73); 483 (100).

EMAR: $\text{C}_{24}\text{H}_{13}\text{F}_9\text{O}_3\text{S}_3$. Calculado: 615,9883; encontrado: 615,9883.

Análisis elemental. Calculado: C 46,75, H 2,13. Encontrado: C 47,02, H 1,98.

3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-enil]-2-metil-1-benzotien-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (71).



Se agregó TEA (0,023 ml, 0,17 mmol) a una mezcla de **trifluorometansulfonato de 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1-benzotien-6-ilo (68)** (60 mg, 0,1 mmol), $\text{Pd}(\text{AcO})_2$ (1 mg, 0,005 mmol), Xantphos (3 mg, 0,005 mmol) y NHS (16 mg, 0,14 mmol) en DMSO (1 ml), bajo atmósfera de argón. TEA y DMSO fueron previamente desgasificados con tres ciclos de freeze-pump-thaw y la NHS se secó durante

24 horas al vacío con P_2O_5 . La solución se purgó con monóxido de carbono durante 15 minutos y se agitó con un globo de CO a 70 °C por 17 horas. Luego se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se diluyó con AcOEt 5 ml y se lavó con una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (5 ml) y H_2O (5 ml). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó para dar el producto crudo. Se purificó en cromatografía preparativa de fase reversa con MeOH/ H_2O 9:1 como solvente de desarrollo. Se obtuvo ácido **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-enil]-2-metil-1-benzotien-6-carboxílico (72)** (22 mg, 0,04 mmol) y **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-enil]-2-metil-1-benzotien-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (71)** (7 mg, 0,01 mmol) en una relación (7:3).

$R_f = 0,32$ (MeOH/ H_2O 9:1, RP_{18}), $R_f = 0,45$ (Ciclohexano/AcOEt 1:1), revela rosa al UV.

RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$): 8,53 (1,27H, s), 8,44 (0,73H, s), 8,10 (1,27H, dd, $J = 8,7$ y 1,3 Hz), 7,89 (0,73H, d, $J = 8,8$ Hz), 7,75 (1,27H, d, $J = 8,7$ Hz), 7,70 (1,27H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,60-7,66 (2,73H, m), 7,51 (0,77H, m), 7,36-7,39 (1,27H, m), 7,30-7,33 (1,27H, m), 7,19-7,21 (1,46H, m), 2,92 (8H, sa), 2,54 (2,18H, s), 2,48 (2,18H, s), 2,28 (3,82H, s), 2,22 (3,82H, s); confórmero paralelo (p)/ confórmero antiparalelo (ap) = 36:64.

EM (IES): m/z (int.rel.): 609 [M^+] (16); 496 (23), 495 (100).

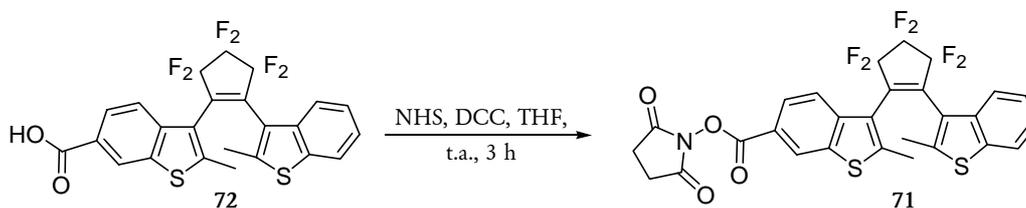
EMAR $C_{28}H_{17}F_6NO_4S_2$. Calculado: 609,0503. Encontrado: 609,0503.

ácido 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-enil]-2-metil-1-benzotien-6-carboxílico (72).

$R_f = 0,55$ (MeOH/ H_2O 9:1, RP_{18}), $R_f = 0,41$ (Ciclohexano/AcOEt 1:1), revela rosa al UV.

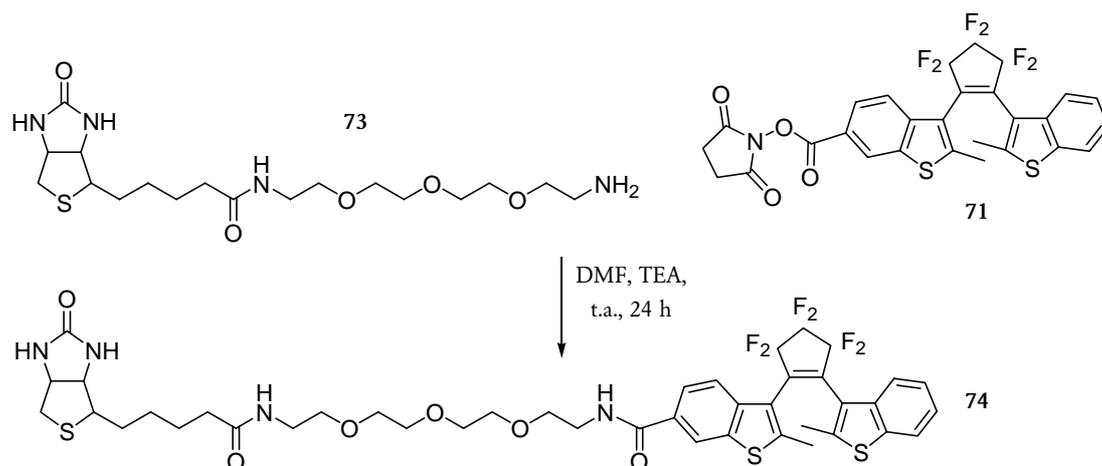
RMN- 1H (200 MHz, $CDCl_3$): 8,49 (1,32H, s), 8,40 (0,68H, s), 8,10 (1,32H, d, $J = 8,6$ Hz), 7,90 (0,68H, d, $J = 8,2$ Hz), 7,62-7,74 (5,96H, m), 7,31-7,47 (2H, m), 7,17-7,21 (1,36H, m), 2,55 (2,04H, s), 2,49 (2,04H, s), 2,27 (3,96H, s), 2,21 (3,96H, s); confórmero paralelo (p)/ confórmero antiparalelo (ap) = 34:66.

3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)ciclopent-1-enil]-2-metil-1-benzotien-6-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (71).



Se preparó una solución del ácido **72** (22 mg, 43 μmol), DCC (15 mg, 73 μmol) y NHS 5,5 mg, 47 μmol) en THF (anhidro, 0,5 ml). Se dejó reaccionando durante 3 horas. Se obtuvo un precipitado, dicitclohexilurea, que se filtró. El producto **71** se obtuvo por evaporación al vacío en un 83% (22 mg, 36 μmol).

3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1-benzotien-6-carboxilato de {2-[2-(2-{2-[5-(2-oxo-hexahidro-tieno[3,4-d]imidazol-6-il)-pentanoilamino]-etoxi}-etoxi)-etoxi]-etil}-amida (74).



Se agregó **biotinil-3,6,9-trioxaundecandiamina (73)** (3,8 mg, 9,1 μmol) a una solución de éster succinimidilo **71** (5 mg, 8,2 μmol) disuelto en DMF (anhidro, 500 μl) con tres gotas de TEA, durante 24 horas a temperatura ambiente. El producto se purificó por placa preparativa usando una fase estacionaria RP_{18} y MeOH/ H_2O 8:2 como solvente de desarrollo. Se obtuvo **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1-benzotien-6-carboxilato de {2-[2-(2-{2-[5-(2-oxo-hexahidro-tieno[3,4-d]imidazol-6-il)-pentanoilamino]-etoxi}-etoxi)-etoxi]-etil}-amida (74)** como un sólido amarillento (5,9 mg, 6,5 μmol , 79%).

$R_f = 0,22$ (MeOH/ H_2O 8:2, RP_{18}).

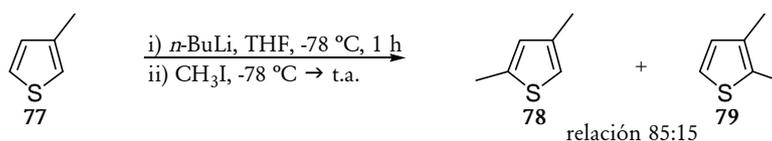
NMR- ^1H (500 MHz, MeOD): 8,28 (H-7_{ap}, 1,09H, s), 8,19 (H-7_p, 0,91H, s), 7,88 (H-5_{ap}, 1,09H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,77 (H-5_p, 0,91H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,71 (1,09H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,61-7,68 (2H, m), 7,56-7,58 (1,82H, m), 7,40-7,43 (1,09H, m), 7,32-7,35 (1,09H, m), 7,21-7,23 (1,82H, m), 4,46 (CH, 2H), 4,27 (CH, 2H), 3,67-3,63 (-OCH₂CH₂O-, 28H), 3,06 (CH, 2H), 2,89 (CH, 2H), 2,68 (CH, 2H), 2,56 (2,72H, s), 2,51 (2,72H, s), 2,30 (3,28H, s), 2,26 (3,28H, s), 2,22-2,14 (CH₂, 8H), 1,90-1,40 (CH₂, 12H); confórmero paralelo (p)/ confórmero antiparalelo (ap) = 45:55

EM (IES): m/z (int.rel.): 951 [MK^+](100); 935 [MNa^+](85); 507 (56), 452 (73), 442 (70), 265 (87).

EMAR $C_{42}H_{46}F_6N_4O_6S_3$. [M+H] Calculado: 913,2556. Encontrado: 913,2559; [M+Na] Calculado: 935,2376. Encontrado: 935,2375.

7.2.2 SÍNTESIS DE DERIVADOS DE TIOFENO (CAPÍTULO 3)

2,4-dimetiltiofeno y 2,3-dimetiltiofeno (78 y 79)



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 35 ml, 56,1 mmol) a una solución de **3-metiltiofeno (77)** (5 ml, 51 mmol) en THF (anhidro, 60 ml) a $-78^\circ C$ y bajo atmósfera de argón. La solución levemente amarilla se agitó durante 1 hora. Se observó precipitado blanco. Posteriormente se agregó CH_3I (4,8 ml, 76,5 mmol). Cuando finalizó el agregado, la solución se tornó amarilla y luego de unos minutos se observó un precipitado gelatinoso. Se dejó llegar a temperatura ambiente. Se agregó H_2O (40 ml), se disolvió el precipitado. Se extrajo con éter etílico (2 x 25 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó por destilación. Se junta una fracción de EP.: 139-141 $^\circ C$. Obteniéndose un líquido transparente (4,83 g, 43,1 mmol, 83 %). Por RMN, y CGL-EM se determinó que el producto es una mezcla de **2,3-dimetiltiofeno⁵ (79)** y **2,4-dimetiltiofeno⁵ (78)** en una relación 15:85. Se utiliza esta mezcla en los sucesivos pasos.

$R_f = 0,60$ (hexano).

2,4-dimetiltiofeno (78): CGL: Método A: $t_R = 4,84$ minutos.

RMN- 1H (400 MHz, $CDCl_3$): 6,64 (H-5, 1H, s), 6,57 (H-3, 1H, s), 2,45 (CH_3 (C-2), 3H, s), 2,20 (CH_3 (C-4), 3H, s).

RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): 139,5 (C-2*, C), 137,5 (C-4*, C), 127,6 (C-3, C), 118,1 (C-5, C), 15,7 (CH_3 (C-4), CH_3), 15,2 (CH_3 (C-2), CH_3). (*) Estas señales son intercambiables.

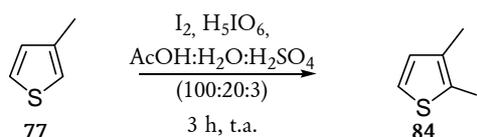
2,3-dimetiltiofeno (79): Método A: $t_R = 5,05$ min.

RMN- 1H (400 MHz, $CDCl_3$): 6,97 (H-5, 1H, d, $J = 5,1$), 6,78 (H-4, 1H, d, $J = 5,1$), 2,35 (CH_3 (C-2), 3H, s), 2,15 (CH_3 (C-3), 3H, s).

RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): 133,0 (C-2*, C), 132,5 (C-3*, C), 129,9 (C-4, C), 120,5 (C-5, C), 13,5 (CH_3 (C-3), CH_3), 12,9 (CH_3 (C-2), CH_3). (*) Estas señales son intercambiables.

EM (IES): m/z (int.rel.): 112 [M^+] (84); 111 (100); 97 (55).

EMAR: C_6H_8S Calculado: 112,0347; Encontrado: 112,0347.

2-iodo-3-metiltiofeno (84).

Se mezcla **3-metiltiofeno (77)** (5,1 g, 52 mmol), H₅IO₆ (2,3 g, 10 mmol), I₂ (6,6 g, 26 mmol) en una mezcla de AcOH/H₂O/H₂SO₄ (100:20:3, 60 ml). La suspensión se agitó enérgicamente durante 3 horas. Luego se volcó sobre una solución acuosa de Na₂SO₃ (5%). Se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con una solución acuosa de NaOH (1 M) y una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El líquido amarillo que se obtiene se purificó mediante una columna de sílica flash en hexano, rindiendo **2-iodo-3-metiltiofeno (84)** como un líquido amarillo pálido (9,4 g, 42 mmol, 80 %).

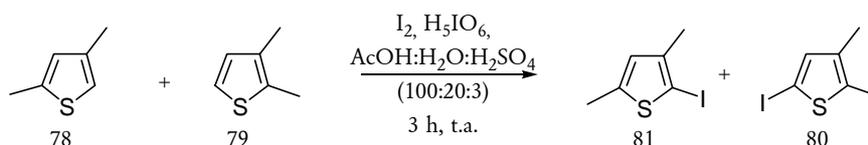
$R_f = 0,67$ (hexano).

CGL. Método A: $t_R = 9,57$ minutos.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,36 (H-5, 1H, *d*, $J = 5,4$), 6,76 (H-4, 1H, *d*, $J = 5,4$), 2,23 (CH₃ (C-3), 3H, *s*).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 142,5 (C-3, C), 130,1 (C-5*, C), 128,9 (C-4*, C), 74,4 (C-2, C), 18,0 (CH₃(C-3), CH₃). (*) Estas señales son intercambiables.

EM (IES): m/z (int.rel.): 224 [M⁺] (100); 97 (40).

3,5-dimetil-2-iodotiofeno (81).

Se mezclan **2,4-dimetiltiofeno (78)** y **2,3-dimetiltiofeno (79)** (400 mg, 3,6 mmol, relación 8:2), H₅IO₆ (160 mg, 0,7 mmol), I₂ (410 mg, 1,6 mmol) en una mezcla de AcOH/H₂O/H₂SO₄ (100:20:3, 5 ml). La suspensión se agitó enérgicamente durante 1 hora. Luego se volcó sobre una solución acuosa de Na₂SO₃ (5%). Se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con una solución acuosa de NaOH (1 M) y una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El líquido amarillo que se obtiene se purificó mediante una columna de sílica flash en hexano, rindiendo **3,5-dimetil-2-iodotiofeno (81)** y **4,5-dimetil-2-iodotiofeno (80)** como un líquido amarillo pálido (700 mg, 2,9 mmol, 83 %, relación 8:2).

$R_f = 0,60$ (hexano).

3,5-dimetil-2-iodotiofeno (81): CGL. Método A: $t_R = 7,29$ minutos.

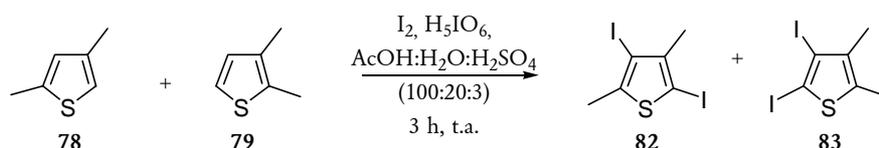
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 6,44 (H-4, 1H, *s*), 2,42 (CH₃(C-5), 3H, *s*), 2,14 (CH₃(C-3), 3H, *s*).

4,5-dimetil-2-iodotiofeno (80): CGL. Método A: $t_R = 7,57$ minutos.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 6,91 (H-3, 1H, *s*), 2,32 (CH₃ (C-5), 3H, *s*), 2,10 (CH₃ (C-4), 3H, *s*).

EM (IES): m/z (int.rel.): 238 [M⁺] (100); 111 (33); 77 (16); 67 (27).

2,4-diiodo-3,5-dimetiltiofeno (82).



Se mezclan **2,4-dimetiltiofeno (78)**/**2,3-dimetiltiofeno (79)** (400 mg, 3,6 mmol, relación 8:2), H₅IO₆ (330 mg, 1,45 mmol), I₂ (915 mg, 3,6 mmol) en una mezcla de AcOH/H₂O/H₂SO₄ (100:20:3, 10 ml). La suspensión se agitó enérgicamente durante 5 horas. Luego se volcó sobre una solución acuosa de Na₂SO₃ (5%). Se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con una solución acuosa de NaOH (1 M) y una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El líquido amarillo que se obtiene se purificó mediante una columna de sílica flash en hexano, rindiendo **2,4-diiodo-3,5-dimetiltiofeno (82)** como un líquido amarillo pálido (710 mg, 2 mmol, 60 %).

$R_f = 0,68$ (hexano). CGL. Método A: $t_R = 12,15$ minutos.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,41 (CH₃ (C-5), 3H, *s*), 2,29 (CH₃ (C-3), 3H, *s*).

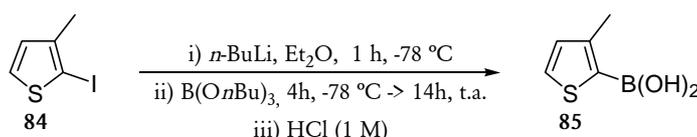
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 143,6 (C-3, C), 143,2 (C-5, C), 84,9 (C-4, C), 68,3 (C-2, C), 21,8 (CH₃(C-3), CH₃), 19,0 (CH₃(C-5), CH₃).

EM (IES): m/z (int.rel.): 364 [M⁺] (100); 237 (17); 110 (44).

De las fracciones posteriores se aisló el compuesto **2,3-diiodo-4,5-dimetiltiofeno (83)** (120 mg, 0,33 mmol, 11%)

$R_f = 0,60$ (hexano).CGL. Método A: $t_R = 12,68$ minutos.

Ácido 3-metiltienil-2-borónico (85).



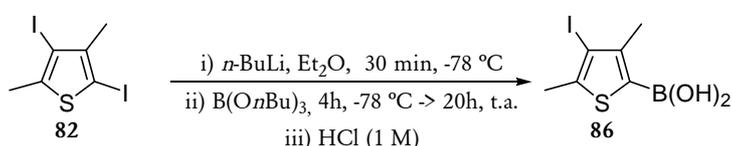
Se agregó una solución de *n*-butil litio (1 M en hexano, 8,6 ml, 8,6 mmol) a una solución de **2-iodo-3-metiltiofeno (84)** (1,75 g, 7,81 mmol) en éter etílico (anhidro, 50 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y a -78 °C. La solución se agitó durante una hora a -78 °C. Luego se

adicionó tri-*n*-butilborato (2,5 ml, 10,8 mmol). Se dejó 4 horas a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se llevó a temperatura ambiente por 14 horas. Se agregó una solución acuosa de HCl (1 M, 30 ml). Se separó la fase orgánica. Esta fase se extrajo con una solución acuosa de NaOH (3 x 10 ml, 1 M). La fase acuosa se trató con HCl (c) hasta obtener un precipitado blanco, se filtró y se lavó con HCl (0,01 M). Se secó al vacío, rindiendo el **ácido 3-metiltienil-2-borónico (85)** (0,5 g, 3,5 mmol, 45%).

RMN- ^1H (200 MHz, DMSO): 7,80 (-B(OH) $_2$, 2H, s), 7,54 (H-5, 1H, d, J = 4,6), 6,94 (H-4, 1H, d, J = 4,6), 2,35 (CH $_3$ (C-3), 3H, s).

RMN- ^{13}C (50 MHz, DMSO): 145,5 (C-3), 131,4 (C-5*), 129,5 (C-4*), 15,7 (CH $_3$ (C-3)). (*) Estas señales son intercambiables. No se observó la señal para el C-2.

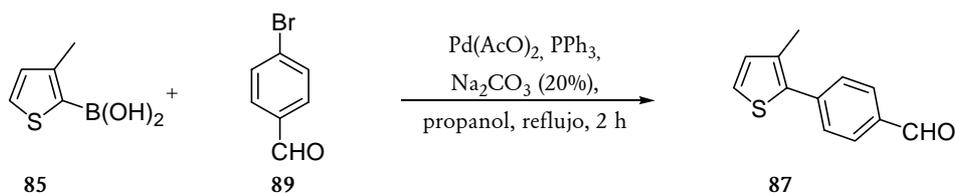
Ácido 2,4-dimetil-3-iodotienil-4-borónico (86).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (0,55 M en hexano, 2,2 ml, 1,2 mmol) a una solución de **2,4-dimetiltiofeno (82)** (0,4 g, 1,1 mmol) en éter etílico (anhidro, 20 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. La solución se agitó durante 30 minutos a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego se adicionó tri-*n*-butilborato (0,44 ml, 1,6 mmol). Se dejó 4 horas a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se llevó a temperatura ambiente por 20 horas. Se agregó una solución acuosa de HCl (1 M, 10 ml). Se separó la fase orgánica. Esta fase se extrajo con una solución acuosa de NaOH (2 x 10 ml, 0,5 M). La fase acuosa se trató con HCl (c) hasta obtener un precipitado blanco amarillento. Se filtró y se lavó con HCl (0,01 M). Se secó al vacío, obteniéndose el **ácido 2,4-dimetil-3-iodotienil-4-borónico (86)** (0,23 g, 0,82 mmol, 74%).

RMN- ^1H (200 MHz, DMSO): 7,95 (B(OH) $_2$, 2H, s), 2,38 (CH $_3$ (C-2)*, 3H, s), 2,30 (CH $_3$ (C-4)*, 3H, s). (*) Estas señales son intercambiables.

4-(3-metil-2-tienil)benzaldehído (87).



Se adicionó Pd(AcO) $_2$ (6,3 mg, 0,028 mmol) y PPh $_3$ (30 mg, 0,115 mmol) a una mezcla de **ácido 3-metiltienil-2-borónico (85)** (50 mg, 0,35 mmol) y *p*-bromobenzaldehído (**89**) (72 mg,

0,39 mmol) en una solución acuosa de Na_2CO_3 (2 M, 0,5 ml, 1 mmol) y THF (0,5 ml) bajo atmósfera de argón. La mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Luego se extrajo con éter etílico (2 x 1 ml). La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (1 ml), H_2O (1 ml) y una solución saturada de NaCl (1 ml). Luego se purificó mediante cromatografía en placa en RP-C18 (MeOH/ H_2O 8:2), obteniéndose **4-(3-metil-2-tienil)benzaldehído (87)** como un sólido amarillo pálido (20 mg, 0,098 mmol, 28%).

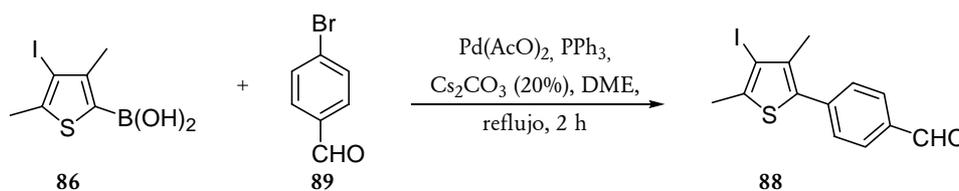
$R_f = 0,35$ (MeOH/ H_2O 8:2) fluorescente.

CGL. Método A: $t_R = 18,43$ minutos, 4-bromobenzaldehído $t_R = 11,20$ minutos.

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3): 9,98 (CHO, 1H, *s*), 7,86 (H-3' y H-5', 2H, *d*, $J = 8,2$), 7,57 (H-2' y H-6', 2H, *d*, $J = 8,2$), 7,24 (H-5, 1H, *d*, $J = 5,1$), 6,91 (H-4, 1H, *d*, $J = 5,1$), 2,32 (CH_3 (C-3), 3H, *s*).

EM (IES): m/z (int.rel.): 202 [M^+] (100); 201 (100); 173 (68); 129 (42); 97 (17); 45 (38).

4-(4-iodo-3,5-dimetil-2-tienil)benzaldehído (88).

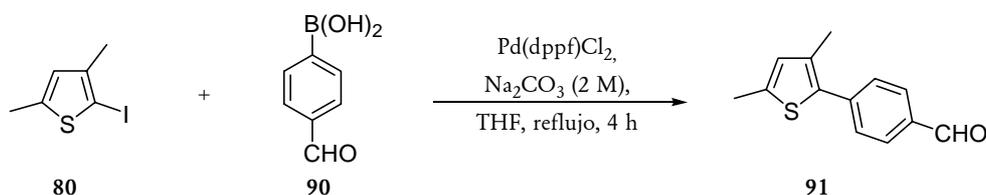


Se adicionó Pd(AcO)_2 (2,5 mg, 0,011 mmol) y PPh_3 (9,7 mg, 0,037 mmol) a una mezcla de **ácido 2,4-dimetil-3-iodotienil-4-borónico (86)** (50 mg, 0,18 mmol) y *p*-bromobenzaldehído (**89**) (38 mg, 0,20 mmol) en una solución acuosa de Cs_2CO_3 (20% P/V, 2 ml, 1 mmol) y DME (2 ml) bajo atmósfera de argón. La mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Luego se extrajo con éter etílico (2 x 1 ml). La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (1 ml), H_2O (1 ml) y una solución saturada de NaCl (1 ml). Luego se purificó mediante cromatografía en placa RP-C18 (MeOH/ H_2O 8:2), obteniéndose **4-(4-iodo-3,5-dimetil-2-tienil)benzaldehído (88)** como un sólido amarillo pálido (5 mg, 0,015 mmol, 8%).

$R_f = 0,24$ (MeOH/ H_2O 8:2) fluorescente.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3): 10,01 (CHO, 1H, *s*), 7,89 (H-3' y H-5', 2H, *d*, $J = 8,1$), 7,59 (H-2' y H-6', 2H, *d*, $J = 8,1$), 2,48 (CH_3 (C-2), 3H, *s*), 2,32 (CH_3 (C-4), 3H, *s*).

4-(3,5-dimetil-2-tienil)benzaldehído (91).



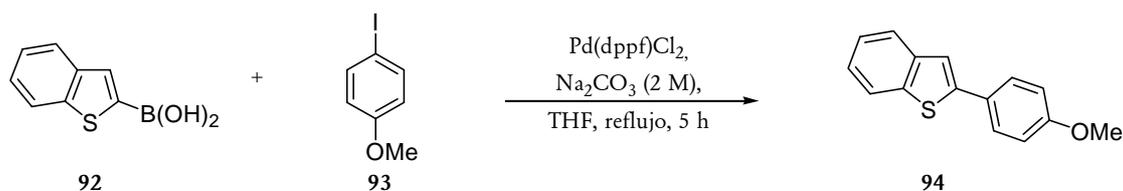
Se agregó el ácido borónico **90** (140 mg, 0,92 mmol) a una mezcla de **2,4-dimetil-3-iodotiofeno (80)** (200 mg, 0,84 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (34 mg, 0,04 mmol) en THF (2 ml) bajo atmósfera de argón. Se adicionó Na₂CO₃ (2 M, 2 ml, 4 mmol). La mezcla se reflujo durante 4 horas. Se dejó llegar a temperatura ambiente. Se extrajo con AcOEt (2 x 2 ml). La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2 ml), H₂O (2 ml) y una solución saturada de NaCl (2 ml). El crudo de reacción se purificó en columna de sílica flash (Hexano/AcOEt 99:1). Se obtuvo **4-(3,5-dimetil-2-tienil)benzaldehído (91)** como un sólido amarillo pálido (170 mg, 0,79 mmol, 94 %).

$R_f = 0,4$ (Hexano/AcOEt 98:2), fluorescente.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 10,01 (CHO, 1H, *s*), 7,88 (H-3' y H-5', 2H, *d*, $J = 8,3$), 7,59 (H-2' y H-6', 2H, *d*, $J = 8,3$), 7,24 (H-4, 1H, *s*), 2,48 (CH₃(C-5), 3H, *s*), 2,32 (CH₃(C-3), 3H, *s*).

EM (IES): m/z (int.rel.): 216 [M⁺] (100); 215 (38); 201 (18).

2-(4-metoxifenil)-1-benzotiofeno (94).



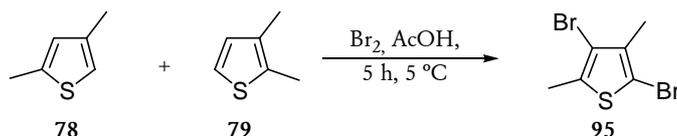
Una solución del ácido borónico **92** (200 mg, 1,16 mmol) en EtOH (0,5 ml) se agregó a una mezcla de 4-iodoanisol (**93**) (300 mg, 1,27 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (47 mg, 0,06 mmol) en THF (5 ml) bajo atmósfera de argón. Se adicionó Na₂CO₃ (2 M, 5 ml, 10 mmol). La mezcla se reflujo durante 5 horas. Se dejó llegar a temperatura ambiente. Se extrajo con éter etílico (2 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (5 ml), H₂O (5 ml) y una solución saturada de NaCl (5 ml). Se purificó el sólido marrón obtenido en columna de sílica flash (Hexano/AcOEt 9:1). Se obtuvo **2-(4-metoxifenil)-1-benzotiofeno (94)** como un sólido blanco cristalino (186 mg, 0,77 mmol, 69 %).

$R_f = 0,42$ (Hexano/AcOEt 95:5).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,81 (H-7*, 1H, *d*, $J = 7,6$), 7,75 (H-4*, 1H, *d*, $J = 7,7$), 7,65 (H-2' y H-6', 2H, *d*, $J = 8,7$), 7,43 (H-3, 1H, *s*), 7,32 (H-5 y H-6, 2H, *dd*, $J = 7,6$ y $7,7$), 6,96 (H-2' y H-6', 2H, *d*, $J = 8,7$), 3,85 (CH₃O-, 3H, *s*).

EM (IES): m/z (int.rel.): 240 [M⁺] (100), 225 (56), 197 (21).

2,4-dibromo-3,5-dimetiltiofeno (95).



Se adicionó gota a gota una solución de Br_2 (0,11 ml, 2,1 mmol) en ácido acético (0,5 ml) durante una hora a una solución de **2,4-dimetiltiofeno (78)** y **2,3-dimetiltiofeno (79)** (200 mg, 1,79 mmol, relación 8:2) en ácido acético (2 ml) a $5\text{ }^\circ\text{C}$. Luego de 4 horas se volcó sobre una solución acuosa saturada de Na_2SO_3 . Se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con una solución acuosa de NaOH (1 M), H_2O y una solución acuosa saturada de NaCl . Se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. Se obtiene un líquido rojo que se purificó con columna de sílica flash en hexano. El compuesto **2,4-dibromo-3,5-dimetiltiofeno**^{6, 7} (**95**) se obtuvo como un líquido transparente (240 mg, 0,89 mmol, 50%).

$R_f = 0,74$ (hexano).

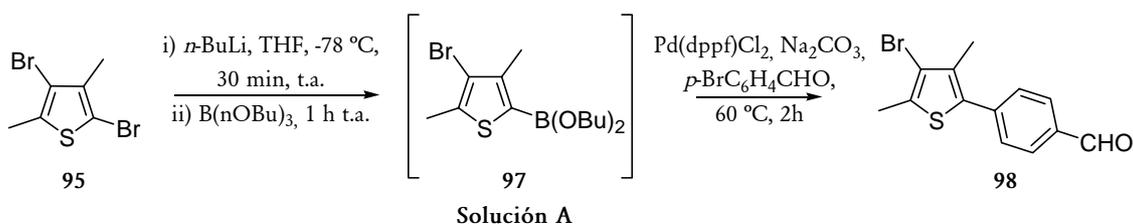
CGL. Método A: $t_R = 12,92$ minutos (2,4 dimetiltiofeno $t_R = 6,86$ minutos, 2,3-dimetiltiofeno $t_R = 7,08$ minutos). Se realizó el cromatograma con una columna nueva.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,34 (CH_3 (C-5), 3H, s), 2,17 (CH_3 (C-3), 3H, s).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 136,2 (C-3, C), 133,9 (C-5, C), 111,3 (C-4, C), 104,5 (C-2, C), 16,1 (CH_3 (C-3), CH_3), 15,4 (CH_3 (C-5), CH_3).

EM (IES): m/z (int.rel.): 271 (57), 269 (100), 267 [M^+](56), 225 (56), 109 (42).

4-(4-bromo-3,5-dimetil-2-tienil)benzalhído (98).



Éster borónico 97 (solución A): Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,15 M en hexano, 0,7 ml, 0,81 mmol) a una solución de **2,4-dibromo-3,5-dimetiltiofeno (95)** (200 mg, 0,74 mmol) en THF (anhidro, 2 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y a temperatura ambiente. La solución se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se adicionó tri-*n*-butilborato (0,25 ml, 0,88 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Esta solución A se utilizó directamente en la reacción de acoplamiento de Suzuki.

Se disolvió 4-bromo-benzalhído (**89**) (140 mg, 0,74 mmol) en THF (anhidro, 8 ml) y se agregó $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$ (36 mg, 0,04 mmol), la solución se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Luego se agregó una solución acuosa de Na_2CO_3 (2 ml, 2M) y

etilenglicol (4 gotas). Se calentó el sistema bifásico en un baño a 60 °C hasta reflujo. La solución A se agregó con jeringa gota a gota en unos 10 minutos. La mezcla de reacción se reflujo durante 2 horas. Luego se dejó llegar a temperatura ambiente. Se extrajo con acetato de etilo (2 x 10 ml). Se lavó la fase orgánica con H₂O y una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía flash en ciclohexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **4-(4-bromo-3,5-dimetil-2-tienil)benzaldehído (98)** como un sólido amarillo pálido (125 mg, 0,42 mmol, 57%).

$R_f = 0,19$ (Ciclohexano/AcOEt 98:2, fase normal) y 0,17 (MeOH/H₂O 8:2, RPC18).

P.f.: 111-112 °C.

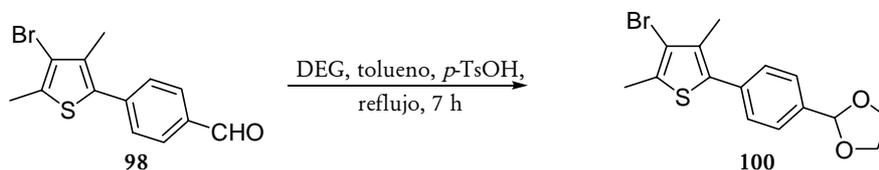
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 10,03 (CHO, 1H, *s*), 7,92 (H-3' y H-5', 2H, *d*, $J = 8,2$), 7,57 (H-2' y H-6', 2H, *d*, $J = 8,2$), 2,45 (CH₃(C-2), 3H, *s*), 2,31 (CH₃(C-4), 3H, *s*).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 191,6 (CHO, CH), 140,6 (C-1', C), 134,9 (C-4', C), 134,2 (C-4, C), 133,9 (C-2, C), 133,1 (C-5, C), 130,0 (C-3' y C-5', CH), 129,2 (C-2' y C-6', CH), 114,4 (C-3, C), 15,9 (CH₃(C-4), CH₃), 15,3 (CH₃(C-2), CH₃).

MS (IES) *m/z*: 296 [M⁺] (100), 295 (94), 215 (40), 186 (18)

EMAR: C₁₃H₁₁BrOS. Calculado: 293,9714 Encontrado: 293,9714.

2-[4-(4-bromo-3,5-dimetil-2-tienil)fenil]-[1,3]dioxolano (100).



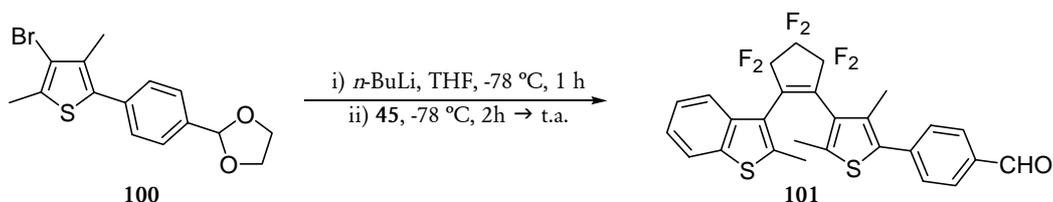
En un balón se adicionó, **4-(4-bromo-3,5-dimetiltienil-2-il)-benzaldehído (98)** (250 mg, 0,85 mmol), dietilenglicol (0,5 ml, 9,3 mmol), ácido *p*-toluensulfónico (2 mg, 0,008 mmol) en tolueno (anhidro, 8 ml). Se adaptó una trampa de Dean-Stark. Se reflujo durante 7 horas. Se extrajo con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y éter etílico. La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃, H₂O y una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. Se obtuvo **2-[4-(4-bromo-3,5-dimetil-2-tienil)fenil]-[1,3]dioxolano (100)** como un sólido marrón (235 mg, 0,69 mmol, 82%), que se utilizó sin purificar en el siguiente paso de reacción.

$R_f = 0,28$ (Ciclohexano/AcOEt 9:1).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,53 (H-2' y H-6', 2H, *d*, $J = 8,2$), 7,41 (H-3' y H-5', 2H, *d*, $J = 8,2$), 5,85 (CH, 1H, *s*), 4,15-4,14 (CH₂(a)*, 2H, *m*), 4,07-4,06 (CH₂(b)*, 2H, *m*), 2,43 (CH₃(C-2), 3H, *s*), 2,26 (CH₃(C-4), 3H, *s*). (a)* y (b)* Estas señales son intercambiables.

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 137,1 (C-4', C), 134,2 (C-1', C), 132,7 (C-2, C), 132,6 (C-4, C), 131,1 (C-5, C), 129,0 (C-2' y C6', CH), 126,7 (C-3' y C-5', CH), 103,4 (CH, CH), 65,4 (CH₂(a), CH₂), 63,7 (CH₂(b), CH₂), 15,5 (CH₃ (C-4), CH₃), 15,2 (CH₃ (C-2), CH₃).

4-{4[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-3,5-dimetil-2-tienil}benzaldehído (101).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,15 M, 0,9 ml, 1,0 mmol) a una solución de **2-[4-(4-bromo-3,5-dimetil-2-tienil)fenil]-[1,3]dioxolano (100)** (300 mg, 0,9 mmol) en THF (anhidro, 10 ml) a -78 °C y bajo atmósfera de argón. La solución marrón-naranja se agitó durante 1 hora. Posteriormente se agregó una solución de **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1-benzotiofeno (45)** (350 mg, 1,0 mmol) en THF (anhidro, 2 ml). Luego de 2 horas a -78 °C, se dejó llegar a temperatura ambiente. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con AcOEt (3 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **4-{4[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-3,5-dimetil-2-tienil}benzaldehído (101)** como un sólido blanco-amarillo (55 mg, 11 %). Luego se purificó por CLAR en hexano/AcOEt 98:2 (17 mg, 3 %).

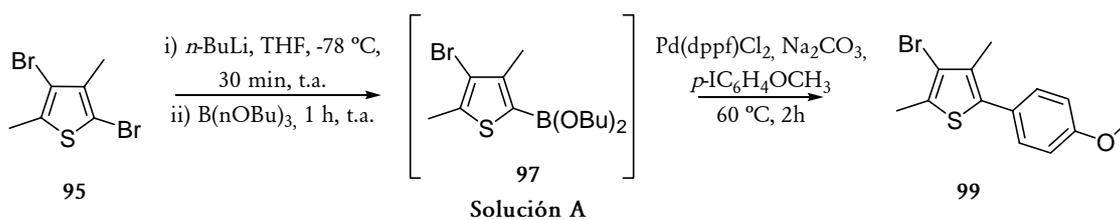
$R_f = 0,16$ (Ciclohexano/AcOEt 9:1), revela púrpura al UV.

P.f.: 160-162 °C.

RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃): 10,02 (CHO ap*, 1H, s), 9,97 (CHO p*, 1H, s), 7,89 (H-3' y H-5' ap, 2H, d, $J = 8,1$), 7,82 (H-3' y H-5' p, 2H, d, $J = 8,1$), 7,74 (H-4'' y H-7'' ap, 2H, d, $J = 7,9$), 7,60 (H-4'' y H-7'' p, 2H, dd, $J = 8,2$ y $8,5$), 7,51 (H-2' y H-6' ap, 2H, d, $J = 8,1$), 7,39 (H-2' y H-6' p, 2H, d, $J = 8,1$), 7,35 (H-5'' y H-6'' p, 2H, m), 7,32 (H-5'' y H-6'' ap, 2H, m), 2,50 (CH₃(C-2'') p, 3H, s), 2,43 (CH₃(C-4) ap**, 3H, s), 2,42 (CH₃(C-2) p**, 3H, s), 2,24 (CH₃(C-4) p, 3H, s), 2,21 (CH₃(C-2'') ap, 3H, s), 1,96 (CH₃(C-2) ap, 3H, s). Confórmero paralelo (p)/confórmero antiparalelo (ap) = 50:50. (*) y (**) Estas señales son intercambiables.

MS (IES) m/z: 536 [M⁺] (100).

EMAR: C₂₆H₁₈F₉OS₂ Calculado: 536,0703. Encontrado: 536,0703.

3-bromo-5-(4-metoxifenil)-2,4-dimetiltiofeno (99).

Éster borónico 97 (Solución A): Se agregó *n*-butil litio (1,15 M en hexano, 3,5 ml, 41 mmol) a una solución de **2,4-dibromo-3,5-dimetiltiofeno (95)** (1 mg, 3,7 mmol) en THF (anhidro, 10 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y. La solución se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se adicionó tri-*n*-butilborato (1,2 ml, 4,4 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Esta solución A se utilizó directamente en la reacción de acoplamiento de Suzuki.

Se disolvió 4-iodoanisol (**93**) (780 mg, 3,3 mmol) en THF (anhidro, 10 ml) y se agregó Pd(dppf)₂Cl₂ (180 mg, 0,2 mmol), la solución se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Luego se agregó una solución acuosa de Na₂CO₃ (4 ml, 2M) y etilenglicol (15 gotas). Se calentó el sistema bifásico en un baño a 60 °C hasta reflujo. La solución A se agregó con jeringa gota a gota en unos 10 minutos. La mezcla de reacción se reflujo durante 2 horas. Luego se dejó llegar a temperatura ambiente. Se extrajo con AcOEt (2 x 20 ml). La fase orgánica se lavó con H₂O y una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía flash en ciclohexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **3-bromo-5-(4-metoxifenil)-2,4-dimetiltiofeno (99)** como un sólido amarillo pálido (440 mg, 1,48 mmol, 45 %).

$R_f = 0,50$ (Hexano/AcOEt 98:2).

P.f.: 71-72 °C.

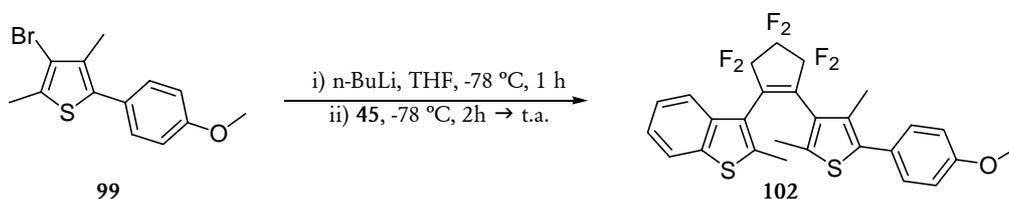
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,32 (H-2' y H-6', 2H, *d*, *J* = 8,7), 6,94 (H-3' y H-5', 2H, *d*, *J* = 8,7), 3,84 (CH₃O-, 3H, *s*), 2,42 (CH₃(C-2), 3H, *s*), 2,24 (CH₃(C-4), 3H, *s*).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 159,0 (C-4', C), 134,4 (C-5, C), 131,7 (C-4 y C-2, C), 131,7 (C-2, C), 130,2 (C-2' y 6', CH), 127,0 (C-1', C), 114,0 (C-3' y 5', CH), 113,5 (C-3, C), 55,3 (CH₃O-, CH₃), 15,4 (CH₃(C-4), CH₃), 15,2 (CH₃(C-2), CH₃).

MS (IES) *m/z*: 298 (96), 296 [M⁺] (100), 283 (47), 281 (48), 217 (13), 174 (22).

Análisis elemental. C₁₃H₁₃BrOS. Calculado: C 52,53; H 4,41. Encontrado: C 52,37; H 4,20.

3-{3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-[5-(4-metoxifenil)-2,4-dimetil-3-tienil]-ciclopent-1-en-1-il}-2-metil-1-benzotiofeno (102).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,15 M en hexano, 0,6 ml, 0,7 mmol) a una solución de **3-bromo-5-(4-metoxifenil)-2,4-dimetiltiofeno (99)** (190 mg, 0,64 mmol) en THF (anhidro, 5 ml) a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y bajo atmósfera de argón. La solución naranja se agitó durante 1 hora. Posteriormente se agregó una solución de **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1-benzotiofeno (45)** (240 mg, 0,7 mmol) en THF (anhidro, 2 ml). La solución se tornó naranja oscura. Luego de 2 horas a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se dejó llegar a temperatura ambiente. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con éter etílico (3 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **3-{3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-[5-(4-metoxifenil)-2,4-dimetil-3-tienil]-ciclopent-1-en-1-il}-2-metil-1-benzotiofeno (102)** como un sólido blanco-amarillo (235 mg, 70 %). Luego se purificó por CLAR en hexano/AcOEt 98:2 (200 mg, 0,37 mmol, 58 %).

$R_f = 0,30$ (Ciclohexano/AcOEt 98:2), revela púrpura al UV.

P.f.: $155\text{-}156\text{ }^{\circ}\text{C}$.

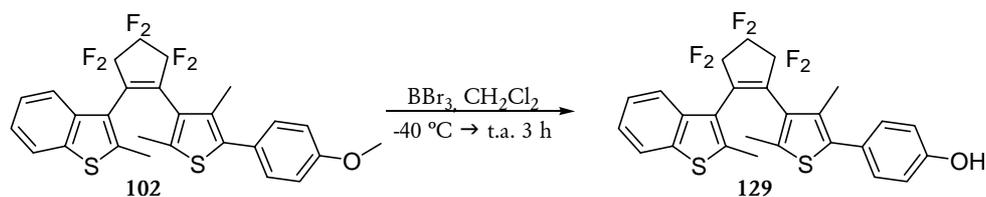
RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3): 7,73 (H-4'' y H-7'' ap, 2H, *d*, $J = 7,8$), 7,61 (H-4'' y H-7'' p, 2H, *d*, $J = 7,9$), 7,34 (H-5'' y H-6'' p, 2H, *m*), 7,31 (H-5'' y H-6'' ap, 2H, *m*), 7,26 (H-2' y H-6' ap, 2H, *d*, $J = 8,4$), 7,14 (H-2' y H-6' p, 2H, *d*, $J = 8,5$), 6,91 (H-3' y H-5' ap, 2H, *d*, $J = 8,4$), 6,84 (H-3' y H-5' p, 2H, *d*, $J = 8,5$), 3,83 (CH₃O- ap*, 3H, *s*), 3,78 (CH₃O- p*, 3H, *s*), 2,45 (CH₃, 3H, *s*), 2,42 (CH₃, 3H, *s*), 2,40 (CH₃, 3H, *s*), 2,17 (CH₃, 3H, *s*), 2,15 (CH₃, 3H, *s*), 1,87 (CH₃(C-2) ap, 3H, *s*).
 Confórmero paralelo (p)/confórmero antiparalelo (ap) = 50:50.

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

MS (IES) m/z : 538 [M^+] (100).

EMAR: $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{F}_6\text{OS}_2$ Calculado: 538,0860. Encontrado: 538,0860.

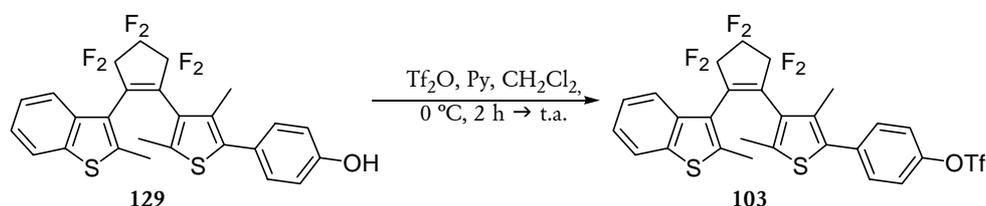
4-{4[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-3,5-dimetil-2-tienil}-fenol (129).



Se adicionó BBr_3 (0,02 ml, 0,25 mmol) a una solución de 3-{3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-[5-(4-metoxifenil)-2,4-dimetil-3-tienil]-ciclopent-1-enil}-2-metil-1-benzotiofeno (102) (110 mg, 0,22 mmol) en CH_2Cl_2 (4 ml) bajo atmósfera de nitrógeno en baño a $-40\text{ }^\circ\text{C}$. Luego de 3 horas se dejó llegar a temperatura ambiente. Se adicionó cuidadosamente gota a gota EtOH (1 ml) y posteriormente H_2O (2 ml). Se extrajo con la fase orgánica, se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. Se purificó con columna flash de sílica con ciclohexano/AcOEt 8:2, rindiendo 4-{4[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-3,5-dimetil-2-tienil}-fenol (129) (90 mg, 0,17 mmol, 84 %).

$R_f = 0,14$ (Ciclohexano/AcOEt 8:2).

Trifluorometansulfonato de 4-{4[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-3,5-dimetil-2-tienil}-fenilo (103).



Se adicionó Tf_2O (0,05 ml, 0,3 mmol) a una solución de 4-{4[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-3,5-dimetil-2-tienil}-fenol (129) (120 mg, 0,23 mmol) y piridina (0,02 ml, 0,25 mmol) en CH_2Cl_2 (2 ml), bajo atmósfera de nitrógeno a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Luego de 2 horas se dejó llegar a temperatura ambiente y se agregó una solución acuosa de HCl (1N, 0,5 ml). Se extrajo la fase orgánica, se secó con Na_2SO_4 , se filtró y evaporó al vacío. El producto crudo fue purificado en columna de sílica flash con ciclohexano rindiendo trifluorometansulfonato de 4-{4[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-3,5-dimetil-2-tienil}-fenilo (103) como un sólido blanco (130 mg, 0,2 mmol, 87 %). Luego se purificó por CLAR en hexano/AcOEt 99:1 (115 mg, 0,18 mmol, 77 %).

$R_f = 0,67$ (Ciclohexano/AcOEt 9:1), revela púrpura al UV.

P.f.: 123-124 $^\circ\text{C}$.

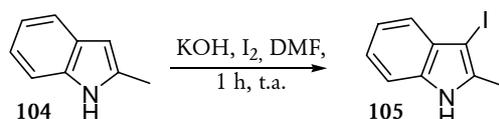
RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃): 7,74 (H-4'' y H-7'' ap, 2H, *m*), 7,61 (H-4'' y H-7'' p, 2H, *m*), 7,34 (H-5'' y H-6'' p, 2H, *m*), 7,42-7,20 (12H, *m*), 2,48 (CH₃, 3H, *s*), 2,42 (2 x CH₃, 6H, *s*), 2,20 (2 x CH₃, 6H, *s*), 1,90 (CH₃, 3H, *s*).

MS (IES) *m/z*: 656 [M⁺] (64), 523 (100).

EMAR: C₂₇H₁₇F₉O₃S₃ Calculado: 656,0196. Encontrado: 656,0196.

7.2.3. SÍNTESIS DE DERIVADOS DE INDOL (CAPÍTULO 4)

3-iodo-2-metil-1*H*-indol (105).



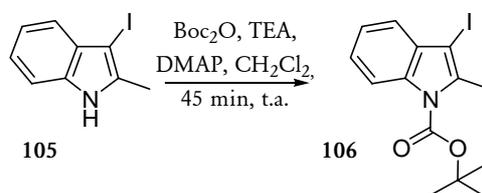
Desde una ampolla compensadora se agregó gota a gota una solución de I₂ (9,7 g, 38,1 mmol) en DMF (65 ml) a un balón que contenía lentejas de KOH (5,3 g, 95,3 mmol), **2-metil-1*H*-indol (104)** (5 g, 38,1 mmol) y DMF (80 ml). El agregado se realizó en 20 minutos. Luego de 30 minutos se volcó lentamente sobre H₂O/hielo (1 litro, NH₃ 0,5%, Na₂SO₃ 0,1%). Se obtiene un precipitado blanco anaranjado que se filtró y lavó con H₂O fría, se secó en desecador con vacío rindiendo **3-iodo-2-metil-1*H*-indol⁸ (105)** (9,3 g, 36,2 mmol, 95%).

R_f = 0,3 (Hexano/AcOEt 9:1).

P.f.: 82 °C.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,16 (NH, 1H, *sa*), 7,35 (1H, *m*), 7,25 (1H, *m*), 7,16 (2H, *m*), 2,48 (CH₃, 3H, *s*).

ter-butil-3-iodo-2-metilindol-1-carboxilato (106).



En un balón se agregó **3-iodo-2-metil-1*H*-indol (105)** (1,57 g, 6,1 mmol), di-*ter*-butildicarbonato (1,57 g, 7,2 mmol), DMAP (80 mg, 0,66 mmol), TEA (2,7 ml, 19,4 mmol) y CH₂Cl₂ (150 ml). Se dejó agitando durante 45 minutos. Se lavó con una solución acuosa de Na₂SO₃ (5%, 2 x 50 ml). Se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con cromatografía flash en hexano/AcOEt 9:1 obteniéndose ***ter*-butil-3-iodo-2-**

metilindol-1-carboxilato (106) (1,99 g, 5,6 mmol, 90%). Se recristalizó de pentano (1,47 g, 4,1 mmol, 67%).

$R_f = 0,8$ (Hexano/AcOEt 9:1).

P.f.: 55-56 °C.

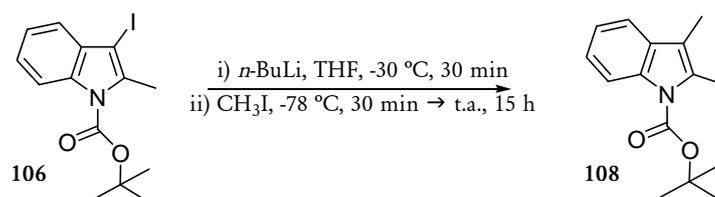
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,06 (H-7, 1H, *dd*, $J = 7,1$ y $2,2$), 7,36 (H-4, 1H, *dd*, $J = 6,5$ y $2,7$), 7,27-7,30 (H-5 y H-6, 2H, *m*), 2,72 (CH₃ (C-2), 3H, *s*), 1,69 ((CH₃)₃CO-, 9H, *s*).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 149,8 (C=O, C), 138,2 (C-2, C), 136,0 (C-7a, C), 131,2 (C-3a, C), 124,5 (C-5*, CH), 123,2 (C-6*, CH), 120,9 (C-4, CH), 115,4 (C-7, CH), 84,3 ((CH₃)₃CO-, C), 71,4 (C-3, C), 28,2 ((CH₃)₃CO-, CH₃), 17,9 (CH₃ (C-2), CH₃). (*) Estas señales son intercambiables.

EM (IES): m/z (int.rel.): 357 [M⁺] (43); 301 (100); 257 (80); 130 (15), 57 (97).

Análisis elemental. C₁₄H₁₆INO₂ Calculado: C 47,08, H 4,52, N 3,92. Encontrado: C 47,02, H 4,41, N 3,85.

ter-butil-2,3-dimetilindol-1-carboxilato (108).



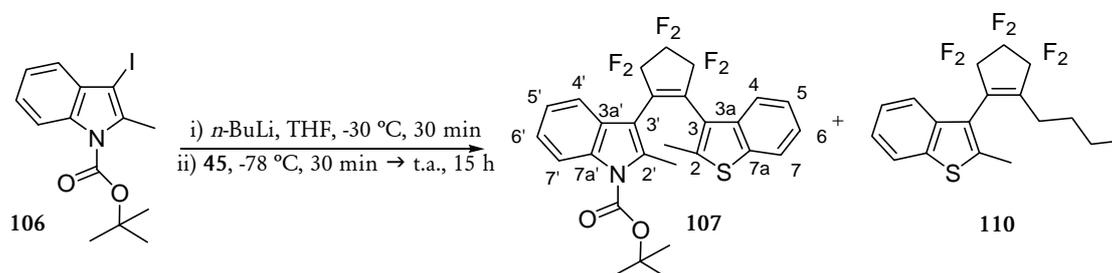
Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 0,8 ml, 1,28 mmol) a una solución de **1-Boc-3-iodo-2-metilindol (106)** (200 mg, 0,56 mmol) en THF (anhidro, 2 ml) a -30 °C y bajo atmósfera de argón. La solución se agitó durante 30 minutos. Luego se llevó la solución a -78 °C. Posteriormente se agregó CH₃I (76 mg, 0,54 mmol). Luego de 30 minutos se dejó llegar a temperatura ambiente y se dejó 3 horas. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con éter etílico (3 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **ter-butil-2,3-dimetilindol-1-carboxilato (108)** como un sólido blanco (95 mg, 0,39 mmol, 65 %).

$R_f = 0,36$ (Hexano/AcOEt 98:2)

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,09 (H-7, 1H, *m*), 7,42 (H-4, 1H, *m*), 7,27-7,30 (H-5 y H-6, 2H, *m*), 2,53 (CH₃(C-2), 3H, *s*), 2,20 (CH₃(C-3), 3H, *s*), 1,68 ((CH₃)₃CO-, 9H, *s*).

EM (IES): m/z (int.rel.): 245 (48), 189 (90), 145 (64), 144 (54), 130 (20), 57 (100).

3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-1-Boc-2-metilindol (107).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 0,77 ml, 1,2 mmol) a una solución de **1-Boc-3-iodo-2-metilindol (106)** (200 mg, 0,56 mmol) en THF (anhidro, 3 ml) a -30 °C y bajo atmósfera de argón. La solución naranja se agitó durante 30 minutos. Luego se colocó la solución a -78 °C. Posteriormente se agregó una solución de **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1-benzotiofeno (45)** (200 mg, 0,61 mmol) en THF (anhidro, 1 ml). Luego de 30 minutos se dejó llegar a temperatura ambiente y se dejó 15 horas. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con éter etílico (3 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-1-Boc-2-metilindol (107)** como un sólido blanco (70 mg, 0,13 mmol, 20 %). Luego se purificó por CLAR en hexano/AcOEt 95:5 (60 mg, 0,11 mmol, 17 %).

$R_f = 0,27$ (Hexano/AcOEt 98:2), revela naranja al UV.

P.f.: 71-72 °C.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) (323 K): 8,01 (H-7', 1H, *d*, *J* = 7,5), 7,67 (H-7*, 1H, *d*, *J* = 7), 7,60 (H-4*, 1H, *d*, *J* = 6,5), 7,50 (H-4', 1H, *d*, *J* = 7,4), 7,17-7,27 (H-5, H-6, H-5' y H-6', 4H, *m*), 2,36-2,31 (CH₃(C-2) y CH₃(C-2'), 6H, *sa*).

RMN-¹³C; 149,9 (C=O, C), 142,3 (C), 138,3 (C), 138,2 (C), 138,0 (C), 135,5 (C), 127,5 (C), 124,6 (C-5*, CH), 124,3 (C-6*, CH), 124,2 (C-5'*, CH), 123,2 (C-6'*, CH), 122,1 (C-7**, CH), 121,9 (C-4**, CH), 121,3 (C-3', C), 119,6 (C-3, C) 118,9 (C-4', CH, *t*, *J* = 3), 115,5 (C-7', CH), 84,8 ((CH₃)₃CO-), 28,1 ((CH₃)₃CO-), 15,4 (CH₃ (C-2)), 15,1 (CH₃ (C-2)).

EM (IES) *m/z* (int. rel.): 551 [M⁺](24), 495 (50), 451 (37), 57 (100).

EMAR: C₂₈H₂₃F₆NO₂S. Calculado: 551,1354. Encontrado: 551,1354.

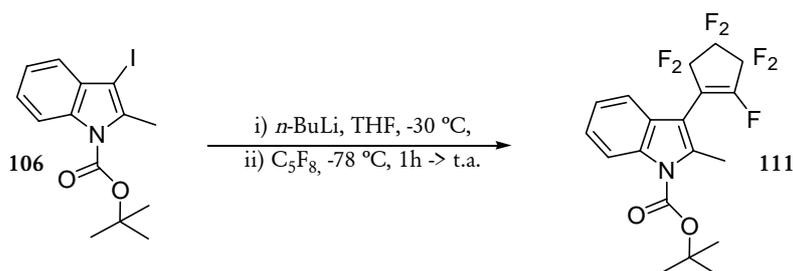
Análisis elemental. Calculado: C 60,97, H 4,20, N 2,54 Encontrado: C 60,74, H 3,96, N 2,62.

De las primeras fracciones se aisló el compuesto **3-(2-butil-3,3,4,4,5,5-hexafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1-benzotiofeno (110)** como un líquido transparente (130 mg, 0,34 mmol).

$R_f = 0,50$ (Hexano/AcOEt 98:2).

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 7,78 (1H, *d*, $J = 7,8$), 7,49 (1H, *d*, $J = 7,9$), 7,39 (1H, *m*), 7,34 (1H, *m*), 3,81 (1H, *m*), 3,65 (1H, *m*), 2,51 (3H, *s*), 1,46 (2H, *m*), 1,18 (2H, *m*), 0,73 (3H, *t*).

ter-butil 3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1*H*-indol-1-carboxilato (111).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 1 ml, 1,6 mmol) a una solución de **1-Boc-3-iodo-2-metilindol (106)** (0,5 g, 1,4 mmol) en THF (anhidro, 6 ml) a -30 °C y bajo atmósfera de argón. La solución naranja se agitó durante 30 minutos. Luego se colocó la solución a -78 °C y se agregó una octafluorociclopenteno (0,19 ml, 1,4 mmol). Luego de 1 hora se dejó llegar a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con acetato de etilo (4 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano seguido de CLAR (columna de sílica gel, hexano), obteniéndose *ter*-butil 3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1*H*-indol-1-carboxilato (111) como un sólido blanco (250 mg, 0,59 mmol, 42 %).

$R_f = 0,42$ (Hexano/AcOEt 98:2)

P.f.: 74-75 °C.

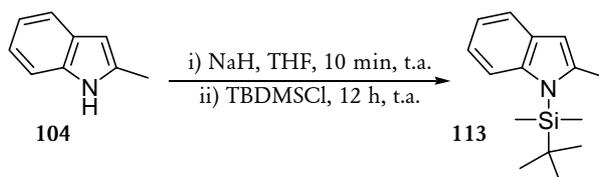
RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): 8,14 (H-7, 1H, *d*, $J = 8,3$), 7,42 (H-4, 1H, *d*, $J = 7,3$), 7,27-7,35 (H-5 y H-6, 2H, *m*), 2,55 (CH₃ (C-2), 3H, *s*), 1,71 ((CH₃)₃CO-, 9H, *s*).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃): 149,9 (C=O), 139,3 (C-7a*), 135,9 (C-2*), 127,0 (C-3a), 124,6 (C-6**), 123,6 (C-5**), 118,7 (C-4, *t*, $J = 3$), 115,6 (C-7), 114,7 (C-3), 85,1 ((CH₃)₃CO-), 28,2 ((CH₃)₃CO-), 15,2 (CH₃ (C-2)). (*), (**). Estas señales son intercambiables.

EM (IES) *m/z* (int. rel.): 423 [M⁺](22), 367 (48), 323 (66), 301 (24), 257 (22), 57 (100)

EMAR: C₁₉H₁₆F₇NO₂. Calculado 423,1069. Encontrado: 423,1069.

Análisis elemental. Calculado: C 53,91; H 3,81. Encontrado: C 53,70; H 3,66.

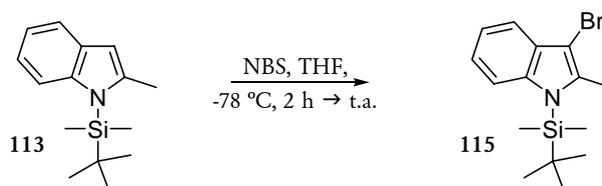
1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-1*H*-indol (113).

Se adicionó en porciones NaH (350 mg, 9,2 mmol, suspensión en aceite mineral, 50%) a una solución naranja-rojizo de 2-metil-1*H*-indol (104) (1g, 7,6 mmol) en THF (anhidro, 15 ml). La suspensión se tornó marrón. Luego de 10 minutos, se agregó cloruro de *ter*-butildimetilsililo (1,4 g, 9,2 mmol). Se colocó un globo de N₂ y se dejó 12 horas. Posteriormente se finalizó la reacción mediante la adición cuidadosa de H₂O (10 ml). Se extrajo con acetato de etilo (2x5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl (10 ml), se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. Se purificó con cromatografía flash en ciclohexano, obteniéndose 1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-1*H*-indol⁹ (113) como un líquido transparente (1,67 g, 6,8 mmol, 89%).

$R_f = 0,62$ (Ciclohexano/AcOEt 98:2).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,46-7,53 (H-4 y H-7, 2H, *m*), 7,03-7,08 (H-5 y H-6, 2H, dos *d*, *J* = 6), 6,34 (H-3, 1H, *s*), 2,49 (CH₃, 3H, *s*), 0,97 ((CH₃)₃C-, 9H, *s*), 0,67 ((CH₃)₂Si-, 6H, *s*).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 142,7 (C), 142,0 (C), 131,3 (C), 120,3 (CH), 119,6 (CH), 119,1 (CH), 114,1 (CH), 106,1 (CH), 26,8 ((CH₃)₃C-, CH₃), 20,6 ((CH₃)₃C-, C), 17,5 (CH₃ (C-2), CH₃), -0,5 (CH₃, (CH₃)₂-Si-).

3-bromo-1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-1*H*-indol (115).

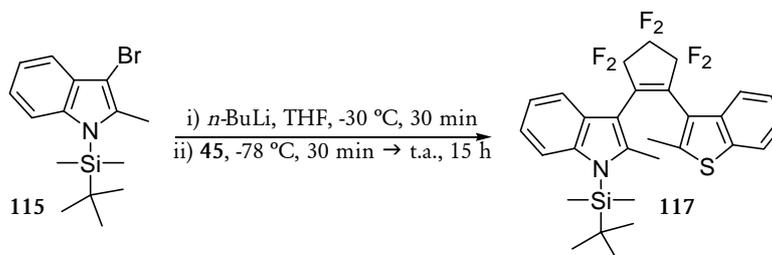
Se agregó NBS (145 mg, 0,81 mmol) a una solución de 1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-1*H*-indol (113) (200 mg, 0,81 mmol) en THF (anhidro, 5 ml) a -78 °C. Luego de 2 horas, se dejó llegar a temperatura ambiente y se evaporó el solvente. Se purificó por cromatografía flash en ciclohexano, obteniéndose 3-bromo-1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-1*H*-indol (115) como un sólido blanco (180 mg, 0,56 mmol, 68%).

$R_f = 0,27$ (ciclohexano).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,48-7,52 (H-4 y H-7, 2H, *m*), 7,18-7,14 (H-5 y H-6, 2H, *m*), 2,53 (CH₃, 3H, *s*), 1,00 ((CH₃)₃C-, 9H, *s*), 0,69 ((CH₃)₂Si-, 6H, *s*).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 140,9 (C-7a, C), 138,4 (C-2, C), 130,0 (C-3a, C), 121,6 (C-6, CH), 120,4 (C-5, CH), 118,4 (C-4, CH), 114,3 (C-7, CH), 95, 9 (C, C-3), 26,7 ((CH₃)₃C-, CH₃), 20,5 ((CH₃)₃C-, C), 15,5 (CH₃, CH₃), -0,3 ((CH₃)₂Si-, CH₃).

1-(*ter*-butildimetilsilil)-3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1*H*-indol (117).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 0,53 ml, 0,61 mmol) a una solución de **3-bromo-1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-1*H*-indol (115)** (180 mg, 0,56 mmol) en THF (anhidro, 3 ml) a -30 °C y bajo atmósfera de argón. La solución naranja se agitó durante 30 minutos. Luego se colocó la solución a -78 °C. Posteriormente se agregó una solución de **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1-benzotiofeno (45)** (210 mg, 0,61 mmol) en THF (anhidro, 1 ml). Luego de 30 minutos se dejó llegar a temperatura ambiente y se dejó 15 horas. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con éter etílico (2 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl (5 ml), se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **1-(*ter*-butildimetilsilil)-3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1*H*-indol (117)** como un sólido blanco (125 mg, 0,22 mmol, 40 %). Posteriormente se purificó con CLAR en hexano/AcOEt 95:5 (115 mg, 0,20 mmol, 37%).

R_f = 0,33 (Ciclohexano/AcOEt 98:2), revela púrpura al UV.

P.f.: 162-163 °C.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): 7,43-7,64 (4H, *m*), 7,06-7,24 (4H, *m*) 2,27 (3H, *sa*, CH₃), 1,98 (3H, *s*, CH₃'), 0,60 (9H, *s*, (CH₃)₃C-), 0,54 (6H, *s*, (CH₃)₂Si-). No se puede asignar.

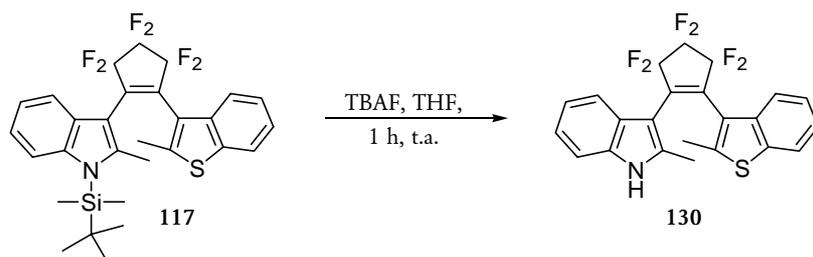
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 142,8, 142,2, 141,8, 138,0, 129,0, 124,3, 124,1, 122,2, 121,7, 121,5, 120,7, 120,6, 119,1, 119,0, 118,9, 114,2, 26,3 (CH₃, (CH₃)₃C-), 20,5 (C, (CH₃)₃C-), 15,1 (CH₃, CH₃), -0,2 (CH₃, (CH₃)₂Si-).

EM (IES) *m/z* (int. rel.): 565 [M⁺](68), 509 (22), 73 (100).

EMAR. C₂₉H₂₉F₆NSSi, Calculado: 565,1694. Encontrado: 565,1694.

Análisis elemental. Calculado C 61,57, H 5,17, Encontrado: C 61,51, H 4,95.

3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol (130).

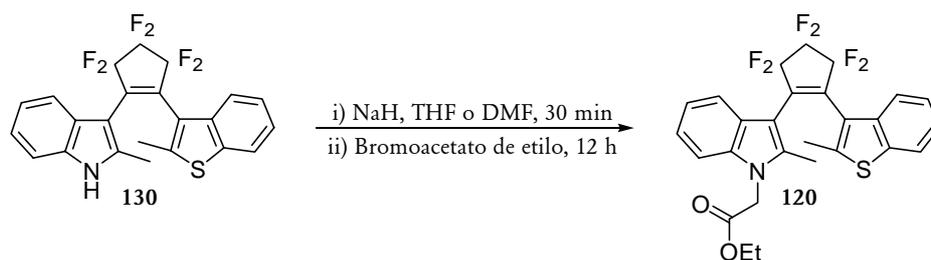


Se agregó una solución de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (1M, 0,1 ml, 0,11 mmol) a una solución agitada de 1-(*ter*-butildimetilsilil)-3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1*H*-indol (117) (60 mg, 0,11 mmol) en THF (1 ml), bajo atmósfera de argón. La solución se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Luego se volcó en una solución acuosa saturada Na₂CO₃ (2 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 2 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se lavaron con H₂O (2 ml), se secaron sobre Na₂SO₄ y concentraron a presión reducida. El crudo de reacción se purificó con cromatografía flash en columna de sílica gel (ciclohexano / acetato de etilo 8:2) para dar 40 mg (0,09 mmol, 84%) de 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol (130). El compuesto 130 fue utilizado inmediatamente en la siguiente reacción.

$R_f = 0,18$ (Ciclohexano/AcOEt 9:1)

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,97 (1H, *sa*), 7,59-7,69 (3H, *m*), 7,23-7,28 (2H, *m*), 7,07-7,18 (3H, *m*), 2,24 (3H, *s*), 1,94 (3H, *s*).

acetato {3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol-1-il} de etilo.



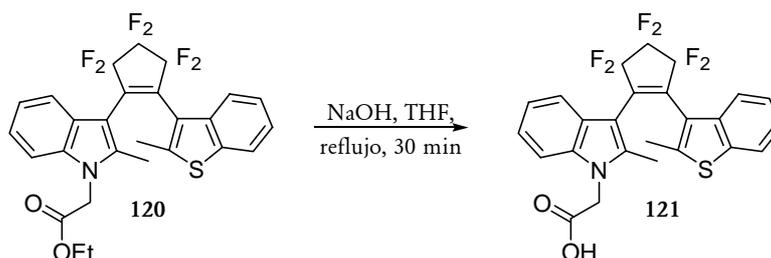
Se agregó NaH (2 mg, 0,06 mmol, suspensión en aceite mineral, 50%) a una solución agitada de 3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol (130) (20 mg, 0,04 mmol) en DMF (0,5 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Luego de agitar durante 30 minutos, la mezcla fue enfriada y se agregó una gota de bromoacetato de etilo. La solución rojo-amarronada se agitó durante 2,5 horas y se diluyó con acetato de etilo (5 ml). La fase orgánica se lavó con H₂O (3 x 3 ml) y solución acuosa saturada de NaCl, secó con Na₂SO₄ y concentró al vacío para dar un aceite rojo. El aceite se purificó con cromatografía

flash en columna de sílica gel (ciclohexano / acetato de etilo 8:2) para dar **acetato{3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol-1-il} de etilo (120)** (8 mg, 0,01 mmol, 34%).

$R_f = 0,50$ (Ciclohexano/AcOEt 8:2)

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,62-7,69 (3H, *m*), 7,25-7,31 (3H, *m*), 7,10-7,15 (2H, *m*), 4,63 (2H, *s*), 4,06 (2H, *c*, *J* = 7,1), 2,19 (3H, *s*), 1,90 (3H, *s*), 1,09 (3H, *t*, *J* = 7,1).

Ácido {3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol-1-ilo}acético (121).



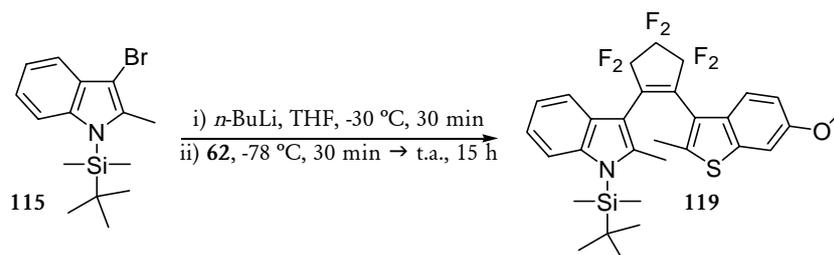
Se agregó una solución acuosa de NaOH (1M, 0,5 ml, 0,5 mmol) a una solución del compuesto **acetato{3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol-1-il} de etilo (120)** (7 mg, 13 μmol) en THF (1 ml) y la mezcla se reflujo durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se acidificó con HCl (*c*) hasta pH = 1,0. Luego la suspensión se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 2 ml) y la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El crudo de reacción se purificó en placa delgada RPC18 con AcOEt/2-propanol/H₂O 4:3:2 como solvente de desarrollo para rendir **ácido {3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-enil]-2-metil-1*H*-indol-1-ilo}acético (121)** como un sólido amarillo pálido (4 mg, 0,008 mmol, 60%).

$R_f = 0,35$ (Ciclohexano/AcOEt 8:2)

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,62-7,66 (3H, *m*), 7,26 (3H, *m*), 7,13-7,15 (2H, *m*), 4,65 (2H, *s*), 2,18 (3H, *s*), 1,88 (3H, *s*).

EM (IES) *m/z* (int. rel.): 509 [M⁺](100), 464 (52), 415 (22), 244 (13), 71 (28).

1-(*ter*-butildimetilsilil)-3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(6-metoxi-2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1*H*-indol (119).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 0,77 ml, 0,88 mmol) a una solución de **3-bromo-1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-1*H*-indol (115)** (260 mg, 0,80 mmol) en THF (anhidro, 3 ml) a -30 °C y bajo atmósfera de argón. La solución naranja se agitó durante 30 minutos. Luego se colocó la solución a -78 °C. Posteriormente se agregó una solución de 3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-6-metoxi-1-benzotiofeno (300 mg, 0,80 mmol) en THF (anhidro, 1 ml). Luego de 30 minutos se dejó llegar a temperatura ambiente y se dejó 15 horas. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con éter etílico (2 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl (5 ml), se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **1-(*ter*-butildimetilsilil)-3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(6-metoxi-2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-1*H*-indol (119)** como un sólido amarillo (170 mg, 0,29 mmol, 36 %). Posteriormente, se purificó por CLAR con hexano/AcOEt 95:5 (100 mg, 0,17 mmol, 21%).

R_f = 0,20 (Ciclohexano/AcOEt 98:2), revela púrpura al UV.

P.f.: 152-153 °C.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃): 7,61 (1H, *d*, $J = 8,1$), 7,44 (1H, *d*, $J = 8,3$), 7,06-7,13 (4H, *m*), 6,81 (1H, *sa*), 3,80 (CH₃O-, 3H, *s*), 2,19 (CH₃, 3H, *sa*), 1,97 (CH₃' , 3H, *s*), 0,63 ((CH₃)₃C-, 9H, *s*), 0,55 ((CH₃)₂Si-, 6H, *s*).

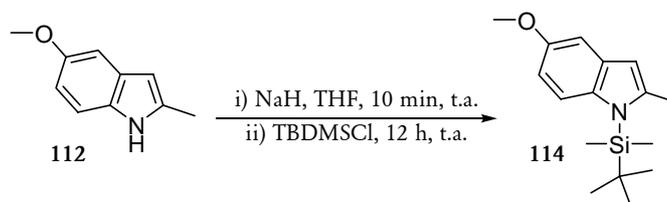
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃): 157,1 (C, C-5), 142,8, 141,8, 139,4, 132,1, 129,0, 122,9, 121,5, 120,8, 119,1, 119,0, 118,9, 114,2, 114,0, 105,7, 104,6, 55,5 (CH₃O-, CH₃), 26,4 ((CH₃)₃C-, CH₃), 20,5 ((CH₃)₃C-, C), 15,8 (CH₃, CH₃), 15,0 (CH₃, CH₃), -0,1 ((CH₃)₂Si-, CH₃).

EM (IES) *m/z* (int. rel.): 565 [M⁺](100), 539 (25), 538 (26), 73 (76).

EMAR. C₃₀H₃₁F₆NOSSi. Calculado: 595,1800. Encontrado: 595,1800.

Análisis elemental. Calculado C 60,49, H 5,25 Encontrado: C 60,64, H 5,00.

1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (114).



Se adicionó en porciones NaH (130 mg, 3,7 mmol, suspensión en aceite mineral, 50%) a una solución naranja-rojizo de **2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (112)** (500 mg, 3,1 mmol) en THF (anhidro, 10 ml). La suspensión se tornó marrón. Luego de 10 minutos, se agregó cloruro de

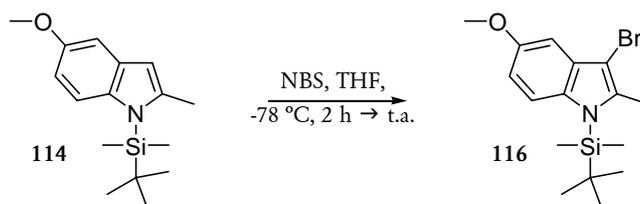
ter-butildimetilsililo (560 mg, 3,7 mmol). Se colocó globo de N₂ y se dejó 12 horas. Posteriormente se finalizó la reacción mediante la adición cuidadosa de H₂O. Se extrajo con AcOEt (2x5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl (5 ml), se secó con Na₂SO₄, filtró y evaporó al vacío. Se purificó con cromatografía flash en ciclohexano, obteniéndose **1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (114)** como un líquido transparente (635 mg, 2,3 mmol, 74%).

$R_f = 0,63$ (Ciclohexano/AcOEt 9:1).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,37 (H-7, 1H, *d*, $J = 9$), 6,95 (H-4, 1H, *d*, $J = 2,4$), 6,70 (H-6, 1H, *dd*, $J = 9$ y 2,4), 6,26 (H-3, 1H, *s*), 3,83 (CH₃O-, 3H, *s*), 2,46 (CH₃(C-2), 3H, *s*), 0,95 ((CH₃)₃C-, 9H, *s*), 0,64 ((CH₃)₂Si-, 6H, *s*).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 114,7 (CH), 106,6 (CH), 106,0 (CH), 101,3 (CH), 55,7 (CH₃-O-, CH₃), 26,8 ((CH₃)₃C-, CH₃), 17,5 (CH₃(C-2), CH₃), -0,6 ((CH₃)₂Si-, CH₃).

3-bromo-1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (116).



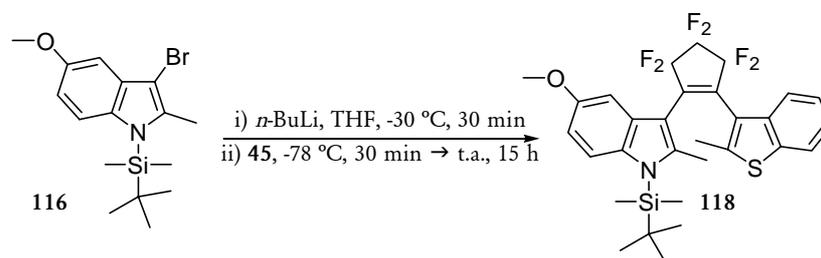
Se colocó una solución de **1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (114)** (635 mg, 2,3 mmol) en THF (10 ml) a -78 °C. Se agregó NBS (400 mg, 2,3 mmol). Luego de 2 horas se dejó llegar a temperatura ambiente y se evaporó el solvente. Se purificó por cromatografía flash en ciclohexano, obteniéndose **3-bromo-1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (116)** como un sólido blanco (710 mg, 2,0 mmol, 87%).

$R_f = 0,60$ (Ciclohexano/AcOEt 9:1).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): 7,36 (H-7, 1H, *d*, $J = 9$), 6,91 (H-4, 1H, *d*, $J = 2,4$), 6,76 (H-6, 1H, *dd*, $J = 9$ y 2,4), 3,88 (CH₃O-, 3H, *s*), 2,49 (CH₃, 3H, *s*), 0,97 ((CH₃)₃C-, 9H, *s*), 0,65 ((CH₃)₂Si-, 6H, *s*).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃): 154,6 (C-5, C), 139,1 (C-7a), 135,6 (C-2), 130,6 (C-3a), 115,1 (C-7, CH), 111,5 (C-6, CH), 100,1 (CH, C-4), 95,5 (C, C-3), 55,7 (CH₃O-, CH₃), 26,7 ((CH₃)₃C-, CH₃), 20,4 ((CH₃)₃C-, CH₃), 15,5 (CH₃(C-2), CH₃), -0,4 ((CH₃)₂Si-, CH₃).

1-(*ter*-butildimetilsilil)-3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (118).



Se agregó una solución de *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 0,93 ml, 0,93 mmol) a una solución de **3-bromo-1-(*ter*-butildimetilsilil)-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (116)** (300 mg, 0,85 mmol) en THF (anhidro, 5 ml) a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y bajo atmósfera de argón. La solución naranja se agitó durante 30 minutos. Luego se colocó la solución a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente se agregó una solución de **3-(2,3,3,4,4,5,5-heptafluorociclopent-1-enil)-2-metil-1-benzotiofeno (45)** (290 mg, 0,85 mmol) en THF (anhidro, 2 ml). Luego de 30 minutos se dejó llegar a temperatura ambiente y se dejó 15 horas. Se neutralizó con una solución acuosa de HCl (1N, 5 ml). Se extrajo con éter etílico (2 x 5 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl (5 ml), se secó con Na_2SO_4 , filtró y evaporó al vacío. El crudo de reacción se purificó con columna de sílica flash en hexano/AcOEt 98:2, obteniéndose **1-(*ter*-butildimetilsilil)-3-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-2-metil-5-metoxi-1*H*-indol (118)** como un sólido amarillo (270 mg, 0,45 mmol, 53 %). Posteriormente, se purificó por CLAR con hexano/AcOEt 95:5 (85 mg, 0,14 mmol, 17%).

$R_f = 0,21$ (Ciclohexano/AcOEt 98:2), revela azul al UV.

P.f.: $167\text{-}168\text{ }^{\circ}\text{C}$.

RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): 7,65 (1H, *sa*), 7,22-7,31 (4H, *m*), 7,01 (1H, *sa*), 6,71 (1H, *d*, $J = 8,5$), 3,76 (3H, *s*), 2,24 (3H, *sa*), 1,98 (3H, *sa*), 0,61 (9H, *s*), 0,53 (6H, *s*).

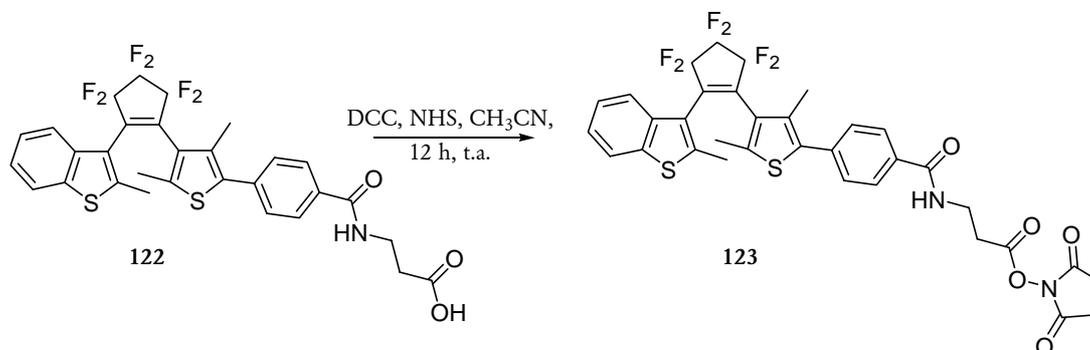
RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): 154,6 (C-5), 143,5, 142,3, 138,2, 136,7, 129,7, 124,4, 124,2, 122,4, 122,3, 121,8, 114,9, 111,1, 101,1 (C-4), 55,7 (CH_3O -), 26,4 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -, CH3), 20,5($(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -, CH3), 16,0 (CH_3 (C-2), CH3), -0,3 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}$ -, CH3).

EM (IES) m/z (%): 596 ($\text{M}+\text{H}^+$, 10), 480 (100).

EMAR: $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{F}_6\text{NOSSi} = (\text{M}+\text{H})^+$. Calculado: 596,1873. Encontrado: 596,1871.

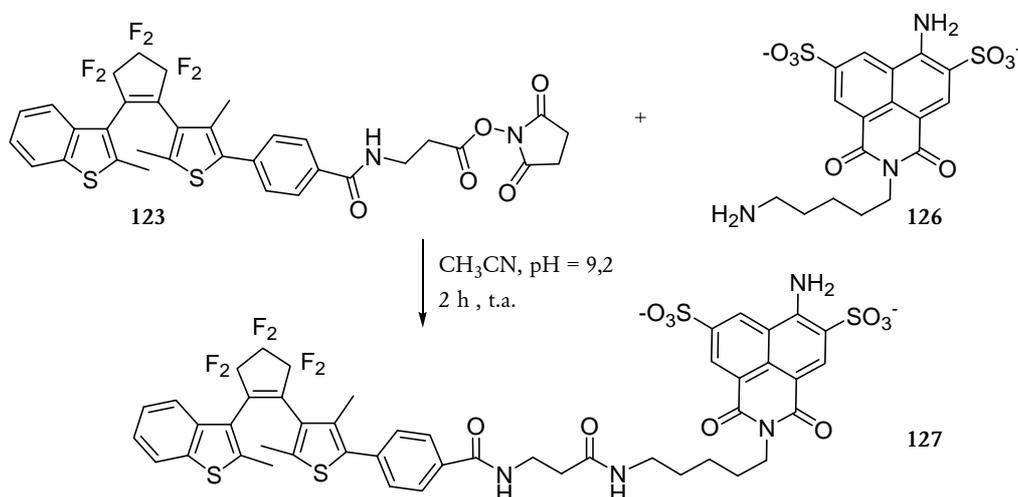
7.2.4. SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS MODELOS PARA PC-FRET

3-(4-{4-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-3,5-dimetil-2-tienil}benzoilamino)propionato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (123).



Se preparó una solución de **DHAE 122** (20 mg, 32 μmol), DCC (8 mg, 39 μmol) y NHS (4 mg, 35 μmol) en acetonitrilo (anhidro, 4 ml). Se dejó reaccionando durante 12 horas. Se obtuvo un precipitado, diciclohexilurea, que se filtró. El producto **123** se obtuvo por evaporación al vacío y se hizo reaccionar sin posterior purificación.

6-amino-2-{5-[3-(4-{4-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-3,5-dimetil-2-tienil}benzoilamino)propionilamino]pentil}-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*de*]isoquinolina-5,8-disulfonato de sodio (127):



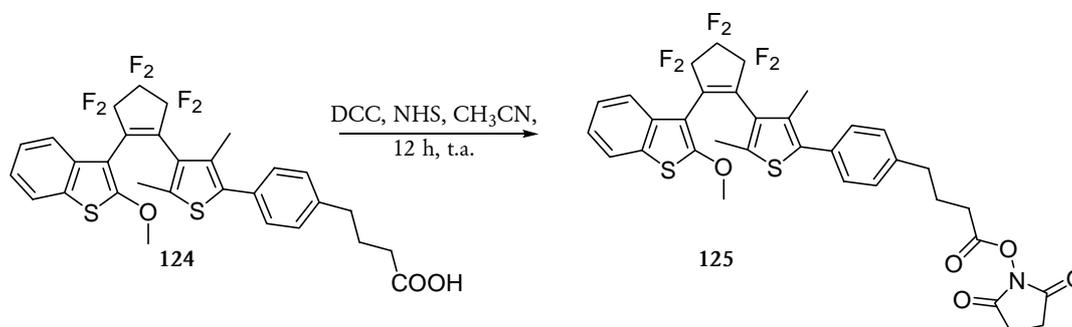
Se disolvió **Lucifer Yellow (126)** (16 mg, 32 μmol) en un buffer borato pH = 9,2 (0,5 M, 30 μl) y se hizo reaccionar con el compuesto **123** (32 μmol) disuelto en acetonitrilo (anhidro, 200 μl), durante 2 horas a temperatura ambiente. El producto **127** se purificó por CLAR usando una fase estacionaria RP-C18 y CH_3CN :trietilamonio acetato (TEAA, 1 M, pH 7,0) 35:65 como solvente de elución.

RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD): 9,05 (1H, *s*, H-7 LY), 8,94 (1H, *d*, *J* = 1,5, H-5 LY), 8,91 (1H, *s*, H-2-LY), 8,49 (1H, *s*, NH LY), 7,20-8,00 (8H, Ar in DHAE), 4,05 (2H, *t*, *J* = 8,5, NCCCCCH₂-NHCO LY), 3,72 (2H, *m*, -CONHCH₂CH₂CO- DHAE), 3,20 (2H, *m*, NCH₂CCCCNHCO LY), 2,62 (2H, *m*, -CONHCH₂CH₂CO- DHAE), 2,47 (1,5H, *s*, CH₃ DHAE), 2,45 (1,5H, *s*, CH₃ DHAE), 2,42 (1,5H, *s*, CH₃ DHAE), 2,21 (1,5H, *s*, CH₃ DHAE), 2,19 (1,5H, *s*, CH₃ DHAE), 1,93 (1,5H, *s*, CH₃ DHAE), 1,6-1,8 (6H, CH₂ LY).

EM, FABMS, M-H: 1105,4 C₄₇H₃₈F₆N₄Na₂O₁₀S₄

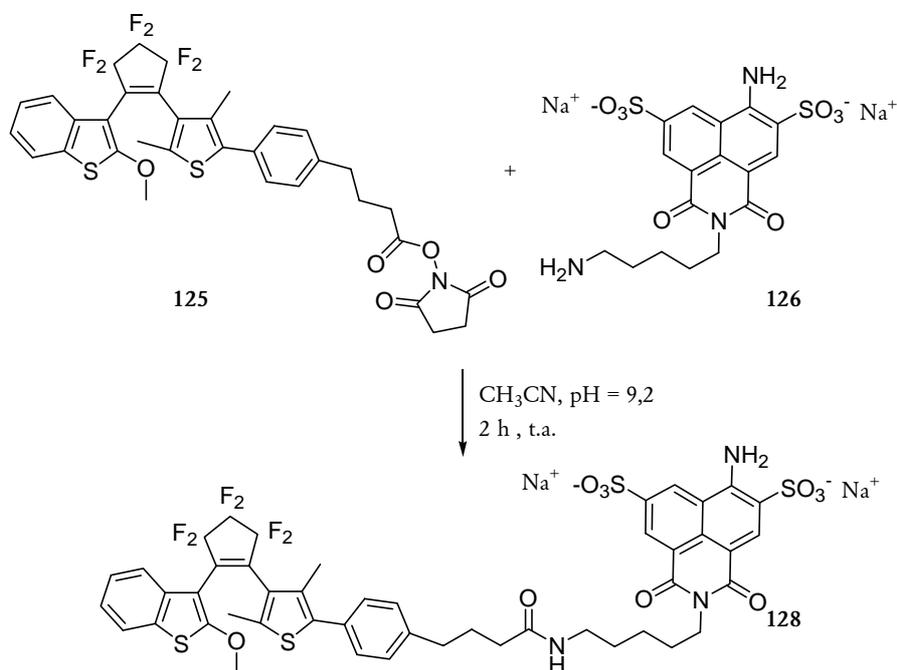
RMN-¹H en el estado fotoestacionario irradiado a 366 nm (500 MHz, CD₃OD): 9,05 (1H, *s*, H-7 LY), 8,94 (1H, *d*, *J* = 1,5, H-5 LY), 8,91 (1H, *s*, H-2-LY), 8,49 (1H, *s*, NH LY), 7,17-8,00 (8H, Ar in DHAE), 4,05 (2H, *t*, *J* = 8,5, NCCCCCH₂-NHCO LY), 3,72-3,74 (2H, -CONHCH₂ DHAE), 3,20 (NCH₂CCCCNHCO LY), 2,62-2,63 (CH₂CH₂CO- DHAE), 2,47 (*s*, CH₃ DHAE), 2,45 (*s*, CH₃ DHAE), 2,42 (*s*, CH₃ DHAE), 2,35 (*s*, CH₃ DHAE-IC), 2,21 (*s*, CH₃ DHAE), 2,19 (*s*, CH₃ DHAE), 2,11 (*s*, CH₃ DHAE-IC), 2,05 (*s*, CH₃ DHAE-IC), 2,04 (*s*, CH₃ DHAE-IC), 1,93 (1,5H, *s*, CH₃ DHAE), 1,6-1,8 (6H, CH₂ LY).

4-(4-{4-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metoxi-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-3,5-dimetil-2-tienil}fenil)butirato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (125).



Se preparó una solución del DHAE **124** (10 mg, 16 μmol), DCC (4 mg, 20 μmol) y NHS (2 mg, 18 μmol) en acetonitrilo (anhidro, 2 ml). Se dejó reaccionando durante 12 horas. Se obtuvo un precipitado, dicitclohexilurea, que se filtró. El producto **125** se obtuvo por evaporación al vacío y se hizo reaccionar sin posterior purificación.

6-amino-2-[5-[5-(4-[4-[3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metoxi-1-benzotien-3-il)-ciclopent-1-en-1-il]-3,5-dimetil-2-tienil}fenil)butirilamino]pencil]-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*de*]isoquinolina-5,8-disulfonato de sodio (**128**).



Se disolvió **Lucifer Yellow (126)** (8 mg, 16 μmol) en un buffer borato pH = 9,2 (0,5 M, 30 μl) y se hizo reaccionar con el compuesto **125** (16 μmol) disuelto en acetonitrilo (anhidro, 200 μl), durante 2 horas a temperatura ambiente. El producto **128** se purificó por CLAR usando una fase estacionaria RPC18 y CH_3CN :trietilamonio acetato (TEAA, 1 M, pH 7,0) 35:65 como solvente de elución.

RMN- ^1H (500 MHz, CD_3OD): 9.06 (1H, *d*, $J = 1,5$, H-7 LY), 8,90 (1H, *d*, $J = 1,5$, H-5 LY), 8,87 (1H, *s*, H-2 LY), 8,52 (0,5H, *sa*, NH LY), 7,70-7,15 (8H, Ar en DHAE), 4,10 (2H, *t*, $\text{NCH}_2\text{CCCCNHCO}$), 3,85 (3H, *s*, OCH_3) 3,43 (2H, *m*), 2,60 (2H, *t*, $J = 8$, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 2,20 (2H, *t*, $\text{-CH}_2\text{CO-}$ DHAE), 2,15 (1,5H, *s*, CH_3 DHAE), 1,95 (1,5H, *s*, CH_3 DHAE), 1,5-1,8 (8H).

EM, FABMS, M-H: 1048,3 $\text{C}_{47}\text{H}_{39}\text{F}_6\text{N}_3\text{Na}_2\text{O}_{10}\text{S}_4$.

RMN- ^1H en el estado fotoestacionario irradiado a 340 nm (500 MHz, CD_3OD): 9.06 (1H, *d*, $J = 1,5$, H-7 LY), 8,90 (1H, *d*, $J = 1,5$, H-5 LY), 8,87 (1H, *s*, H-2 LY), 8,49 (1H, *s*, NH LY), 8,00-7,15 (DHAE), 4,10 (2H, *t*, $\text{NCH}_2\text{CCCC-NHCO}$ LY), 3,72-3,74 (2H, -CONHCH_2 DHAE), 3,20 ($\text{NCH}_2\text{CCCCNHCO}$ LY), 3,85 (*s*, OCH_3 DHAE), 3,43 (2H, *m*), 3,36 (*s*, OCH_3 DHAE CC), 2,60 (2H, *t*, $J = 8$, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 2,20 (2H, *t*, CH_2CO), 2,15 (3H, *s*, CH_3 DHAE), 1,95 (3H, *s*, CH_3 DHAE), 1,5-1,8 (8H).

7.3 MEDICIONES DE PROPIEDADES ESPECTROSCÓPICAS

7.3.1 Espectroscopía de estado estacionario

Los espectros de absorción de estado estacionario se adquirieron con un espectrofotómetro Kontron Uvikon 920 a temperatura ambiente (23 °C) con 1 nm de resolución. Las determinaciones de estado estacionario de fluorescencia se realizaron con un espectrofluorómetro SLM 8000S (SLM Instruments In. Urbana IL. USA) a temperatura ambiente con 1 nm de resolución. Los espectros de emisión se corrigieron por respuesta del instrumento, fluctuaciones de la lámpara y contribuciones del solvente de base. La dependencia de la detección con la polarización se eliminó utilizando la condición del “ángulo mágico” (polarizadores de excitación y emisión a 0° y 54,7° respectivamente)

Fotoisomerizaciones: la fuente de irradiación de alta potencia utilizada fue un irradiador (Lumatec Superlite SUV-DC-P), equipado con una lámpara de arco de Hg (200W DC Super Pressure Short Arc Mercury) y salida acoplada por fibra óptica. El irradiador cuenta con selector de tiempo de apertura del mismo y dos filtros de banda ancha que seleccionan entre el visible y el UV. El mismo fue utilizado con el agregado de diversos filtros para una selección fina de la luz de irradiación. También fue utilizada una lámpara de mercurio de 600 W de alta presión (Hanau Original). Las líneas provenientes de la lámpara de mercurio a 313 y 366 nm fueron seleccionadas a través de un filtro de banda 366 (Schott bp 40 nm, 40% transmisión) y 313 (Corion bp 10 nm, 20 % transmisión) respectivamente. Filtros de banda adicionales fueron utilizados entre la fuente y la cubeta, como se indica en cada caso. La irradiación a 320 nm fue realizada con un filtro de banda P10-320F 573W (Corion) y a 313 nm a través de un filtro de banda 313 BP10 (corion). La irradiación en el visible fue también realizada con un filtro de corte a 520 nm (Omega). Otros filtros de banda utilizados fueron: para 300 nm G10-300-F (Corion), para 340 P10-340-F (Corion), para 360 P10-360-F (Corion), para 380 P10-380-F (Corion). Para estimar la potencia de la luz a la salida de los filtros se utilizó un potenciómetro Ophir Nova con un detector PD-300-UV (Ophir Optronics, Jerusalem, Israel).

7.3.2 Fotocinéticas

Para investigar la eficiencia de la conversión fotocromica como función de la longitud de onda, la reacción fue llevada a cabo seleccionando la longitud de onda. Una solución de muestra recién preparada y sin irradiar previamente fue usada para cada conversión a las

distintas longitudes de onda. Luego de completar la ciclación y obtenerse el isómero cerrado, la solución muestra fue fotoconvertida con luz verde (filtro de corte 520 nm) al isómero abierto. Los espectros de absorción UV/Visible y de fluorescencia de emisión fueron adquiridos antes y después de cada conversión fotocromica. El espectro de fluorescencia se midió con una excitación a 430 nm.

Las fotoconversiones cíclicas fueron determinadas con un sistema espectrofotométrico de fibra óptica Ocean Optics con un portacubeta especialmente modificado para permitir el monitoreo simultáneo de la fotoconversión. También se determinó la fluorescencia de las muestras pero este proceso no puede realizarse en simultáneo con la irradiación dado que la potencia de irradiación es mayor que la intensidad de fluorescencia medida. La excitación para absorción y la fluorescencia fue realizada con una lámpara de deuterio-tungteno DT1000A y la detección fue realizada con un espectrofotómetro serie dual de fibra óptica SD2000 optimizado para detección en la región espectral de 250-800 nm.

7.3.3 Determinaciones de tiempo de vida de fluorescencia

Los tiempos de vida de fluorescencia del donante fue medido por dos técnicas el método de fase y modulación y el método de correlación de tiempo por conteo de fotón.

El sistema de tiempo de vida basado en el método de fase y modulación se basó en una fuente de luz de deuterio (Cathodeon, Cambridge, UK) modulada entre 10 y 110 MHz. La banda espectral para la excitación se seleccionó con un filtro de banda BP 450 (Corion) y la detección de la emisión a través de un filtro de corte >520 nm (Zeiss, Jena, Germany). El corrimiento de la fase y la amplitud de la modulación fueron adquiridos y analizados posteriormente para uno o los dos componentes usando el programa Globas Unlimited (University of Illinois, Urbana, IL). La solución del fluoróforo de referencia fue de 10 μ M de fluoresceína en etanol: 1 mM NaOH (95:5) para la cual el tiempo de vida en bibliografía es de 4,13 ns. Las muestras fueron desoxigenadas por burbujeo de argón.

Un segundo sistema para la determinación del tiempo de vida fue un espectrofotómetro de tiempo de vida de fluorescencia (Photon Technology International, Lawrenceville, NJ) basado en una fuente de luz pulsada (19KHz, =,5 Bar lámpara de hidrógeno) con detección estroboscópica. La forma del pulso fue determinada con una suspensión de sílica gel en agua como una muestra dispersa. Una vez deconvulocinados los datos fueron analizados en términos de uno o dos componentes exponenciales usando el software TimeMasterPro PTI.

7.4. REFERENCIAS

1. Armarego, W.L.F. and Perrin, D.D., *Purification of laboratory chemicals*. 4th ed. Oxford, UK, Pergamon Press (1988).
2. Hanazawa, M., Sumiya, R., Horikawa, Y., and Irie, M., Thermally irreversible photochromic systems - reversible photocyclization of 1,2-bis(2-methylbenzo[b]thiophen-3-yl)perfluorocycloalkene derivatives. *Chem. Comm.*, 3, 206 (1992).
3. Graham, S.L., Shepard, K.L., Anderson, P.S., Baldwin, J.J., Best, D.B., Christy, M.E., Freedman, M.B., Gautheron, P., Habecker, C.N., Hoffman, J.M., Lyle, P.A., Michelson, S.R., Ponticello, G.S., Robb, C.M., Schwam, H., Smith, A.M., Smith, R.L., Sondey, J.M., Strohmaier, K.M., Sugrue, M.F., and Varga, S.L., Topically active carbonic-anhydrase inhibitors .2. Benzo b thiophenesulfonamide derivatives with ocular hypotensive activity. *J. Med. Chem.*, **32**, 12, 2548 (1989).
4. Frigoli, M. and Mehl, G.H., Modulation of the absorption, fluorescence, and liquid-crystal properties of functionalised diarylethene derivatives. *Chem. Eur. J.*, **10**, 20, 5243 (2004).
5. Janda, M., Vopatrna, P., Srogl, J., Stibor, I., and Nemeč, M., Polylithiothiophenes and a convenient synthesis of polymethylthiophenes. *Syn. Inter.J. Meth. Syn. Org. Chem.*, **10**, 545 (1972).
6. Takeshita, M. and Tashiro, M., Synthesis of hydrophenaleno 1,9-bc thiophenes and 2 metacyclo 2 (2,4)thiophenophane. *J. Org. Chem.*, **57**, 2, 746 (1992).
7. Irie, M., Sakemura, K., Okinaka, M., and Uchida, K., Photochromism of dithienylethenes with electron-donating substituents. *J. Org. Chem.*, **60**, 25, 8305 (1995).
8. Bocchi, V. and Palla, G., High-yield selective bromination and iodination of indoles in n,n-dimethylformamide. *Synthesis*, **12**, 1096 (1982).
9. Dhanak, D. and Reese, C.B., Studies in the protection of pyrrole and indole-derivatives. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **12**, 2181 (1986).

RESUMEN

RESUMEN

En los últimos años la transferencia de energía, que es denominada en muchos trabajos como “regla molecular”, ha sido ampliamente utilizada en el área de la biofísica y biología. Este proceso puede aplicarse en forma cualitativa para determinar si dos entidades moleculares se encuentran próximas como resultado de procesos de agregación, asociación, cambios conformacionales, etc. Aplicado en forma cuantitativa, la eficiencia de FRET que permite la determinación aspectos estructurales y dinámicos de la interacción. Estas determinaciones cuantitativas pueden realizarse con relativa sencillez en solución pero no existían maneras de realizarlo en forma continua y reversible en microscopía, un área en creciente expansión.

El objetivo del presente trabajo ha sido el desarrollo de una nueva metodología en la cual se utilizaron compuestos fotocromicos como aceptores del proceso de transferencia de energía (FRET). Los diheteroariletanos son compuestos fotocromicos térmicamente estables que poseen una elevada resistencia a la fatiga. Para una variedad de diheteroariletanos los ciclos de coloración (ciclación) y blanqueo (cicloversión) pueden repetirse más de 10^4 veces. Asimismo, los derivados de perfluorociclopenteno no modifican apreciablemente su conversión en medios acuosos.

El trabajo involucró la obtención de diheteroariletanos funcionalizados convenientemente para su unión a otras moléculas (con énfasis en aplicaciones biológicas) y la validación del principio del método que denominamos fotocromismo-FRET (pc-FRET).

En la introducción se define fotocromismo clasificando las familias de compuestos orgánicos que cumplen con esta propiedad. Se ubica a los diheteroariletanos entre los compuestos fotocromicos que son objeto de reacciones de fotociclación. Luego se describen los factores que influyen en la estabilidad térmica y en la resistencia a la fatiga. Los isómeros abiertos de los diheteroariletanos existen en dos conformaciones, sólo una de ellas da lugar a la ciclación. Se detallan los métodos existentes para controlar la proporción de atropoisómeros. Por otra parte se describen los efectos en los coeficientes de absorción molar y los rendimientos cuánticos de los sustituyentes. Se describen las aplicaciones de estos compuestos más relevantes con nuestro trabajo. Se resumen los métodos generales de síntesis para los diheteroariletanos en los que se varía la unidad puente. Finalmente, se define el proceso de FRET, se derivan las ecuaciones involucradas y se describen sus aplicaciones más relevantes.

En los capítulos 2 a 6 se discuten los resultados de las investigaciones realizadas para cumplimentar los objetivos de esta Tesis. En primera instancia (Capítulo 2) se encaró la síntesis

de derivados de diheteroariletos simétricos y asimétricos que contenían la subestructura benzotiofeno. La primera estrategia utilizada involucró la obtención del diheteroarileno simétrico **42**, siendo este el compuesto más simple. Se identificó un subproducto (**43**) no descrito en la literatura que se obtenía a temperaturas de reacción superiores a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. La estructura de este compuesto fue confirmada por cristalografía de rayos X. Por otra parte, se obtuvo el compuesto hemi-sustituido de perfluorociclopenteno **45**, que se utilizó en reacciones posteriores. Los compuestos **42** y **45** habían sido sintetizados previamente por el grupo del Dr. Irie. Sin embargo, no se habían informado en la literatura la asignación de sus señales RMN y tampoco su correspondiente asignación. En esta Tesis se realizó un análisis detallado de los espectros mono y bidimensionales y se asignaron la mayor parte de las señales observadas de hidrógeno y carbono.

Dado que no se logró iodar o acilar el diheteroarileno simétrico, se diseñó una estrategia alternativa para introducir la funcionalización como paso previo a la formación del compuesto fotocromico. Mediante una reacción de ciclación intramolecular promovida con un ácido de Lewis se obtuvo una unidad de benzotiofeno convenientemente sustituida en posición 6 por un grupo metoxilo, **56**. Posteriormente, este compuesto fue metilado en posición 2 e iodado en posición 3, para rendir el compuesto **60** con rendimientos de moderados a buenos. Este compuesto ha sido sintetizado y caracterizado por primera vez en esta Tesis. Este compuesto metoxilado resultó ser un precursor muy útil y versátil para su unión a otras moléculas. Por demetilación se obtiene el fenol correspondiente que puede utilizarse como extremo reactivo. El derivado triflato **66** demostró ser también muy versátil. Se empleó en reacciones de acoplamiento C-C para dar los compuestos **69** y **70**. Asimismo nos brindó la base para aplicar la misma ruta en el compuesto **63** asimétrico, que también fue obtenido por primera vez en esta tesis.

La síntesis del compuesto asimétrico **71** involucró la obtención de compuestos funcionalizados activos que pueden utilizarse para el acoplamiento a (bio)moléculas. En particular, se ha realizado la unión a biotina a través de un espaciador conteniendo trietilenglicol.. El camino sintético propuesto para la obtención del ester succinimidilo **71** ha sido una nueva estrategia aplicada por primera vez a un compuesto fotocromico que permite que este derivado sea acoplado a otras moléculas.

Es interesante notar que el compuesto **61** simétrico, puede ser también, funcionalizado como triflato. El triflato resultante podría utilizarse para diversos tipos de acoplamientos C-C que podrían dar lugar a pinzas moleculares.

En el capítulo 3 se describe la síntesis de derivados asimétricos (compuestos **101** y **102**) que contienen una unidad de tiofeno funcionalizada. Para obtener las unidades de tiofeno que conforman estos compuestos se realizó una ruta general que consistió en la metilación de 3-metiltiofeno, posterior halogenación y finalmente el acoplamiento cruzado C-C con derivados arilo funcionalizados. Se determinó que la halogenación debía ser una bromación en lugar de iodación, ya que el producto diiodado no rendía los productos de acoplamiento deseados. Además, se estableció que la reacción de acoplamiento daba lugar a mejores rendimientos cuando se realizaba con el éster borónico en lugar del ácido y que el mejor catalizador resultó ser Pd(dppf)Cl₂.

Por otra parte, el rendimiento en el último paso de reacción para la obtención de los compuestos **101** y **102** nos indica que el compuesto **99** resultó ser mejor precursor para la síntesis de estos compuestos asimétricos. Además, el compuesto **102** fue demetilado y activado como triflato para dar el compuesto **103** que podrá utilizarse en reacciones como las desarrolladas en el capítulo 2.

La obtención de compuestos asimétricos con un anillo indólico requirió de la introducción de un grupo protector en el átomo de nitrógeno. En el capítulo 4 se describió la síntesis de los compuestos fotocromicos **107**, **117**, **118** y **119** en los que el nitrógeno indólico se encontraba protegido con Boc o TBDMS. Para esto, se ha descrito la síntesis de los intermediarios de indol, que han sido necesarios para la obtención de los compuestos fotocromicos anteriormente mencionados. Dentro de los intermediarios obtenidos, los compuestos **114**, **115** y **116** han sido sintetizados por primera vez en esta tesis.

Los compuestos con grupo protector TBDMS dieron mejores rendimientos que el que contenía Boc (**107**) dando lugar a los derivados funcionalizados buscados. Asimismo, se observó que los derivados indólicos sintetizados se presentan en una conformación promedio que podría ser general para esta familia de compuestos.

Además, se obtuvo el compuesto **121** realizando la desprotección y posterior reacción con etilbromoacetato del compuesto **117**. Este compuesto nos brinda la posibilidad de unirlo a biomoléculas. Esta misma estrategia se realizará con el compuesto **118** y **119** que, además poseen una funcionalización ortogonal a la del metoxilo.

En el capítulo 5 se describe una caracterización de las propiedades espectroscópicas de importancia para el desarrollo de la metodología. Se han determinado los coeficientes de absorción molar para los isómeros abiertos y cerrados de los compuestos sintetizados. Los compuestos sintetizados presentan máximos de absorción del isómero cerrado que varían entre

511 nm a 600 nm. Se han evaluado los compuestos como aceptores modulables de FRET sobre la base de los datos de coeficientes de absorción obtenidos.

Nuestro interés se ha centrado en aplicaciones en microscopía de fluorescencia. Generalmente, en esta técnica se disponen de láseres de argón donde las líneas de emisión son en 351 nm y 365 nm. Otras fuentes son lámparas de mercurio o xenón donde la excitación puede realizarse utilizando filtros de bandas y están aplicándose cada vez más diodos emisores de luz (LED). Para caracterizar el sistema en estas diferentes situaciones resultó necesario determinar la influencia de la longitud de onda de irradiación sobre el grado de fotoconversión. Se observó que todos los diheteroariletos sintetizados presentaban reacciones fotocromáticas reversibles en hexano al exponerse a luz UV de longitud de onda entre 300-340 nm. Los derivados indólicos **107**, **117**, **118** y **119**, además, fotoisomerizaban al irradiarlos con luz en el rango 300-380 nm, aspecto muy interesante ya que permitirá realizar irradiaciones con luz más cercana al visible. Mientras que el derivado de tiofeno **101**, también fotoisomerizó con luz entre 300-360 nm.

Los rendimientos cuánticos de ciclación y cicloreversión fueron para todos los compuestos entre 0,2-0,5 menos para los derivados de tiofeno donde la reacción de cicloreversión (apertura cíclica) demostró rendimientos de un orden de magnitud menor.

En el capítulo 6 se describe la validación de la técnica propuesta. Para lo que se sintetizaron los compuestos modelo **127** y **128** que consistían de un donante fluorescente unido a un diheteroarileno fotocromático. En pc-FRET, la emisión fluorescente del donante fue modulada por conversiones cíclicas del aceptor fotocromático.

En este proceso, la luz produce cambios reversibles en la estructura del aceptor y concomitantemente en sus propiedades de absorción. En consecuencia, sólo uno de los isómeros de los diheteroariletos seleccionados **122** y **124**, que posee una banda de absorción que se superpone con la banda de emisión del donante, resulta un aceptor eficiente. Las correspondientes variaciones de la integral de superposición (J) y su distancia crítica de transferencia (R_0) entre los dos estados proporcionaron un cambio significativo del rendimiento cuántico de fluorescencia del donante.

El proceso fue caracterizado determinando las cinéticas de ciclación y cicloreversión en los compuestos modelo. La evolución al equilibrio luego de la exposición a la luz UV o visibles presentó cinéticas monoexponenciales. Se describieron los procesos fotocinéticos involucrados y se determinó que el proceso de FRET influye en el grado de conversión en un 20 %. De tal forma se demostró que es posible modular la emisión de l donante por este proceso.

La técnica de pc-FRET introducida para la determinación cuantitativa de transferencia de energía (FRET), resultó ser pionera en este campo.

El trabajo descrito en esta Tesis ha dado lugar a de las siguientes publicaciones:

Diheteroarylethenes as thermally stable photoswitchable acceptors in photochromic fluorescence resonance energy transfer (pc-FRET).

Giordano, L.; Jovin, T. M.; Irie, M.; Jares-Erijman, E. A. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 7481-7490 (2002).

Photochromic fluorescence resonance energy transfer (pc-FRET): formalism, implementation, and perspectives.

Jares-Erijman, E.A.; Giordano, L.; Spagnuolo, C.; Kawior, J.; Vermeij, R.J.; Jovin, T.M. *Proc. SPIE*, 5323, 13-26, (2004).

Novel (bio)chemical and (photo)physical probes for imaging living cells.

Jares-Erijman, E.A.; Spagnuolo, C.; Giordano, L.; Etchehon, M.; Kawior, J.; Mañalich-Arana, M.V.; Bossi, M.; Lidke, D.S.; Post, J.N.; Vermeij, R.J.; Heintzmann, R.; Lidke, K.A.; Arndt-Jovin, D.J.; Jovin, T.M. *Supramolecular Structure and Function 8* (Ed. G. Pifat-Mrzljak), Kluwer Academic, Netherlands, 99-118, (2004).

Synthesis of indole-containing diheteroarylethenes. New probes for photochromic FRET (pcFRET).

Giordano, L.; Vermeij, R.J.; y Jares-Erijman, E.A. *ARKIVOC*, Part(xii), 268-281, (2005), fascículo en homenaje a la Dra. R. M. de Lederkremer.

Trabajos publicados no incluidos en esta Tesis:

Imaging Quantum Dots Switched On and Off by Photochromic Fluorescence Resonance Energy Transfer (pcFRET).

Jares-Erijman, E.A.; Giordano, L.; Spagnuolo, C.; Lidke, K.A.; y Jovin, T.M. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **430**, 257, (2005).

Spectroscopic modulation of multifunctionalized quantum dots for use as biological probes and effectors.

Miskoski, S.; Giordano, L.; Etchehon, M.; Menéndez, G.; Lidke, K.A.; Hagen, G.; Jovin, T.M y Jares-Erijman, E.A. Proceedings of SPIE, (2006). En prensa.

Otros tres trabajos en preparación.